



MD/EP 3946595 T2 2024.05.31

## REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3946595 (13) T2

(51) Int. Cl.: A61P 11/00 (2006.01.01)  
C07D 239/69 (2006.01.01)  
C07D 515/08 (2006.01.01)

## (12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

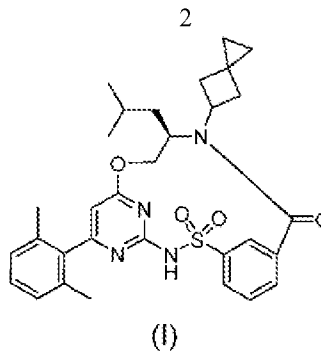
(21) Numărul de depozit: e 2022 0156	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 05/2024, 2024.05.31
(22) Data de depozit: 2020.04.02	(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 46/2023, 2023.11.15
(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 20722087.2, 2020.04.02	(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 02/2022, 2022.02.28
(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3946595, 2022.02.09	
(31) Numărul cererii prioritare: 201962828699 P	
(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2019.04.03	
(33) Țara cererii prioritare: US	
(71) Solicitant: VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, US	
(72) Inventatori: HADIDA RUAH Sara Sabina, US; ISHIHARA Yoshihiro, US; KRENITSKY Paul, US; MCCARTNEY Jason, US; MELILLO Vito, US; MILLER Mark Thomas, US; SILINA Alina, US; UY Johnny, US; ZHOU Jinglan, US	
(73) Titular: VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, US	
(74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru	

(54) Agenți modulatori ai regulatorului conductanței transmembranare în fibroza chistică

(57) Rezumat:

Sunt divulgați Compusul I, derivați deuterati, și săruri acceptabile farmaceutic ale oricăroră din cele anterioare. Sunt de asemenea divulgate metode de tratament a fibrozei chistice care utilizează acești compuși.

Revendicări: 32

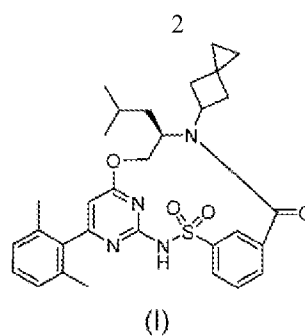


MD/EP 3946595 T2 2024.05.31

**54) Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulating agents****(57) Abstract:**

1  
Compound (I), deuterated derivatives,  
and pharmaceutically acceptable salts of any of  
the foregoing are disclosed. Methods of  
treating cystic fibrosis using these compounds  
are also disclosed.

Claims: 32



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

5 Această cerere de brevet revendică beneficiul cererii de brevet provizorie S.U.A. nr. 62/828.699, depusă pe 3 aprilie 2019.

Divulgarea furnizează modulatori ai regulatorului de conductanță transmembranară în fibroza chistică (CFTR), compoziții farmaceutice conținând modulatorii, metode pentru tratarea fibrozei chistice (CF) și a tulburărilor mediate de CFTR cuprinzând administrarea modulatorilor, și procedee pentru fabricarea modulatorilor.

10 CF este o boală genetică recesivă care afectează aproximativ 70.000 copii și adulți în întreaga lume. În ciuda progresului în tratamentul CF, nu există vindecare.

La pacienții cu CF, mutațiile în CFTR exprimate endogen în epiteliul respirator conduc la secreția redusă de anioni apicali, determinând un dezechilibru în transportul ionilor și fluidelor. Scăderea rezultată în transportul anionilor contribuie la sporirea acumulării mucusului în plămâni și însoțește infecțiile microbiene care în final cauzează decesul pacienților cu CF. În plus față de o boală respiratorie, pacienții cu CF suferă de obicei de probleme gastrointestinale și insuficiență pancreatică care, dacă sunt lăsate netratate, conduc la deces. În plus, majoritatea bărbaților cu CF sunt infertili, și fertilitatea este redusă printre femeile cu CF.

20 Analiza secvenței genei CFTR a dezvăluit o varietate de mutații care cauzează boala (Cutting, G. R. și colab. (1990) *Nature* 346:366-369; Dean, M. și colab. (1990) *Cell* 61:863-870; și Kerem, B-S. și colab. (1989) *Science* 245:1073-1080; Kerem, B-S și colab. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. SUA* 87:8447-8451). Până în prezent, au fost identificate mai mult de 2000 de mutații în gena CF. Mutațiile CF sunt listate în „Cystic Fibrosis Mutation Database”, situată la <http://www.genet.sickkids.pe.ca/app>. Cea mai predominantă mutație care cauzează boala este o deleție de fenilalanină la poziția 508 a secvenței CFTR de aminoacizi și este denumită în mod obișnuit mutația *F508del*. Această mutație are loc în aproximativ 25 90% din cazurile de fibroză chistică și este asociată cu boala severă.

Deleția rezidului 508 în CFTR împiedică plierea corectă a proteinei native. Acest lucru conduce la incapacitatea proteinei mutante de a părăsi reticulul endoplasmatic (ER) și de a circula către membrana plasmatică. Ca rezultat, numărul de canale CFTR pentru transportul anionilor prezent în membrană este mult mai mic decât cel observat în celulele care exprimă CFTR de tip sălbatic, adică, CFTR care nu are nici o mutație. În plus față de traficul afectat, mutația conduce la deschiderea defectuoasă a canalului. Împreună, numărul redus de canale din membrană și deschiderea defectuoasă conduc la transportul redus al anionilor și fluidului prin epiteliu. (Quinton, P. M. (1990), *FASEB J.* 4: 2709-2727). Canalele care sunt defectuoase datorită mutației *F508del* sunt încă funcționale, cu toate că mai puțin funcționale decât decât 30 canalele CFTR de tip sălbatic. (Dalemans și colab. (1991), *Nature Lond.* 354: 526-528; Pasyk și Foskett (1995), *J. Cell. Biochem.* 270: 12347-50). În plus față de *F508del*, alte mutații care cauzează boala în CFTR care conduc la circulația defectuoasă, sinteza, și/sau deschiderea canalului ar putea fi supra sau subreglate pentru a altera secreția de anioni și pentru a modifica progresul și/sau severitatea bolii.

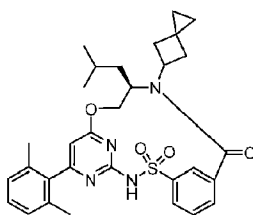
CFTR este un canal de anioni mediat de AMPc/ATP care este exprimat într-o varietate de tipuri 40 de celule, inclusiv în celulele epiteliale absorbitive și secretoare, unde el reglează fluxul de anioni prin membrană, precum și activitatea altor canale de ioni și proteine. În celulele epiteliale, funcționarea normală a CFTR este critică pentru întreținerea transportului de electrolit prin corp, inclusiv prin țesutul respirator și digestiv. CFTR este compus din aproximativ 1480 aminoacizi care codifică o proteină care este alcătuită dintr-o repetare în tandem a domeniilor transmembranare, fiecare conținând șase helixuri 45 transmembranare și un domeniu de legare al nucleotidei. Cele două domenii transmembranare sunt legate printr-un domeniu (R) regulator, mare, polar, cu multiple situsuri de fosforilare care reglează activitatea canalului și traficul celular.

Transportul clorurii are loc prin activitatea coordonată a ENaC și CFTR prezente pe membrana apicală și pompa  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPază}$  și canalele de  $\text{Cl}^-$  exprimate pe suprafața bazolaterală a celulei. 50 Transportul activ secundar al clorurii din partea luminală conduce la acumularea clorurii intracelulare, care poate apoi părăsi pasiv celula prin canalele  $\text{Cl}^-$ , conducând la un transport vectorial. Aranjamentul cotransportorului  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ , a pompei  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPază}$ , și a canalelor  $\text{K}^+$  ale membranei bazolaterale pe suprafața bazolaterală și a CFTR pe partea luminală coordonează secreția de clorură prin CFTR pe partea luminală. Deoarece apa nu este probabil niciodată transportată activ de ea însuși, ea curge prin epiteliu 55 depinzând de gradientii osmotici transepiteliali minusculi generați prin curgerea grupată a sodiului și clorurii.

Un număr de compuși de modulare CFTR au fost identificați recent. Totuși, compușii care pot trata sau reduce severitatea CF și a altor boli mediate de CFTR, și în special formele mai severe ale

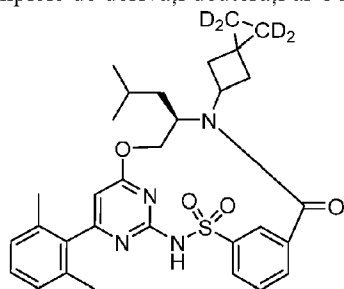
acestor boli, sunt încă necesari. WO 2019/018395 se referă la un compus și/sau sare acceptabilă farmaceutic a acestuia compuse dintr-o compoziție farmaceutică și metode de utilizare a acestora pentru a trata fibroza chistică. WO 2018/064632 se referă la compuși, săruri acceptabile farmaceutic ale acestora, derivați deuterati ai oricăroră dintre cele anterioare, și metaboliți ai oricăroră dintre cele anterioare, precum și la compoziții farmaceutice care le conțin, metode pentru tratarea fibrozei chistice utilizându-le, și metode pentru fabricarea acestora. WO 2017/173274 se referă la un compus sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru tratamentul bolilor mediate de CFTR, cum ar fi fibroza chistică, precum și la compoziții farmaceutice, metode de tratare, și truse ale acestuia. WO 2016/057572 se referă la un compus sau la o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru tratamentul bolilor mediate de CFTR, cum ar fi fibroza chistică, precum și compoziții farmaceutice, metode de tratare, și truse ale acestuia.

Astfel, un aspect din divulgare furnizează compusul de modulare al CFTR (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-yl-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compusul I) și săruri acceptabile farmaceutic și derivați deuterati ai acestuia. Un alt nume pentru Compusul I este 3,3-dioxid de (R)-1<sup>6</sup>-(2,6-dimetilfenil)-7-izobutil-6-(spiro[2,3]hexan-5-il)-9-oxa-3-tia-2,6-diaza-1(2,4)-pirimidina-4(1,3)-benzenaciclonoanfan-5-onă. Compusul I poate fi reprezentat ca având următoarea structură:

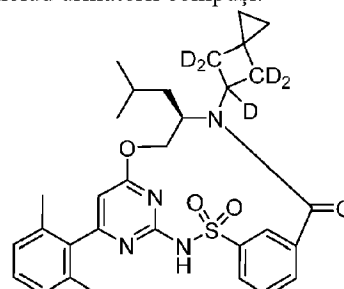


I.

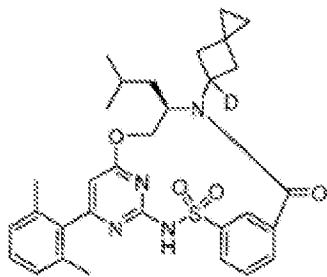
Exemplele de derivați deuterati ai Compusului I includ următorii compuși:



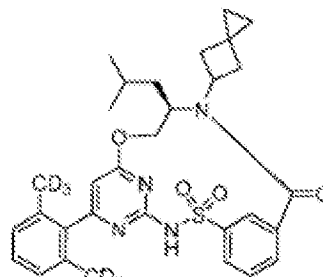
Ia,



Ib,



Ic,



Id.

și

Exemplele de săruri ale Compusului I și de derivați deuterati ai Compusului I includ săruri de potasiu, săruri de sodiu, și săruri de calciu.

Divulgarea furnizează de asemenea compoziții farmaceutice cuprinzând cel puțin unul dintre Compusul I, derivați deuterati ai Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati. În unele realizări, compozițiile pot include în plus cel puțin un ingredient farmaceutic activ suplimentar și/sau cel puțin un purtător. De asemenea sunt divulgate metode pentru tratarea bolii CF mediate de CFTR, cuprinzând administrarea a cel puțin unuia dintre Compusul I,

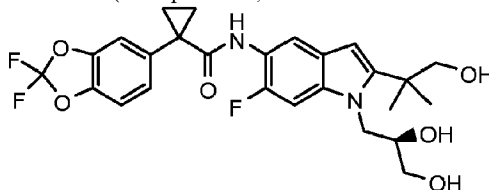
derivați deuterati ai Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati. În unele realizări, metoda poate include opțional administrarea unuia sau mai multor ingrediente farmaceutice active suplimentare. În unele realizări, ingredientul farmaceutic activ suplimentar este un modulator CFTR. În unele realizări, modulatorul CFTR este ales dintre potențiatori

5 CFTR și corectori CFTR.

Divulgarea furnizează de asemenea metode pentru tratarea bolii CF mediate de CFTR, cuprinzând administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a cel puțin unuia dintre Compusul I, derivați deuterati ai Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, în combinație cu unul sau mai mulți dintre compușii selectați dintre (R)-1-(2,2-

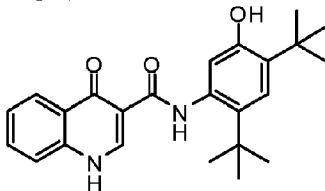
10

1H-indol-5-il) ciclopropancarboxamidă (Compusul II):



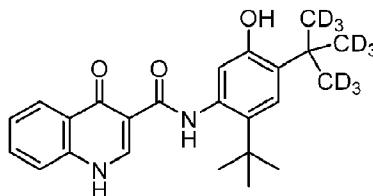
II,

N-[2,4-bis(1,1-dimetiletel)-5-hidroxiifenil]-1,4-dihidro-4-oxochinolin-3-carboxamidă (Compusul III):



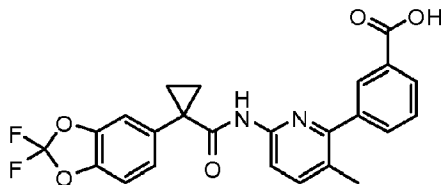
III,

15 N-(2-(terț-butil)-5-hidroxi-4-(2-(metil-d3)propan-2-il-1,1,1,3,3,3-d6)fenil)-4-oxo-1,4-dihidrochinolin-3-carboxamidă (Compusul III-d):



III-d,

și acid 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropancarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoic (Compusul IV):



IV,

și săruri acceptabile farmaceutic ale compușilor II, III, III-d, și IV.

#### Definiții

Așa cum s-a utilizat în acest document, un „derivat deuterat” al Compusului I se referă la un compus având aceeași structură chimică ca și Compusul I, dar cu unul sau mai mulți atomi de hidrogen înlocuiți cu un atom de deuteriu.

25

Așa cum s-a utilizat în acest document, „mutațiile” se pot 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. În general, un defect genetic sau mutație, sau o modificare în nucleotide într-o genă conduce la o mutație în proteina CFTR translatată din genă, sau o

30

deplasare cadru. Termenul „F508del” se referă la o proteină CFTR mutantă căreia îi lipsește 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 ambele alele.

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 celelalte alele.

5 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 dintr-un modulator CFTR include, dar nu este limitată la, compuși care corectează, potențiază, stabilizează și/sau amplifică CFTR.

10 Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „corector CFTR” se referă la un compus care facilitează procesarea și traficul CFTR pentru a crește cantitatea de CFTR la suprafața celulei. Compușii I, II, și IV, și sărurile lor acceptabile farmaceutic și derivații deuterati sunt corectori CFTR.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „potențiator CFTR” se referă la un compus care crește activitatea canalului de proteină CFTR situat la suprafața celulei, conducând la sporirea transportului de ioni. Compușii III și III-d sunt potențiatori CFTR.

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

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

20 Sărurile adecvate acceptabile farmaceutic sunt, de exemplu, cele divulgate în S. M. Berge, și colab. J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19. De exemplu, Tabelul 1 din acel articol furnizează următoarele săruri acceptabile farmaceutic:

25 **Tabelul 1. Săruri acceptabile farmaceutic**

Acetat	Iodură	Benzatină
Benzensulfonat	Isetionat	Cloroprocaină
Benzoat	Lactat	Colină
Bicarbonat	Lactobionat	Dietanolamină
Bitartrat	Maleat	Etilendiamină
Bromură	Maleat	Meglumină
Edetat de calciu	Mandelat	Procaină
Camsilat	Mezilat	Aluminiu
Carbonat	Metilbromură	Calciu
Clorură	Metilnitrat	Litiu
Citrat	Metilsulfat	Magneziu
Diclorhidrat	Mucal	Potasiu
Edetat	Napsilat	Sodiu
Edisilat	Nitrat	Zinc
Estolat	Pamoat (Embonat)	
Esilat	Pantotenat	
Fumarat	Fosfat/difosfat	
Gluceptat	Poligalacturonat	
Gluconat	Salicilat	
Glutamat	Stearat	
Glicolilarsanilat	Sub acetat	
Hexilresorcinat	Succinat	
Hidrabină	Sulfat	

Bromhidrat	Tanat	
Clorhidrat	Tartrat	
Hidroxi-naftoat	Teociat	
	Triiodidă	

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 domeniul, cum ar fi schimbarea de ioni. Exemplele nelimitative de săruri acceptabile farmaceutic includ săruri adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzonsulfonat, benzoat, bisulfat, borat, butirat, camforat, camforsulfonat, citrat, ciclopentanpropionat, digluconat, dodecilsulfat, etansulfonat, format, fumarat, glucoheptonat, glicerofosfat, gluconat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, iodhidrat, 2-hidroxi-etansulfonat, lactobionat, lactat, laurat, lauril sulfat, malat, 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. Exemplele nelimitative de săruri acceptabile farmaceutic derivate din baze adecvate includ săruri de metale alcaline, metale alcaline pământose, amoniu, și  $N^+(C_{1-4}alchil)_4$ . Această divulgare are de asemenea în vedere cuaternizarea oricăror grupări bazice care conțin azot ale compușilor divulgați aici. Exemplele nelimitative adecvate de săruri alcaline și de metale alcaline pământoase 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, sulfonat alchil inferior, și aril sulfonat. Alte exemple nelimitative adecvate, de săruri acceptabile farmaceutic includ săruri besilat și glucozamină.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „amorf” se referă la un material solid care nu are o ordine pe un interval lung în poziția moleculelor sale. Solidele amorfe sunt în general lichide superrăcite în care moleculele sunt dispuse într-o manieră aleatoare astfel încât nu există un aranjament bine definit, de exemplu, împachetare moleculară, și nici o ordine pe un interval lung. 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 nici un maxim cristalin caracteristic ascuțit în tiparul său de difracție de putere cu raze X (XRPD) (adică, nu este cristalin după cum s-a determinat prin XRPD). În schimb, unul sau câteva maxime largi (de exemplu, halouri) apar în tiparul său XRPD. Maximele largi sunt caracteristice ale unui solid amorf. Vezi, US 2004/0006237 pentru o comparație a XRPD al unui material amorf și al unui material cristalin.

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

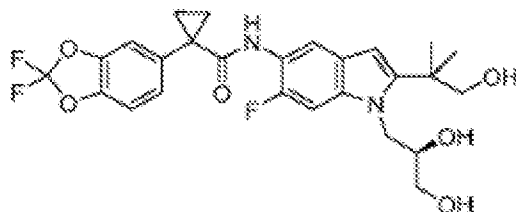
Termenii „doză eficientă” și „cantitate eficientă” sunt utilizați interschimbabil aici și se referă la acea cantitate dintr-un compus care produce efectul dorit pentru care este administrată (de exemplu, îmbunătățirea a CF sau a unui simptom al CF, sau atenuarea severității CF sau a unui simptom al CF).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

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „tratament”, „tratarea”, și altele asemenea înseamnă în general îmbunătățirea CF sau a simptomelor acesteia sau atenuarea severității CF sau a simptomelor acesteia, sau o întârzierea a debutului CF sau a simptomelor acesteia, la un subiect. „Tratament”, așa cum s-a utilizat în acest document, include, dar nu este limitat la, următoarele: accelerarea creșterii subiectului, creșterea câștigului în greutate, reducerea mucusului în plămâni, îmbunătățirea funcționării pancreasului și/sau a ficatului, reducerea infecțiilor toracice, și/sau reduceri ale tusei sau ale dificultăților de respirație. Îmbunătățirile sau atenuarea severității oricăror din aceste simptome poate fi cu ușurință evaluată în conformitate cu metodele și tehnicile standard cunoscute în domeniu.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „în combinație cu”, când se referă la doi sau mai mulți compuși, agenți, sau ingrediente active farmaceutic suplimentare, înseamnă administrarea a doi sau mai mulți compuși, agenți, sau ingrediente active farmaceutic pacientului înainte de, simultan cu, sau ulterior unul cu celălalt. În unele realizări, metodele din divulgare utilizează administrarea la un pacient care are nevoie de aceasta a cel puțin unui compus ales dintre Compusul I, derivați deuterati ai

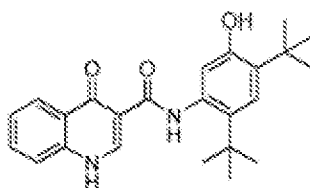
Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, și pot utiliza opțional administrarea a cel puțin unui compus selectat dintre:

Compusul II:



II,

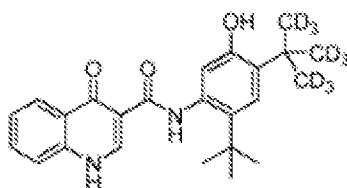
Compusul III:



III,

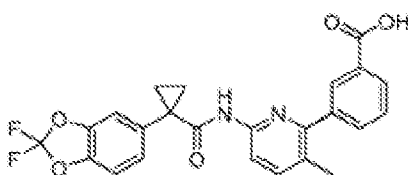
5

Compusul III-d:



III-d, și

Compusul IV:



IV,

10 și săruri acceptabile farmaceutic ale compușilor II, III, III-d, și IV.

15 Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau derivații săi deuterati pot fi administrați în mod independent o dată zilnic, de două ori zilnic, sau de trei ori zilnic, opțional în combinație cu unul sau mai mulți dintre Compușii II, III, III-d, și IV, și sărurile acceptabile farmaceutic și derivații deuterati ai acestora. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, este administrat o dată zilnic. În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, este administrat de două ori zilnic, opțional în combinație cu unul sau mai mulți dintre Compușii II, III, III-d, IV, și sărurile acceptabile farmaceutic și derivații deuterati ai acestora.

20

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 divulgate ale compușilor sau ale sărurilor lor acceptabile farmaceutic de aici se bazează pe forma lor de bază liberă. De exemplu, „10 mg din cel puțin un compus ales dintre Compusul I și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia includ 10 mg de Compus I și o concentrație dintr-o sare acceptabilă farmaceutic a Compusului I echivalentă cu 10 mg de Compus I.

În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, este administrat în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul II, derivații deuterati ai Compusului II, sau sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului II sau ale derivaților săi deuterati.

În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, este administrat în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul III, derivații deuterati ai Compusului III, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului III sau ale derivaților săi deuterati. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului III este Compusul III-d.

În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, este administrat în combinație cu cel puțin un compus ales dintre derivații deuterati ai Compusului IV, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului IV sau ale derivaților săi deuterati.

În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, este administrat în combinație cu Compusul II sau cu o sare acceptabilă farmaceutic sau derivat deuterat al acestuia și cel puțin cu un compus ales dintre Compusul III, derivații deuterati ai Compusului III, sau sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului III este Compusul III-d.

În unele realizări, cel puțin un compus ales dintre Compusul I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau derivații săi deuterati, este administrat în combinație cu cel puțin un compus ales dintre Compusul III, derivații deuterati ai Compusului III, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cu cel puțin un compus ales dintre Compusul IV, derivații deuterati ai Compusului IV, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului III este Compusul III-d.

Oricare dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, împreună cu unul sau mai mulți dintre Compușii II, III, III-d, și IV, și derivații lor deuterati și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, pot fi combinate într-o singură compoziție farmaceutică sau în compoziții farmaceutice separate. Astfel de compoziții farmaceutice pot fi administrate o dată zilnic sau de mai multe ori zilnic, cum ar fi de două ori zilnic. În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, cel puțin un compus ales dintre Compusul II, derivații deuterati ai Compusului II, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, cel puțin un compus ales dintre Compusul III, derivații deuterati ai Compusului III, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului III este Compusul III-d.

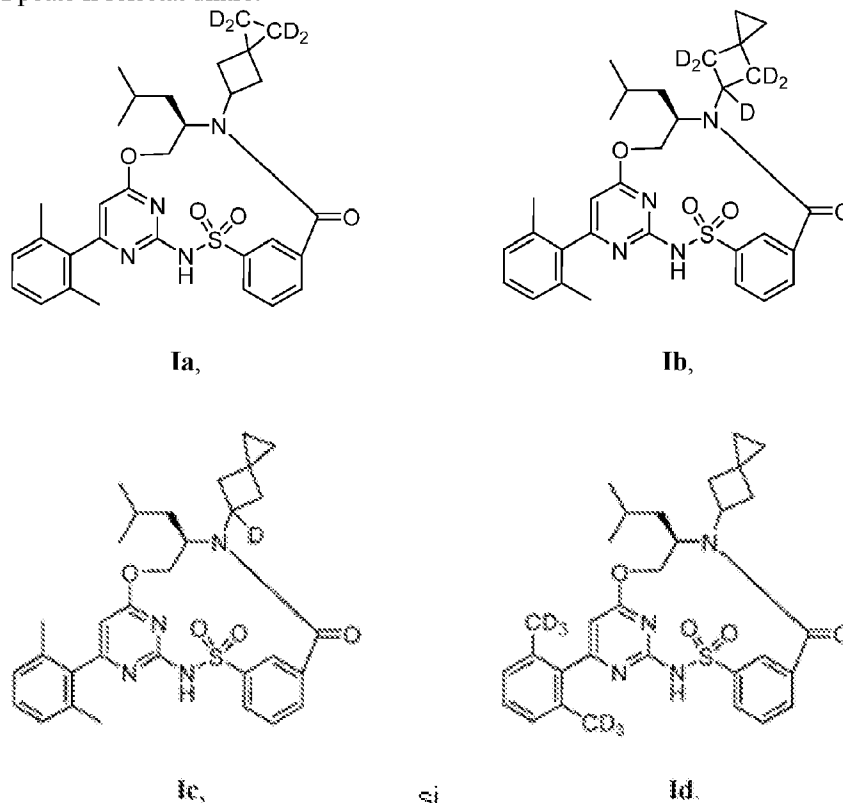
În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, cel puțin un compus ales dintre Compusul IV, derivații deuterati ai Compusului IV, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând (a) cel puțin un compus ales dintre Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, (b) cel puțin un compus ales dintre Compusul II și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, (c) cel puțin un compus ales dintre Compusul III, Compusul III-d, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, și (d) cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

În unele realizări, divulgarea prezintă o compoziție farmaceutică cuprinzând (a) cel puțin Compusul I, derivați deuterati ai Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutic ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, (b) cel puțin un compus ales dintre Compusul III, Compusul III-d, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, (c) cel puțin un compus ales dintre Compusul IV și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestuia, și (d) cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic.

În oricare din realizările descrise mai sus sau pe parcursul acestei descrieri, sarea farmaceutică a Compusului I poate fi o sare de potasiu. În oricare din realizările descrise mai sus sau pe parcursul acestei descrieri, sarea farmaceutică a Compusului I poate fi o sare de sodiu. În oricare din realizările descrise mai sus sau pe parcursul acestei descrieri, sarea farmaceutică a Compusului I poate fi o sare de calciu.

În oricare din realizările descrise mai sus sau pe parcursul specificației, derivatul deuterat al Compusului I poate fi selectat dintre:



În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului I este Compusul Ia sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului I este Compusul Ib sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului I este Compusul Ic sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări, derivatul deuterat al Compusului I este Compusul Id sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Oricare din realizările descrise mai sus pot cuprinde cel puțin un ingredient suplimentar activ farmaceutic. În unele realizări, acel cel puțin un ingredient suplimentar activ farmaceutic este un modulator CFTR. În unele realizări, acel cel puțin un ingredient suplimentar activ farmaceutic este un corector CFTR. În unele realizări, acel cel puțin un ingredient suplimentar activ farmaceutic este un potențiator CFTR.

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

Cum s-a descris mai sus, compozițiile farmaceutice divulgate aici pot cuprinde cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic. Acel cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic poate fi ales dintre adjuvanți și vehicule. Acel cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic, așa cum s-a utilizat în acest document, include oricare și toți solvenții, diluanții, alte vehicule lichide, adjuvanți de dispersie, adjuvanți de suspensie, agenți activi de suprafață, agenți izotonici, agenți de îngroșare, agenți de emulsionare, conservanți, lianți solizi, și lubrifianți, surfactanți, dezintegranti, și umpluturi ca adecvate la forma de dozare particulară dorită. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, a 21-a ediție, 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, and Enciclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick și 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 compuşii acestei divulgări, cum ar fi prin producerea oricărui efect biologic nedorit sau altfel prin interacțiunea într-o manieră dăunătoare cu orice altă componentă a compoziției farmaceutice, utilizarea sa este avută în vedere ca fiind în domeniul acestei divulgări. Exemplele nelimitative de purtători adecvați acceptabili farmaceutic includ, dar nu sunt limitate la, schimbătoare de ioni, alumină, stearat de aluminiu, lecitină, proteine serice (cum ar fi albumina din serul uman), substanțe tampon (cum ar fi fosfați, glicină, acid sorbic, și sorbat de potasiu), amestecuri parțiale de gliceride de acizi grași vegetali saturați, apă, săruri, și electroliți (cum ar fi sulfatul de protamină, fosfatul de acid disodic, fosfatul de acid potasic, clorură de sodiu, și săruri de zinc), siliciu coloidal, 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 amidonul din porumb și amidonul din cartofi), celuloză și derivații săi (cum ar fi carboximetil celuloză de sodiu, etil celuloză și acetat de celuloză), pulbere de tragacant, malț, gelatină, talc, excipienți (cum ar fi untul de cacao și cerurile pentru supozitoare), uleiuri (cum ar fi uleiul de arahide, uleiul din semințe de bumbac, uleiul de șofrănel, uleiul de susan, uleiul de măsline, uleiul de porumb și uleiul de soia), glicoli (cum ar fi propilen glicolul și polietilen glicolul), esteri (cum ar fi oleatul de etil și lauratul de etil), agar, agenți de tamponare (cum ar fi hidroxidul de magneziu și hidroxidul de aluminiu), acid alginic, apă aprotogenă, soluție salină izotonică, soluție Ringer, alcool etilic, soluții tamponate cu fosfat, lubrifianti netoxici compatibili (cum ar fi stearatul de magneziu), surfactanți (cum ar fi lauril sulfatul de sodiu), agenți de colorare, agenți de eliberare, agenți de acoperire, agenți de îndulcire, agenți de aromatizare, agenți de parfumare, conservanți, și antioxidanți.

Se va aprecia de asemenea că o compoziție farmaceutică a acestei divulgări, incluzând o compoziție farmaceutică care cuprinde oricare din combinațiile descrise anterior, poate fi utilizată în terapii de combinație; ceea ce înseamnă că, compozițiile pot fi administrate concomitent cu, înainte de, sau ulterior cel puțin unui ingredient activ farmaceutic sau unei proceduri medicale. Compozițiile farmaceutice cuprinzând Compusul I, derivați deuterati ai Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutice ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, și opțional incluzând oricare din combinațiile descrise mai sus pot fi utilizate pentru a trata CF.

Orice compoziții farmaceutice adecvate cunoscute în domeniu pot fi utilizate pentru Compusul I, derivații deuterati ai Compusului I, și sărurile acceptabile farmaceutice ale Compusului I sau ale derivaților săi deuterati, Compusul II, Compusul III, Compusul III-d, Compusul IV, și sărurile acceptabile farmaceutice ale acestora. Unele compoziții farmaceutice exemplificative pentru Compusul II și sărurile sale acceptabile farmaceutice pot fi găsite în WO 2011/119984, WO 2014/014841, și WO 2015/160787. Unele compoziții farmaceutice exemplificative pentru Compusul III și sărurile sale acceptabile farmaceutice pot fi găsite în WO 2007/134279, WO 2010/019239, WO 2011/019413, WO 2012/027731, și WO 2013/130669. Unele compoziții farmaceutice exemplificative pentru Compusul III-d și sărurile sale acceptabile farmaceutice pot fi găsite în WO 2017/053455 și WO 2018/080591. Unele compoziții farmaceutice exemplificative pentru Compusul IV și sărurile sale acceptabile farmaceutice pot fi găsite în WO 2010/037066, WO 2011/127241, WO 2013/112804, și WO 2014/071122.

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

Aceste combinații sunt utile pentru tratarea CF cauzată de o mutație în gena CFTR.

O mutație CFTR poate afecta cantitatea CFTR, adică, numărul de canale CFTR la suprafața celulei, sau ea poate impacta funcționarea CFTR, adică, capacitatea funcțională a fiecărui canal de a deschide și transporta ioni. Mutațiile care afectează cantitatea de CFTR includ mutații care cauzează sinteză defectuoasă (defect de clasă I), mutații care cauzează procesare și trafic defectuoase (defect de clasă II), mutații care cauzează sinteză redusă a CFTR (defect de clasă V), și mutații care reduc stabilitatea suprafeței CFTR (defect de clasă VI). Mutațiile care afectează funcționarea CFTR includ mutații care cauzează deschidere defectuoasă (defect de clasă III) și mutații care cauzează conductanță defectuoasă (defect de clasă IV). Unele mutații CFTR prezintă caracteristici ale mai multor clase.

În unele realizări, sunt divulgate în acest document metode pentru tratarea, atenuarea severității, sau tratarea simptomatică a CF la un pacient cuprinzând administrarea unei cantități eficiente dintr-un compus, sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, sau analog deuterat al oricarora dintre cele anterioare; sau o compoziție farmaceutică a acestei divulgări la un pacient, cum ar fi un om, în care pacientul are CF. În unele realizări, pacientul are un genotip F508del/funcționare minimă (MF), un genotip F508del/F508del (homozigot pentru mutația F508del), un genotip F508del/deschidere, sau un genotip F508del/funcționare reziduală (RF). În unele realizări, pacientul este heterozigot pentru mutația F508del.

Așa cum s-a utilizat în acest document, „mutațiile de funcționare minimă (MF)” se referă la mutațiile genei CFTR asociate cu funcționarea minimă CFTR (funcționarea mică până la nici una a proteinei CFTR) și include, de exemplu, mutațiile asociate cu defectele severe în capacitatea canalului

CFTR de a se deschide și închide (cunoscută ca deschiderea defectuoasă a canalului sau „mutații de deschidere”); mutațiile asociate cu defectele severe din procesarea celulară a CFTR și livrarea acestuia la suprafața celulei; mutațiile asociate fără (sau cu o minimă) sinteză CFTR; și mutațiile asociate cu defecte severe în conductanța canalului.

- 5 În unele realizări, pacientul are o mutație F508del pe o alelă și o mutație pe celelate alele selectată din Tabelul 2.

**Tabelul 2. Mutații CFTR**

Mutație				
Q2X	L218X	Q525X	R792X	E1104X
S4X	Q220X	G542X	E822X	W1145X
W19X	Y275X	G550X	W882X	R1158X
G27X	C276X	Q552X	W846X	R1162X
Q39X	Q290X	R553X	Y849X	S1196X
W57X	G330X	E585X	R851X	W1204X
E60X	W401X	G673X	Q890X	L1254X
R75X	Q414X	Q685X	S912X	S1255X
L88X	S434X	R709X	Y913X	W1282X
E92X	S466X	K710X	Q1042X	Q1313X
Q98X	S489X	Q715X	W1089X	Q1330X
Y122X	Q493X	L732X	Y1092X	E1371X
E193X	W496X	R764X	W1098X	Q1382X
W216X	C524X	R785X	R1102X	Q1411X
185+1G→T	711+5G→A	1717-8G→A	2622+1G→A	3121-1G→A
296+1G→A	712-1G→T	1717-1G→A	2790-1G→C	3500-2A→G
296+1G→T	1248+1G→A	1811+1G→C	3040G→C	3600+2insT
405+1G→A	1249-1G→A	1811+1,6kba→G	(G970R)	3850-1G→A
405+3A→C	1341+1G→A	1811+1643G→T	3120G→A	4005+1G→A
406-1G→A	1525-2A→G	1812-1G→A	3120+1G→A	4374+1G→T
621+1G→T	1525-1G→A	1898+1G→A	3121-2A→G	
711+1G→T		1898+1G→C		
182delT	1078delT	1677delTA	2711delT	3737delA
306insA	1119delA	1782delA	2732insA	3791delC
306delTAGA	1138insG	1824delA	2869insG	3821delT
365-366insT	1154insTC	1833delT	2896insAG	3876delA
394delITT	1161delC	2043delG	2942insT	3878delG
442delA	1213delT	2143delT	2957delT	3905insT
444delA	1259insA	2183AA→G	3007delG	4016insT
457TAT→G	1288insTA	2184delA	3028delA	4021dupT
541delC	1343delG	2184insA	3171delC	4022insT
574delA	1471delA	2307insA	3171insC	4040delA
663delT	1497delGG	2347delG	3271delGG	4279insA
849delG	1548delG	2585delT	3349insT	4326delTC
935delA	1609del CA	2594delGT	3659delC	

Mutație			
CFTRdele1 CFTRdele2		CFTRdele16-17b CFTRdele17a,17b	1461ins4 1924del7
CFTRdele2,3		CFTRdele17a-18	2055del9→A
CFTRdele2-4		CFTRdele19	2105- 2117del13insAGAAA
CFTRdele3-10,14b-16		CFTRdele19-21	2372del8
CFTRdele4-7		CFTRdele21	2721del11
CFTRdele4-11		CFTRdele22-24	2991del32
CFTR50kbdel		CFTRdele22,23	3667ins4
CFTRdup6b-10		124del23bp	4010del4
CFTRdele11		602del14	4209TGTT→AA
CFTRdele13,14a		852del22	
CFTRdele14b-17b		991del5	
A46D	V520F	Y569D	N1303K
G85E	A559T	L1065P	
R347P	R560T	R1066C	
L467P	R560S	L1077P	
I507del	A561E	M1101K	

În unele realizări, compozițiile divulgate în acest document sunt utile pentru tratarea sau atenuarea severității CF la pacienții 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 CF la pacienții cu anumite fenotipuri clinice, de exemplu, un fenotip clinic ușor până la moderat care de obicei se corelează cu cantitatea de activitate CFTR reziduală din membrana apicală a epitelului. Astfel de fenotipuri includ pacienții 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 absența bilaterală congenitală a vasului deferent, sau boală pulmonară ușoară, în care pacientul prezintă activitate CFTR reziduală.

15 În unele realizări, această divulgare se referă la o metodă de sporire 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 clorurat sau un canal bicarbonat. În unele realizări, canalul anionic este un canal clorurat.

20 Cantitatea exactă a unei compoziții farmaceutice necesare va varia de la subiect la subiect, depinzând de specii, vârstă, și afecțiunea generală a subiectului, severitatea bolii, agentul particular, modul său de administrare, și altele asemenea. Compușii acestei divulgări pot fi formulați în forme unitare de dozare pentru ușurința administrării și uniformitatea dozajului. Expresia „formă unitară de dozare” așa cum s-a utilizat în acest document se referă la o unitate discretă fizic a agentului adecvat pentru pacientul care trebuie tratat. Se va înțelege, totuși, că utilizarea zilnică totală a compușilor și compozițiilor acestei divulgări va fi decisă de către medicul curant în cadrul raționamentului medical. Nivelul dozei eficiente specifice pentru orice pacient particular sau organism va depinde de o varietate de

25 factori incluzând tulburarea care este tratată și severitatea tulburării; 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 simultan cu compusul specific utilizat, și factori asemănători bine cunoscuți în domeniul medical.

30 În unele realizări, divulgarea este direcționată de asemenea spre metode de tratament care utilizează derivați marcați izotopic ai compușilor anterior menționați, care au aceleași structuri cum s-a divulgat aici cu excepția faptului că unul sau mai mulți atomi ai acestora au fost înlocuiți cu un atom sau

atomi având o masă atomică sau număr de masă care diferă față de masa atomică sau față de numărul de masă ale atomului care apare uzual natural (marcat izotopic). Exemplele de izotopi care sunt disponibili comercial și adecvați pentru divulgare includ izotopi de hidrogen, carbon, azot, oxigen, fosfor, fluor și clor, de exemplu  $2\text{H}$ ,  $3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ , și respectiv  $^{36}\text{Cl}$ .

5 Compușii marcați izotopic și sărurile pot fi utilizate într-un număr de modalități benefice. Ei pot fi adecvați pentru medicamente și/sau diferite tipuri de teste, cum ar fi testele de distribuție a țesutului substratului. De exemplu, compușii marcați cu tritium ( $^3\text{H}$ )- și/sau carbon-14 ( $^{14}\text{C}$ ) sunt în special utili pentru diferite tipuri de teste, cum ar fi testele de distribuție a țesutului substratului, din cauza preparării relativ simple și excelenței detectabilități. De exemplu, cei marcați cu deuteriu ( $^2\text{H}$ )- sunt utili terapeutic

10 cu potențiale avantaje terapeutice față de compușii marcați cu non- $^2\text{H}$ -. În general, compușii marcați cu deuteriu ( $^2\text{H}$ ) și sărurile pot avea stabilitate metabolică mai ridicată în comparație cu cei care nu sunt marcați izotopic din cauza efectului izotopic cinetic descris mai jos. Stabilitatea metabolică mai ridicată se translatează direct într-o perioadă de înjumătățire crescută *in vivo* sau în doze mai scăzute, ceea ce ar putea fi de dorit. Compușii marcați izotopic și sărurile pot fi preparați uzual prin efectuarea procedurilor

15 divulgate în schemele de sinteză și descrierea asociată, în partea de exemple și în partea de preparare din prezentul document, înlocuind un reactiv marcat non-izotopic cu un reactiv marcat izotopic, disponibil cu ușurință.

În unele realizări, compușii marcați izotopic și sărurile sunt unii marcați cu deuteriu (marcați cu ( $^2\text{H}$ )). În unele realizări specifice, compușii marcați izotopic și sărurile sunt marcate cu deuteriu, în care unul sau mai mulți atomi de hidrogen ai acestora au fost înlocuiți cu deuteriu. În structurile chimice, deuteriul este reprezentat ca „ $^2\text{H}$ ” sau „D.”

20

Compușii marcați cu deuteriu și sărurile pot manipula metabolismul oxidativ al compusului pe calea efectului izotopic cinetic primar. Efectul izotopic cinetic primar este o modificare a ratei pentru o reacție chimică care rezultă din schimbul nucleelor izotopice, care la rândul său este cauzat de schimbul

25 energiilor stării fundamentale necesar pentru formarea legăturii covalente după acest schimb izotopic. Schimbul unui izotop mai greu conduce uzual la o scădere a energiei stării fundamentale pentru o legătură chimică și astfel cauzează o reducere a ruperii legăturii care limitează viteza. Dacă ruperea legăturii are loc în, sau în vecinătatea unei regiuni a punctului sa de-a lungul coordonatei unei reacții cu mai multe produse, rata de distribuție a produselor poate fi alterată substanțial. Pentru explicație: dacă deuteriul este

30 legat la un atom de carbon la o poziție non-schimbabilă, diferențele de viteză de  $k_M/k_D = 2-7$  sunt tipice. Pentru o discuție suplimentară, vezi 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 drug” J. Med. Chem. 2014, 57, 3595-3611.

În compușii din această divulgare, orice atom denumit nespecific ca izotop particular, se înțelege că reprezintă orice izotop stabil al aceluși atom. Dacă nu se afirmă altfel, când o poziție este denumită

35 specific ca „H” sau „hidrogen”, se înțelege că poziția are hidrogen în compoziția sa izotopică de abundență naturală.

Concentrația de izotopi (de exemplu, deuteriu) încorporați în compușii marcați izotopic și sărurile 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 ale unui izotop specificat. În unele realizări, dacă un substituent dintr-un compus

40 din divulgare este denumit deuteriu, un astfel de compus are un factor de îmbogățire izotopică pentru fiecare atom de deuteriu desemnat de cel puțin 3500 (52,5% încorporare de deuteriu la fiecare atom de deuteriu desemnat), de cel puțin 4000 (60% încorporare de deuteriu), de cel puțin 4500 (67,5%

45 încorporare de deuteriu), de cel puțin 5000 (75% încorporare de deuteriu), de cel puțin 5500 (82,5% încorporare de deuteriu), de cel puțin 6000 (90% încorporare de deuteriu), de cel puțin 6333,3 (95% încorporare de deuteriu), de cel puțin 6466,7 (97% încorporare de deuteriu), de cel puțin 6600 (99% încorporare de deuteriu), sau de cel puțin 6633,3 (99,5% încorporare de deuteriu).

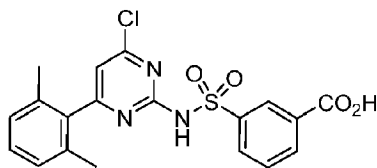
Când se descoperă și se dezvoltă agenții terapeutici, persoana calificată în domeniu încearcă să optimizeze parametrii farmacocinetici în timp ce menține proprietățile dorite *in vitro*. Poate fi rezonabil să se presupună că mulți compuși cu profile farmacocinetice slabe sunt susceptibili la metabolismul oxidativ.

50

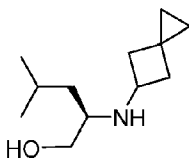
Cineva având calificare obișnuită în domeniu ar înțelege că deuterarea uneia sau mai multor poziții labile metabolic pe un compus sau metabolit activ poate conduce la îmbunătățirea uneia sau mai

55 multor proprietăți DMPK superioare în timp ce se menține activitate biologică, în comparație cu analogii hidrogen corespunzători. Proprietatea sau proprietățile DMPK superioare pot avea un impact asupra expunerii, perioadei de înjumătățire, eliminării, metabolismului, și/sau chiar a necesităților de alimentație pentru absorbția optimă a produsului medicamentos. Deuterarea poate modifica de asemenea metabolismul la alte poziții nedeuterate ale compusului deuterat.

Divulgarea furnizează un proces pentru prepararea Compusului **I**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **8**:

**8**

cu compusul **3**:

**3**

5

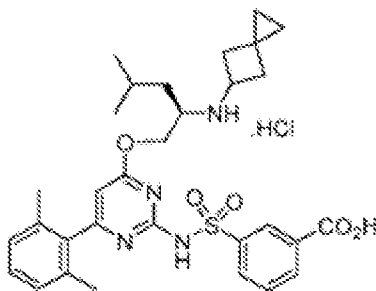
și o bază și agent de cuplare pentru a produce Compusul **I**.

În unele realizări, baza este *terț*-butoxid de sodiu.

În unele realizări, agentul de cuplare este HATU.

Divulgarea furnizează un proces alternativ pentru prepararea Compusului **I**, cuprinzând:

- 10 a) punerea în reacție a unui compus **8** și a compusului **3** cu o bază, și ulterior tratamentul cu HCl pentru a produce compusul **9**:

**9; și**

- b) punerea în reacție a unui compus **9** cu o bază și agent de cuplare pentru a produce Compusul **I**.

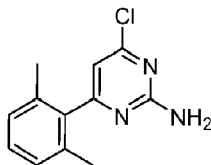
În unele realizări, baza din etapa a) este *terț*-butoxid de sodiu.

În unele realizări, baza din etapa b) este trietilamină.

În unele realizări, agentul de cuplare este HATU.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **8**, cuprinzând:

- a) punerea în reacție a unui compus **7**:

**7**

- 20 cu 3-clorosulfonilbenzoat de metil și o primă bază, urmând tratamentul cu o a doua bază, urmată de tratarea amestecului de reacție cu un acid pentru a produce compusul **8**.

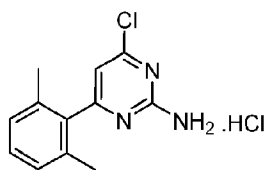
În unele realizări, prima bază este *terț*-amoxid de litiu.

În unele realizări, cea de a doua bază este hidroxid de sodiu.

În unele realizări, acidul este HCl.

- 25 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **7**, cuprinzând tratarea compusului **7·HCl**:

16

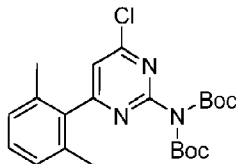


7·HCl

cu o bază pentru a produce compusul 7.

În unele realizări, baza este hidroxid de sodiu.

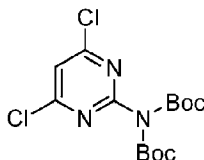
- 5 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului 7·HCl, cuprinzând punerea în reacție a unui compus 6:



6

cu HCl pentru a produce compusul 7·HCl.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului 6, cuprinzând punerea în reacție a unui compus 5:



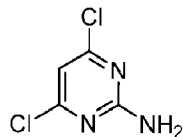
5

- 10 cu acid 2,6-dimetilfenilboronic, un catalizator metallic de tranziție, și o bază pentru a produce compusul 6.

În unele realizări, catalizatorul metallic de tranziție este Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.

În unele realizări, baza este carbonat de cesiu.

- 15 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului 5, cuprinzând punerea în reacție a unui compus 4:

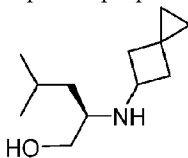


4

cu Boc<sub>2</sub>O și o bază pentru a produce compusul 5.

În unele realizări, baza este DMAP.

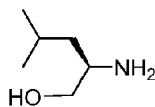
Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului 3:



3,

- 20 cuprinzând:

a) punerea în reacție a unui compus 1:

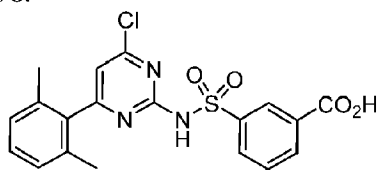


1

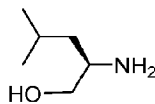
cu compusul 2:



a) punerea în reacție a unui compus **8**:

**8**

cu compusul **1**:

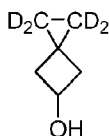
**1**

5 și o bază și

b) punerea în reacție produsului din etapa a) cu  $\text{Boc}_2\text{O}$  pentru a produce compusul **18**.

În unele realizări, baza este *tert*-butoxid de sodiu.

Divulgarea furnizează un proces pentru prepararea compusului **17**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **16**:

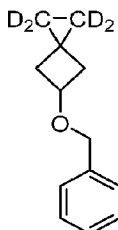
**16**

10

cu un oxidant pentru a produce compusul **17**.

În unele realizări, oxidantul este  $\text{CrO}_3$ /piridină.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **16**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **15**:

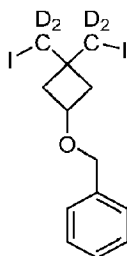
**15**

15

cu  $\text{H}_2$  și un catalizator metalic de tranziție pentru a produce compusul **16**.

În unele realizări, catalizatorul metalic de tranziție este paladiu pe carbon.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **15**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **14**:

**14**

20

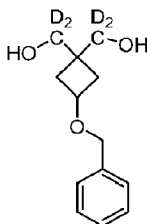
cu un agent reducător pentru a produce compusul **15**.

În unele realizări, agentul reducător este Zn.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **14**, cuprinzând:

a) punerea în reacție a unui compus **13**:

19

**13**

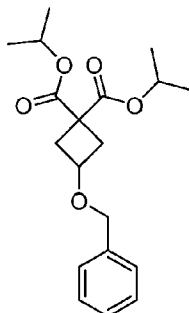
cu o clorură sulfonil și o bază, și

b) punerea în reacție a produsului din etapa a) cu o sursă de iodură pentru a produce compusul **14**.

În unele realizări, clorura de sulfonil este clorura de metansulfonil.

5 În unele realizări, sursa de iodură este iodură de sodiu.

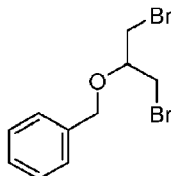
Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **13**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **12**:

**12**

cu un agent reducător pentru a produce compusul **13**.

10 În unele realizări, agentul reducător este  $\text{LiAlD}_4$ .

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **12**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **11**:

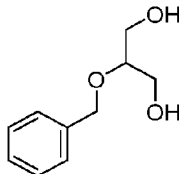
**11**

cu un dialchilmalonat și o bază pentru a produce compusul **12**.

15 În unele realizări, dialchilmalonatul este propandioat de diizopropil.

În unele realizări, baza este hidrură de sodiu.

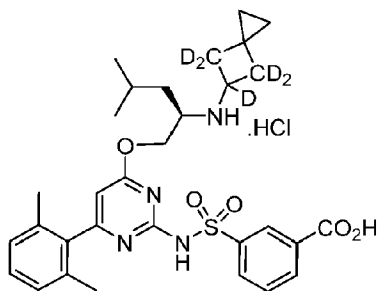
Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **11**, cuprinzând transformarea compusului **10**:

**10**

20 în compusul **11**.

În unele realizări, conversia compusului **10** în compusul **11** este efectuată cu  $\text{CBr}_4$  și  $\text{PPh}_3$ .

Divulgarea furnizează un proces pentru prepararea Compusului **1b**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **22**:

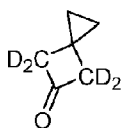
**22**

cu o bază și un agent de cuplare pentru a produce Compusul **Ib**.

În unele realizări, baza este DIEA.

În unele realizări, agentul de cuplare este HATU.

- 5 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **22**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **19** cu compusul **21**:

**21**

și un agent reducător pentru a produce compusul **22**.

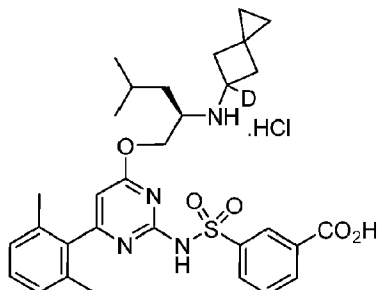
În unele realizări, agentul reducător este NaBD<sub>3</sub>CN.

- 10 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **21**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **2** cu o bază și o sursă de deuteriu pentru a produce compusul **21**.

În unele realizări, baza este carbonat de potasiu.

În unele realizări, sursa de deuteriu este D<sub>2</sub>O.

- 15 Divulgarea furnizează un proces pentru prepararea Compusului **Ic**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **23**:

**23**

cu o bază și un agent de cuplare pentru a produce Compusul **Ic**.

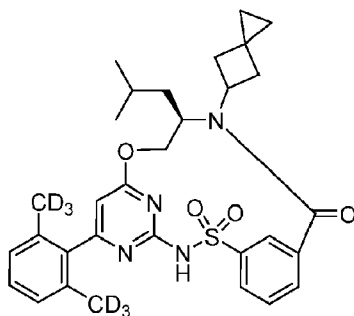
În unele realizări, baza este DIEA.

În unele realizări, agentul de cuplare este HATU.

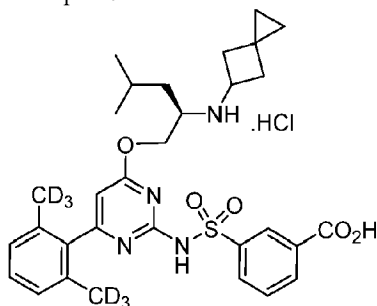
- 20 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **23**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **19** cu compusul **2** și un agent reducător pentru a produce compusul **23**.

În unele realizări, agentul reducător este NaBD<sub>3</sub>CN.

Divulgarea furnizează un proces pentru prepararea Compusului **Id**:

**1d,**

cuprinzând punerea în reacție a unui compus **35**:

**35**

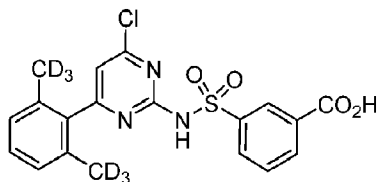
cu o bază și un agent de cuplare pentru a produce Compusul **1d**.

5

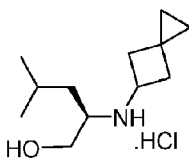
În unele realizări, baza este DIEA.

În unele realizări, agentul de cuplare este COMU.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **35**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **34**:

**34**

10 cu compusul **3·HCl**:

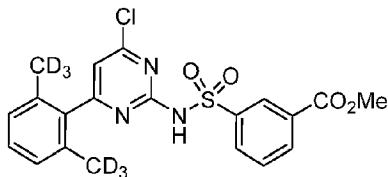
**3·HCl**

și o bază pentru a produce compusul **35**.

În unele realizări, baza este *tert*-butoxid de sodiu.

15

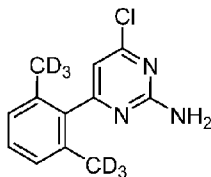
Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **34**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **33**:

**33**

cu o bază pentru a produce compusul **34**.

În unele realizări, baza este hidroxid de sodiu.

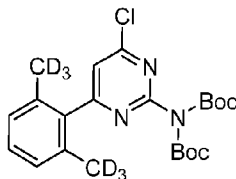
Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **33**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **32**:

**32**

cu 3-clorosulfonilbenzoat de metil și o bază pentru a produce compusul **33**.

5 În unele realizări, baza este *tert*-amoxid de litiu.

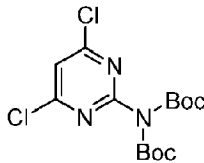
Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **32**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **31**:

**31**

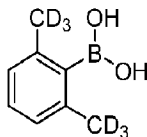
cu un acid pentru a produce compusul **32**.

10 În unele realizări, acidul este HCl.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **31**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **5**:

**5**

cu compusul **30**:

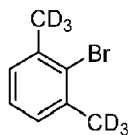
**30**

15 și cu un catalizator metalic de tranziție și o bază pentru a produce compusul **31**.

În unele realizări, baza este carbonat de cesiu.

În unele realizări, catalizatorul metalic de tranziție este Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.

20 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **30**, cuprinzând a) transformarea compusului **29**:

**29**

în derivat aril de iodură de magneziu,

b) punerea în reacție a produsului din etapa a) cu un borat de trialchil, și

c) punerea în reacție a produsului din etapa b) cu un acid pentru a produce compusul **30**.

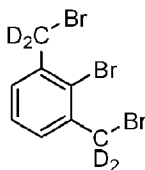
25 În unele realizări, etapa a) este efectuată cu Mg și I<sub>2</sub>.

În unele realizări, boratul de trialchil este borat de trimetil.

În unele realizări, acidul este HCl.

Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **29**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **28**:

23



28

cu un agent reducător pentru a produce compusul **29**.

În unele realizări, agentul reducător este  $\text{LiAlD}_4$ .

5 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **28**, cuprinzând transformarea compusului **27**:

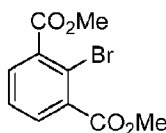


27

în compusul **28**.

În unele realizări, conversia compusului **27** în compusul **28** este efectuată cu  $\text{CBr}_4$  și  $\text{PPh}_3$ .

10 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **27**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **26**:



26

cu un agent reducător pentru a produce compusul **27**.

În unele realizări, agentul reducător este  $\text{LiAlD}_4$ .

15 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **26**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **25**:



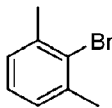
25

cu o bază și un agent de alchilare pentru a produce compusul **26**.

În unele realizări, baza este carbonat de potasiu.

În unele realizări, agentul de alchilare este iodometan.

20 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **25**, cuprinzând punerea în reacție a unui compus **24**:



24

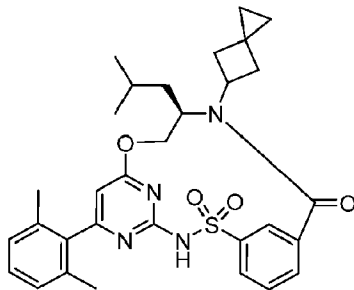
cu un oxidant pentru a produce compusul **25**.

În unele realizări, oxidantul este permanganat de potasiu.

25 Divulgarea mai furnizează un proces pentru prepararea compusului **3·HCl**, cuprinzând tratarea compusului **3** cu  $\text{HCl}$  pentru a produce compusul **3·HCl**.

Realizările exemplificative din divulgare includ:

1. un compus selectat dintre Compusul **I**:

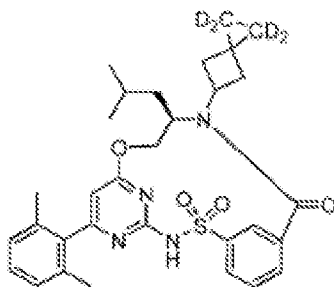
**I,**

derivați deuterai ai Compusului **I**, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestora.

2. Compusul din realizarea 1, în care compusul este Compusul **I**.

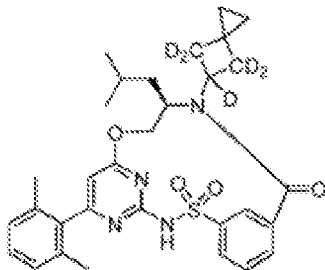
3. Compusul din realizarea 1, în care derivatul deuterat al Compusului **I** este selectat dintre:

Compusul **1a**:

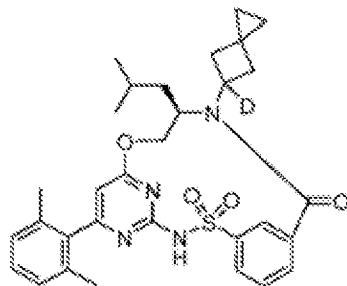
**1a,**

5

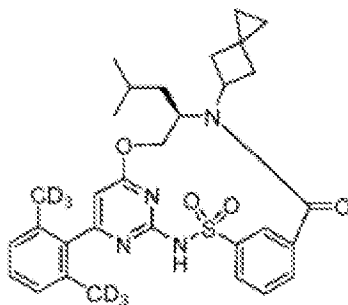
Compusul **1b**:

**1b,**

Compusul **1c**:

**1c,**

Compusul **Ia**:

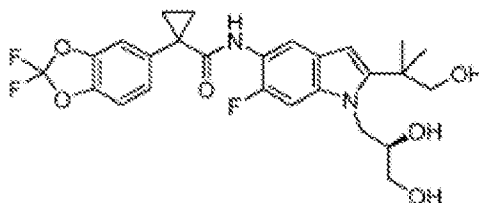


**Ia**,

și săruri acceptabile farmaceutic ale acestora.

4. Compusul din realizarea 1 sau 2, în care compusul este o sare de potasiu.
5. Compusul din realizarea 1 sau 2, în care compusul este o sare de sodiu.
6. Compusul din realizarea 1 sau 2, în care compusul este o sare de calciu.
7. O metodă de tratare a tulburării mediate de CFTR, cuprinzând administrarea unei cantități eficiente de compus din oricare dintre realizările 1 până la 6 la un pacient care are nevoie de aceasta.
8. Metoda din realizarea 7, în care tulburarea mediată de CFTR este CF.
9. Metoda din realizarea 7, în care compusul este Compusul **I** sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.
10. Metoda din oricare dintre realizările 7 până la 9, cuprinzând în plus administrarea unuia sau mai multor compuși selectați dintre:

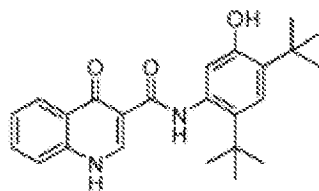
Compusul **Ib**:



**Ib**,

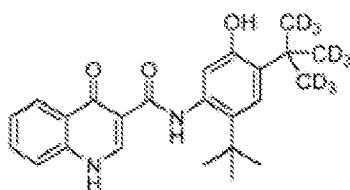
15

Compusul **III**:



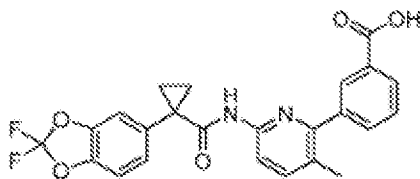
**III**,

Compusul **III-d**:



**III-d**, și

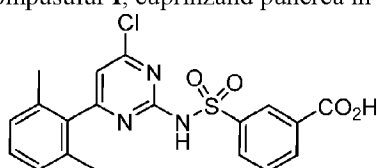
Compusul IV:



IV,

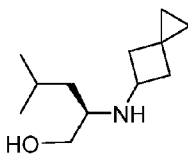
și săruri acceptabile farmaceutic ale compușilor II, III, III-d, și IV.

11. Metoda din realizarea 10, cuprinzând administrarea Compusului I și Compusului III sau Compusului III-d.
- 5 **III-d.**
12. Metoda din realizarea 10, cuprinzând administrarea Compusului I, Compusului II, și Compusului III sau Compusului III-d.
13. Un proces pentru prepararea Compusului I, cuprinzând punerea în reacție a unui compus 8:



8

- 10 cu compusul 3:

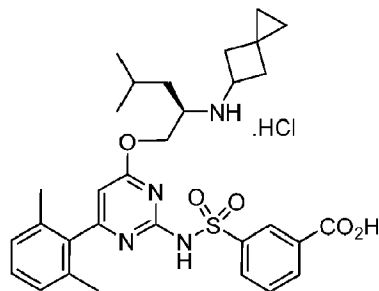


3

pentru a produce Compusul I.

14. Un proces pentru prepararea Compusului I, cuprinzând:

- 15 a) punerea în reacție a unui compus 8 cu compusul 3, și tratamentul ulterior cu HCl pentru a produce compusul 9:

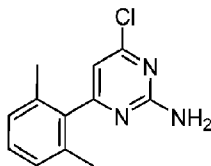


9,

și

b) transformarea compusului 9 în Compusul I.

- 20 15. Procesul din realizarea 13 sau 14, în care compusul 8 este preparat prin:
- a) punerea în reacție a unui compus 7:



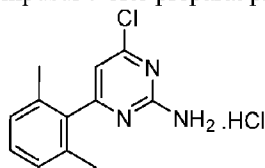
7

cu 3-clorosulfonilbenzoat de metil și o primă bază,

b) tratamentul cu o a doua bază, și

c) tratarea amestecului de reacție cu HCl pentru a produce compusul **8**.

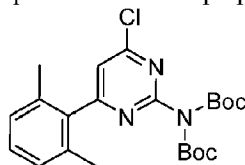
16. Procesul din realizarea 15, în care compusul **7** este preparat prin transformarea compusului **7·HCl**:



**7·HCl**

5 în compusul **7**.

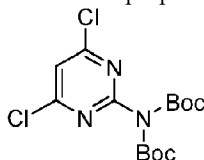
17. Procesul din realizarea 16, în care compusul **7·HCl** este preparat prin transformarea compusului **6**:



**6**

în compusul **7·HCl**.

18. Procesul din realizarea 17, în care compusul **6** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **5**:

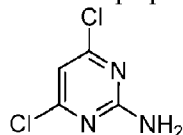


**5**

10

cu acidul 2,6-dimetilfenilboronic pentru a produce compusul **6**.

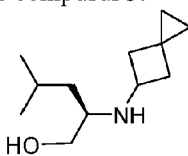
19. Procesul din realizarea 18, în care compusul **5** este preparat prin transformarea compusului **4**:



**4**

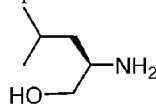
în compusul **5**.

15 20. Procesul din realizarea 13 sau 14, în care compusul **3**:



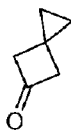
**3**

este preparat prin punerea în reacție a unui compus **1**:



**1**

cu compusul **2**:



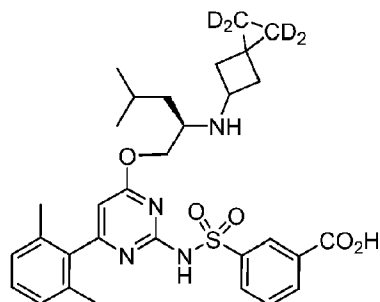
**2**

20

pentru a produce compusul **3**.

21. Un proces pentru prepararea Compusului **Ia**, cuprinzând transformarea compusului **20**:

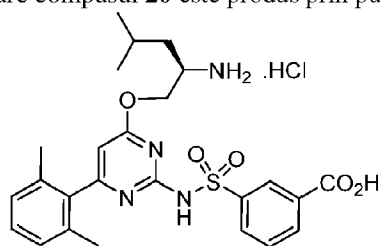
28



20

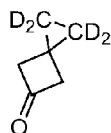
în Compusul **Ia**.

22. Procesul din realizarea 21, în care compusul **20** este produs prin punerea în reacție a unui compus **19**:



19

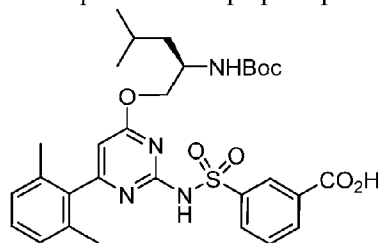
5 și a compusului **17**:



17

pentru a produce compusul **20**.

23. Procesul din realizarea 22, în care compusul **19** este preparat prin transformarea compusului **18**:

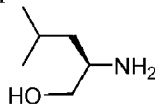


18

10 în compusul **19**.

24. Procesul din realizarea 23, în care compusul **18** este preparat prin:

a) punerea în reacție a unui compus **8** cu compusul **1**:

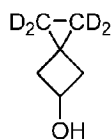


**1**

b) transformarea produsului din etapa a) în compusul **18**.

15 25. Procesul din realizarea 22, în care compusul **17** este preparat prin transformarea compusului **16**:

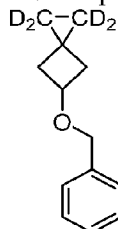
29



16

în compusul 17.

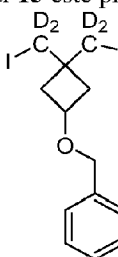
26. Procesul din realizarea 25, în care compusul 16 este preparat prin transformarea compusului 15:



15

5 în compusul 16.

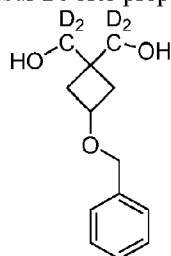
27. Procesul din realizarea 26, în care compusul 15 este preparat prin transformarea compusului 14:



14

în compusul 15.

28. Procesul din realizarea 27, în care compusul 14 este preparat prin transformarea compusului 13:

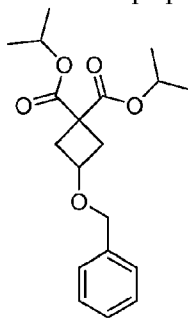


13

10

în compusul 14.

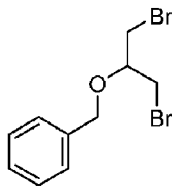
29. Procesul din realizarea 28, în care compusul 13 este preparat prin transformarea compusului 12:



12

în compusul 13.

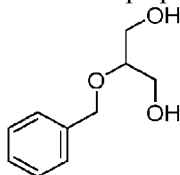
30. Procesul din realizarea 29, în care compusul **12** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **11**:



**11**

cu propandioat de diizopropil pentru a forma compusul **12**.

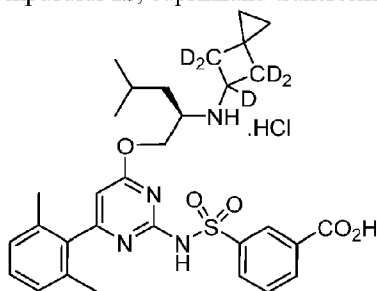
5 31. Procesul din realizarea 30, în care compusul **11** este preparat prin transformarea compusului **10**:



**10**

în compusul **11**.

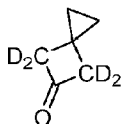
32. Un proces pentru prepararea Compusului **Ib**, cuprinzând transformarea compusului **22**:



**22**

10 în Compusul **Ib**.

33. Procesul din realizarea 32, în care compusul **22** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **19** cu compusul **21**:

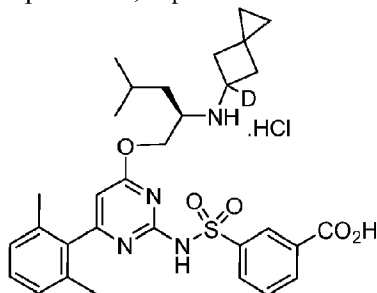


**21**

pentru a produce compusul **22**.

15 34. Procesul din realizarea 33, în care compusul **21** este preparat prin transformarea compusului **2** în compusul **21**.

35. Un proces pentru prepararea Compusului **Ic**, cuprinzând transformarea compusului **23**:

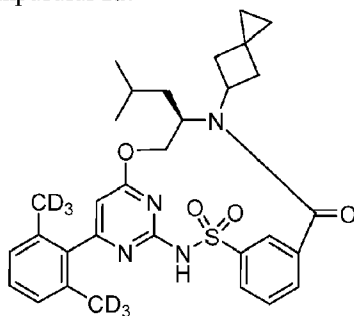


**23**

în Compusul **Ic**.

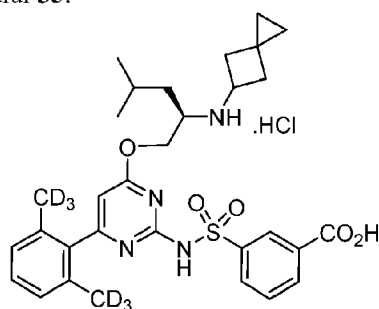
36. Procesul din realizarea 35, în care compusul **23** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **19** cu compusul **2** pentru a produce compusul **23**.

37. Un proces pentru prepararea Compusului **Id**:



**1d**,

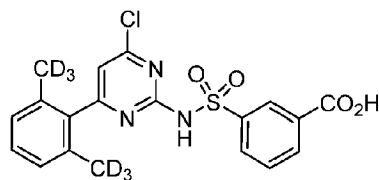
5 cuprinzând transformarea compusului **35**:



**35**

în Compusul **Id**.

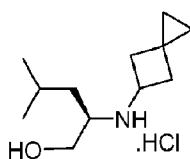
38. Procesul din realizarea 37, în care compusul **35** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **34**:



**34**

10

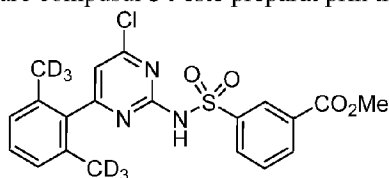
cu compusul **3·HCl**:



**3·HCl**

pentru a produce compusul **35**.

39. Procesul din realizarea 38, în care compusul **34** este preparat prin transformarea compusului **33**:



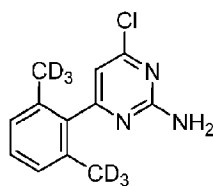
**33**

15

în compusul **34**.

40. Procesul din realizarea 39, în care compusul **33** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **32**:

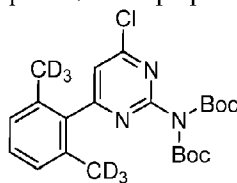
32



32

cu 3-clorosulfonilbenzoatul de metil pentru a produce compusul 33.

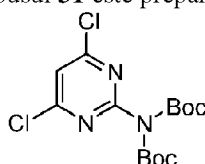
41. Procesul din realizarea 40, în care compusul 32 este preparat prin transformarea compusului 31:



31

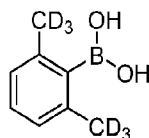
5 în compusul 32.

42. Procesul din realizarea 41, în care compusul 31 este preparat prin punerea în reacție a unui compus 5:



5

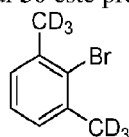
cu compusul 30:



30

10 pentru a produce compusul 31.

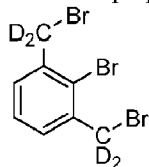
43. Procesul din realizarea 42, în care compusul 30 este preparat prin transformarea compusului 29:



29

în compusul 30.

44. Procesul din realizarea 43, în care compusul 29 este preparat prin transformarea compusului 28:

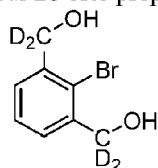


28

15

în compusul 29.

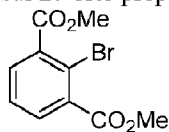
45. Procesul din realizarea 44, în care compusul 28 este preparat prin transformarea compusului 27:



27

în compusul **28**.

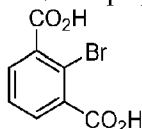
46. Procesul din realizarea 45, în care compusul **27** este preparat prin transformarea compusului **26**:



**26**

în compusul **27**.

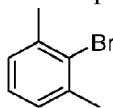
5 47. Procesul din realizarea 46, în care compusul **26** este preparat prin transformarea compusului **25**:



**25**

în compusul **26**.

48. Procesul din realizarea 47, în care compusul **25** este preparat prin transformarea compusului **24**:



**24**

10 în compusul **25**.

49. Procesul din realizarea 38, în care compusul **3·HCl** este preparat prin tratarea compusului **3** cu **HCl** pentru a produce compusul **3·HCl**.

#### **Exemple**

#### **Abrevieri**

15

Boc anhidridă ((Boc)<sub>2</sub>O): dicarbonat de di-terț-butil

DCM: diclorometan

DIEA (DIPEA): N,N-diizopropiletilamină

DMAP: 4-Dimetilaminopiridină

20

DMF: N,N-dimetilformamidă

DMSO: sulfoxid de dimetil

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

COMU: hexafluorofosfat de (1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenamino)dimetilamino-morfolino-carbeniu

MeOH: metanol

25

THF: tetrahidrofuran

EtOAc: acetat de etil

Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>: [1,1'-Bis(difenilfosfino)ferocen]dicloropaladiu(II)

MeTHF: 2-Metiltetrahidrofuran

#### **Metode analitice UPLC/HPLC generale**

30

**Metodă LC A:** UPLC analitică cu fază inversă utilizând o coloană Acquity UPLC BEH C18 (50 × 2,1 mm, particule de 1,7 μm) realizată de Waters (pn: 186002350), și o rulare cu gradient dual de la 1-99% fază mobilă B timp de 3,0 min. Fază mobilă A = H<sub>2</sub>O (0,05% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Fază mobilă B = CH<sub>3</sub>CN (0,035% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Debit = 1,2 mL/min, volum de injecție = 1,5 μL, și temperatura coloanei = 60°C.

35

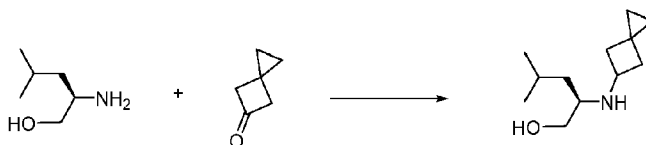
**Metodă LC B:** Coloană Merck Millipore Chromolith SpeedROD Cis (50 × 4,6 mm) și o rulare cu gradient dual de la 5 - 100% fază mobilă B timp de 6 min. Fază mobilă A = apă (0,1% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Fază mobilă B = acetonitril (0,1% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H).

**Metodă LC C:** Coloană Merck Millipore Chromolith SpeedROD Cis (50 × 4,6 mm) și o rulare cu gradient dual de la 5 - 100% fază mobilă B timp de 12 min. Fază mobilă A = apă (0,1% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H). Fază mobilă B = acetonitril (0,1% CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H).

40

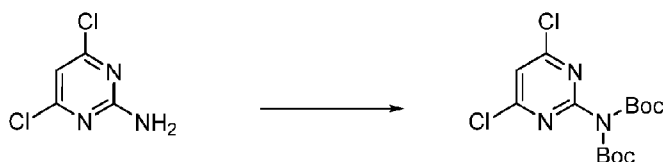
**Exemplul 1: Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8] nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-trionă I (Compus I)**

**Sinteză de (2R)-4-Metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-ol (3)**



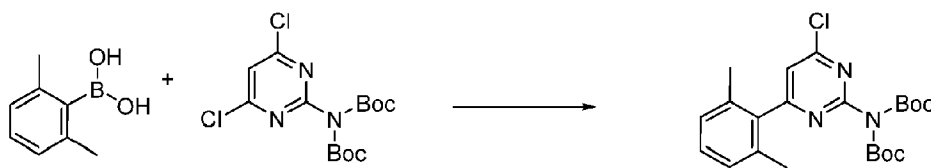
Un amestec de spiro [2,3]hexan-5-onă (100 g, 1,040 mol) și (2R)-2-amino-4-metil-pentan-1-ol (123,5 g, 1,054 mol) în dicloroetan (DCE) (1,5 L) a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 1 oră. La amestec s-a adăugat triacetoxiborohidruțul de sodiu (228 g, 1,076 mol) în porții. Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 18 ore. Amestecul de reacție a fost diluat cu HCl (1,1 L de 2 M, 2,200 mol) până când pH a fost ~1. Faza apoasă a fost separată și faza organică extrasă cu HCl (600 mL de 2 M, 1,200 mol). Faza organică a fost separată și stratul apos a fost alcalinizat cu NaOH (550 g de 50% g/g, 6,875 mol) rezultând o soluție la ~ pH 12. Amestecul a fost extras 2X cu EtOAc (1 L) și fazele organice combinate au fost spălate cu saramură (150 mL), uscate pe MgSO<sub>4</sub>, filtrate, și concentrate *in vid* pentru a da (2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-ol (160,7 g, 78%) ca ulei clar. Utilizat fără purificare suplimentară. ESI-MS m/z calc. 197,17796, găsit 198,2 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 0,54 minute (Metodă LC A).

#### Sinteză de N-terț-butoxicarbonil-N-(4,6-dicloro-pirimidin-2-il)carbamat de terț-butil (5)



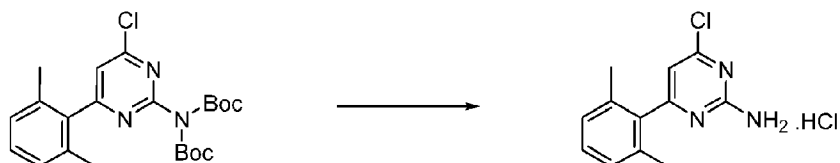
La o soluție de 4,6-dicloropirimidin-2-amină (300 g, 1,829 mol) în DCM (2,1 L) s-a adăugat (Boc)<sub>2</sub>O (838 g, 3,840 mol) urmat de DMAP (5,6 g, 45,84 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 6 ore. S-a adăugat DMAP suplimentar (5,6 g, 45,84 mmol) și s-a continuat agitarea reacției la temperatura ambiantă timp de 24 ore. Amestecul a fost diluat cu apă (2,1 L) și faza organică a fost separată. Faza organică a fost spălată cu apă (2,1 L), 2,1 L de saramură, uscată pe MgSO<sub>4</sub>, filtrată pe celite și concentrată *in vid* rezultând un ulei portocaliu deschis care a avut un nămol în suspensie. Amestecul a fost diluat cu ~500 mL de heptan și filtrat utilizând un filtru M. Precipitatul (materia primă) a fost spălat cu 250 mL de heptan. Filtratul a fost concentrat *in vid* rezultând un ulei gros portocaliu care a fost însământat cu solid dintr-un experiment anterior și cristalizat la repaus, pentru a da N-terț-butoxicarbonil-N-(4,6-dicloropirimidin-2-il)carbamatul de terț-butil (645 g, 97%) ca solid tare portocaliu deschis. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,07 (s, 1H), 1,44 (s, 18H). ESI-MS m/z calc. 363,07526, găsit 364,1 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,12 minute (Metodă LC A).

#### Sinteză de N-terț-butoxicarbonil-N-[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il] carbamat de terț-butil (6)



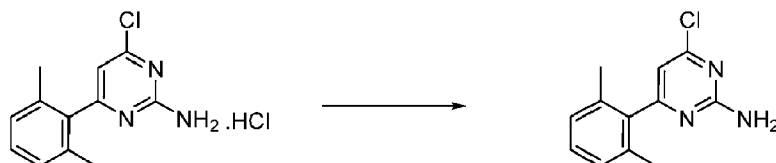
Toți solvenții au fost degazați înainte de utilizare. La o suspensie de N-terț-butoxicarbonil-N-(4,6-dicloropirimidin-2-il)carbamatul de terț-butil (88 g, 241,6 mmol), acid (2,6-dimetilfenil)boronic (aproximativ 36,24 g, 241,6 mmol) s-au adăugat Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (aproximativ 196,8 g, 604,0 mmol) în DME (704 mL) și apă (176 mL). S-a adăugat Pd(dppf)Cl<sub>2</sub> (aproximativ 8,839 g, 12,08 mmol) și amestecul a fost agitat viguros sub N<sub>2</sub> la 80°C (reflux) timp de 1 oră (nu a rămas nici o materie primă). Reacția a fost răcită la temperatura ambiantă și diluată cu apă (704 mL). Faza apoasă a fost separată și extrasă cu EtOAc (704 mL). Faza organică a fost spălată cu 700 mL de saramură, uscată pe MgSO<sub>4</sub>, filtrată și concentrată *in vid*. Produsul brut a fost cromatografiat pe o coloană de 1500 g cu gel de siliciu eluând cu 0-30% EtOAc/hexani. Frațiunile de produs (eluat la 15% EtOAc) au fost combinate și concentrate *in vid* rezultând N-terț-butoxicarbonil-N-[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]carbamatul de terț-butil (81,3 g, 78%) ca ulei clar, care a cristalizat în repaus. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,88 (s, 1H), 7,30 (dd, J = 8,2, 7,0 Hz, 1H), 7,21 - 7,16 (m, 2H), 2,03 (s, 6H), 1,38 (s, 18H). ESI-MS m/z calc. 433,17682, găsit 434,1 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,32 minute (Metodă LC A).

#### Sinteză de 4-Cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amină (sare clorhidrat) (7·HCl)



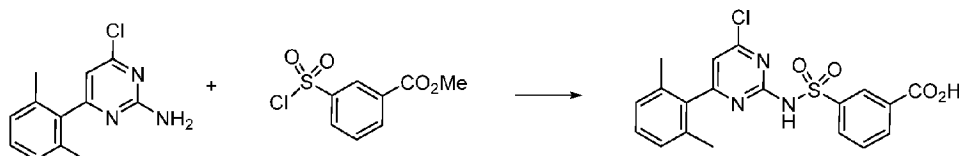
N-terț-butoxicarbonil-N-[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]carbamatul de tert-butil (514,8 g, 915,9 mmol) a fost dizolvat în diclorometan (4 L). S-a adăugat acid clorhidric în p-dioxan (1 L, 4 mol) și amestecul a fost agitat peste noapte la temperatura ambiantă. Precipitatul rezultat a fost colectat prin filtrare în vid și uscat *in vid* pentru a obține clorhidratul de 4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amină (213,5 g, 64%) ca solid alb (213,5 g, 82%). <sup>1</sup>H RMN (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,45-6,91 (m, 3H), 6,73 (s, 1H), 2,08 (s, 6H). ESI-MS m/z calc. 233,072, găsit 234,1 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,1 minute (Metodă LC C).

#### Sinteză de 4-Cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amină (7)



4-Cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amina (sare clorhidrat) (166 g, 614,5 mmol) și 4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amina (sare clorhidrat) (30 g, 111,0 mmol) au fost suspendate în DCM (2,5 L), tratate cu NaOH (725 mL de 1 M, 725,0 mmol) și agitate la temperatura ambiantă timp de 1 oră. Amestecul a fost transferat într-o pâlnie separatoare și lăsat în repaus peste noapte. Faza DCM a fost separată și faza apoasă cu material insolubil a fost extrasă de două ori mai mult cu DCM (2 x 500ml). Fazele DCM maro combinate au fost agitate cu sulfat de magneziu și cărbune timp de 1 oră, filtrate și soluția galbenă concentrată până la un volum de ~ 500 mL. Soluția a fost diluată cu heptan (750 mL) și DCM a fost îndepărtat sub presiune redusă la 60°C pentru a da o suspensie cremoasă. Ea a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 1 oră, filtrată, spălată cu heptan rece și uscată pentru a da 4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amină (157 g, 91%) ca solid cremos. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,28 - 7,14 (m, 3H), 7,10 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 6,63 (s, 1H), 2,06 (s, 6H). ESI-MS m/z calc. 233,07198, găsit 234,0 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,45 minute (Metodă LC A).

#### Sinteză de acid 3-[[4-Cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (8)

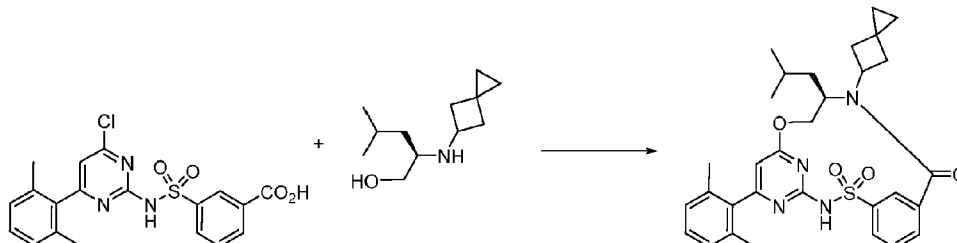


4-Cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-amina (235 g, 985,5 mmol) a fost dizolvată în MeTHF (2,3 L) și răcită într-o baie cu gheață sub agitare și azot. La soluția rece s-a adăugat într-o porție 3-clorosulfonilbenzoat de metil (347 g, 1,479 mol) (pare ușor endotermic) și la soluția rece galben pal s-a adăugat în picătură o soluție de 2-metil-butan-2-ol (sare de litiu) (875 mL of 3,1 M, 2,712 mol) (în heptan) timp de 1,25 ore (exotermic, temperatura internă de la 0°C până la 10°C). Baia cu gheață a fost îndepărtată și soluția verzuie a fost agitată timp de 4 ore la temperatura ambiantă. La soluția verzuie rece s-a adăugat HCl (2 L de 1,5 M, 3,000 mol), fazele au fost separate și faza organică a fost spălată o dată cu apă (1L) și o dată cu saramură (500 mL). Faza apoasă a fost extrasă înapoi o dată cu MeTHF (350 mL) și fazele organice au fost combinate. Această soluție galbenă de MeTHF de 3-[[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoat de metil (ESI-MS m/z calc. 431,07065, găsit 432,0 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,81 minute) a fost tratată cu NaOH (2,3 L de 2 M, 4,600 mol) și agitată la temperatura ambiantă timp de 1 oră. Fazele au fost separate și faza NaOH a fost spălată de două ori cu MeTHF (2 x 500 mL) și fazele organice combinate au fost extrase o dată cu 2M NaOH (1 x 250 mL).

Fazele NaOH combinate au fost combinate, agitate într-o baie cu gheață și acidulate încet prin adăugarea de HCl (416 mL de 36% g/g, 4,929 mol) în timp ce s-a menținut temperatura internă între 10 și 20°C. La sfârșitul adăugării (pH ~5-6) pH-ul final a fost ajustat la 2-3 prin adăugarea de acid citric solid. Suspensia lipicioasă galbenă formată a fost agitată la temperatura ambiantă peste noapte pentru a da o suspensie crocantă cremoasă. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu multă apă și uscat prin aspirare timp de 3 ore. Solidul a fost uscat sub presiune redusă cu o scurgere de azot la 45-50°C timp de 120 ore. Acidul 3-[[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (395 g, 96%) a fost izolat ca un

solid alburiu.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13,44 (s, 1H), 12,46 (s, 1H), 8,48 - 8,39 (m, 1H), 8,25 - 8,15 (m, 1H), 8,15 - 8,08 (m, 1H), 7,68 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,28 - 7,18 (m, 1H), 7,10 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 1,84 (s, 6H). ESI-MS  $m/z$  calc. 417,055, găsit 418,0 ( $M+1$ ) $^+$ ; Timp de retenție: 1,56 minute. (Metodă LC A).

5 **Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]-nonadeca-1(17),4(19),5,7, 14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compus I)**

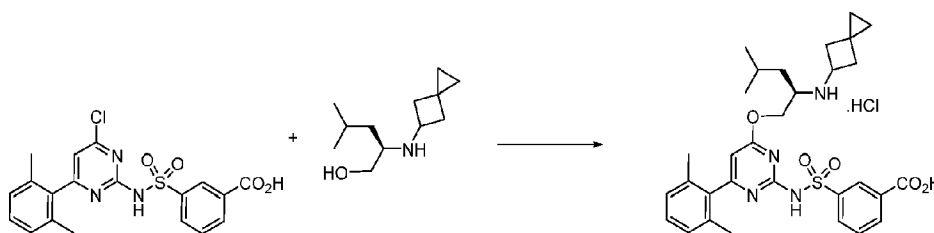


10 (2R)-4-Metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-olul (1,42 g, 7,197 mmol), acidul 3-[[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (3,077 g, 7,209 mmol), și terț-butoxidul de sodiu (2,731 g, 28,42 mmol) au fost combinate în THF (25 mL) și agitate la temperatura ambiantă timp de 1 oră (exotermă ușoară). După 1 oră, amestecul de reacție a fost adăugat în picătură la o soluție agitată de HATU (5,436 g, 14,30 mmol) în DMF (50 mL). Reacția a fost agitată încă 16 ore suplimentare la  
15 temperatura ambiantă. Reacția a fost evaporată la un ulei. Uleiul rezultat a fost partiționat între acetat de etil (100 mL) și o soluție de HCl 1M (100 mL). Organicele au fost separate, spălate cu HCl 1 M suplimentar (100 mL), apoi cu saramură (100 mL). Organicele au fost uscate pe sulfat de sodiu și evaporate.

20 Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu eluând cu 0-80% acetat de etil în hexani pentru a da (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8] nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona amorfă (1,73 g, 42%).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13,07 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,96 - 7,85 (m, 1H), 7,77 - 7,60 (m, 2H), 7,30 - 7,20 (m, 1H), 7,12 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 6,38 (s, 1H), 5,12 (dd,  $J = 10,6, 4,2$  Hz, 1H), 4,40 (t,  $J = 11,1$  Hz, 1H), 4,23 (p,  $J = 8,5$  Hz, 1H), 3,78 - 3,66 (m, 1H), 3,31 - 3,22 (m, 2H), 2,23 - 1,83  
25 (m, 8H), 1,72 - 1,60 (m, 1H), 1,30 (s, 1H), 1,20 - 1,10 (m, 1H), 0,73 (d,  $J = 6,7$  Hz, 3H), 0,56 - 0,41 (m, 4H), 0,21 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H). ESI-MS  $m/z$  calc. 560,2457, găsit 561,4 ( $M+1$ ) $^+$ ; Timp de retenție: 2,01 minute (Metodă LC A).

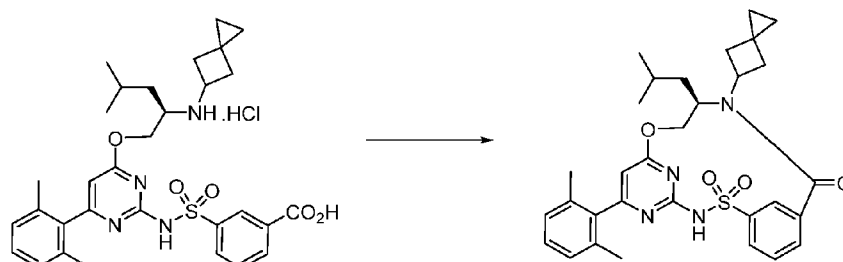
**Sinteză alternativă a Compusului I**

30 **Sinteză de acid 3-[[4-(2,6-Dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil] (sare clorhidrat) (9)**



35 La o soluție de (2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-ol (52,26 g, 264,9 mmol) și acid 3-[[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (103 g, 242,8 mmol) în MeTHF (700 mL) s-a adăugat terț-butoxid de sodiu (93,4 g, 971,9 mmol) în porții menținând temperatura reacției <math>40^\circ\text{C}</math>. Adăugarea este exotermică și temperatura reacției a fost controlată utilizând o baie de apă cu gheață și viteza de adăugare a bazei. Reacția a fost agitată timp de 2 ore la temperatura ambiantă. Reacția a fost stinsă prin adăugarea lentă de HCl (1,2 L de 1 M, 1,200 mol) și agitată timp de 5 min. Amestecul a fost separat la o pâlnie separatoare utilizând MeTHF. Faza apoasă a fost separată și extrasă cu 250 mL  
40 de MeTHF. Fazele organice combinate au fost spălate cu 500 mL de saramură, uscate pe  $\text{MgSO}_4$ , filtrate și concentrate *in vid*. Solidul galben deschis a fost suspendat cu EtOAc (200 mL) și agitat timp de 1 oră. Solidul a fost colectat utilizând o frită M și spălând de 3 ori cu 10 mL de EtOAc. Solidul alburiu a fost uscat în aer și uscat *in vid* timp de 20 ore pentru a obține acidul 3-[[4-(2,6-dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (120 g, 76%). ESI-  
45 MS  $m/z$  calc. 578,2563, găsit 579,2 ( $M+1$ ) $^+$ ; Timp de retenție: 1,02 minute. (Metodă LC A).

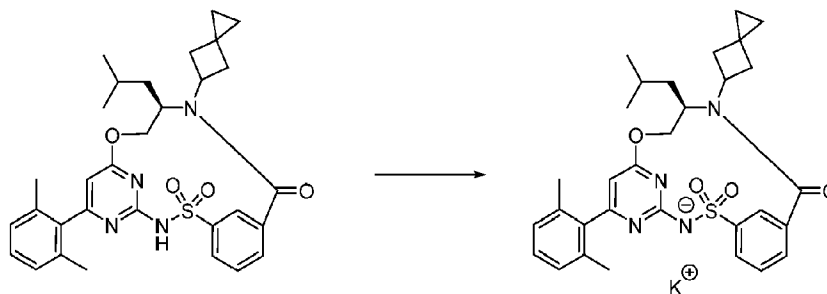
**Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7, 14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compus I)**



5  
Acidul 3-[[4-(2,6-Dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentoxil]pirimidin-2-il]sulfamoi]benzoic (sare clorhidrat) (4,41 g, 7,169 mmol) și HATU (2,80 g, 7,364 mmol) au fost combinate în DMF (100 mL) și s-a adăugat trietilamină (3,0 mL, 21,52 mmol). Reacția a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 5 ore. Amestecul de reacție a fost turnat într-o soluție agitată de apă (150 mL) și HCl (35 mL de 1 M, 35,00 mmol). Amestecul a fost agitat timp de 20 min și solidul alb rezultat a fost colectat prin filtrare. Solidul a fost dizolvat în acetat de etil (100 mL) și spălat cu 1M HCl (100 mL), saramură (100 mL), apoi uscat pe sulfat de sodiu și evaporat. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu eluând cu 0-70% acetat de etil în hexani pentru a da (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1 (17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona amorfă (2,94 g, 73%). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,07 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,91 (larg s, 1H), 7,68 (larg s, 2H), 7,25 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 6,38 (s, 1H), 5,12 (dd, J = 10,7, 4,2 Hz, 1H), 4,40 (t, J = 11,1 Hz, 1H), 4,23 (p, J = 8,5 Hz, 1H), 3,79 - 3,65 (m, 1H), 3,31 - 3,22 (m, 2H), 2,21 - 1,84 (m, 8H), 1,72 - 1,61 (m, 1H), 1,36 - 1,23 (m, 1H), 1,21 - 1,10 (m, 1H), 0,73 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,55 - 0,41 (m, 4H), 0,21 (d, J = 6,2 Hz, 3H). ESI-MS m/z calc. 560,2457, găsit 561,5 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,02 minute (Metodă LC A).

Sărurile Compusului I au fost preparate în conformitate cu următoarele Exemple.

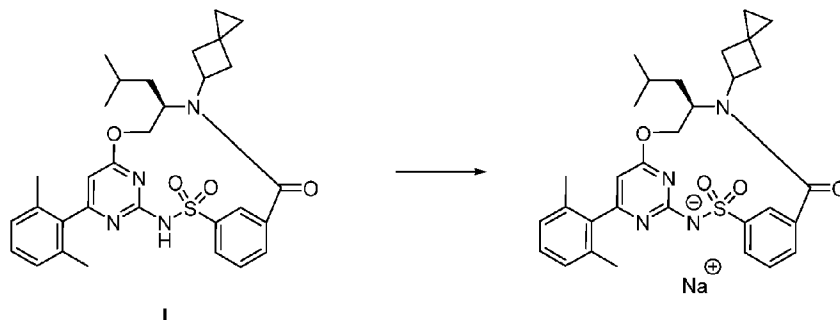
**Exemplul 2: Sinteză a unei săruri de potasiu a Compusului I**



25  
(11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona (2 g, 3,448 mmol) a fost dizolvată în metanol (20 mL) și tratată încet cu KOH (6,896 mL de 0,5 M, 3,448 mmol) (în metanol) sub agitare. Soluția clară a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 1 oră, evaporată pentru a da un vid sticlos și uscată sub o carcasă cu scurgere de azot la 50-55°C timp de 16 ore pentru a da (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]-nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona amorfă (ioni de potasiu) (2,033 g, 98%) ca un solid alburii. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,40 (s, 1H), 7,82 - 7,74 (m, 1H), 7,53 - 7,46 (m, 2H), 7,12 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 5,78 (s, 1H), 5,09 (dd, J = 10,5, 4,3 Hz, 1H), 4,17 (p, J = 8,6 Hz, 1H), 4,06 (t, J = 11,0 Hz, 1H), 3,88 (dq, J = 11,1, 7,3, 5,5 Hz, 1H), 3,28 (dt, J = 14,5, 9,3 Hz, 2H), 2,07 (dt, J = 24,5, 9,2 Hz, 2H), 1,96 (s, 6H), 1,58 (ddd, J = 14,0, 10,9, 2,8 Hz, 1H), 1,29 (ddt, J = 13,3, 6,9, 2,8 Hz, 1H), 1,17 (ddd, J = 13,7, 10,6, 2,9 Hz, 1H), 0,71 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,52 (dd, J = 8,3, 5,6 Hz, 2H), 0,50 - 0,40 (m, 2H), 0,21 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

**Exemplul 3: Sinteză a unei săruri de sodiu a Compusului I**

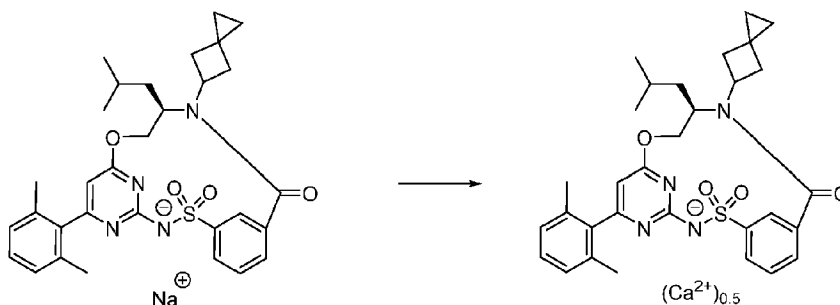
40



(11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona (2 g, 3,448 mmol) a fost suspendată în apă (25 mL) și tratată încet cu NaOH (3,448 mL de 1 M, 3,448 mmol) sub agitare.

5 Suspensia a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 1,25 ore pentru a da o soluție tulbure. Soluția tulbure a fost filtrată clar cu un filtru de seringă (0,2  $\mu$ m) și filtratul incolor clar a fost liofilizat timp de două zile pentru a da (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3] hexan-5-il}-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19), 5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona amorfă (sare de sodiu) (2 g, 99%) ca solid incolor pufos. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8,40 (s, 1H), 7,78 (ddd, J = 5,6, 3,5, 1,6 Hz, 1H), 7,52 - 7,45 (m, 2H), 7,12 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 5,77 (s, 1H), 5,09 (dd, J = 10,5, 4,3 Hz, 1H), 4,16 (p, J = 8,5 Hz, 1H), 4,06 (t, J = 10,9 Hz, 1H), 3,89 (dq, J = 11,3, 7,5, 5,6 Hz, 1H), 3,28 (dt, J = 14,5, 9,3 Hz, 2H), 2,07 (dt, J = 24,7, 9,3 Hz, 2H), 1,96 (s, 6H), 1,58 (td, J = 11,3, 10,8, 5,7 Hz, 1H), 1,28 (ddd, J = 9,6, 6,5, 3,0 Hz, 1H), 1,17 (ddd, J = 13,6, 10,5, 2,8 Hz, 1H), 0,71 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,52 (dd, J = 8,3, 5,6 Hz, 2H), 0,50 - 0,41 (m, 2H), 0,21 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

15 **Exemplul 4: Sinteză a unei săruri de calciu a Compusului I**

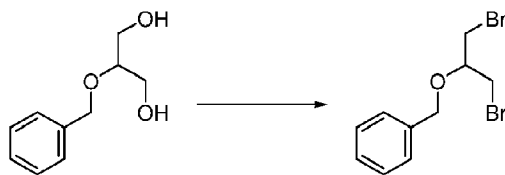


(11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-

3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona (sare de sodiu) (500 mg, 0,8566 mmol) a fost agitată în apă (5 mL) timp de 10 min pentru a da o soluție clară. S-a adăugat o soluție de CaCl<sub>2</sub> (46,8 mg, 0,4217 mmol) în apă (0,5 mL) conducând la precipitarea unui solid gelatinos pentru a da o masă semisolidă. S-a adăugat o altă porțiune de apă (5 mL) și suspensia a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 23 ore. Solidul a fost colectat prin filtrare, spălat cu multă apă (~3 x 5-10 mL) și uscat sub vid cu o scurgere de azot la 55-60°C timp de 14 ore pentru a da (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo-  
 25 [12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18), 15-hexan-2,2,13-triona amorfă (sare de calciu (0,5)) (423 mg, 85%) ca un solid alburiu. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8,40 (s, 1H), 7,78 (td, J = 4,4, 1,6 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 4,7 Hz, 2H), 7,13 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 5,81 (s, 1H), 5,09 (dd, J = 10,5, 4,3 Hz, 1H), 4,17 (p, J = 8,6 Hz, 1H), 4,08 (t, J = 11,0 Hz, 1H), 3,87 (dq, J = 11,1, 7,3, 5,4 Hz, 1H), 3,28 (dt, J = 14,2, 9,3 Hz, 2H), 2,07 (dt, J = 24,3, 9,1 Hz, 2H), 1,99 - 1,95 (m, 6H), 1,59 (ddd, J = 14,0, 10,8, 2,8 Hz, 1H), 1,28 (tt, J = 6,4, 3,0 Hz, 1H), 1,17 (ddd, J = 13,6, 10,4, 2,8 Hz, 1H), 0,71 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,55 - 0,40 (m, 4H), 0,21 (d, J = 6,4 Hz, 3H). ESI-MS m/z calc. 560,2457, găsit 561,0 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,1 minute (Metodă LC A).

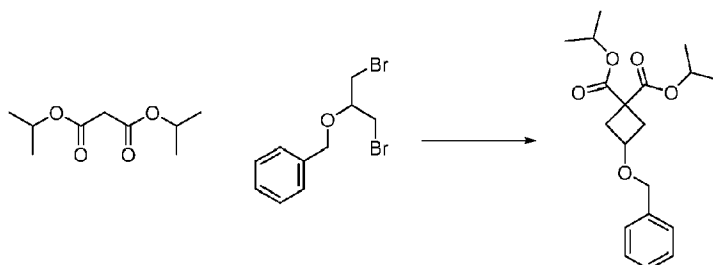
30 **Exemplul 5: Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-[(1,1,2,2-tetradeutero)spiro[2,3]hexan-5-il]-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1, 14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compus Ia)**

Sinteză de [2-Bromo-1-(bromometil)etoxi]metilbenzen (11)



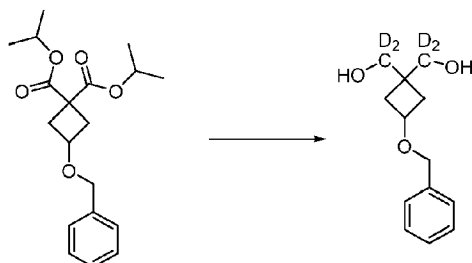
La o soluție de 2-benziloxipropan-1,3-diol (24,3 g, 129,36 mmol) în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidru (350 mL) sub atmosferă de argon la 0°C, s-a adăugat Ph<sub>3</sub>P (72,177 g, 272,43 mmol) urmat de CBr<sub>4</sub> (91,258 g, 272,43 mmol) (adăugarea unei porții a cauzat o generare uriașă de gaz). Amestecul de reacție a fost agitat la 0°C timp de 2,5 ore. La amestecul de reacție s-a adăugat apă (150 mL) și diclorometan (600 mL). Stratul organic a fost separat, uscat pe sulfat de sodiu, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Apoi, s-a adăugat 10% eter în hexan (500 mL), s-a sonicat și s-a filtrat. Turta solidă a fost spălată cu 10% eter în hexan (300 mL). Solidul a fost eliminat și filtratele combinate au fost concentrate sub presiune redusă pentru a da produsul brut. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (încărcat în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (330g SiO<sub>2</sub>, eluând 0 până la 4% eter în hexan) pentru a da [2-bromo-1-(bromometil)etoxi]metilbenzen (23,39 g, 59%) ca lichid incolor. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, Cloroform-d) δ 7,49 - 7,30 (m, 5H), 4,70 (s, 2H), 3,83 (p, J = 5,2 Hz, 1H), 3,60 (d, J = 5,2 Hz, 4H). ESI-MS m/z calc. 305,92548, nu s-a observat nici un MS. Timp de retenție: 5,47 minute (Metodă LC C).

#### Sinteză de Diizopropil 3-benziloxiciclobutan-1,1-dicarboxilat (12)



NaH (6,42 g, 160,52 mmol, 60% suspensie uleioasă) a fost suspendat în DMF uscat (280 mL) sub argon. S-a adăugat în picătură propandioat de diizopropil (26,49 g, 26,731 mL, 139,33 mmol) în DMF anhidru (20 mL) în timp ce s-a menținut temperatura în jur de 20°C. La încetarea evoluției gazului, s-a adăugat [2-bromo-1-(bromometil)etoxi]-metilbenzen (21,334 g, 69,264 mmol) în DMF anhidru (20 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la 140°C timp de 26 ore înainte de a fi răcit la temperatura ambiantă și turnat într-o soluție apoasă saturată de NH<sub>4</sub>Cl (500 mL) pentru a preveni formarea emulsiei. Soluția a fost extrasă cu hexan (3 x 500 mL), spălată cu apă (300 mL), saramură (300 mL), uscată pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru, filtrată și concentrată sub presiune redusă pentru a îndepărta hexanul. Produsul brut obținut a fost purificat prin cromatografie rapidă (încărcată în hexani) (330g SiO<sub>2</sub>, eluând 0 până la 15% eter în hexan) pentru a da 3-benziloxiciclobutan-1,1-dicarboxilatul de diizopropil (26,84 g, 90%) ca lichid incolor. Notă: Produsul a conținut 22% propandioat de diizopropil. <sup>1</sup>H RMN (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,58 - 7,14 (m, 5H), 5,22 - 4,90 (m, 2H), 4,43 (s, 2H), 4,15 (p, J = 7,2 Hz, 1H), 2,89 - 2,68 (m, 2H), 2,63 - 2,40 (m, 2H), 1,43 - 0,99 (m, 12H). ESI-MS m/z calc. 334,178, găsit 335,3 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 5,94 minute (Metodă LC C).

#### Sinteză de [3-Benziloxi-1-[dideuterio(hidroxi)metil]ciclobutil]-dideuterio-metanol (13)



La o soluție de 3-benziloxiciclobutan-1,1-dicarboxilat de diizopropil (26,84 g, 62,604 mmol) în THF anhidru (250 mL) la 0°C s-a adăugat tetradeuterioalumanuid de litiu (6,11 g, 145,55 mmol) porțiuni cu porțiune. După ce adăugarea a fost completă, reacția a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 2 zile înainte de a fi răcită la 0°C. S-a adăugat apă (6,2 mL) în picătură urmată de 15% hidroxid de sodiu apos (6,2 mL) și apă (18,6 mL). Soluția rezultată a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 30 min înainte de a fi filtrată prin Celite și spălată cu THF. Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă.

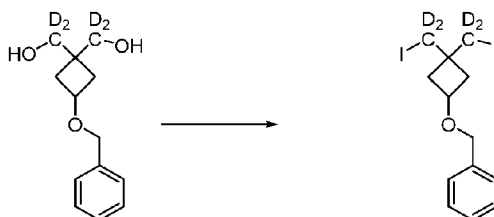
Reziduul obținut a fost dizolvat în acetat de etil (450 mL), spălat cu apă (100 mL x 3) și saramură (100 mL). Stratul organic a fost separat, și stratul apos a fost extras cu eter (3 x 150 mL). Straturile organice combinate au fost uscate pe sulfat de magneziu anhidru, filtrate, și concentrate sub presiune redusă pentru a da un solid alb brut. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (încărcat în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (330g SiO<sub>2</sub>, eluând 0 până la 50% acetonă în hexan) pentru a da [3-benziloxi-1-

5

[dideuterio(hidroxi)metil]ciclobutil]-dideuterio-metanol (9,95 g, 68%) ca solid alb. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, Cloroform-d) δ 7,40 - 7,32 (m, 4H), 7,32 - 7,28 (m, 1H), 4,42 (s, 2H), 4,17 - 3,99 (m, 1H), 2,48 - 2,05 (m, 4H), 1,87 - 1,79 (m, 2H). ESI-MS m/z calc. 226,1507, găsit 227,4 (M+1)<sup>+</sup>, timp de retenție 2,94 minute (Metodă LC C).

10

#### Sinteză de [3,3-Bis[dideuterio(iodo)metil]ciclobutoxi]-metilbenzen (14)



La o soluție de [3-benziloxi-1-[dideuterio(hidroxi)metil]-ciclobutil]-dideuterio-metanol (9,95 g, 43,967 mmol) în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidru (420 mL) s-a adăugat Et<sub>3</sub>N (17,860 g, 24,6 mL, 176,50 mmol), apoi a fost răcită la 0°C. S-a adăugat în picătură clorură de metansulfonil (14,652 g, 9,9 mL, 127,91 mmol), și soluția rezultată a fost agitată la această temperatură timp de 2 ore înainte de a fi stinsă cu soluție saturată de bicarbonat de sodiu (200 mL). S-a adăugat diclorometan (400 mL); stratul organic a fost separat, spălat cu saramură (150 mL), uscat pe sulfat de magneziu anhidru, filtrat și concentrat sub presiune redusă. Reziduul obținut a fost plasat sub vid înaintat pentru a da intermediarul bis-mezilat ca lichid galben pal. Bis-mezilatul a fost dizolvat în acetonă anhidră (300 mL), și s-a adăugat NaI (49,08 g, 327,43 mmol). Soluția de reacție a fost încălzită la 50°C timp de 5 zile. Soluția de reacție a fost filtrată și spălată cu acetonă.

15

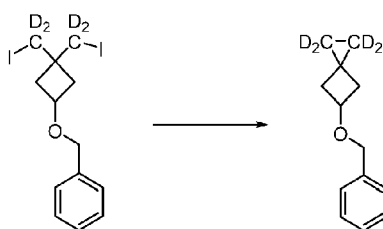
20

Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă. La reziduul obținut s-a adăugat eter (800 mL) și o soluție 10% de sulfat de sodiu (250 mL x 2). Soluția organică a fost separată, uscată pe sulfat de sodiu anhidru, filtrată, și concentrată sub presiune redusă. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (încărcat în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (330g SiO<sub>2</sub>, eluând 0 până la 5% eter în hexan) pentru a da [3,3-bis[dideuterio(iodo)metil]ciclobutoxi]metilbenzen (15,813 g, 81%) ca ulei galben pal. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, Cloroform-d) δ 7,42 - 7,28 (m, 5H), 4,42 (s, 2H), 3,93 (tt, J = 7,2, 6,1 Hz, 1H), 2,40 - 2,23 (m, 2H), 2,07 - 1,92 (m, 2H). ESI-MS m/z calc. 445,9542, găsit 464,3 (M+18)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 6,53 minute (Metodă LC C).

25

30

#### Sinteză de 5-Benziloxi-1,1,2,2-tetradeterio-spiro[2,3]hexan (15)



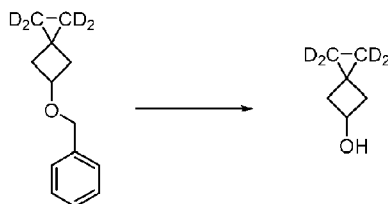
La o soluție de [3,3-bis[dideuterio(iodo)metil]ciclobutoxi]-metilbenzen (15,81 g, 35,441 mmol) într-un amestec de etanol (70 mL) și apă (30 mL) a fost adăugat Zn (9,96 g, 152,32 mmol). Soluția rezultată a fost refluxată timp de 2 ore. Soluția de reacție a fost răcită la temperatura ambiantă, și apoi diluată cu diclorometan (400 mL) și apă (100 mL). Stratul organic a fost separat, spălat cu saramură, uscat pe sulfat de magneziu anhidru, filtrat, și concentrat sub presiune redusă. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie rapidă (încărcat în CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (220g SiO<sub>2</sub>, eluând 0 până la 4% eter în hexan) pentru a da 5-benziloxi-1,1,2,2-tetradeterio-spiro[2,3]hexan (6,77 g, 94%) ca ulei incolor. <sup>1</sup>H RMN (250 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,60 - 7,09 (m, 5H), 4,45 (s, 2H), 4,30 (p, J = 6,9 Hz, 1H), 2,41 - 2,22 (m, 2H), 2,22 - 1,99 (m, 2H). ESI-MS m/z calc. 192,14522, nu a fost observat nici un MS. Timp de retenție: 5,62 minute (Metodă LC C).

35

40

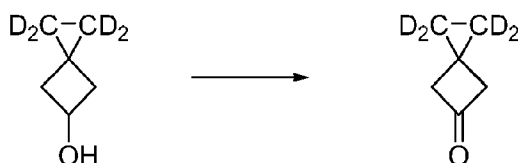
#### Sinteză de 1,1,2,2-Tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-ol (16)

45



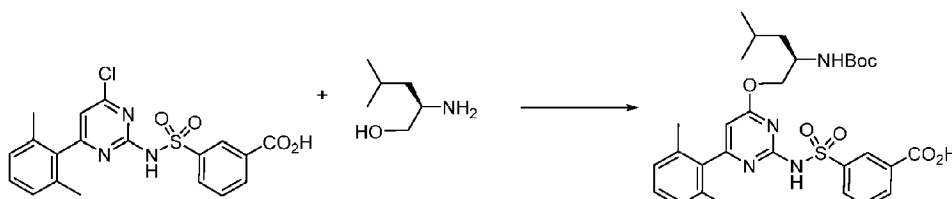
La o soluție de 5-benzoyloxi-1,1,2,2-tetradeuterio-spiro[2,3]hexan (6,58 g, 34,219 mmol) în acetat de metil (35 mL) a fost adăugat 5% Pd/C (1,01g, 9,4907 mmol), și amestecul a fost agitat sub atmosferă de hidrogen timp de 20 ore. O altă cantitate de 5% Pd/C (0,51g, 4,7923 mmol) a fost adăugată la amestecul de reacție, și ea a fost agitată sub o atmosferă de hidrogen timp de alte 20 de ore. Catalizatorul a fost separat prin filtrare și clătit cu dietil eter (30 ml). Solventul a fost distilat încet la presiune atmosferică. Reziduul a fost distilat sub vid ( $Bp_{20} = 72^{\circ}C$ ) pentru a da 1,1,2,2-tetradeuteriospiro[2,3]hexan-5-ol (3,18 g, 91%) ca lichid clar.  $^1H$  RMN (250 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  4,53 (q, J = 6,5 Hz, 1H), 2,28 - 2,19 (m, 4H), 1,72 (d, J = 5,7 Hz, 1H).

#### Sinteză de 1,1,2,2-Tetradeuteriospiro[2,3]hexan-5-onă (17)



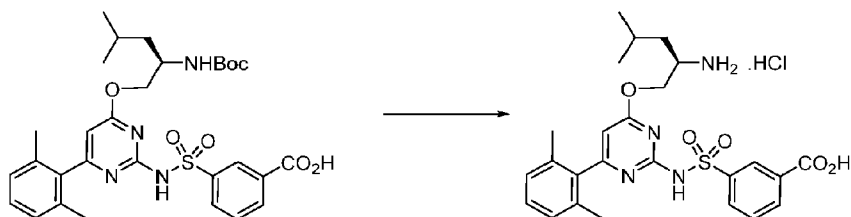
Complexul  $CrO_3$ /piridină a fost obținut prin adăugarea  $CrO_3$  (9,95 g, 99,506 mmol) în piridină (95 mL). La această soluție s-a adăugat în picătură o soluție de 1,1,2,2-tetradeuteriospiro[2,3]hexan-5-ol (3,16 g, 30,929 mmol) în piridină (35 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 21 ore. După răcire, s-a adăugat apă (50 mL) și apoi s-a extras cu dietil eter (200 mL x 3). Faza organică a fost spălată cu 2N HCl apos până când faza apoasă a atins pH=4, apoi a fost spălată cu  $NaHCO_3$  apos saturat (200 mL) și apă (200 mL). După ce a fost uscat pe sulfat de sodiu, solventul a fost îndepărtat încet prin distilare la presiune atmosferică. Reziduul a fost distilat ( $Bp_{14} = 40-43^{\circ}C$ ) pentru a obține 1,1,2,2-tetradeuteriospiro[2,3]hexan-5-onă (2,36 g, 71%).  $^1H$  RMN (500 MHz, Cloroform-d)  $\delta$  3,16 (s, 4H).

#### Sinteză de acid 3-[[4-[(2R)-2-(terț-butoxicarbonilamino)-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (18)



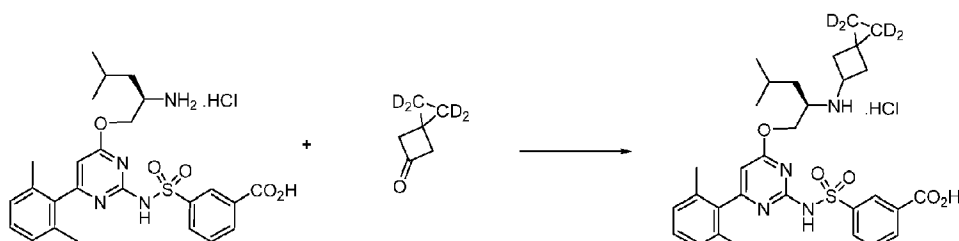
La o soluție agitată de (2R)-2-amino-4-metil-pentan-1-ol (12,419 g, 105,97 mmol) în THF anhidru (200 mL) la temperatura ambiantă sub azot a fost adăugat terț-butoxid de sodiu (15,276 g, 158,95 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat timp de 10 min și a fost adăugat acidul 3-[[4-cloro-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il] sulfamoil] benzoic (22,14 g, 52,983 mmol). Amestecul de reacție a fost plasat pe o baie cu apă preîncălzită la  $60^{\circ}C$  și agitat timp de 20 min. După răcirea la temperatura ambiantă, s-a adăugat dicarbonat de di-terț-butil (69,381 g, 317,90 mmol) și amestecul de reacție a fost agitat timp de 3 ore. Reacția a fost stinsă cu clorură de amoniu apoasă saturată (150 mL). Volatilele au fost îndepărtate sub vid și stratul apos a fost acidulat la pH ~3 cu 10% acid citric apos. Produsul a fost extras cu acetat de etil (3 x 200 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (80 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate la un volum rezidual de ~250 mL. Produsul a fost precipitat în hexani în exces (750 mL) și colectat prin filtrare în vid. Solidul alb obținut a fost repurificat prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând 0-40% gradient de acetonă (0,15% tampon de acid acetic) în hexani (0,15% tampon de acid acetic) pentru a da acidul 3-[[4-[(2R)-2-(terț-butoxicarbonilamino)-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil) pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (20,73 g, 61%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 598,2461, găsit 599,4 ( $M+1$ )<sup>+</sup>; Timp de retenție: 5,85 minute (Metodă LC C).

#### Sinteză de acid 3-[[4-[(2R)-2-Amino-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (19)



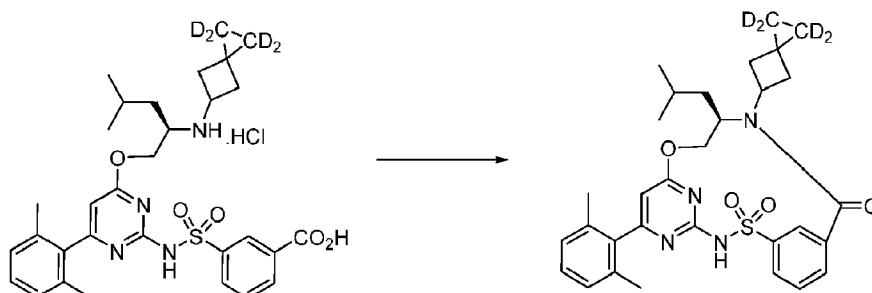
La o soluție agitată de acid 3-[[4-[(2R)-2-(terț-butoxicarbonilamino)-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (20,73 g, 34,624 mmol) în DCM (200 mL) la temperatura ambientă a fost adăugat HCl (87 mL de soluție 4 M în 1,4-dioxan, 346,24 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat timp de 2 ore. Volatilele au fost îndepărtate sub vid și solidul obținut a fost triturat cu diel eter (150 mL). După îndepărtarea volatilelor, produsul a fost uscat sub vid pentru a da acidul 3-[[4-[(2R)-2-amino-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (19,68 g, 100%) ca solid alb. <sup>1</sup>H RMN (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,56 - 8,27 (m, 4H), 8,14 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 7,70 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,34 - 7,18 (m, 1H), 7,17 - 7,02 (m, 2H), 6,31 (s, 1H), 4,42 - 4,23 (m, 1H), 4,23 - 4,06 (m, 1H), 3,5-3,4 (m, 1H, overlapped cu apă), 2,01 (s, 6H), 1,82 - 1,31 (m, 3H), 1,02 - 0,78 (m, 6H). ESI-MS m/z calc. 498,1937, găsit 499,3 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,63 minute (Metodă LC B).

**Sinteză de acid 3-[[4-(2,6-Dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-[(1,1,2,2-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-il)amino]pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]-benzoic (sare clorhidrat) (20)**



O fioală de 4 mL a fost încărcată cu acid 3-[[4-[(2R)-2-amino-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (100 mg, 0,1869 mmol), 1,1,2,2-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-onă (53 mg, 0,5292 mmol), DCM anhidru (0,30 mL) și acetoxiborohidru de sodiu (sare de sodiu) (133 mg, 0,6275 mmol). Fioala a fost purjată scurt cu azot și amestecul a fost agitat la temperatura ambientă timp de 1,5 ore, timp în care LCMS a prezentat o conversie de 87%. S-a adăugat mai multă borohidru de sodiu (90 mg) și amestecul a fost agitat timp de 30 de min suplimentare. S-a adăugat puțin metanol și amestecul a fost concentrat și dizolvat în DMSO (volum final total de 3 mL). Amestecul a fost purificat prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modifier. Frațiunile pure au fost colectate și solvenții evaporati pentru a da acidul 3-[[4-(2,6-dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-[(1,1,2,2-tetradeteriospiro [2,3]hexan-5-il)amino]pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (93 mg, 80%) ca solid alb. Produsul (94,5% pur, conține 5,5% de M+3 = impuritate 585,51) a fost utilizat pentru etapa următoare fără nici o purificare suplimentară. ESI-MS m/z calc. 582,2814, găsit 583,46 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,27 minute (Metodă LC A).

**Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-[(1,1,2,2-tetradetero) spiro[2,3]hexan-5-il]-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8] nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compus Ia)**



Un flacon de 20 mL a fost încărcat sub azot cu HATU (157 mg, 0,4129 mmol), DMF anhidru (6 mL), și DIEA (0,15 mL, 0,8612 mmol). O soluție de acid 3-[[4-(2,6-dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-[(1,1,2,2-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-il)amino]pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (93 mg, 0,1502 mmol) în DMF anhidru (4 mL) a fost adăugată în picătură prin seringă într-o

perioadă de 4 min. Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 17 ore. Amestecul a fost concentrat și diluat cu DMSO (2 mL). Soluția a fost microfiltrată printr-un disc de filtru de seringă Whatman 0,45 μM PTFE și purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificator. Evaporarea a dat un reziduu

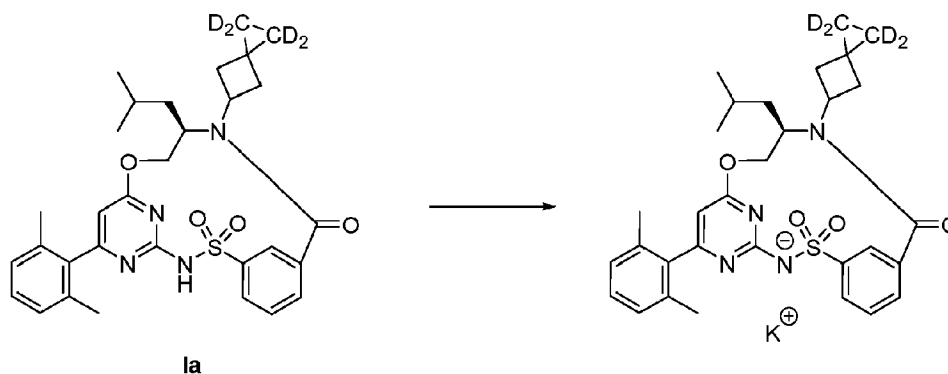
5 care a fost triturat în DCM/hexani. Evaporarea solvenților a dat (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-(2-metilpropil)-12-[(1,1,2,2-tetradeutero)spiro[2,3]hexan-5-il]-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8] nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-triona (48 mg, 54%) ca un solid alburiu. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,01 (larg s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,92 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,78 - 7,60 (m, 2H), 7,26 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,38 (s, 1H), 5,13 (dd, J = 10,7, 4,2

10 Hz, 1H), 4,39 (t, J = 11,1 Hz, 1H), 4,23 (p, J = 8,5 Hz, 1H), 3,73 (t, J = 11,6 Hz, 1H), 3,30 - 3,20 (m, 2H), 2,31 - 1,77 (m, 8H), 1,67 (t, J = 13,9 Hz, 1H), 1,32 - 1,24 (m, 1H), 1,16 (ddd, J = 13,7, 10,4, 2,7 Hz, 1H), 0,73 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,22 (d, J = 6,3 Hz, 3H). ESI-MS m/z calc. 564,2708, găsit 565,46 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,05 minute (Metodă LC A).

Conținutul de deuteriu a fost determinat prin spectrometrie de masă cu cromatografie de lichide utilizând un instrument Sciex triple quad. Aproximativ 0,1 mg/mL de mostră au fost dizolvați în MeOH. 10 μL de mostră au fost diluați în 1 mL MeOH. 1 μL de mostră a fost injectat în instrument. Coloană: Phenomenex Synergy Fusion RP 4 μm, 80A 50x2 mm. Debit: 0,5 mL/min. Gradient: 40% B până la 95% B în 3,5 min. Fază mobilă A: 0,1% acid formic în apă. B: acetonitril. A fost utilizată metoda selectată de monitorizare a ionilor. Spectrometrul de masă a fost operat într-un mod de ionizare pozitivă cu o sursă

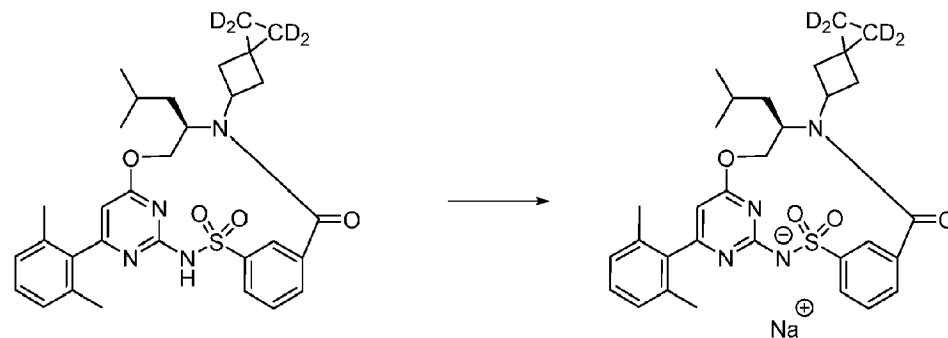
20 ESI. Procentajul fiecărui ion monitorizat a fost după cum urmează: D<sub>4</sub>: 98,52%, D<sub>3</sub>: 1,45%, D<sub>2</sub>: 0,00%, D<sub>1</sub>: 0,02%; D<sub>0</sub>: 0,02%.

#### Exemplul 6: Sinteză a unei săruri de potasiu a Compusului Ia



25 Compusul **Ia** este dizolvat în metanol și tratat încet cu KOH (0,5 M în metanol) sub agitare. Soluția este agitată la temperatura ambiantă timp de 1 oră, evaporată, și uscată sub carcasă în vid cu scurgere de azot la 50-55°C timp de 16 ore pentru a da Compusul **Ia** (ioni de potasiu).

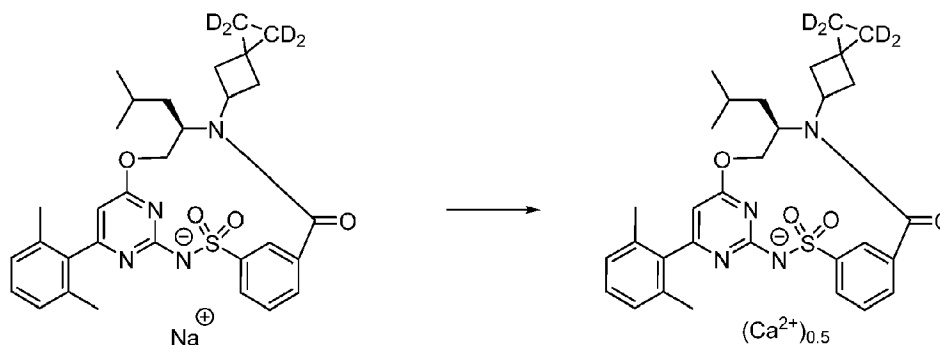
#### Exemplul 7: Sinteză a unei săruri de sodiu a Compusului Ia



30 Compusul **Ia** este suspendat în apă și tratat încet cu NaOH (1 M) sub agitare. Suspensia este agitată la temperatura ambiantă timp de 1,25 ore. Soluția este filtrată clar cu un filtru de seringă (0,2 μm) și filtratul clar este liofilizat timp de două zile pentru a da Compusul **Ia** (sare de sodiu).

#### Exemplul 8: Sinteză a unei săruri de calciu a Compusului Ia

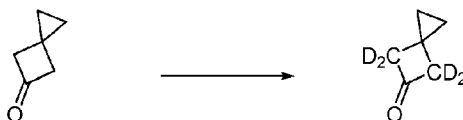
35



Compusul **Ia** (sare de sodiu) este agitat în apă timp de 10 min. Se adaugă o soluție de  $\text{CaCl}_2$  în apă. Se adaugă o altă porțiune de apă și suspensia este agitată la temperatura ambiantă timp de 23 ore. Solidul este colectat prin filtrare, spălat cu multă apă, și uscat sub vid cu o scurgere de azot la  $55\text{-}60^\circ\text{C}$  timp de 14 ore pentru a da Compusul **Ia** (sare de calciu (0,5)).

**Exemplul 9: Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-izobutil-2,2-dioxo-12-(4,4,5, 6,6-pentadeuteriospiro[2,3]hexan-5-il)-9-oxa-2,6-tia-3,5,12,19-tetrazatriciclo[12, 3,1,14,8]nonadeca-1(18),4,6,8(19),14,16-hexan-13-onă (Compus Ib)**

**Sinteză de 4,4,6,6-Tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-onă (21)**

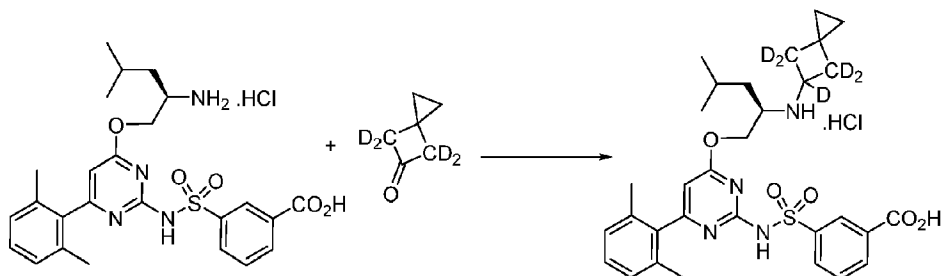


Un amestec de spiro[2,3]hexan-5-onă (2,17 g, 22,574 mmol) și carbonat de potasiu (8 g, 57,885 mmol) în triglim (24 mL) și  $\text{D}_2\text{O}$  (8 mL) a fost agitat la  $70^\circ\text{C}$  timp de 24 de ore. După răcire la temperatura ambiantă, reacția a fost extrasă cu eter (5 x 16 mL). Straturile combinate de eter au fost uscate pe sulfat de sodiu anhidru și filtrate. Filtratul a fost concentrat sub presiune atmosferică pentru a îndepărta dietil eterul, și apoi el a fost distilat sub presiune redusă (50-60 mBar, 50 până la  $60^\circ\text{C}$ ) pentru a furniza 4,4,6,6-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-ona (1,07 g, 13%) ca lichid clar.

A fost rulată o a doua reacție. Un amestec de spiro[2,3]hexan-5-onă (2 g, 20,806 mmol) și carbonat de potasiu (7,0 g, 50,649 mmol) în triglim (21 mL) și  $\text{D}_2\text{O}$  (7 mL) a fost agitat la  $70^\circ\text{C}$  timp de 24 de ore. După ce a fost răcită la temperatura ambiantă, soluția a fost extrasă cu dietil eter (5 x 14 mL). Straturile combinate de eter au fost uscate pe sulfat de sodiu anhidru. Eterul a fost îndepărtat sub presiune atmosferică. Reziduu a fost distilat sub vid (50-60 mbar,  $50\text{-}60^\circ\text{C}$ ) pentru a furniza 4,4,6,6-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-ona (1,222 g, 37%) ca lichid clar. Ambele loturi de produs brut au fost combinate și supuse la o altă reacție cu schimb de deuteriu.

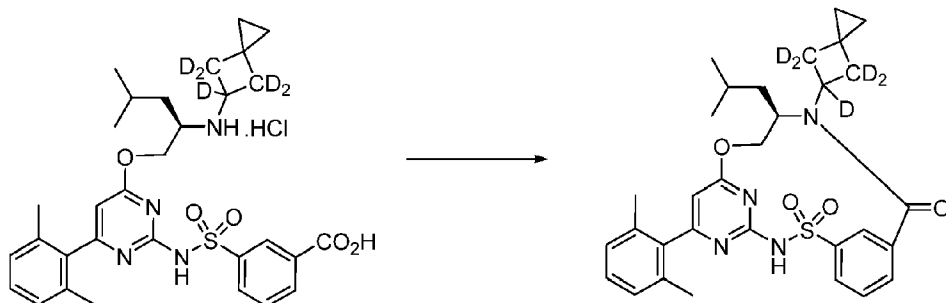
Într-o soluție de 4,4,6,6-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-onă brută (2,29 g, 8,4601 mmol) în triglim (6 mL) s-a adăugat o soluție de carbonat de potasiu (2,9231 g, 21,150 mmol) în  $\text{D}_2\text{O}$  (3 mL). Amestecul de reacție a fost agitat la  $70^\circ\text{C}$  timp de 24 de ore. După ce a fost răcită la temperatura ambiantă, reacția a fost extrasă cu dietil eter (3 x 10 mL). Straturile combinate de eter au fost uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate sub presiune atmosferică. La reziduu s-a adăugat o soluție saturată de bisulfid de sodiu (20 mL), și s-a agitat timp de 1 oră. Stratul apos a fost extras cu dietil eter (3 x 20 mL). Stratul organic a fost eliminat. Stratul apos a fost alcalinizat cu 10% NaOH (apos), și apoi el a fost extras cu dietil eter (3 x 20 mL). Eterul a fost îndepărtat prin distilare sub o presiune de 1 atm pentru a furniza o soluție 9,01% de 4,4,6,6-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-onă (2,55 g, 27%) în triglim și dietil eter. Această soluție de triglim a fost utilizată pentru etapa următoare fără nici o purificare suplimentară.

**Sinteză de acid 3-[[4-(2,6-Dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-[(4,4,5,6,6-pentadeuteriospiro[2,3]hexan-5-il)amino]pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoi] benzoic (sare clorhidrat) (22)**



O fiolă de 4 mL a fost încărcată sub azot cu acid 3-[[4-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (43 mg, 0,08037 mmol), 4,4,6,6-tetradeteriospiro[2,3]hexan-5-onă (157 mg de 9% g/g, 0,1411 mmol) (9% material pur în soluție triglim), și ciano(trideuterio)boranuid (sare de sodiu) (19 mg, 0,2885 mmol). Fiola a fost purjată cu azot, acoperită și suspensia rezultată a fost agitată viguros la temperatura ambiantă timp de 1 oră și 15 min. Reacția a fost stinsă prin adăugarea de metanol-d<sub>4</sub> deuterat (1 mL, 24,68 mmol). Soluția a fost microfiltrată printr-un disc de filtru de seringă Whatman 0,45 μM PTFE și purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificator. Frațiunile pure au fost colectate și solvenții evaporăți cu un genevac pentru a da acidul 3-[[4-(2,6-dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-[(4,4,5,6,6-pentadeuterio-spiro[2,3]hexan-5-il)amino]pentoxi]pirimidin-2-il] sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (24 mg, 48%). ESI-MS m/z calc. 583,28766, găsit 584,45 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,26 minute. Prezența semnificativă a produsului d<sub>4</sub> a fost de asemenea vizibilă (M+H = 583) (Metodă LC A).

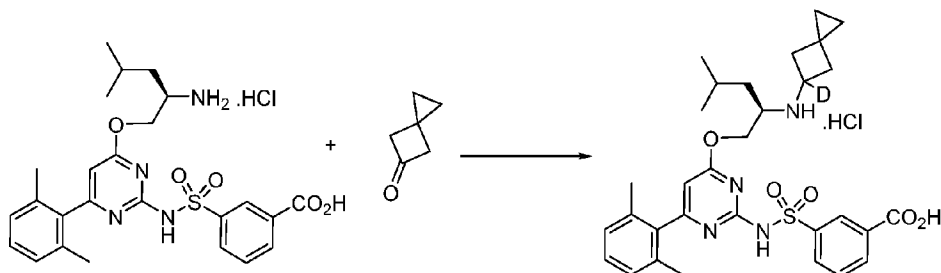
**Sinteză de (11R)-6-(2,6-Dimetilfenil)-11-izobutil-2,2-dioxo-12-(4,4,5,6,6-pentadeuteriospiro[2,3]hexan-5-il)-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetrazatriciclo[12,3,1, 14,8]nonadeca-1(18),4,6,8(19),14,16-hexan-13-onă (Compus Ib)**



Un flacon de 100 mL a fost încărcat sub azot cu acid 3-[[4-(2,6-dimetilfenil)-6-[(2R)-4-metil-2-[(4,4,5,6,6-pentadeuteriospiro[2,3]hexan-5-il)amino]pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (24 mg, 0,03870 mmol), HATU (53 mg, 0,1394 mmol), DMF anhidru (2,5 mL) și DIEA (40 μL, 0,2296 mmol). Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 2,5 zile. Amestecul a fost concentrat și diluat cu DMSO (2 mL). Soluția a fost microfiltrată printr-un disc de filtru de seringă Whatman 0,45 μM PTFE și purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificator. Evaporarea genevac a dat (11R)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-izobutil-2,2-dioxo-12-(4,4,5,6,6-pentadeuteriospiro[2,3]hexan-5-il)-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetrazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(18),4,6,8(19),14,16-hexan-13-onă (4,2 mg, 19%) ca un solid alburii. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,41 - 11,69 (larg m, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,91 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,77 - 7,60 (m, 2H), 7,25 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,38 (s, 1H), 5,12 (dd, J = 10,8, 4,2 Hz, 1H), 4,39 (t, J = 11,1 Hz, 1H), 3,72 (td, J = 11,4, 6,0 Hz, 1H), 2,25 - 1,85 (m, 6H), 1,66 (ddd, J = 14,0, 10,6, 2,8 Hz, 1H), 1,39 - 1,25 (m, 1H), 1,15 (ddd, J = 13,8, 10,5, 2,8 Hz, 1H), 0,72 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,54 - 0,36 (m, 4H), 0,21 (d, J = 6,3 Hz, 3H). ESI-MS m/z calc. 565,2771, găsit 566,43 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,04 minute. (Metodă LC A).

Conținutul de deuteriu a fost determinat prin spectrometrie de masă cu cromatografie de lichide utilizând un instrument Sciex triple quad. Aproximativ 0,1 mg/mL de mostră au fost dizolvați în MeOH. 10 μL de mostră au fost diluați în 1 mL MeOH. 1 μL de mostră a fost injectat în instrument. Coloană: Phenomenex Synergy Fusion RP 4 μm, 80A 50x2 mm. Debit: 0,5 mL/min. Gradient: 40% B până la 95% B în 3,5 min. Fază mobilă A: 0,1% acid formic în apă. B: acetonitril. A fost utilizată metoda selectată de monitorizare a ionilor. Spectrometrul de masă a fost operat într-un mod de ionizare pozitivă cu o sursă ESI. Procentajul fiecărui ion monitorizat a fost după cum urmează: D<sub>5</sub>: 58,66%, D<sub>4</sub>: 34,01%, D<sub>3</sub>: 6,81%, D<sub>2</sub>: 0,47%, D<sub>1</sub>: 0,03%; D<sub>0</sub>: 0,02%.

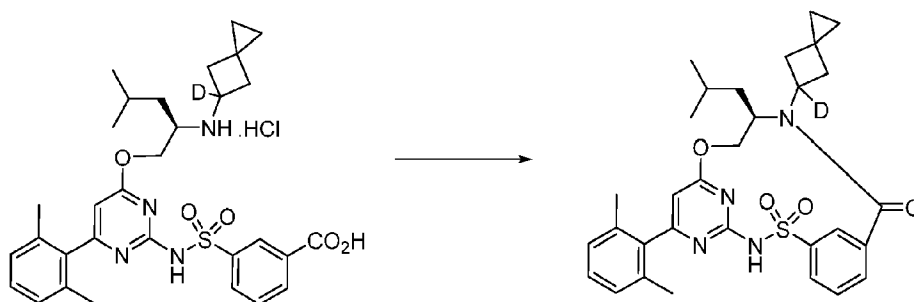




O fiolă de 4 mL a fost încărcată cu acid 3-[[4-[(2R)-2-amino-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (99 mg, 0,1850 mmol), spiro[2,3]hexan-5-onă (50 mg, 0,5201 mmol), DCM anhidru (0,30 mL) și cianoborodeuteridă de sodiu (36 mg, 0,5466 mmol). Fiola a fost purjată scurt cu azot și amestecul (suspensie groasă la început) a fost agitat viguros la temperatura ambiantă timp de 2 ore, timp în care LCMS a prezentat o conversie de aproximativ 50%. S-a adăugat metanol- $d_4$  deuterat (1 mL, 24,62 mmol) și amestecul a fost concentrat și dizolvat în DMSO (volum final total de 3 mL). Amestecul a fost purificat prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificador.

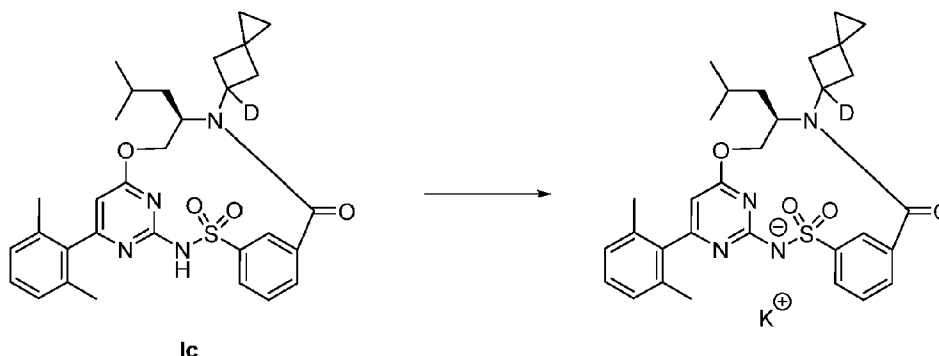
Fracțiunile pure au fost colectate și solvenții evaporati pentru a da acidul 3-[[4-[(2R)-2-[(5-deuteriospiro[2,3]hexan-5-il)amino]-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (28 mg, 25%) ca solid alb. ESI-MS  $m/z$  calc. 579,2626, găsit 580,42 ( $M+1$ )<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,42 minute (Metodă LC A).

**Sinteză de (11R)-12-(5-Deuteriospiro[2,3]hexan-5-il)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-izobutil-2,2-dioxo-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetrazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(18),4,6,8(19),14,16-hexan-13-onă (Compus Ic)**



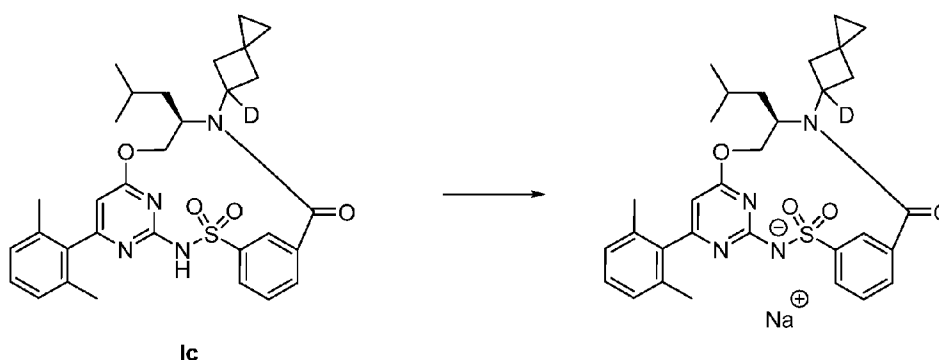
Un flacon de 20 mL a fost încărcat sub azot cu HATU (48 mg, 0,1262 mmol), DMF anhidru (2 mL) și DIEA (45  $\mu$ L, 0,2584 mmol). O soluție de acid 3-[[4-[(2R)-2-[(5-deuteriospiro[2,3]hexan-5-il)amino]-4-metil-pentoxi]-6-(2,6-dimetilfenil)pirimidin-2-il] sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (28 mg, 0,04544 mmol) în DMF anhidru (1 mL) a fost adăugată în picătură prin seringă și amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 14 ore. Amestecul a fost concentrat și diluat cu DMSO (2 mL). Soluția a fost microfiltrată printr-un disc de filtru de seringă Whatman 0,45  $\mu$ M PTFE și purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificador. Evaporarea a dat un reziduu care a fost triturat în DCM/hexani. Evaporarea solvenților a dat (11R)-12-(5-deuteriospiro[2,3]hexan-5-il)-6-(2,6-dimetilfenil)-11-izobutil-2,2-dioxo-9-oxa-2 $\lambda^6$ -tia-3,5,12,19-tetrazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(18),4,6,8(19),14,16-hexan-13-onă (11 mg, 42%) ca solid alb. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12,52 (larg m, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,90 (br s, 1H), 7,67 (br s, 2H), 7,24 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,37 (br s, 1H), 5,11 (dd, J = 10,8, 4,2 Hz, 1H), 4,39 (t, J = 11,0 Hz, 1H), 3,74 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 3,27 (dd, J = 10,1, 5,0 Hz, 2H), 2,24 - 1,81 (m, 8H), 1,66 (t, J = 11,8 Hz, 1H), 1,38 - 1,23 (m, 1H), 1,23 - 1,00 (m, 1H), 0,72 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,59 - 0,37 (m, 4H), 0,21 (d, J = 6,2 Hz, 3H). <sup>1</sup>H RMN prezintă aproximativ 95% din analogul  $D_1$  și aproximativ 5% din analogul nedeuterat. ESI-MS  $m/z$  calc. 561,252, găsit 562,48 ( $M+1$ )<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,07 minute (Metodă LC A).

**Exemplul 14: Sinteză a unei săruri de potasiu a Compusului Ic**



Compusul **Ic** este dizolvat în metanol și tratat încet cu KOH (0,5 M în metanol) sub agitare. Soluția este agitată la temperatura ambiantă timp de 1 oră, evaporată, și uscată sub carcasă în vid cu scurgere de azot la 50-55°C timp de 16 ore pentru a da Compusul **Ic** (ioni de potasiu).

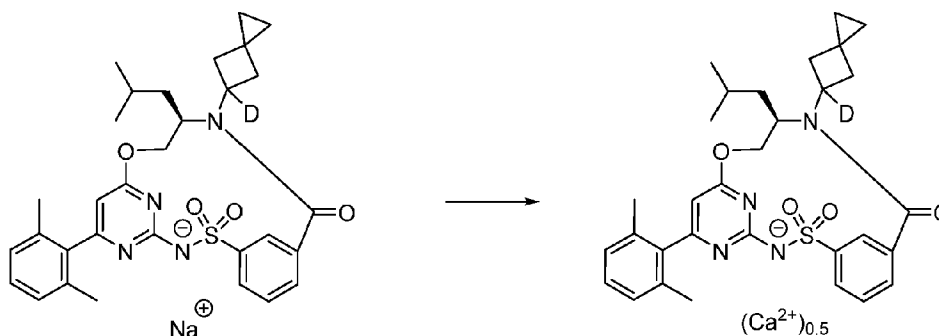
5 **Exemplul 15: Sinteza a unei săruri de sodiu a Compusului Ic**



Compusul **Ic** este suspendat în apă și tratat încet cu NaOH (1 M) sub agitare. Suspensia este agitată la temperatura ambiantă timp de 1,25 ore. Soluția este filtrată clar cu un filtru de seringă (0,2 μm) și filtratul clar este liofilizat timp de două zile pentru a da Compusul **Ic** (sare de sodiu).

10

**Exemplul 16: Sinteza a unei săruri de calciu a Compusului Ic**



Compusul **Ic** (sare de sodiu) este agitat în apă timp de 10 min. Se adaugă o soluție de CaCl<sub>2</sub> în apă. Se adaugă o altă porțiune de apă și suspensia este agitată la temperatura ambiantă timp de 23 de ore. Solidul este colectat prin filtrare, spălat cu multă apă, și uscat sub vid cu o scurgere de azot la 55-60°C timp de 14 ore pentru a da Compusul **Ic** (sare de calciu (0,5)).

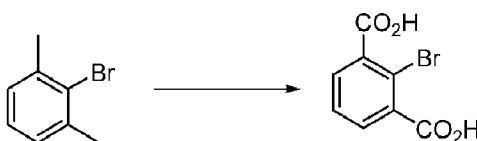
15

**Exemplul 17: Sinteza de (11R)-6-[2,6-di(trideutero)metilfenil]-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8] nonadeca-**

20

**1(17),4(19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compus Id)**

**Sinteza de acid 2-bromobenzen-1,3-dicarboxilic (25)**



Lao soluție agitată de 2-bromo-1,3-dimetil-benzen (35,25 g, 190,48 mmol) într-un amestec de

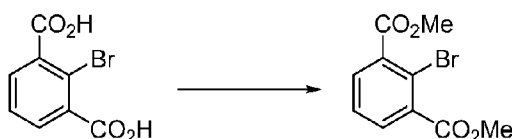
25

terț-butanol (150 mL) și apă (150 mL) la temperatura ambiantă a fost adăugat în porții permanganat de

potasiu (61 g, 385,99 mmol). După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost încălzit la 85°C timp de 3 ore. După răcire la temperatura ambiantă, s-a adăugat o altă porțiune de permanganat de potasiu (62 g, 392,32 mmol). Amestecul de reacție a fost apoi încălzit la 85°C timp de 16 ore. Amestecul de reacție a fost filtrat fierbinte printr-un strat de celite, și turta de filtru a fost spălată cu un amestec fierbinte 1: 1 de terț-butanol și apă (2 x 100 mL). Filtratele combinate au fost concentrate sub vid la un volum rezidual de ~200 mL și acidulate la pH ~1 cu acid sulfuric concentrat. Amestecul a fost răcit la 0°C și lăsat în repaus timp de 2 ore. Produsul precipitat a fost colectat prin filtrare, și filtratul apos a fost extras suplimentar cu acetat de etil (2 x 80 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (40 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate. Toate fracțiunile de produs au fost combinate, spălate cu hexani (2 x 100 mL), și uscate sub vid pentru a da acidul 2-bromobenzen-1,3-dicarboxilic (24,86 g, 51%) ca solid alb. Produsul a fost preluat în continuare în etapa următoare fără nici o purificare suplimentară.

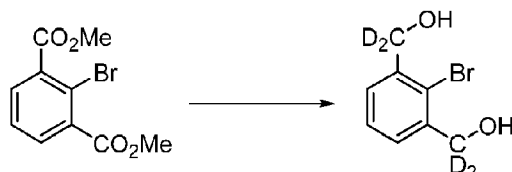
<sup>1</sup>H RMN (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,71 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,53 (t, J = 7,6 Hz, 1H). ESI-MS m/z calc. 243,9371, găsit 245,3 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,63 minute (Metodă LC C).

#### 15 Sinteză de 2-bromobenzen-1,3-dicarboxilat de dimetil (26)



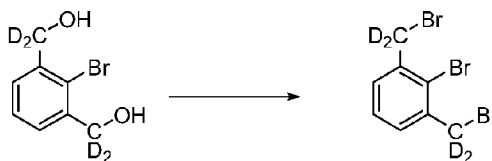
La o soluție agitată de acid 2-bromobenzen-1,3-dicarboxilic (25,15 g, 102,64 mmol) în DMF anhidru (250 mL) la temperatura ambiantă sub azot a fost adăugat K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidru (31,5 g, 227,92 mmol), urmat de iodometan (32,376 g, 14,2 mL, 228,10 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la această temperatură timp de 24 de ore. Amestecul de reacție a fost turnat în saramură (750 mL), și produsul a fost extras cu acetat de etil (3 x 250 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (450 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate pentru a da 2-bromobenzen-1,3-dicarboxilat de dimetil (28,45 g, 94%) ca un ulei chihlimbariu. Produsul a fost transferat în etapa următoare fără purificare suplimentară. <sup>1</sup>H RMN (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,91 - 7,74 (m, 2H), 7,70 - 7,52 (m, 1H), 3,88 (s, 6H). ESI-MS m/z calc. 271,9684, găsit 273,4 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 4,23 minute (Metodă LC C).

#### 25 Sinteză de [2-Bromo-3-[dideuterio(hidroxi)metil]fenil]-dideuterio-metanol (27)



La o suspensie agitată de deuterură de litiu aluminiu (200 mg, 5,0044 mmol) în THF anhidru (3 mL) la 0°C sub azot a fost adăugată în picătură o soluție de 2-bromobenzen-1,3-dicarboxilat de dimetil (585 mg, 2,1422 mmol) în THF anhidru (1 mL). După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost agitat la această temperatură timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost diluat cu THF (10 mL) și stins utilizând un protocol Fieser standard. Sărurile au fost separate prin filtrare și spălate cu THF (2 x 10 mL). Filtratele combinate au fost concentrate sub vid pentru a da [2-bromo-3-[dideuterio(hidroxi)metil]fenil]-dideuterio-metanolul (416 mg, 79%) ca solid alb. Produsul a fost transferat în etapa următoare fără purificare suplimentară. <sup>1</sup>H RMN (250 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,44 - 7,39 (m, 3H), 5,37 (s, 2H). ESI-MS m/z calc. 220,0037, găsit 203,3 (M+1-18)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,8 minute (Metodă LC C).

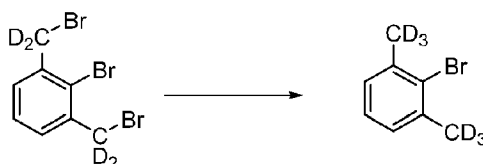
#### 40 Sinteză de 2-Bromo-1,3-bis[bromo(dideuterio)metil]benzen (28)



La o suspensie agitată de [2-bromo-3-[dideuterio(hidroxi)metil]fenil]-dideuterio-metanol (12,56 g, 56,811 mmol) în DCM anhidru (370 mL) la temperatura ambiantă sub azot a fost adăugată tetrabromură de carbon (45,3 g, 136,60 mmol), urmată de o adăugare în porțiuni de trifenilfosfină (35,8 g, 136,49 mmol) pe o perioadă de 15 minute. După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a

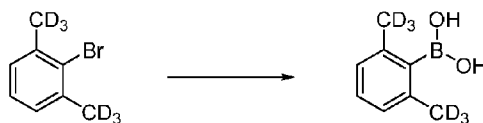
devenit o soluție omogenă și a fost agitat la această temperatură timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost concentrat sub vid la un volum rezidual de ~100 mL și turnat în dietil eter (600 mL). Precipitatul alb a fost separat prin filtrare și spălat cu dietil eter (2 x 50 mL). Filtratele combinate au fost colectate și concentrate sub vid la un volum rezidual de ~100 mL și turnate în hexani (600 mL). Precipitatul alb a fost separat prin filtrare și spălat cu hexani (2 x 100 mL). Filtratele combinate au fost colectate și concentrate sub vid. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând un gradient 0 - 10% de acetat de etil în hexani pentru a da 2-bromo-1,3-bis[bromo(dideuterio)metil]benzen (15,56 g, 71%) ca solid alb.  $^1\text{H RMN}$  (250 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,60 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H), 7,39 (t,  $J = 7,5$  Hz, 1H).

**Sinteză de 2-Bromo-1,3-bis(trideuteriometil)benzen (29)**



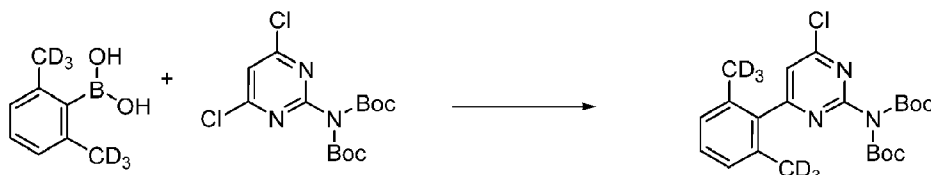
La o suspensie agitată de deuterură de litiu aluminu (3,65 g, 91,330 mmol) în THF anhidru (70 mL) la  $0^\circ\text{C}$  sub azot s-a adăugat în picătură o soluție de 2-bromo-1,3-bis[bromo(dideuterio)metil]benzen (15,5 g, 40,216 mmol) în THF anhidru (70 mL). După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost agitat la această temperatură timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost diluat cu THF (100 mL), și stins utilizând un protocol de prelucrare Fieser standard. Sărurile au fost separate prin filtrare și spălate cu THF (2 x 50 mL). Filtratele combinate au fost concentrate sub vid. Reziduu a fost redizolvat în hexani (200 mL), filtrat și concentrat sub vid pentru a da 2-bromo-1,3-bis(trideuteriometil)benzen (5,58 g, 68%) ca ulei galben pal. Produsul a fost transferat în etapa următoare fără purificare suplimentară.

**Sinteză de acid [2,6-bis(trideuteriometil)fenil]boronic (30)**



La o suspensie agitată de cotituri de magneziu (1,8 g, 74,059 mmol) și iod (15 mg, 0,0030 mL, 0,0591 mmol) în THF anhidru (20 mL) la temperatura ambiantă sub azot s-a adăugat încet o soluție de 2-bromo-1,3-bis(trideuteriometil)benzen (9,89 g, 46,578 mmol) în THF anhidru (50 mL). Odată inițiată, reacția este exotermică și rata de adăugare a fost ajustată pentru a menține temperatura reacției sub punctul de fierbere al THF. După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost agitat la  $65^\circ\text{C}$  timp de 1 oră. Soluția preparată din reactivul Grignard a fost răcită la temperatura ambiantă și adăugată în picătură la o soluție de borat de trimetil (24,232 g, 26 mL, 233,20 mmol) în THF anhidru (60 mL) răcită la  $-78^\circ\text{C}$  sub azot. După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost agitat la  $-78^\circ\text{C}$  timp de 3 ore, apoi lăsat să se încălzească până la temperatura ambiantă și agitat peste noapte. Amestecul de reacție a fost răcit la  $0^\circ\text{C}$  și s-a adăugat încet HCl apos (95 mL de 1 M, 95,000 mmol). După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost încălzit până la temperatura ambiantă și agitat timp de 3 ore. S-a adăugat apă (100 mL) și volatilele au fost îndepărtate sub vid. Stratul apos a fost extras cu acetat de etil (3 x 200 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (80 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate. Reziduu obținut a fost triturat cu hexani (100 mL). Produsul precipitat a fost colectat prin filtrare și uscat sub vid pentru a da acidul [2,6-bis(trideuteriometil)fenil]boronic (4,667 g, 61%) ca solid alb.  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8,11 (larg s, 2H), 7,06 (dd,  $J = 7,9, 7,1$  Hz, 1H), 6,91 (d,  $J = 7,5$  Hz, 2H).

**Sinteză de N-[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il]-N-terț-butoxicarbonil-carbamat de terț-butil (31)**

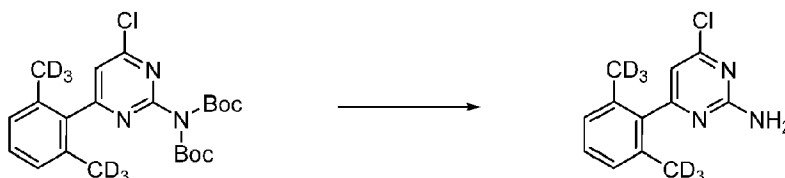


O soluție agitată de acid [2,6-bis(trideuteriometil)fenil]boronic (1,565 g, 10,031 mmol) și N-terț-butoxicarbonil-N-(4,6-dicloropirimidin-2-il)carbamat de terț-butil (5,48 g, 15,046 mmol) într-un amestec de 1,2-dimetoxietan (30 mL) și apă (10 mL) la temperatura ambiantă a fost degazată cu azot timp de 30

min. Sub azot, s-au adăugat carbonat de cesiu (8,18 g, 25,106 mmol) și [1,1'-bis(difenilfosfino)-ferocen]dicloropaladiu(II) (735 mg, 1,0045 mmol). Amestecul de reacție a fost încălzit la 80°C timp de 3 ore. După răcirea la temperatura ambiantă, amestecul de reacție a fost diluat cu apă (120 mL), și produsul a fost extras cu acetat de etil (3 x 150 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (50

5 ml), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând 0 - 10% gradient de dietil eter în hexani pentru a da N-[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il]-N-terț-butoxicarbonil-carbamat de terț-butil (3,6919 g, 79%) ca ulei galben pal. ESI-MS m/z calc. 439,2145, găsit 440,4 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 7,48 minute (Metodă LC C).

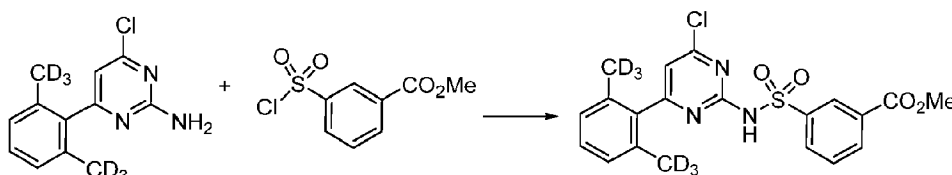
10 **Sinteză de 4-[2,6-Bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-amină (32)**



La o soluție agitată de N-[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il]-N-terț-butoxicarbonil-carbamat de terț-butil (3,66 g, 8,3188 mmol) în DCM (30 mL) la temperatura ambiantă s-a adăugat o soluție de HCl (12 mL de 4 M, 48,000 mmol) în 1,4-dioxan. Amestecul de reacție a fost agitat la această temperatură timp de 20 de ore. Volatilele au fost îndepărtate sub vid, solidul alb obținut a fost resuspendat în NaHCO<sub>3</sub> apos saturat (150 mL) și agitat la temperatura ambiantă timp de 15 min. Produsul a fost extras cu acetat de etil (3 x 100 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (50

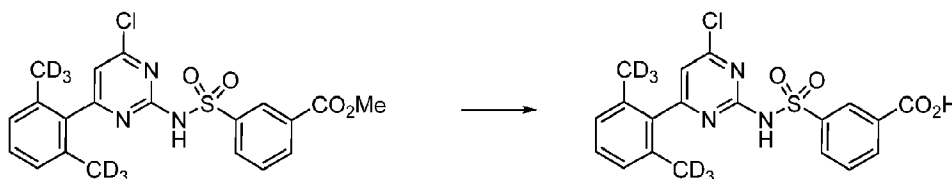
15 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate pentru a da 4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-amină (1,842 g, 87%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 239,1096, găsit 240,3 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 4,44 minute (Metodă LC C).

20 **Sinteză de 3-[[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il]sulfamoil] benzoat de metil (33)**



La o soluție agitată de 4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-amină (1,8 g, 7,5083 mmol) și 3-clorosulfonilbenzoat de metil (2,64 g, 11,250 mmol) în THF anhidru (50 mL) la 0°C sub azot s-a adăugat în picătură o soluție de terț-amoxid de litiu (3,2120 g, 11 mL of 40 % g/g, 13,656 mmol) în heptani. După ce adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost agitat la această temperatură timp de 2 ore. Amestecul de reacție a fost stins cu 1 M HCl apos rece (120 mL), apoi încălzit până la temperatura ambiantă și volatilele au fost îndepărtate sub vid. Produsul a fost extras cu acetat de etil (3 x 150 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (50 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate. Produsul brut a fost purificat prin cromatografie pe gel de siliciu utilizând 0 - 20% gradient de acetat de etil în hexani pentru a da 3-[[4-[2,6-bis(trideuterio-metil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il] sulfamoil]benzoatul de metil (2,786 g, 80%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 437,1083, găsit 438,3 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 5,95 minute. Puritatea finală a fost determinată prin HPLC cu fază inversă utilizând metoda LC C.

35 **Sinteză de acid 3-[[4-[2,6-Bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il] sulfamoil]benzoic (34)**



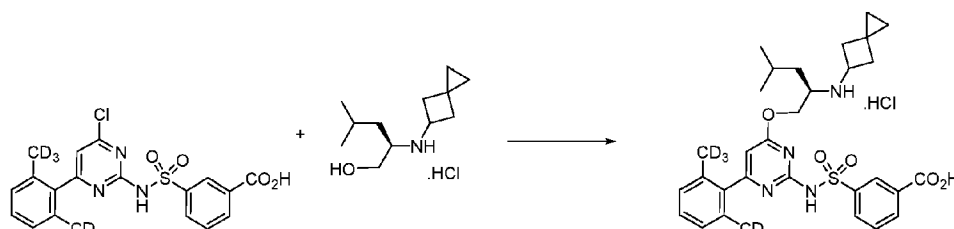
La o soluție agitată de 3-[[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il] sulfamoil]benzoat de metil (2,751 g, 6,2818 mmol) în THF (40 mL) la temperatura ambiantă s-a adăugat NaOH apos (26 mL de 1 M, 26,000 mmol). Amestecul de reacție a fost agitat la această temperatură timp de 2 ore. S-a adăugat apă (100 mL), și volatilele au fost îndepărtate sub vid. Stratul apos rezidual a fost extras cu acetat de etil (1 x 100 mL), și stratul organic a fost eliminat. Stratul apos a fost acidulat cu 2 M

40

45

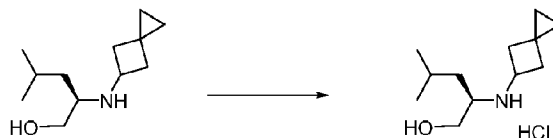
HCl apos la pH ~1, și produsul a fost extras cu acetat de etil (3 x 100 mL). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (50 mL), uscate pe sulfat de sodiu anhidru și concentrate pentru a da acidul 3-[[4-[2,6-bis(trideuterio-metil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (1,719 g, 62%) ca solid alb. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,43 (s, 1H), 12,44 (s, 1H), 8,44 (t, J = 1,8 Hz, 1H), 8,18 (dt, J = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 8,13 (ddd, J = 7,9, 2,0, 1,2 Hz, 1H), 7,68 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,24 (dd, J = 8,0, 7,2 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 7,6 Hz, 2H). ESI-MS m/z calc. 423,0927, găsit 424,0 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,28 minute (Metodă LC B).

**Sinteză de acid 3-[[4-[2,6-Bis(trideuteriometil)fenil]-6-[(2R)-4-metil-2-(spiro[2,3] hexan-5-ilamino)pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (35)**



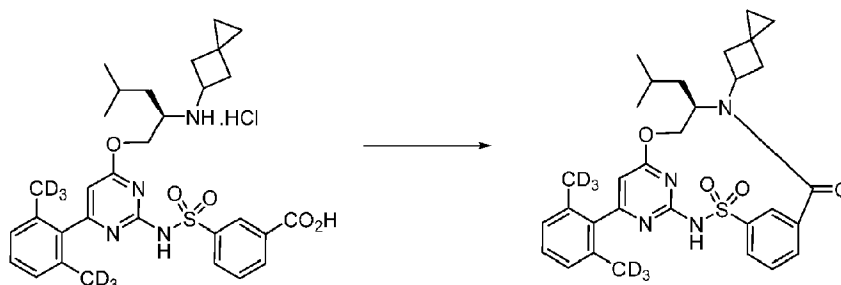
Într-un flacon de 20 mL, acidul 3-[[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-cloro-pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (157 mg, 0,3704 mmol) și (2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-olul (sare clorhidrat) (90 mg, 0,3850 mmol) au fost încărcate sub azot cu THF anhidru (2 mL) (suspensie). S-a adăugat *tert*-butoxid de sodiu (156 mg, 1,623 mmol) (ușoară exotermă și dizolvare de solide). Suspensia a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 5,5 ore. Amestecul a fost partiționat între acetat de etil (30 mL) și 1M HCl apos (30 mL) și saramură (20 mL). După separare, faza apoasă a fost extrasă suplimentar cu EtOAc (2 x 30 ml). Extractele combinate au fost uscate pe sulfat de sodiu și solvenții au fost evaporati pentru a da un material brut. Materialul a fost dizolvat în DMSO (4 mL). Soluția a fost microfiltrată printr-un disc de filtru de seringă Whatman 0,45 μm PTFE și purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificador. Evaporarea a dat acidul 3-[[4-[2,6-bis(trideuterio-metil)fenil]-6-[(2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentoxi]pirimidin-2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (135 mg, 59%) ca solid alb. ESI-MS m/z calc. 584,29395, găsit 585,73 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 1,22 minute (Metodă LC A).

**Sinteză de (2R)-4-Metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-ol (sare clorhidrat) (3·HCl)**



S-a adăugat HCl (354 mL de 4 M, 1,416 mol) (4 M în dioxan) la o soluție agitată (mecanic) de (2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-ol (254 g, 1,287 mol) în dietil eter (2,286 L) într-o baie de apă/gheață timp de 20 minute, menținând temperatura internă între 10°C și 22°C. După ce adăugarea a fost completă, soluția a fost agitată la temperatura ambiantă timp de 1,5 ore. Produsul a fost filtrat și clătit cu 2000 mL dietil eter. Exact același procedeu a fost repetat din nou la exact aceeași scară (a fost utilizat un total de 508 g de materie primă de aminoalcool). Produsul a fost uscat sub vid la 35°C peste noapte și a dat 562,3 g. (2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentan-1-ol (sare clorhidrat) (562,3 g, 93%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,17 - 8,84 (m, 2H), 5,38 (s, 1H), 3,99 (p, J = 7,2 Hz, 1H), 3,70 - 3,60 (m, 1H), 3,55 - 3,45 (m, 1H), 3,03 - 2,91 (m, 1H), 2,63 - 2,54 (m, 2H), 2,20 - 2,05 (m, 2H), 1,73 - 1,60 (m, 1H), 1,60 - 1,48 (m, 1H), 1,43 - 1,30 (m, 1H), 0,93 - 0,83 (m, 6H), 0,55 - 0,45 (m, 2H), 0,45 - 0,36 (m, 2H).

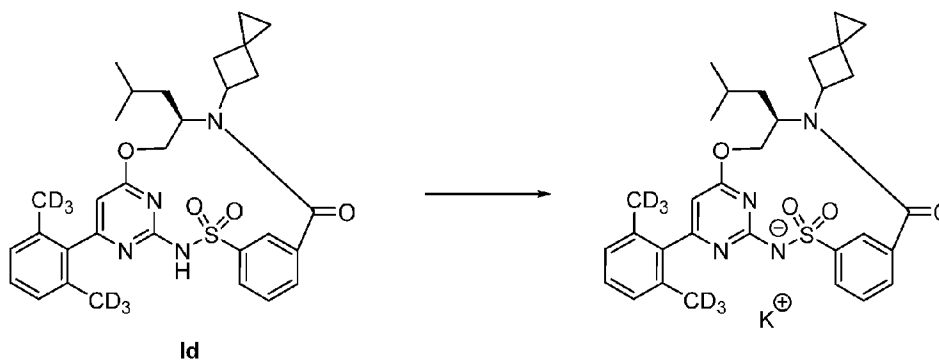
**Sinteză de (11R)-6-[2,6-di(trideutero)metilfenil]-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3] hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4 (19),5,7,14(18),15-hexan-2,2,13-trionă (Compus Id)**



Un flacon de 20 mL a fost încărcat sub azot cu COMU (244 mg, 0,5697 mmol), DMF anhidru (8 mL) și DIEA (0,22 mL, 1,263 mmol). O soluție de acid 3-[[4-[2,6-bis(trideuteriometil)fenil]-6-[(2R)-4-metil-2-(spiro[2,3]hexan-5-ilamino)pentoxi]pirimidin -2-il]sulfamoil]benzoic (sare clorhidrat) (135 mg, 0,2173 mmol) în DMF anhidru (4 mL) a fost adăugată în picătură prin seringă într-o perioadă de 3 min. Amestecul a fost agitat la temperatura ambiantă timp de 17 ore. Amestecul a fost concentrat și diluat cu DMSO (2 mL). Soluția a fost microfiltrată printr-un disc de filtru de seringă Whatman 0,45 μM PTFE și purificată prin HPLC preparativă cu fază inversă (C18) utilizând un gradient de acetonitril în apă (1 până la 99% timp de 15 min) și HCl ca modificator. Evaporarea a dat un reziduu care a fost triturat în DCM/hexani. Evaporarea solvenților a dat (11R)-6-[2,6-di(trideutero)-metilfenil]-11-(2-metilpropil)-12-{spiro[2,3]hexan-5-il}-9-oxa-2λ<sup>6</sup>-tia-3,5,12,19-tetraazatriciclo-[12,3,1,14,8]nonadeca-1(17),4(19),5,7,14(18), 15-hexan-2,2,13-triona (73,4 mg, 60%) ca un solid alburiu. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,47 - 11,72 (larg m, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,99 - 7,81 (m, 1H), 7,82 - 7,52 (m, 2H), 7,26 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 6,37 (br s, 1H), 5,12 (dd, J = 10,7, 4,2 Hz, 1H), 4,39 (t, J = 11,1 Hz, 1H), 4,23 (p, J = 8,5 Hz, 1H), 3,72 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 3,30 - 3,22 (m, 2H, suprapus cu apă), 2,09 (dt, J = 19,0, 9,4 Hz, 2H), 1,66 (t, J = 12,5 Hz, 1H), 1,38 - 1,24 (br m, 1H), 1,15 (dd, J = 14,0, 10,4 Hz, 1H), 0,72 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,61 - 0,35 (m, 4H), 0,21 (d, J = 6,2 Hz, 3H). ESI-MS m/z calc. 566,2834, găsit 567,69 (M+1)<sup>+</sup>; Timp de retenție: 2,05 minute (Metodă LC A).

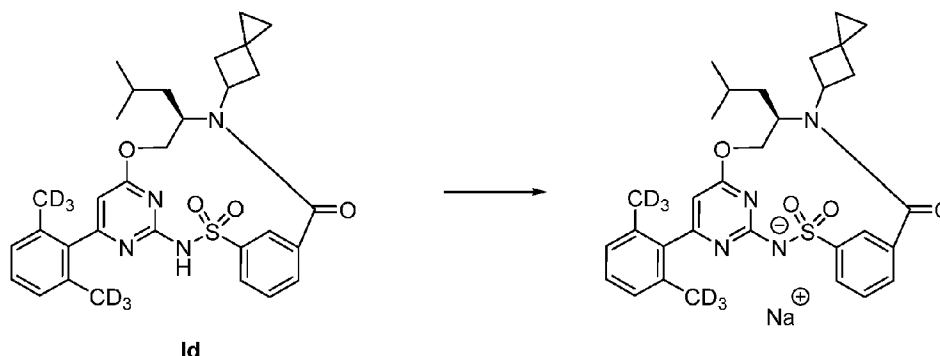
Conținutul de deuteriu a fost determinat prin spectrometrie de masă cu cromatografie de lichide utilizând un singur instrument quad. Aproximativ 0,1 mg/mL de mostră au fost dizolvați în MeOH. 10 μL de mostră au fost diluați în 1 mL MeOH. 1 μL de mostră a fost injectat în instrument. Coloană: Agilent SB C18, 1,8 μm, 2,1 × 50 mm. Debit: 0,7 mL/min. Gradient: 40% B până la 100% B în 2,5 min. Fază mobilă A: 0,1% acid trifluoroacetic în apă. B: acetonitril. A fost utilizată metoda selectată de monitorizare a ionilor. Spectrometrul de masă a fost operat într-un mod cu ionizare pozitivă cu o trusă ESI. Procentajul fiecărui ion monitorizat a fost după cum urmează: D<sub>6</sub>: 88,49%, D<sub>5</sub>: 8,14%, D<sub>4</sub>: 0,93%, D<sub>3</sub>: 0,52%, D<sub>2</sub>: 1,93%, D<sub>1</sub>: 0,00%; D<sub>0</sub>: 0,00%.

#### Exemplul 18: Sinteza a unei săruri de potasiu a Compusului Id



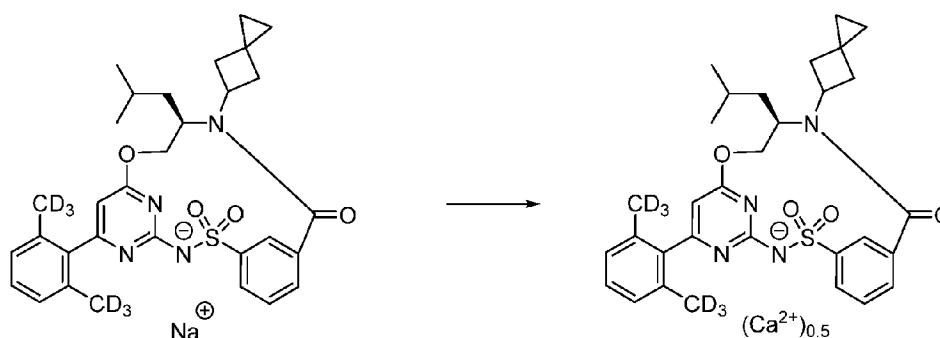
Compusul **Id** este dizolvat în metanol și tratat încet cu KOH (0,5 M în metanol) sub agitare. Soluția este agitată la temperatura ambiantă timp de 1 oră, evaporată, și uscată sub carcasă în vid cu scurgere de azot la 50-55°C timp de 16 ore pentru a da Compusul **Id** (ioni de potasiu).

#### Exemplul 19: Sinteza a unei săruri de sodiu a Compusului Id



Compusul **Id** este suspendat în apă și tratat încet cu NaOH (1 M) sub agitare. Suspensia este agitată la temperatura ambiantă timp de 1,25 ore. Soluția este filtrată clar cu un filtru de seringă (0,2 μm) și filtratul clar este liofilizat timp de două zile pentru a da Compusul **Id** (sare de sodiu).

5 **Exemplul 20: Sinteza a unei săruri de calciu a Compusului Id**



Compusul **Id** (sare de sodiu) este agitat în apă timp de 10 min. Se adaugă o soluție de CaCl<sub>2</sub> în apă. Se adaugă o altă porțiune de apă și suspensia este agitată la temperatura ambiantă timp de 23 de ore. Solidul este colectat prin filtrare, spălat cu multă apă, și uscat sub vid cu o scurgere de azot la 55-60°C timp de 14 ore pentru a da Compusul **Id** (sare de calciu (0,5)).

10

**Teste de bioactivitate**

**Soluții**

15

Mediul bazic (ADF+++), a constatat din F12 DMEM/Ham avansat, 2 mM Glutamax, 10 mM HEPES, 1 μg/ml penicilină/streptomicină.

Mediul de întreținere enteroid intestinal (IEMM) a constatat din ADF+++ , supliment 1x B27, supliment 1x N2, 1,25 mM cisteină N-acetil, 10 mM nicotinamidă, 50 ng/mL hEGF, 10 nM gastrin, 1 μg/mL hR-spondin-1, 100 ng/mL hNoggin, inhibitor TGF-β de tip 1 A-83-01, 100 μg/mL primocin, 10 μM inhibitor P38 MAPK SB202190.

20

Tamponul de baie 1 a constatat din 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 160 mM NaCl, 4,5 mM KCl, 10 mM HEPES, 10 mM glucoză, 2 mM CaCl<sub>2</sub>.

Tamponul fără clorură a constatat din 1 mM gluconat de magneziu, 2 mM gluconat de calciu, 4,5 mM gluconat de potasiu, 160 mM gluconat de sodiu, 10 mM HEPES, 10 mM glucoză.

25

Soluția de colorant pentru baia 1 a constatat din tampon de baie 1, 0,04% F127 pluronic, 20 μM oxonol de metil, 30 μM CaCCinh-A01, 30 μM Chicago cer albastru.

Soluția de colorant fără clorură a constatat din tampon fără clorură, 0,04% F127 pluronic, 20 μM oxonol de metil, 30 μM CaCCinh-A01, 30 μM Chicago cer albastru.

Soluția de stimulare a colorantului fără clorură a constatat din soluție de colorant fără clorură, 10 μM forskolină, 100 μM IBMX, și 300 nM Compus **III**.

30

**Cultură celulară**

Cellulele enteroide epiteliale intestinale umane au fost obținute de la Institutul Hubrecht pentru Biologie Dezvoltatoare și Cercetarea Celulelor Stem, Utrecht, Olanda și expandate în flacoane T cum s-a descris anterior (Dekkers JF, Wiegerinck CL, de Jonge ORE, Bronsveld I, Janssens HM, de Winter-de Groot KM, Brandsma AM, de Jong NWM, Bijvelds MJC, Scholte BJ, Nieuwenhuis EES, van den Brink S, Clevers H, van der Ent CK, Middendorp S și M Beekman JM. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. Nat. Med. 2013 Jul; 19(7):939-45.

35

**Recoltarea și însămânțarea celulelor enteroide**

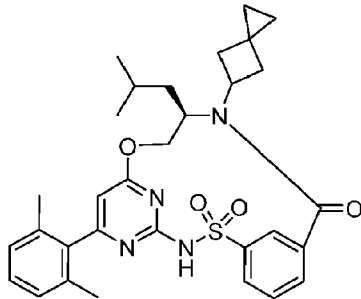
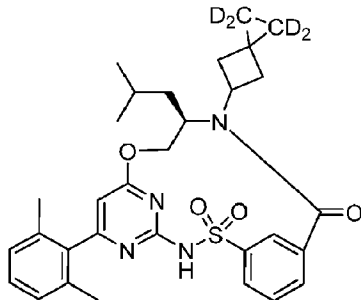
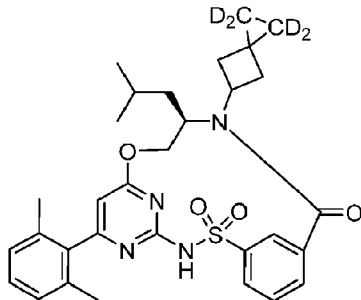
Cellulele au fost recuperate în soluție de recuperare celulară, colectate prin centrifugare la 650 rpm timp de 5 min la 4°C, resuspendate în TryPLE și incubate timp de 5 min la 37°C. Cellulele au fost

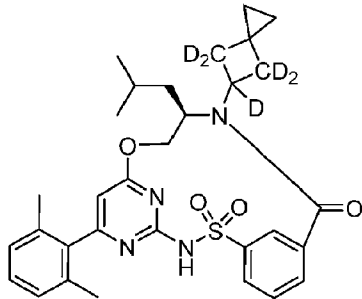
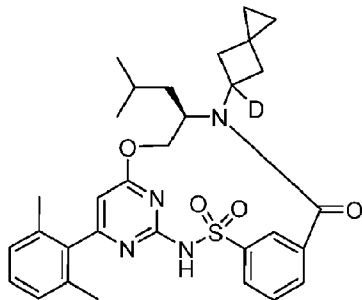
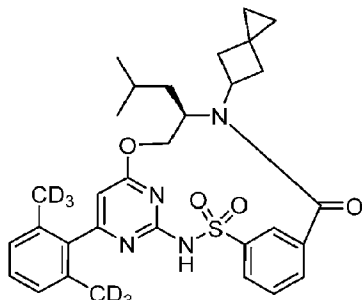
apoi colectate prin centrifugare la 650 rpm timp de 5 min la 4°C și resuspendate în IEMM conținând 10 μM inhibitor ROCK (RI). Suspensia de celule a fost trecută printr-un filtru celular de 40 μm și resuspendată la 1x10<sup>6</sup> celule/mL în IEMM conținând 10 μM RI. Celulele au fost însămânțate la 5000 celule/godeu în plăci multi-godeu și incubate peste noapte la 37°C, umiditate de 95% și 5% CO<sub>2</sub> înainte de test.

#### Test de colorare al potențialului membranei

Celulele enteroide au fost incubate cu compus de testat în IEMM timp de 18-24 ore la 37°C, umiditate de 95% și 5% CO<sub>2</sub>. După incubările compusului, a fost utilizat un test de colorare al potențialului membranei utilizând un FLIPR Tetra pentru a măsura direct potența și eficacitatea compusului de testat asupra transportului de clorură mediat de CFTR după adăugarea acută a 10 μM forskolină și 300 nM N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxiifenil]-1,4-dihidro-4-oxochinolin-3-carboxamidă. Pe scurt, celulele au fost spălate de 5 ori în tamponul de baie 1. S-a adăugat soluția de colorant pentru baia 1 și celulele au fost incubate timp de 25 min la temperatura ambiantă. După incubarea colorantului, celulele au fost spălate de 3 ori în soluție de colorant fără clorură. Transportul clorurii a fost inițiat prin adăugarea de soluție de stimulare a colorantului fără clorură și semnalul fluorescent a fost citit timp de 15 min. Transportul de clorură mediat de CFTR pentru fiecare afecțiune a fost determinat din AUC a răspunsului fluorescent la stimularea cu forskolină acută și 300 nM N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxiifenil]-1,4-dihidro-4-oxochinolin-3-carboxamidă. Transportul clorurii a fost apoi exprimat ca procentaj din transportul clorurii după tratamentul cu 1 μM (14S)-8-[3-(2-{Dispiro[2,0,2,1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ<sup>6</sup>-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo[17,3,1,11,14,05,10]-tetracos-1(22),5,7,9,19(23),20-hexan-2,2,4-trionă, 3 μM ((R)-1-(2,2-difluoro-benzo[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 și 300 nM control pozitiv de combinație triplă de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxiifenil]-1,4-dihidro-4-oxochinolin-3-carboxamidă (% activitate). Tabelul 3 furnizează activitatea de modulare a CFTR pentru Compusul I și derivații deuterati exemplificativi ai Compusului I.

**Tabelul 3. Activitatea de modulare a CFTR pentru Compusul I și derivații deuterati exemplificativi ai Compusului I**

Compus	Structură chimică	Activitate max.	EC <sub>50</sub>
Compus I		+++	+++
Compus Ia		+++	+++
Compus Ib		+++	+++

Compus	Structură chimică	Activitate max.	EC <sub>50</sub>
			
Compus Ic		+++	+++
Compus Id		+++	+++
Activitate max.: +++ este >60%; ++ este 30-60%; + este <30%. EC <sub>50</sub> : +++ este <1 μM.			

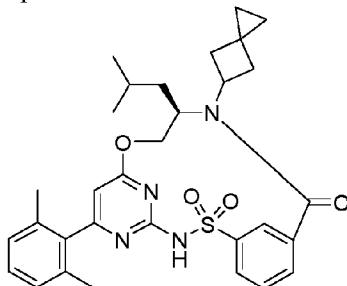
**Alte realizări**

Discuția anterioară divulgă și descrie numai realizări exemplificative ale acestei divulgări. O persoană calificată în domeniu va recunoaște cu ușurință, dintr-o astfel de discuție și din revendicările însoțitoare, că diferite schimbări, modificări, și variații pot fi făcute aici fără îndepărtarea de domeniul acestei divulgări cum s-a definit în următoarele revendicări.

5

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

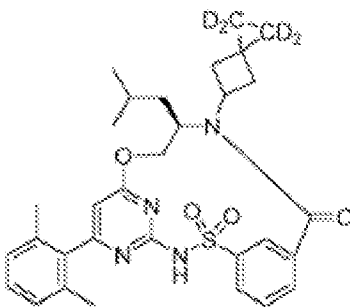
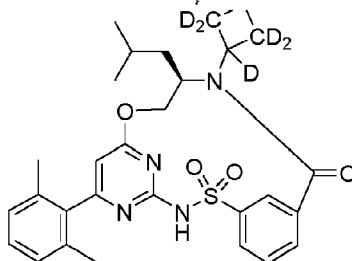
- WO-A1-2016/057572
- WO-A1-2017/173274
- WO-A1-2018/064632
- WO-A1-2018/107100
- WO-A1-2019/018395

**(57) Revendicări:****1. Un compus selectat dintre Compusul I:****I,**

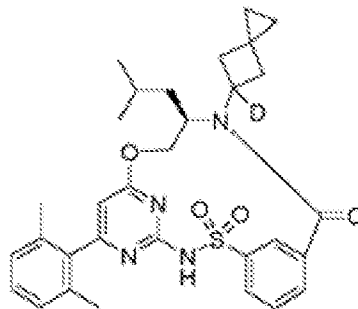
derivați deuterai ai Compusului I, și săruri acceptabile farmaceutic ale acestuia.

**2. Compusul conform revendicării 1, în care compusul este:**

- (a) Compusul I; și/sau
- (b) o sare de potasiu, o sare de sodiu, sau o sare de calciu.

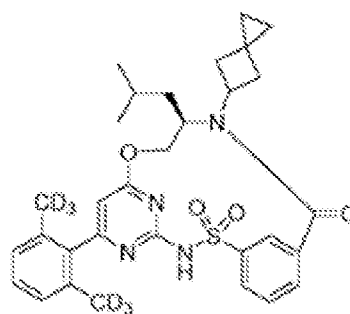
**3. Compusul conform revendicării 1, în care derivatul deuterat al Compusului I este selectat dintre:****Compusul Ia:****Ia,****Compusul Ib:****Ib,**

Compusul **Ic**:



**Ic**

Compusul **Id**:



**Id**

și săruri acceptabile farmaceutic ale acestora.

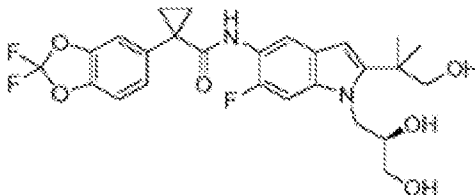
**4.** O compoziție farmaceutică cuprinzând compusul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 3 și un purtător acceptabil farmaceutic.

**5.** Compusul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 3, sau compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 4, pentru utilizare într-o metodă de tratare a unei tulburări mediate de CFTR, în care tulburarea mediată de CFTR este CF.

**6.** Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 4, sau compusul sau compoziția pentru utilizare conform revendicării 5, în care compusul este Compusul **I** sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

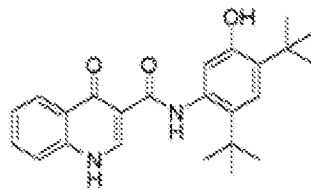
**7.** Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 4 sau 6, cuprinzând în plus unul sau mai mulți compuși selectați dintre:

Compusul **II**:



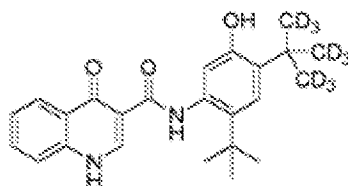
**II**

Compusul III:



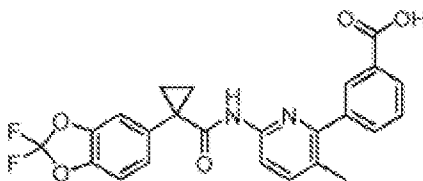
III,

Compusul III-d:



III-d, și

Compusul IV:

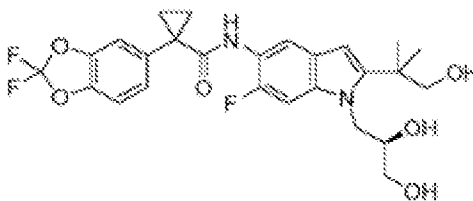


IV,

și săruri acceptabile farmaceutic ale compuşilor II, III, III-d, și IV.

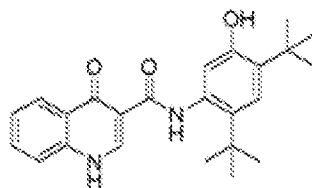
8. Compusul sau compoziția pentru utilizare conform revendicării 5 sau 6 în care metoda cuprinde în plus administrarea unuia sau mai multor compuși selectați dintre:

Compusul II:



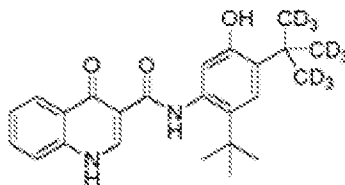
II,

Compusul III:



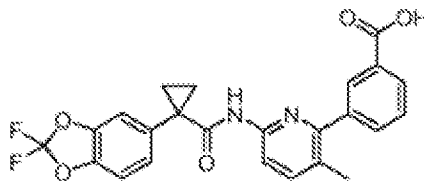
III,

Compusul III-d:



III-d, și

Compusul IV:



IV,

și săruri acceptabile farmaceutic ale compușilor II, III, III-d, și IV.

9. Compoziția farmaceutică în conformitate cu revendicarea 7, în care compoziția farmaceutică cuprinde:

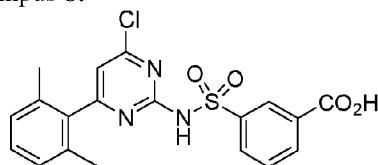
- (a) Compusul I și Compusul III sau Compusul III-d; sau
- (b) Compusul I, Compusul II, și Compusul III sau Compusul III-d.

10. Compusul sau compoziția pentru utilizare conform revendicării 8, în care metoda cuprinde administrarea:

- (a) Compusului I și Compusului III sau Compusului III-d; sau
- (b) Compusului I, Compusului II, și Compusului III sau Compusului III-d.

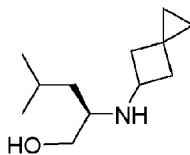
11. Un procedeu pentru prepararea Compusului I în conformitate cu revendicarea 1 cuprinzând:

- (i) punerea în reacție a unui compus 8:



8

cu compusul 3:



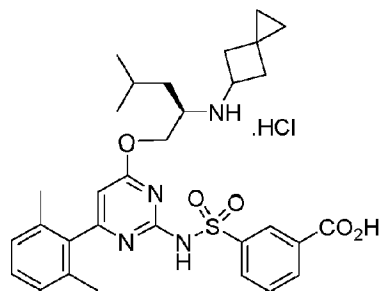
3

pentru a produce Compusul I; sau

- (ii)

a) punerea în reacție a unui compus 8 cu compusul 3, și tratamentul ulterior cu HCl pentru a produce compusul 9:

61



97

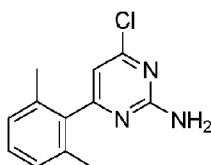
și

b) transformarea compusului **9** în Compusul **I**.

**12.** Procedeu conform revendicării 11, în care:

(i) compusul **8** este preparat prin:

a) punerea în reacție a unui compus **7**:



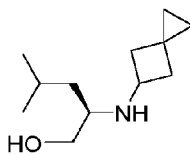
7

cu 3-clorosulfonilbenzoatul de metil și o primă bază,

b) tratamentul cu o a doua bază, și

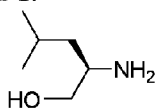
c) tratarea amestecului de reacție cu HCl pentru a produce compusul **8**; și/sau

(ii) compusul **3**:



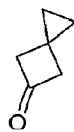
3

este preparat prin punerea în reacție a unui compus **1**:



1

cu compusul **2**:

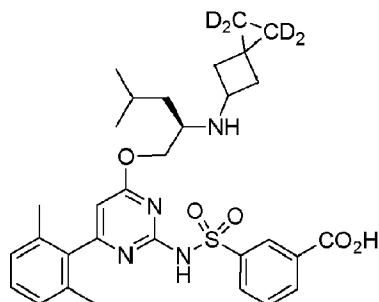


2

pentru a produce compusul **3**.

**13.** Un procedeu pentru prepararea Compusului **Ia** în conformitate cu revendicarea 3, cuprinzând transformarea compusului **20**:

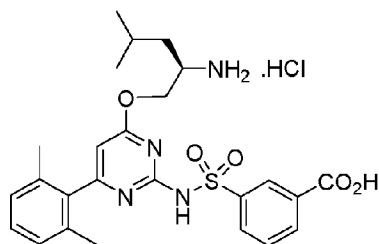
62



**20**

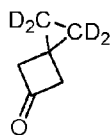
în Compusul **Ia**.

**14.** Procedeu conform revendicării 13, în care compusul **20** este produs prin punerea în reacție a unui compus **19**:



**19**

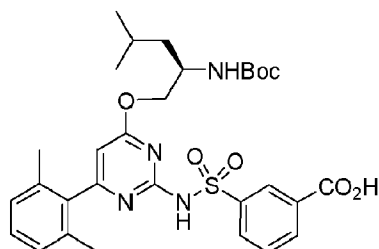
și a compusului **17**:



**17**

pentru a produce compusul **20**.

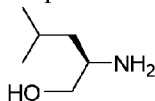
**15.** Procedeu conform revendicării 14, în care compusul **19** este preparat prin transformarea compusului **18**:



**18**

în compusul **19**, în care opțional compusul **18** este preparat prin:

a) punerea în reacție a unui compus **8** cu compusul **1**:

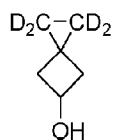


**1**

b) transformarea produsului din etapa a) în compusul **18**.

**16.** Procedeu conform revendicării 14, în care compusul **17** este preparat prin transformarea compusului **16**:

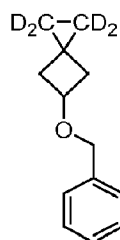
63



16

în compusul 17.

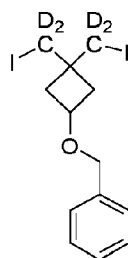
17. Procedeu conform revendicării 16, în care compusul 16 este preparat prin transformarea compusului 15:



15

în compusul 16.

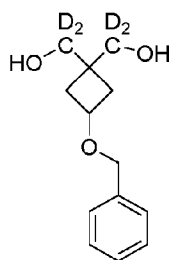
18. Procedeu conform revendicării 17, în care compusul 15 este preparat prin transformarea compusului 14:



14

în compusul 15.

19. Procedeu conform revendicării 18, în care compusul 14 este preparat prin transformarea compusului 13:

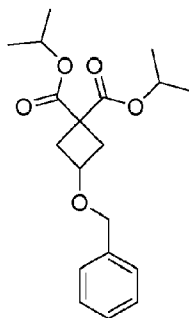


13

în compusul 14.

20. Procedeu conform revendicării 19, în care compusul 13 este preparat prin transformarea compusului 12:

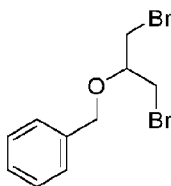
64



12

în compusul 13.

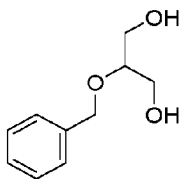
21. Procedeu conform revendicării 20, în care compusul 12 este preparat prin punerea în reacție a unui compus 11:



11

cu propandioatul de diizopropil pentru a forma compusul 12.

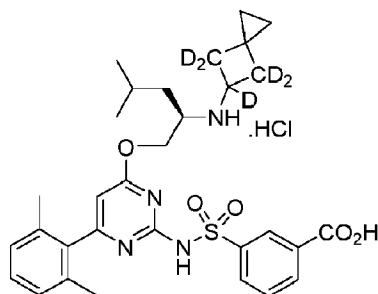
22. Procedeu conform revendicării 21, în care compusul 11 este preparat prin transformarea compusului 10:



10

în compusul 11.

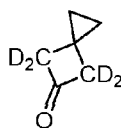
23. Un procedeu pentru prepararea Compusului Ib în conformitate cu revendicarea 3 cuprinzând transformarea compusului 22:



22

în Compusul Ib.

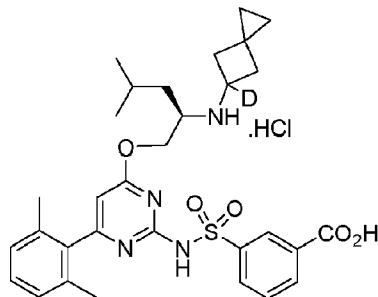
24. Procedeu conform revendicării 23, în care compusul 22 este preparat prin punerea în reacție a unui compus 19 cu compusul 21:



21

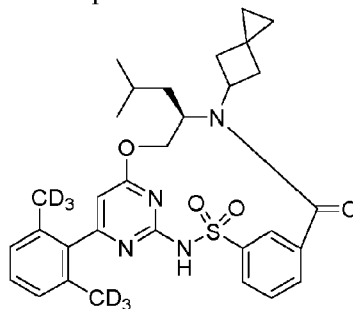
pentru a produce compusul **22**, în care opțional compusul **21** este preparat prin transformarea compusului **2** în compusul **21**.

**25.** Un procedeu pentru prepararea Compusului **Ic** în conformitate cu revendicarea 3 cuprinzând transformarea compusului **23**:

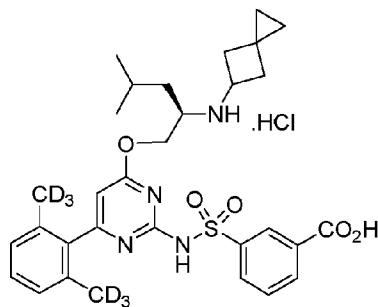
**23**

în Compusul **Ic**, în care opțional compusul **23** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **19** cu compusul **2** pentru a produce compusul **23**.

**26.** Un procedeu pentru prepararea Compusului **Id** în conformitate cu revendicarea 3:

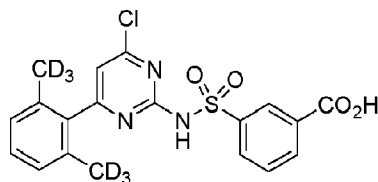
**1d,**

cuprinzând transformarea compusului **35**:

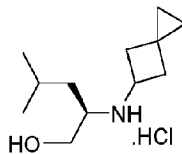
**35**

în Compusul **Id**.

**27.** Procedeu conform revendicării 26, în care compusul **35** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **34**:

**34**

cu compusul **3·HCl**:

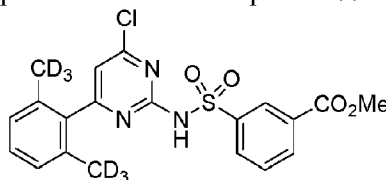


**3·HCl**

pentru a produce compusul **35**.

**28.** Procedeeul conform revendicării 27, în care:

(a) compusul **34** este preparat prin transformarea compusului **33**:

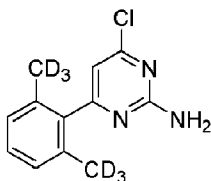


**33**

în compusul **34**; și/sau

(b) compusul **3·HCl** este preparat prin tratarea compusului **3** cu HCl pentru a produce compusul **3·HCl**.

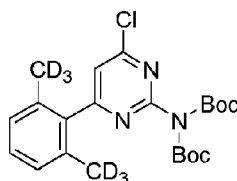
**29.** Procedeeul conform revendicării 28, în care compusul **33** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **32**:



**32**

cu 3-clorosulfonilbenzoatul de metil pentru a produce compusul **33**.

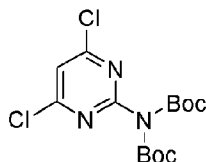
**30.** Procedeeul conform revendicării 29, în care compusul **32** este preparat prin transformarea compusului **31**:



**31**

în compusul **32**.

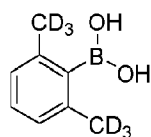
**31.** Procedeeul conform revendicării 30, în care compusul **31** este preparat prin punerea în reacție a unui compus **5**:



**5**

cu compusul **30**:

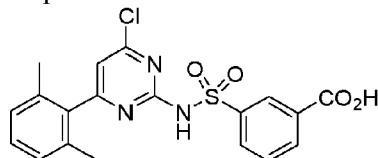
67



30

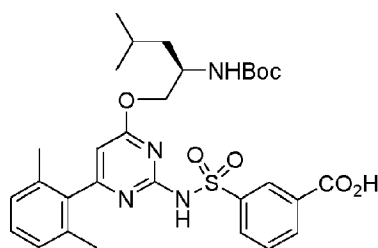
pentru a produce compusul 31.

32. Un compus selectat dintre compusul 8:



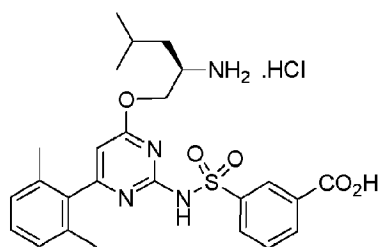
8,

compusul 18:



18,

compusul 19:



19,

derivați deuterati ai acestora, și săruri acceptabile farmaceutic ale oricăroră dintre cele anterioare.