MÉTODOS DE TRATAMIENTO PARA LA FIBROSIS QUÍSTICA

La presente solicitud reivindica prioridad sobre la solicitud provisional estadounidense 62/767.202, presentada el 14 de noviembre de 2018, cuya descripción se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad.

En la presente se describe un modulador del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR, por sus siglas en inglés), composiciones farmacéuticas que contienen el modulador, métodos de tratamiento de la fibrosis quística y un proceso para producir el modulador.

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética recesiva que afecta a aproximadamente 70.000 niños y adultos en todo el mundo. A pesar del progreso en el tratamiento de la FQ, no hay una cura.

En los pacientes con FQ, las mutaciones en el CFTR expresadas endógenamente en epitelios respiratorios conducen a una reducción de la secreción de aniones apicales que provoca un desequilibrio en el transporte de iones y fluidos. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a una mayor acumulación de moco en el pulmón y las infecciones microbianas acompañantes que finalmente causan la muerte en los pacientes con FQ. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes con FQ suelen sufrir problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si no se tratan, provocan la muerte. Además, la mayoría de los hombres con fibrosis quística son infértiles y la fertilidad se reduce entre las mujeres con fibrosis quística.

El análisis de secuencia del gen CFTR reveló una variedad de mutaciones que provocan la enfermedad (Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell61:863:870; y Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 87:8447-8451). A la fecha, se han identificado más de 2000 mutaciones en el gen de FQ. Las mutaciones de FQ se enumeran en la “Base de datos de mutaciones de fibrosis quística”, que se encuentra en

http://www.genet.sickkids.on.ca/app, y se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad. La mutación más prevalente que provoca la enfermedad es una eliminación de fenilalanina en la posición 508 de la secuencia de aminoácidos de CFTR y se conoce comúnmente como la mutación *F508del*. Esta mutación se produce en aproximadamente el 90 % de los casos de fibrosis quística y se asocia con enfermedad grave.

La eliminación del residuo 508 en CFTR evita que la proteína naciente se pliegue correctamente. Esto resulta en la incapacidad de la proteína mutante para salir del retículo endoplasmático (RE) y el tráfico hacia la membrana plasmática. Como resultado, la cantidad de canales de CFTR para el transporte de aniones presentes en la membrana es mucho menor que el observado en las células que expresan CFTR de tipo silvestre, es decir, CFTR sin mutaciones. Además de la alteración del tráfico, la mutación produce un mecanismo de activación del canal defectuoso. En conjunto, la cantidad reducida de canales en la membrana y el mecanismo de activación defectuoso reducen el transporte de aniones y fluidos a través de los epitelios. (Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Los canales que son defectuosos debido a la mutación F508del siguen siendo funcionales, aunque menos funcionales que los canales de CFTR de tipo salvaje. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Pasyk y Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). Además de F508del, otras mutaciones que provocan la enfermedad en CFTR que producen defectos en el tráfico, la síntesis y/o el mecanismo de activación del canal podrían regularse por aumento o disminución a los efectos de alterar la secreción de aniones y modificar la evolución y/o la gravedad de la enfermedad.

El CFTR es un canal de aniones mediado por cAMP/ATP que se expresa en una variedad de tipos de células, incluidas las células epiteliales absorbentes y secretoras, donde regula el flujo de aniones a través de la membrana, así como la actividad de otros

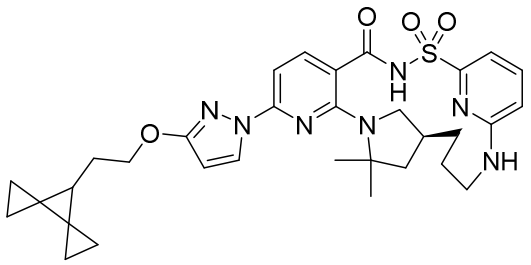
canales iónicos y proteínas. En las células epiteliales, el funcionamiento normal de CFTR es fundamental para el mantenimiento del transporte de electrólitos en todo el cuerpo, incluido el tejido respiratorio y digestivo. El CFTR está compuesto por 1480 aminoácidos que codifican una proteína que está compuesta por una repetición en tándem de dominios transmembrana, cada uno de los cuales contiene seis hélices transmembrana y un dominio de unión a nucleótidos. Los dos dominios transmembrana están unidos por un dominio regulador (R) polar grande con múltiples sitios de fosforilación que regulan la actividad del canal y el tránsito celular.

El transporte de cloruro se lleva a cabo mediante la actividad coordinada de ENaC y CFTR presente en la membrana apical y la bomba Na^+-K^+-ATPasa y los canales Cl expresados en la superficie basolateral de la célula. El transporte activo secundario de cloruro desde el lado luminal conduce a la acumulación de cloruro intracelular, que luego puede salir pasivamente de la célula a través de los canales Cl^-, lo que produce un transporte vectorial. La disposición del cotransportador de $Na^+/2Cl^-/K^+$, la bomba de Na^+-K^+-ATPasa y los canales de K^+ de membrana basolateral en la superficie basolateral y el CFTR en el lado luminal coordinan la secreción de cloruro a través de CFTR en el lado luminal. Debido a que el agua probablemente nunca se transporta activamente a sí misma, su flujo a través de los epitelios depende de pequeños gradientes osmóticos transepiteliales generados por el flujo masivo de sodio y cloruro.

Recientemente se ha identificado una cantidad de compuestos de modulación de CFTR. Sin embargo, aún se necesitan compuestos que puedan tratar o reducir la gravedad de la fibrosis quística y otras enfermedades mediadas por CFTR, y particularmente las formas más graves de estas enfermedades.

Por lo tanto, un aspecto de la descripción proporciona un compuesto modulador de CFTR, (14*S*)-8-[3-(2-{Diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo [17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-

1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona (Compuesto **I**) y sales farmacéuticamente aceptables de este. El Compuesto **I** puede describirse con la siguiente estructura:



I

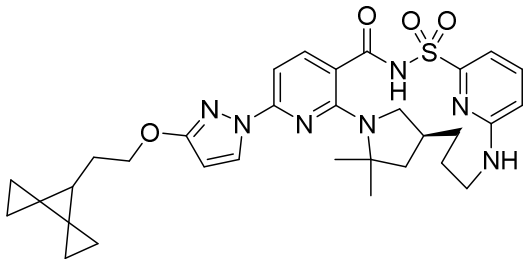
Otros aspectos de la descripción proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto **I** y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de este, cuyas composiciones pueden incluir además al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional y/o al menos un portador. Sin embargo, otros aspectos de la descripción son métodos para tratar la fibrosis quística de la enfermedad mediada por CFTR que comprenden administrar el Compuesto **I** y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de este, opcionalmente como parte de una composición farmacéutica que comprende al menos un componente adicional, a un sujeto que lo necesita. También se describe un aspecto adicional de la descripción que proporciona procesos para producir el Compuesto **I** y/o sales farmacéuticamente aceptables de este.

Una modalidad proporciona un método para tratar la fibrosis quística de la enfermedad mediada por CFTR que comprende administrar (14*S*)-8-[3-(2-{Diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo[17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona (Compuesto **I**), solo o en combinación con (*R*)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-yl)ciclopropanocarboxamida (Compuesto **II**), y/o N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (Compuesto **III**) o *N*-(2-(*terc*-butil)-5-hidroxi-4-(2-(metil-d3)propan-2-il-1,1,1,3,3,3-d6)fenil)-4-oxo-1,4-

dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto **III-d**). En determinadas modalidades, el método para tratar la fibrosis quística de la enfermedad mediada por CFTR comprende administrar el Compuesto **I** en combinación con el Compuesto **III** o **III-d** y el ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Compuesto **IV**). En algunas modalidades, el Compuesto **I** se administra en la misma composición con el Compuesto **II** y el Compuesto **III**. En algunas modalidades, el Compuesto **I** se administra en la misma composición con el Compuesto **II** y el Compuesto **III-d**. En algunas modalidades, el Compuesto **I** se administra en la misma composición con el Compuesto **III** y el Compuesto **IV**. En algunas modalidades, el Compuesto **I** se administra en la misma composición con el Compuesto **III-d** y el Compuesto **IV**. En algunas modalidades, una composición que comprende el Compuesto **I** se administra conjuntamente con una composición separada que comprende el Compuesto **II** y/o el Compuesto **III**. En algunas modalidades, una composición que comprende el Compuesto **I** se administra conjuntamente con una composición separada que comprende el Compuesto **II** y/o el Compuesto **III-d**. En algunas modalidades, una composición que comprende el Compuesto **I** se administra conjuntamente con una composición separada que comprende el Compuesto **III** y el Compuesto **IV**. En algunas modalidades, una composición que comprende el Compuesto **I** se administra conjuntamente con una composición separada que comprende el Compuesto **III-d** y el Compuesto **IV**.

Definiciones

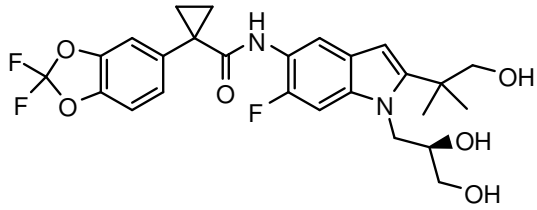
El "Compuesto **I**" como se usa a lo largo de esta descripción se refiere a (14*S*)-8-[3-(2-{Diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo[17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona, que pueden representarse con la siguiente estructura:



I.

El Compuesto **I** puede estar en forma de una mezcla isomérica o isómeros enantioenriquecidos (por ejemplo, >90 % ee, >95 % ee, >98 % ee). El Compuesto **I** puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

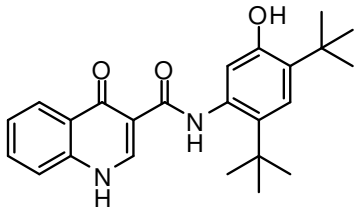
El "Compuesto **II**" como se usa en la presente, se refiere a (*R*)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-*N*-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida, que puede representarse con la siguiente estructura:



II.

El Compuesto **II** puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

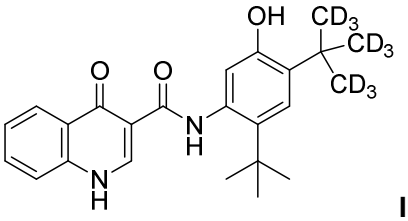
El "Compuesto **III**" como se usa a lo largo de esta descripción se refiere a *N*-(5-hidroxi-2,4-di-*terc*-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida que se representa por la estructura:



III.

El Compuesto **III** también puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, un derivado deuterado del Compuesto **III**

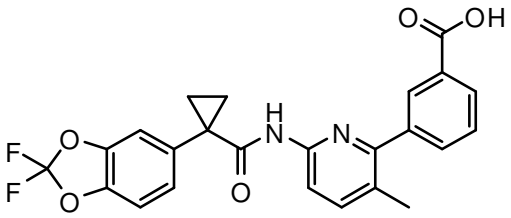
(Compuesto **III-d**) se emplea en las composiciones y métodos descritos en la presente. Un nombre químico para el Compuesto **III-d** es *N*-(2-(*terc*-butil)-5-hidroxi-4-(2-(metil-d3)propan-2-il-1,1,1,3,3,3-d6)fenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida, como se representa por la estructura:



III-d.

El Compuesto **III-d** puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

El "Compuesto **IV**" como se usa en la presente, se refiere al ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico, que se representa por la estructura química:



IV.

El Compuesto **IV** puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en la presente, "CFTR" significa regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística.

Como se usa en la presente, "mutaciones" puede referirse a mutaciones en el gen *CFTR* o la proteína CFTR. Una "mutación del gen *CFTR*" se refiere a una mutación en el gen *CFTR*, y una "mutación de la proteína CFTR" se refiere a una mutación en la proteína CFTR. Un defecto o mutación genética, o un cambio en los nucleótidos en un gen en general da como resultado una mutación en la proteína CFTR traducida de ese gen o uno o más cambios de marco.

El término “F508del” se refiere a una proteína CFTR mutante que carece del aminoácido fenilalanina en la posición 508.

Como se usa en la presente, un paciente que es “homocigoto” para una mutación genética particular tiene la misma mutación en cada alelo.

Como se usa en la presente, un paciente que es “heterocigoto” para una mutación genética particular tiene la mutación particular en un alelo, y una mutación diferente en el otro alelo.

Como se usa en la presente, el término “modulador” se refiere a un compuesto que aumenta la actividad de un compuesto biológico tal como una proteína. Por ejemplo, un modulador de CFTR es un compuesto que aumenta la actividad de CFTR. El aumento de la actividad resultante de un modulador de CFTR incluye, pero no se limita a compuestos que corrigen, potencian, estabilizan y/o amplifican el CFTR.

Como se usa en la presente, el término “corrector de CFTR” se refiere a un compuesto que facilita el procesamiento y tráfico de CFTR para aumentar la cantidad de CFTR en la superficie celular. Los Compuestos **I** y **II** descritos en la presente son correctores de CFTR.

Como se usa en la presente, el término “potenciador de CFTR” se refiere a un compuesto que aumenta la actividad del canal de la proteína CFTR ubicada en la superficie celular, lo que resulta en un transporte de iones mejorado. Los Compuestos **III** y **III-d** descritos en la presente son potenciadores de CFTR. Se apreciará que cuando se proporciona en la presente una descripción de una combinación del Compuesto **I** y otros agentes moduladores de CFTR especificados, la referencia al “Compuesto **III** o **III-d**” en conexión con la combinación significa que el Compuesto **III** o el Compuesto **III-d**, pero no ambos, se incluyen en la combinación.

Como se usa en la presente, el término “ingrediente farmacéutico activo” o “agente terapéutico” (“API”) se refiere a un compuesto biológicamente activo.

Como se usa en la presente, el término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una forma de sal de un compuesto de esta descripción en donde la sal es no tóxica. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta descripción incluyen aquellas derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos adecuados. Se conocen en la técnica las sales farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, S. M. Berge, *et al.* describe sales farmacéuticamente aceptables en detalle en *J. Pharmaceutical Sciences*, 1977, *66*, 1-19.

Como se usa en la presente, el término “amorfo” se refiere a un material sólido que no tiene un orden de largo alcance en la posición de sus moléculas. Los sólidos amorfos son generalmente líquidos sobreenfriados en los que las moléculas están dispuestas de manera aleatoria de modo que no hay una disposición bien definida, por ejemplo, empaquetamiento molecular, y ningún orden de largo alcance. Los sólidos amorfos son generalmente isotrópicos, es decir, exhiben propiedades similares en todas las direcciones y no tienen puntos de fusión definidos. Por ejemplo, un material amorfo es un material sólido sin picos cristalinos característicos pronunciados en su patrón de difracción en polvo de rayos X (XRPD, por su sigla en inglés) (es decir, no es cristalino según se determina mediante XRPD). En su lugar, aparecen uno o varios picos anchos (por ejemplo, halos) en su patrón de XRPD. Los picos anchos son característicos de un sólido amorfo. Ver, US 2004/0006237 para una comparación de XRPD de un material amorfo y material cristalino. En algunas modalidades, un material sólido puede comprender un compuesto amorfo, y el material puede, por ejemplo, caracterizarse por una falta de picos cristalinos característicos pronunciados en su espectro de XRPD (es decir, el material no es cristalino, pero es amorfo, según se determina mediante XRPD). En cambio, pueden aparecer uno o varios picos anchos (por ejemplo, halos) en el patrón de XRPD del material. Ver, US 2004/0006237 para una comparación de XRPD de un material amorfo y material cristalino. Un material sólido, que comprende un compuesto

amorfo, puede caracterizarse, por ejemplo, por un intervalo de temperatura más amplio para la fusión del material sólido, en comparación con el intervalo para la fusión de un sólido cristalino puro. Otras técnicas, tales como, por ejemplo, espectroscopía Raman, espectroscopía infrarroja y NMR en estado sólido pueden usarse para caracterizar formas cristalinas o amorfas.

En algunas modalidades, un material sólido puede comprender una mezcla de sólidos cristalinos y sólidos amorfos. Un material sólido preparado para comprender un compuesto amorfo también puede contener, por ejemplo, hasta 30 % de un sólido cristalino. En algunas modalidades, un material sólido preparado para comprender un compuesto amorfo también puede contener, por ejemplo, hasta 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 % o 2 % de un sólido cristalino. En modalidades en donde el material sólido contiene una mezcla de sólidos cristalinos y sólidos amorfos, los datos característicos, tales como XRPD, pueden contener indicadores de sólidos cristalinos y amorfos.

Como se usa en la presente, el término “sustancialmente amorfo” se refiere a un material sólido que tiene poco o ningún orden de largo alcance en la posición de sus moléculas. Por ejemplo, los materiales sustancialmente amorfos tienen menos del 15 % de cristalinidad (por ejemplo, menos del 10 % de cristalinidad, menos del 5 % de cristalinidad o menos del 2 % de cristalinidad). También se observa que el término 'sustancialmente amorfo' incluye el descriptor, 'amorfo', que se refiere a materiales que no tienen (0 %) cristalinidad.

Como se usa en la presente, el término “dispersión” se refiere a un sistema disperso en el que una sustancia, la fase dispersa, se distribuye, en unidades discretas, a través de una segunda sustancia (la fase continua o vehículo). El tamaño de la fase dispersa puede variar considerablemente (por ejemplo, partículas coloidales de dimensión de nanómetros, a un tamaño de múltiples micrones). En general, las fases dispersas pueden ser sólidos, líquidos o gases. En el caso de una dispersión sólida, las fases

dispersa y continua son ambas sólidas. En aplicaciones farmacéuticas, una dispersión sólida puede incluir un fármaco cristalino (fase dispersa) en un polímero amorfo (fase continua); o alternativamente, un fármaco amorfo (fase dispersa) en un polímero amorfo (fase continua). En algunas modalidades, una dispersión sólida incluye el polímero que constituye la fase dispersa, y el fármaco constituye la fase continua. O, una dispersión sólida incluye el fármaco que constituye la fase dispersa, y el polímero que constituye la fase continua.

Los términos “paciente” y “sujeto” se usan indistintamente y se refieren a un animal, lo que incluye seres humanos.

Como se usa en la presente, los términos “tratamiento”, “tratar” y similares significan generalmente la mejora de la FQ o sus síntomas o la disminución de la gravedad de la FQ o sus síntomas en un sujeto. El “tratamiento”, como se usa en la presente, incluye, pero no se limita a, lo siguiente: aumento del crecimiento del sujeto, aumento de peso, reducción de la mucosidad en los pulmones, mejora de la función pancreática y/o hepática, reducción de las infecciones toráxicas y/o reducciones de la tos o falta de aliento. Las mejoras o la disminución de la gravedad de cualquiera de estos síntomas pueden evaluarse fácilmente de acuerdo con los métodos y las técnicas estándar conocidas en la técnica.

Como se usa en la presente, el término “en combinación con”, cuando se refiere a dos o más compuestos, agentes, o ingredientes farmacéuticos activos adicionales, significa la administración de dos o más compuestos, agentes, o ingredientes farmacéuticos activos al paciente antes de, simultáneamente con, o después entre sí.

Los términos “aproximadamente” y “de manera aproximada”, cuando se usan en relación con las dosis, las cantidades o el por ciento en peso de los ingredientes de una composición o forma de dosificación, incluyen el valor de una dosis, cantidad o por ciento en peso especificados o un intervalo de dosis, cantidad o por ciento en peso que

es reconocido por un experto en la técnica para proporcionar un efecto farmacológico equivalente al obtenido a partir de la dosis, cantidad o por ciento en peso especificados. Los términos “alrededor de” y “aproximadamente” pueden referirse a un error aceptable para un valor particular según lo determina un experto en la técnica, que depende en parte de cómo se miden o determinan los valores. En algunas modalidades, los términos “alrededor de” y “aproximadamente” significan dentro del 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o 0,5 % de un valor o intervalo dado.

Un experto en la técnica reconocería que, cuando se describe una cantidad de “un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de este”, la cantidad de la forma de la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto es la cantidad equivalente a la concentración de la base libre del compuesto. Se observa que las cantidades descritas de los compuestos o las sales farmacéuticamente aceptables de este se basan en su forma de base libre. Por ejemplo, “100 mg de al menos un compuesto elegido entre el Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de estos” incluye 100 mg de un Compuesto **I** y una concentración de una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto **I** equivalente a 100 mg del Compuesto **I.**

Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas son, por ejemplo, las descritas en S. M. Berge y otros, *J. Pharmaceutical Sciences*, 1977, *66*, 1-19. Por ejemplo, la Tabla 1 de ese artículo proporciona las siguientes sales farmacéuticamente aceptables:

Tabla 1:

Acetato	Yoduro	Benzatina
Bencenosulfonato	Isetionato	Cloroprocaína
Benzoato	Lactato	Colina
Bicarbonato	Lactobionato	Dietanolamina
Bitartrato	Malato	Etilendiamina

Bromuro	Maleato	Meglumina
Edetato de calcio	Mandelato	Procaína
Camsilato	Mesilato	Aluminio
Carbonato	Bromuro de metilo	Calcio
Cloruro	Nitrato de metilo	Litio
Citrato	Metilsulfato	Magnesio
Diclorhidrato	Mucato	Potasio
Edetato	Napsilato	Sodio
Edisilato	Nitrato	Zinc
Estolato	Pamoato (Embonato)	
Esilato	Pantotenato	
Fumarato	Fosfato/difosfato	
Gluceptato	Poligalacturonato	
Gluconato	Salicilato	
Glutamato	Estearato	
Glicolilarsanilato	Subacetato	
Hexilresorcinato	Succinato	
Hidrabamina	Sulfato	
Bromhidrato	Tanato	
Clorhidrato	Tartrato	
Hidroxinaftoato	Teociato	
	Trietyoduro	

Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, no limitantes, incluyen: sales formadas con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido

bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico o ácido perclórico; sales formadas con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico; y sales formadas mediante el uso de otros métodos usados en la técnica, tales como intercambio iónico. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables, no limitantes, incluyen sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato y valerato. Las sales farmacéuticamente aceptables derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amonio y N^+(alquilo $C_{1-4})_4$. Esta descripción también prevé la cuaternización de cualquier grupo que contenga nitrógeno básico de los compuestos descritos en la presente descripción. Los ejemplos no limitantes adecuados de sales de metales alcalinos y alcalinotérreos incluyen sodio, litio, potasio, calcio y magnesio. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables, no limitantes, incluyen amonio, amonio cuaternario y cationes amina formados mediante el uso de contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilsulfonato y arilsulfonato inferiores. Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables adecuados, no limitantes, incluyen sales de besilato y glucosamina.

Tratamientos combinados

Un aspecto descrito en la presente proporciona métodos para tratar la fibrosis quística y otras enfermedades mediadas por CFTR con el Compuesto **I** en combinación con otros

agentes farmacéuticamente activos, que incluyen agentes moduladores de CFTR. En algunas modalidades, el Compuesto **I** (y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de la misma) puede administrarse en combinación con al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional, tal como, por ejemplo, un agente modulador de CFTR. En algunas modalidades, el al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional se elige de (a) el Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y (b) el Compuesto **III** o el Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables del Compuesto **III** o el Compuesto **III-d**. Por lo tanto, en algunas modalidades, los métodos de tratamiento proporcionados en la presente comprenden administrar a un paciente que lo necesita al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, (Compuesto **III** o **III-d)** y sales farmacéuticamente aceptables de este. En algunas modalidades, los métodos de tratamiento proporcionados en la presente comprenden administrar a un paciente que lo necesita al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y al menos un compuesto elegido del (Compuesto **III** o **III-d**), Compuesto **IV**, y/o sales farmacéuticamente aceptables de este.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con el Compuesto **II** o una sal farmacéuticamente aceptable de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

Cada uno de los Compuestos **I**, **II**, y **III** o **III-d**, y las sales farmacéuticamente aceptables de estos pueden administrarse independientemente una vez al día, dos veces al día o tres veces al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra una vez al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra dos veces al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran una vez al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran dos veces al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran una vez al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran dos veces al día.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran una vez al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un compuesto elegido del Compuesto **IV** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran una vez al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran dos veces al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un compuesto elegido del Compuesto **IV** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran dos veces al día.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran una vez al día y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran dos veces al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **IV** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran una vez al día y al menos un compuesto elegido del

Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran dos veces al día.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una cantidad de 5 mg a 20 mg. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una cantidad de 5 mg, 10 mg, 15 mg, o 20 mg al día. En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una cantidad de 5 mg, 10 mg o 20 mg una vez al día. En algunas modalidades, 5 mg o 10 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de sus sales farmacéuticamente aceptables se administran dos veces al día.

Los Compuestos **I**, **II**, (**III** o **III-d**), y las sales farmacéuticamente aceptables de estos pueden administrarse en una única composición farmacéutica o composiciones farmacéuticas separadas. Tales composiciones farmacéuticas pueden administrarse una vez al día o varias veces al día, tal como dos veces al día. Como se usa en la presente, la frase que una cantidad dada de API (por ejemplo, Compuesto **I**, **II**, (**III**, **III-d**) o una sal farmacéuticamente aceptable de este) se administra una o dos veces al día o por día significa que dicha cantidad dada se administra por dosificación una o dos veces al día. Por ejemplo, la frase que 50 mg del Compuesto **II** o una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra dos veces al día o al día significa que 50 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra por dosificación dos veces al día (por ejemplo, se administran 50 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este en la mañana y se administran 50 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este en la tarde).

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una primera composición farmacéutica; al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una segunda composición farmacéutica; y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una tercera composición farmacéutica.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una primera composición farmacéutica; al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una segunda composición farmacéutica; al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una tercera composición farmacéutica.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una primera composición farmacéutica; al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran en una segunda composición farmacéutica; al menos un compuesto elegido del Compuesto **IV** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran en una tercera composición farmacéutica.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en una primera composición farmacéutica; y al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d,** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran en una segunda

composición farmacéutica. En algunas modalidades, la segunda composición farmacéutica comprende una mitad de una dosis diaria de dicho al menos un compuesto elegido del Compuesto **III**, **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de estos, y la otra mitad de dicho al menos un compuesto elegido del Compuesto **III**, **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de estos se administra en una tercera composición farmacéutica.

En algunas modalidades, al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este; al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este se administran en una primera composición farmacéutica. En algunas modalidades, la primera composición farmacéutica se administra al paciente dos veces al día. En algunas modalidades, la primera composición farmacéutica se administra una vez al día. En algunas modalidades, la primera composición farmacéutica se administra una vez al día y una segunda composición que comprende solamente el Compuesto **III** se administra una vez al día.

Cualquier composición farmacéutica adecuada conocida en la técnica puede usarse para el Compuesto **I**, Compuesto **II**, Compuesto **III**, Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de estos. Algunas composiciones farmacéuticas ilustrativas para el Compuesto **I** y sus sales farmacéuticamente aceptables se describen en los Ejemplos. Algunas composiciones farmacéuticas ilustrativas para el Compuesto **II** y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden encontrarse en WO 2011/119984 y WO 2014/014841, incorporados a la presente mediante referencia. Algunas composiciones farmacéuticas ilustrativas para el Compuesto **III** y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden encontrarse en WO 2007/134279, WO 2010/019239, WO 2011/019413, WO 2012/027731 y WO 2013/130669, y algunas

composiciones farmacéuticas ilustrativas para el Compuesto **III-d** y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden encontrarse en US 8.865.902, US 9.181.192, US 9.512.079, WO 2017/053455, y WO 2018/080591, todos los cuales se incorporan a la presente mediante referencia. Algunas composiciones farmacéuticas ilustrativas para el Compuesto **II** y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden encontrarse en WO 2010/037066, WO 2011/127241, y WO 2014/071122, incorporados a la presente mediante referencia.

En algunas modalidades, una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra con una composición farmacéutica que comprende el Compuesto **II** y el Compuesto **III** o **III-d**. Las composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto **II** y el Compuesto **III** se describen en la Publicación PCT núm. WO 2015/160787, incorporada a la presente mediante referencia. Una modalidad ilustrativa se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Comprimido ilustrativo que comprende 100 mg del Compuesto II y 150 mg del Compuesto III.

	Ingrediente	**Cantidad por comprimido (mg)**
Intragranular	Compuesto **II** SDD (dispersión secada por pulverización) (80 % en peso del Compuesto II; 20 % en peso de HPMC)	125
	Compuesto **III** SDD	187,5

	(80 % en peso del Compuesto III; 19,5 % en peso de HPMCAS-HG; 0,5 % en peso de lauril sulfato de sodio)	
	Celulosa microcristalina	131,4
	Croscarmelosa sódica	29,6
	Total	**473,5**
Extragranular	Celulosa microcristalina	112,5
	Estearato de magnesio	5,9
	Total	**118,4**
Total de comprimidos sin recubrir		**591,9**
Película de recubrimiento	Opadry	17,7
Total de comprimidos recubiertos		**609,6**

En algunas modalidades, una composición farmacéutica que comprende el Compuesto **I** se administra con una composición farmacéutica que comprende el Compuesto **III** o **III-d**. Las composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto **III** se describen en la Publicación PCT núm. WO 2010/019239, incorporada a la presente mediante referencia. Una modalidad ilustrativa se muestra en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: Ingredientes para el comprimido ilustrativo del Compuesto III.

Formulación de comprimidos	**Porcentaje de dosis % peso / peso**	**Dosis (mg)**	**Lote (g)**
Compuesto **III** SDD (80 % en peso del Compuesto **III**; 19,5 % en peso de HPMCAS-HG; 0,5 % en peso de lauril sulfato de sodio)	34,09 %	187,5	23,86
Celulosa microcristalina	30,51 %	167,8	21,36
Lactosa	30,40 %	167,2	21,28
Croscarmelosa sódica	3,000 %	16,50	2,100
SLS	0,500 %	2,750	0,3500
Dióxido de silicio coloidal	0,500 %	2,750	0,3500
Estearato de magnesio	1,000 %	5,500	0,7000
Total	**100 %**	**550**	**70**

Las composiciones farmacéuticas adicionales que comprenden el Compuesto **III** se describen en la Publicación PCT núm. WO 2013/130669, incorporada a la presente mediante referencia. Los minicomprimidos ilustrativos (~2 mm de diámetro, ~2 mm de grosor, cada minicomprimido que pesa aproximadamente 6,9 mg) se formularon para tener aproximadamente 50 mg del Compuesto **III** por 26 minicomprimidos y aproximadamente 75 mg del Compuesto **III** por 39 minicomprimidos usando las cantidades de ingredientes descritas en la Tabla 4.

Tabla 4: Ingredientes para minicomprimidos para potencia de 50 mg y 75 mg

Formulación de comprimidos	**Porcentaje de dosis % peso / peso**	**Dosis (mg) Potencia de 50 mg**	**Dosis (mg) Potencia de 75 mg**	**Lote (g)**
Compuesto **III** SDD (80 % en peso del Compuesto **III**; 19,5 % en peso de HPMCAS-HG; 0,5 % en peso de lauril sulfato de sodio)	35	62,5	93,8	1753,4
Manitol	13,5	24,1	36,2	675,2
Lactosa	41	73,2	109,8	2050,2
Sucralosa	2,0	3,6	5,4	100,06
Croscarmelosa sódica	6,0	10,7	16,1	300,1
Dióxido de silicio coloidal	1,0	1,8	2,7	50,0
Estearato de magnesio	1,5	2,7	4,0	74,19
Total	**100**	**178,6**	**268**	**5003,15**

En algunas modalidades, una composición farmacéutica que comprende el Compuesto **I** se administra con una composición farmacéutica que comprende el Compuesto **III** y el Compuesto **IV**. Las composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto **III** y el Compuesto **IV** se describen en la Publicación PCT núm. WO 2014/071122,

incorporada a la presente mediante referencia. Una modalidad ilustrativa se muestra en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5: Ingredientes para la tableta ilustrativa del Compuesto III y el Compuesto IV

Formulación de comprimidos	**Porcentaje de dosis % peso / peso**	**Dosis (mg) Potencia de 200 mg**
Compuesto **IV** Formulario I	35	200
Compuesto **III** SDD (80 % en peso del Compuesto **III**; 19,5 % en peso de HPMCAS-HG; 0,5 % en peso de lauril sulfato de sodio)	28	156
Celulosa microcristalina	26	150
Croscarmelosa sódica	6	34
Lauril sulfato de sodio	1	4
Polivinilpirrolidona	3	15
Estearato de magnesio	1	6

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas empleadas en los tratamientos combinados de la descripción son comprimidos. En algunas modalidades, los comprimidos son adecuados para la administración oral. Estas composiciones y combinaciones son útiles para tratar la fibrosis quística.

Métodos de tratamiento

Una mutación de CFTR puede afectar la cantidad de CFTR, es decir, la cantidad de canales de CFTR en la superficie celular, o puede afectar la función de CFTR, es decir, la capacidad funcional de cada canal para abrir y transportar iones. Las mutaciones que afectan la cantidad de CFTR incluyen las mutaciones que provocan una síntesis defectuosa (defecto de Clase I), las mutaciones que provocan el procesamiento y tráfico defectuoso (defecto de Clase II), las mutaciones que provocan menos síntesis de CFTR (defecto de Clase V) y las mutaciones que reducen la estabilidad superficial de CFTR (defecto de Clase VI). Las mutaciones que afectan la función de CFTR incluyen mutaciones que provocan métodos de activación defectuosa (defecto de Clase III) y mutaciones que provocan conductancia defectuosa (defecto de Clase IV). Algunas mutaciones de CFTR muestran características de múltiples clases.

En algunas modalidades, se describen en la presente métodos para tratar, disminuir la gravedad, o tratar de manera sintomática la fibrosis quística en un paciente que comprenden administrar una cantidad efectiva de un compuesto, sal farmacéuticamente aceptable de este, o un análogo deuterado de cualquiera de los anteriores; o una composición farmacéutica, de esta descripción a un paciente, tal como un ser humano, en donde dicho paciente tiene fibrosis quística. En algunas modalidades, el paciente tiene un genotipo F508del/función mínima (MF, por sus siglas en inglés), un genotipo F508del/F508del (homocigoto para la mutación F508del), un genotipo F508del/activación o un genotipo F508del/función residual (RF, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el paciente es heterocigoto y tiene una mutación F508del.

Como se usa en la presente, “mutaciones de función mínima (MF)” se refieren a mutaciones del gen *CFTR* asociadas a una función mínima de CFTR (poco o nulo funcionamiento de la proteína CFTR) e incluyen, por ejemplo, mutaciones asociadas a defectos graves en la capacidad del canal de CFTR para abrirse y cerrarse, conocido como método de activación de canal defectuosa o “mutaciones de activación”;

mutaciones asociadas a defectos graves en el procesamiento celular de CFTR y su suministro a la superficie celular; mutaciones asociadas a la ausencia (o mínima presencia) de síntesis de CFTR; y mutaciones asociadas a defectos graves en la conductancia de los canales.

En algunas modalidades, el paciente es heterocigoto y tiene una mutación F508del en un alelo y una mutación en el otro alelo seleccionado de la Tabla 6:

Tabla 6: Mutaciones de CFTR

Mutación				
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		3600+2insT

Mutación				
405+1G→A	1249-1G→A	1811+1,6kbA→G	3040G→C (G970R)	3850-1G→A
405+3A→C	1341+1G→A	1811+1643G→T	3120G→A	4005+1G→A
406-1G→A	1525-2A→G	1812-1G→A	3120+1G→A	4374+1G→T
621+1G→T	1525-1G→A	1898+1G→A	3121-2A→G	
711+1G→T		1898+1G→C		
182delT	1078delT	1677delTA	2711delT	3737delA
306insA	1119delA	1782delA	2732insA	3791delC
306delTAGA	1138insG	1824delA	2869insG	3821delT
365-366insT	1154insTC	1833delT	2896insAG	3876delA
394delTT	1161delC	2043delG	2942insT	3878delG
442delA	1213delT	2143delT	2957delT	3905insT
444delA	1259insA	2183AA→G	3007delG	4016insT
457TAT→G	1288insTA	2184delA	3028delA	4021dupT
541delC	1343delG	2184insA	3171delC	4022insT
574delA	1471delA	2307insA	3171insC	4040delA
663delT	1497delGG	2347delG	3271delGG	4279insA
849delG	1548delG	2585delT	3349insT	4326delTC
935delA	1609del CA	2594delGT	3659delC	
CFTRdele1		CFTRdele16-17b	1461ins4	
CFTRdele2		CFTRdele17a,17b	1924del7	
CFTRdele2,3		CFTRdele17a-18	2055del9→A	
CFTRdele2-4		CFTRdele19	2105-2117del13insAGAAA	

Mutación			
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	

En algunas modalidades, la descripción también se dirige a métodos de tratamiento usando compuestos marcados con isótopos de los compuestos mencionados anteriormente, que, en algunas modalidades, se denominan como Compuesto **I'**, Compuesto **II'**, Compuesto **III'**, Compuesto **III-d**. En algunas modalidades, el Compuesto **I'**, Compuesto **II'**, Compuesto **III'**, Compuesto **III-d**, o sales farmacéuticamente aceptables de estos, en donde la fórmula y las variables de tales compuestos y sales son cada una e independientemente como se describió anteriormente o cualquier otra modalidad descrita anteriormente, siempre que uno o más átomos en esta hayan sido reemplazados por un átomo o átomos que tengan una masa o número de masa atómica que difiera de la masa o número de masa atómica del átomo que generalmente ocurre

naturalmente (marcado con isótopo). Los ejemplos de isótopos que están disponibles comercialmente y son adecuados para la descripción incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, por ejemplo ^{2}H, ^{3}H, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{17}O, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{18}F y ^{36}Cl, respectivamente.

Los compuestos y sales que se marcan con isótopos pueden usarse de varias maneras beneficiosas. Pueden ser adecuados para medicamentos y/o diversos tipos de ensayos, como los ensayos de distribución en tejidos de sustrato. Por ejemplo, los compuestos marcados con tritio (^{3}H) y/o carbono-14 (^{14}C) son particularmente útiles para varios tipos de ensayos, tales como los ensayos de distribución en tejidos de sustrato, debido a una preparación relativamente simple y una excelente detectabilidad. Por ejemplo, los marcados con deuterio (^{2}H) son terapéuticamente útiles con posibles ventajas terapéuticas con respecto a los compuestos no marcados con ^{2}H. En general, los compuestos y sales que se marcan con deuterio (^{2}H) pueden tener una mayor estabilidad metabólica en comparación con aquellos que no se marcan con isótopos debido al efecto cinético de isótopos que se describirá a continuación. Una mayor estabilidad metabólica se traduce directamente en una semivida in vivo aumentada o en dosis más bajas, lo que podría resultar deseable. Los compuestos y sales que se marcan con isótopos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas de síntesis y la descripción relacionada, en la parte de ejemplos y en la parte de preparación en el presente texto, remplazando a un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente disponible.

En algunas modalidades, los compuestos y sales que se marcan con isótopos se marcan con deuterio (^{2}H). En algunas modalidades específicas, los compuestos y sales que se marcan con isótopos se marcan con deuterio (^{2}H), en donde uno o más átomos

de hidrógeno en estos han sido reemplazados por deuterio. En estructuras químicas, el deuterio se representa como “D”.

Los compuestos y sales que se marcan con deuterio (^2H) pueden manipular el metabolismo oxidativo del compuesto por medio del efecto del isótopo cinético primario. El efecto del isótopo cinético primario es un cambio de la velocidad de una reacción química como resultado del intercambio de núcleos isotópicos, que a su vez es causado por el cambio en las energías del estado fundamental necesarias para la formación de enlaces covalentes después de este intercambio isotópico. El intercambio de un isótopo más pesado generalmente da como resultado una disminución de la energía del estado fundamental para un enlace químico y, por lo tanto, provoca una reducción en la ruptura del enlace que limita la velocidad. Si la ruptura del enlace ocurre en o cerca de una región de punto de montura a lo largo de la coordenada de una reacción multiproducto, las relaciones de distribución del producto pueden alterarse sustancialmente. Para explicar: si el deuterio está unido a un átomo de carbono en una posición no intercambiable, las diferencias de velocidad de k_M/k_D = 2-7 son típicas. Para más información, véase S. L. Harbeson y R. D. Tung, *Deuterium In Drug Discovery and Development*, Ann. Rep. Med. Chem. 2011, 46, 403-417, incorporado en su totalidad en la presente mediante referencia.

La concentración del o de los isótopos (por ejemplo, deuterio) incorporados en los compuestos y sales que se marcan con isótopos de la descripción puede definirse por el factor de enriquecimiento isotópico. El término “factor de enriquecimiento isotópico” como se usa en la presente significa la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. En algunas modalidades, si un sustituyente en un compuesto de la descripción es deuterio denotado, tal compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5 % de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio

designado), al menos 4000 (60 % de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67,5 % de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75 % de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82,5 % de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90 % de incorporación de deuterio), al menos 6333,3 (95 % de incorporación de deuterio), al menos 6466,7 (97 % de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99 % de incorporación de deuterio) o al menos 6333,3 (99,5 % de incorporación de deuterio).

Al descubrir y desarrollar agentes terapéuticos, el experto en la técnica intenta optimizar los parámetros farmacocinéticos y al mismo tiempo conservar las propiedades in vitro deseables. Puede ser razonable suponer que muchos compuestos con perfiles farmacocinéticos pobres son susceptibles al metabolismo oxidativo.

Composiciones farmacéuticas

Otro aspecto de la descripción proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este y al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional. En algunas modalidades, el al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional es un modulador de CFTR. En algunas modalidades, el al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional es un corrector de CFTR. En algunas modalidades, el al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional es un potenciador de CFTR. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende el Compuesto **I** y al menos dos ingredientes farmacéuticos activos adicionales, uno de los cuales es un corrector de CFTR y uno de los cuales es un potenciador de CFTR.

En algunas modalidades, al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional se selecciona de agentes mucolíticos, broncodilatadores, antibióticos, agentes antiinfecciosos y agentes antiinflamatorios.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **III**, **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** o **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este, al menos un compuesto elegido del Compuesto **IV** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente 5 mg, aproximadamente 10 mg o aproximadamente 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales. En algunas modalidades, la composición comprende de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, de 50 mg a 100 mg del Compuesto **II,** y de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d**. En algunas modalidades la composición comprende aproximadamente 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, 100 mg del Compuesto **II,** y 150 mg del Compuesto **III** o 150 mg del Compuesto **III-d**.

En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende 5 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente 10 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y comprende opcionalmente uno o más

agentes moduladores de CFTR adicionales. En algunas modalidades, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales. En algunas modalidades, la composición comprende 5 mg, 10 mg o 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, 50 mg o 100 mg del Compuesto **II,** y 150 mg o 300 mg del Compuesto **III** o 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg o 150 mg del Compuesto **III-d**.

Una composición farmacéutica puede comprender además al menos un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, el al menos un portador farmacéuticamente aceptable se elige de vehículos farmacéuticamente aceptables y adyuvantes farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, el al menos un farmacéuticamente aceptable se elige de rellenos, desintegrantes, surfactantes, aglutinantes, lubricantes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente son útiles para tratar la fibrosis quística y otras enfermedades mediadas por CFTR.

Como se describió anteriormente, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden comprender además opcionalmente al menos un portador farmacéuticamente aceptable. El al menos un portador farmacéuticamente aceptable puede elegirse de adyuvantes y vehículos. El al menos un portador farmacéuticamente aceptable, como se usa en la presente, incluye todos y cada uno de los solventes, diluyentes, otros vehículos líquidos, auxiliares de dispersión, auxiliares de suspensión, agentes activos de superficie, agentes isotónicos, agentes espesantes, agentes emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos y lubricantes, según se adapte a la forma de dosificación particular deseada. Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21ra edición, 2005, ed. D.B. Troy, Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia y

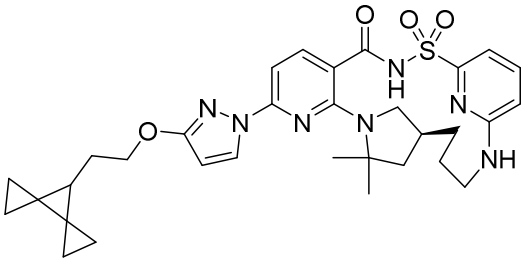
Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick y J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, Nueva York describen diversos portadores usados en la formulación de composiciones farmacéuticas y técnicas conocidas para la preparación de estas. Excepto en la medida en que cualquier portador convencional es incompatible con los compuestos de esta descripción, tal como por ejemplo, mediante la producción de algún efecto biológico indeseable o mediante la interacción de cualquier otra manera de una manera perjudicial con cualquier otro(s) componente(s) de la composición farmacéutica se contempla que su uso esté dentro de alcance de esta descripción. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables, no limitantes, adecuados incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero (tales como albúmina de suero humano), sustancias tampón (tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico y sorbato de potasio), mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales y electrolitos (tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio y sales de zinc), sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloques de polietileno-polioxipropileno, grasa de lana, azúcares (tales como lactosa, glucosa y sacarosa), almidones (tales como almidón de maíz y almidón de patata), celulosa y sus derivados (tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa), tragacanto en polvo, malta, gelatina, talco, excipientes (tales como manteca de cacao y ceras para supositorios), aceites (tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), glicoles (tales como propilenglicol y polietilenglicol), ésteres (tales como oleato de etilo y laurato de etilo), agar, agentes tamponantes (tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio), ácido algínico, agua sin pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, soluciones tampón de fosfato, lubricantes

compatibles no tóxicos (tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio), agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Las modalidades ilustrativas de la descripción incluyen:

Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar a un paciente que lo necesita:

de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I**

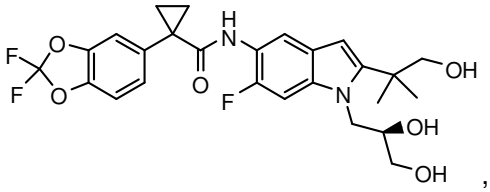


I

y sales farmacéuticamente aceptables de este diariamente; y

al menos un compuesto elegido de:

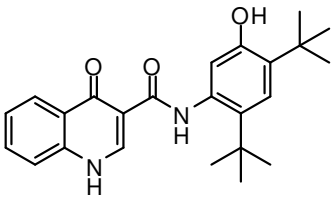
Compuesto **II**:



,

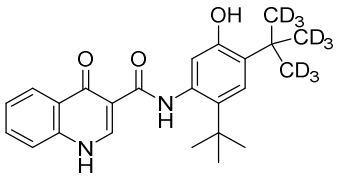
y sales farmacéuticamente aceptables de este, y

(a) Compuesto **III**:



y sales farmacéuticamente aceptables de este o

(b) Compuesto **III-d**:



y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, que comprende administrar a dicho paciente:

al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este;

al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y

al menos un compuesto elegido de (i) el Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este, o (ii) el Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, que comprende administrar a dicho paciente:

al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este;

al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y

al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, que comprende administrar a dicho paciente:

al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este;

al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y

al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, en donde el al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administra en una única composición con el al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, el Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, en donde el al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y el al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, el Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en una o más composiciones separadas.

El método de acuerdo con la modalidad 1, en donde una primera composición farmacéutica comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con una segunda composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, el Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, en donde una primera composición farmacéutica comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con una segunda composición farmacéutica que comprende (a) al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y (b) al menos un compuesto elegido del Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de acuerdo con la modalidad 1, en donde una primera composición farmacéutica comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales

farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con una segunda composición farmacéutica que comprende el Compuesto **II** y el Compuesto **III-d**.

El método de acuerdo con la modalidad 1, que comprende administrar una única composición que comprende el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este, el Compuesto **II y** el Compuesto **III-d**.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-10, en donde 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 11, en donde el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra como una dosis única, una vez al día.

El método de acuerdo con la modalidad 11, en donde el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en dos dosis al día.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-11, en donde 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en una a cuatro dosis por día.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-14, en donde de 50 mg a 150 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 15, en donde 50 mg del Compuesto **II** o o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este por dosis se administra una vez al día o dos veces al día.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-14, en donde 100 mg del Compuesto **II** o o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 17, en donde 100 mg del Compuesto **II** o o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en una dosis única, una vez al día.

El método de acuerdo con las modalidad 17, en donde los 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en dos dosis diariamente.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-17, en donde:

de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente; o

de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 18, en donde de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 18, en donde de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 20, en donde:

de 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra dos veces al día; o

150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

El método de acuerdo con la modalidad 20, en donde la cantidad diaria de 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente en una, dos o tres dosis.

El método de acuerdo con la modalidad 20, en donde la cantidad diaria de 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en una, dos, tres o cuatro dosis.

Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesita:

de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

de 50 mg a 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(i)de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; o

de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(i) 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sales farmacéuticamente aceptables de este; o

150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

5 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

10 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sales farmacéuticamente aceptables de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

5 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

10 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sales farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 26, en donde el método comprende administrar:

20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesita:

una primera composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

una segunda composición farmacéutica diaria que comprende

de 50 a 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(1)de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este o (2) de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 34, en donde el método comprende:

administrar diariamente a un paciente que lo necesita una primera composición farmacéutica que comprende 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

administrar diariamente al paciente una segunda composición farmacéutica que comprende (i) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y (ii) 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

administrar diariamente al paciente una tercera composición farmacéutica que comprende 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de la modalidad 34, en donde el método comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesite:

una primera composición farmacéutica que comprende 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

una segunda composición farmacéutica que comprende (i) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y (ii) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesita una primera composición farmacéutica que comprende

de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este,

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este, y

150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

administrar posteriormente al paciente diariamente una segunda composición farmacéutica que comprende 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-37, en donde el paciente es heterocigoto para la mutación F508del CFTR.

El método de acuerdo con una cualquiera de las modalidades 1-37, en donde el paciente es homocigoto para la mutación F508del CFTR.

El método de una cualquiera de las modalidades 1-39, en donde el método comprende administrar una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto **I**.

El método de una cualquiera de las modalidades 1-40, en donde el método comprende administrar el Compuesto **II**.

El método de una cualquiera de las modalidades 1-3, 5-8, 11-21, 23, 25-30, 34, 35 y 37, en donde el método comprende administrar el Compuesto **III**.

El método de una cualquiera de las modalidades 1, 2, 4-8, 11-20, 22-24, 26, 27, 31-34 y 36, en donde el método comprende administrar el Compuesto **III-d**.

Una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este, y que comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales.

La composición farmacéutica de la modalidad 44 que comprende además:

de 50 a 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(i)de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este o

de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La composición farmacéutica de la modalidad 44 que comprende además:

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(i) 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este, o

(ii) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La composición farmacéutica de la modalidad 44 que comprende además:

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La composición farmacéutica de la modalidad 44 que comprende además:

100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La composición farmacéutica de una cualquiera de las modalidades 44-48, en donde la composición comprende 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Métodos de preparación de compuestos

Procedimientos experimentales generales

Los reactivos y los materiales iniciales se obtuvieron de fuentes comerciales a menos que se indique lo contrario y se usaron sin purificación. Los espectros de NMR de

protones y carbono se adquirieron en un espectrómetro Bruker Biospin DRX 400 MHz FTNMR que funciona a una frecuencia de resonancia con ^{1}H y ^{13}C de 400 y 100 MHz respectivamente, o en un espectrómetro de NMR de 300 MHz. Los espectros de protones y carbono unidimensionales se adquirieron usando una sonda de observación de banda ancha (BBFO) con rotación de muestras de 20 Hz con una resolución digital de 0,1834 y 0,9083 Hz/Pt respectivamente. Todos los espectros de protones y de carbono se adquirieron con control de temperatura a 30 ℃ usando secuencias de pulso estándares publicadas previamente y parámetros de procesamiento de rutina. La pureza final de los compuestos se determinó mediante UPLC de fase inversa utilizando una columna Acquity UPLC BEH C_{18} (50 × 2,1 mm, partícula de 1,7 µm) hecha por Waters (pn: 186002350), y una ejecución de gradiente doble de 1-99 % de fase móvil B durante 3,0 minutos. Fase móvil A = H_2O (0,05 % de CF_3CO_2H). Fase móvil B = CH_3CN (0,035 % de CF_3CO_2H). Velocidad de flujo = 1,2 ml/min, volumen de inyección = 1,5 µL y temperatura de columna = 60 ºC. La pureza final se calculó promediando el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) de dos trazas UV (220 nm, 254 nm). Los espectros de masas de baja resolución se obtuvieron utilizando un espectrómetro de masas cuadrupolo simple con una precisión de masas 0,1 Da y una resolución mínima de 1000 amu en el intervalo de detección utilizando ionización por electropulverización (ESI, por sus siglas en inglés) utilizando el ion hidrógeno (H^+). La pureza óptica del (2S)-2,4-dimetil-4-nitro-pentanoato de metilo se determinó usando un análisis de cromatografía de gases quirales (GC) en un instrumento Agilent 7890A/MSD 5975C, usando una columna Restek Rt-βDEXcst (30 m x 0,25 mm x 0,25 um_df), con una velocidad de flujo de 2,0 ml/min (gas portador de H_2), a una temperatura de inyección de 220 ℃ y una temperatura de horno de 120 ℃, 15 minutos. La pureza del Compuesto **I** se determinó mediante UPLC de fase inversa utilizando una columna Poroshell 120 EC-C8 (4,6 × 150 mm, partícula de 2,7 µm y una ejecución de gradiente doble de 30-95 % de fase móvil

B durante 40 minutos. Fase móvil: A = Acetato de amonio 5 mM pH 4,50 y fase móvil B = Acetonitrilo. Velocidad de flujo = 1,0 ml/min, volumen de inyección = 5 µL, 254 nm y temperatura de columna = 30 °C.

Los Compuestos **II**, **III, III-d** y **IV** pueden prepararse mediante cualquier método adecuado en la técnica, por ejemplo, las publicaciones PCT núm. WO 2011/133751, WO 2011/133951, WO 2015/160787 y la patente estadounidense núm. 8.865.902.

Ejemplo 1: Síntesis de (14*S*)-8-[3-(2-{diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo [17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona (Compuesto I)

Métodos analíticos de UPLC/HPLC generales:

A menos que se indique, los rendimientos de enantiómeros separados por SFC quiral se dan como un porcentaje del rendimiento teórico para un solo enantiómero del racemato.

Método A de LC: UPLC analítica de fase inversa con una columna Acquity UPLC BEH C_{18} (30 × 2,1 mm, partícula de 1,7 µm) elaborada por Waters (pn: 186002349), y un gradiente dual ejecutado de 1-99 % de fase móvil B durante 1,2 minutos. Fase móvil A = agua (0,05 % de ácido trifluoroacético). Fase móvil B = acetonitrilo (0,035 % de ácido trifluoroacético). Velocidad de flujo = 1,5 ml/min, volumen de inyección = 1,5 µL y temperatura de columna = 60 °C.

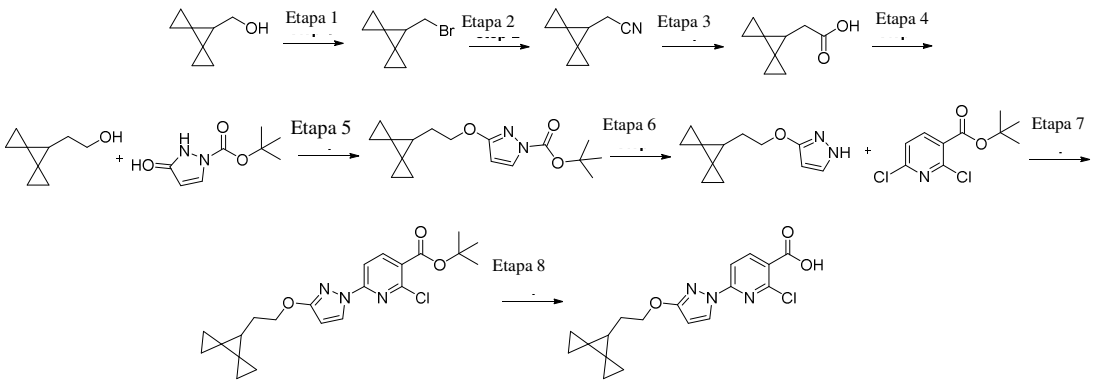
Método B de LC: UPLC analítica de fase inversa con una columna Acquity UPLC BEH C_{18} (50 × 2,1 mm, partícula de 1,7 µm) elaborada por Waters (pn: 186002350), y un gradiente dual ejecutado de 1-99 % de fase móvil B durante 3,0 minutos. Fase móvil A = agua (0,05 % de ácido trifluoroacético). Fase móvil B = acetonitrilo (0,035 % de ácido trifluoroacético). Velocidad de flujo = 1,2 ml/min, volumen de inyección = 1,5 µL y temperatura de columna = 60 °C.

Método D de LC: UPLC analítica de fase inversa con una columna Acquity UPLC BEH C_{18} (50 × 2,1 mm, partícula de 1,7 µm) elaborada por Waters (pn: 186002350), y un gradiente dual ejecutado de 1-99 % de fase móvil B durante 5,0 minutos. Fase móvil A = agua (0,05 % de ácido trifluoroacético). Fase móvil B = acetonitrilo (0,035 % de ácido trifluoroacético). Velocidad de flujo = 1,2 ml/min, volumen de inyección = 1,5 µL y temperatura de columna = 60 °C.

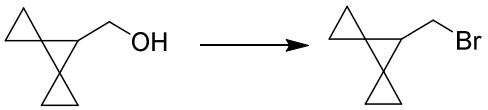
Método F de LC: UPLC analítica de fase inversa con una columna Acquity UPLC BEH C_{18} (50 × 2,1 mm, partícula de 1,7 µm) elaborada por Waters (pn: 186002350), y un gradiente dual ejecutado de 1-99 % de fase móvil B durante 15,0 minutos. Fase móvil A = agua (0,05 % de ácido trifluoroacético). Fase móvil B = acetonitrilo (0,035 % de ácido trifluoroacético). Velocidad de flujo = 1,2 ml/min, volumen de inyección = 1,5 µL y temperatura de columna = 60 °C.

Método Q de LC: Columna Merckmillipore Chromolith SpeedROD C_{18} (50 x 4,6 mm) y una ejecución de gradiente doble de 5 a 100 % de fase móvil B durante 12 minutos. Fase móvil A = agua (0,1 % de ácido trifluoroacético). Fase móvil B = acetonitrilo (0,1 % de ácido trifluoroacético).

Parte A: Síntesis del ácido 2-Cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxílico



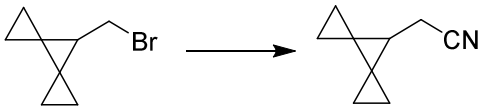
Etapa 1: 7-(Bromometil)diespiro[2.0.2.1]heptano



Un matraz de 1000 mL de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un baño refrigerante, un embudo de adición, una sonda de temperatura J-Kem y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con trifenilfosfina (102,7 mL, 443,2 mmol) y diclorometano (1 L), lo que proporcionó una solución incolora transparente. Se comenzó a agitar y se cargó al baño refrigerante con acetona. Se agregó hielo seco por partes al baño de enfriamiento hasta obtenerse una temperatura del recipiente de -15 °C. El embudo de adición se cargó con una solución de bromo (22,82 ml, 443,0 mmol) en diclorometano (220 ml, 10 ml/g) que se agregó posteriormente por goteo durante 1 h. Se agregó por partes hielo seco al baño refrigerante durante la adición para mantener la temperatura del recipiente en -15 °C. Luego de completar la adición de bromo, la suspensión amarillo claro continuó agitándose a -15 °C durante 15 minutos, y en este momento se enfrió la suspensión a -30 °C. El embudo de adición se cargó con una solución de diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il metanol (50 g, 402,6 mmol), piridina (35,82 ml, 442,9 mmol) y diclorometano (250 ml, 5 ml/g). Luego se agregó la solución amarillo claro por goteo durante 1,5 horas, manteniendo la temperatura del recipiente en -30 °C. La mezcla de reacción amarillo claro transparente resultante se dejó calentar lentamente hasta una temperatura del recipiente de -5 °C y luego se siguió agitando a -5 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se vertió en hexano (2000 mL), lo que produjo la formación de un precipitado. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se filtró a

través de un embudo Buchner de vidrio poroso con una capa de 20 mm de celite. El filtrado transparente se concentró a presión reducida (temperatura del baño de agua de 20 °C) para proporcionar un aceite amarillo con algún precipitado presente. El aceite se diluyó con un poco de hexano, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos y luego se filtró a través de un embudo Buchner de vidrio poroso con una capa de 20 mm de celite. El filtrado transparente se concentró a presión reducida (temperatura del baño de agua de 20 °C) para proporcionar 7-(bromometil)diespiro[2.0.2.1]heptano (70 g, 93 %) como un aceite amarillo transparente. 1H NMR (400 MHz, Cloroformod) δ 3,49 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 1,90 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 1,06 - 0,84 (m, 4H), 0,71 (ddd, J = 9,1, 5,1, 4,0 Hz, 2H), 0,54 (dddd, J = 8,6, 4,8, 3,8, 1,0 Hz, 2H).

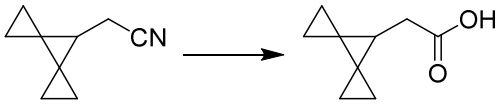
Etapa 2: 2-Diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilacetonitrilo



Un matraz de 1000 mL de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un baño refrigerante utilizado como contenedor secundario, una sonda de temperatura J-Kem y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con 7-(bromometil)diespiro[2.0.2.1]heptano (35 g, 187,1 mmol) y dimetilsulfóxido (245 ml) que proporcionó una solución ámbar transparente. Se comenzó a agitar y la temperatura del recipiente se registró en 19 °C. Se cargó entonces el recipiente con cianuro de sodio (11,46 g, 233,8 mmol) agregado como un sólido en una parte, lo que produjo una solución oscura y una exotérmica gradual a 49 °C durante 15 min. Después de unos minutos, la temperatura del recipiente comenzó a disminuir y se continuó agitando la mezcla a temperatura ambiente durante la noche (aproximadamente 15 h). La mezcla de reacción oscura se inactivó con solución

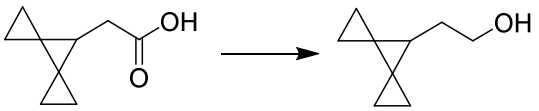
saturada helada de carbonato de sodio (500 ml) y luego se transfirió a un embudo de separación y se dividió con éter dietílico (500 ml). La orgánica se retiró y la acuosa residual se extrajo con éter dietílico (2 X 250 ml). La orgánica combinada se lavó con agua (500 ml), se secó en sulfato de sodio (200 g) y luego se filtró a través de un embudo Buchner de vidrio poroso. El filtrado ámbar transparente se concentró a presión reducida (temperatura del baño de agua de 20 °C) para proporcionar 2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilacetonitrilo (21 g, 84 %) como un aceite ámbar oscuro transparente. 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 2,42 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 1,69 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 1,02 - 0,88 (m, 4H), 0,79 - 0,70 (m, 2H), 0,66 - 0,55 (m, 2H).

Etapa 3: Ácido 2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilacético



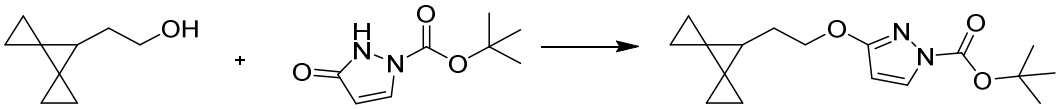
A una solución de 2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilacetonitrilo (2,1 g, 14,19 mmol) en EtOH (32 ml) se agregó hidróxido de sodio (5,12 g, 128,0 mmol) seguido de agua (13 ml) y la solución resultante se agitó y se calentó a 70 °C durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo con éter dietílico. La fase acuosa se ajustó a pH = 1 mediante la adición de ácido clorhídrico 6 N (lo que dio como resultado un precipitado turbio) y se extrajo con éter dietílico (3X). Las fases orgánicas se secaron (sulfato de magnesio), se filtraron y se concentraron para dar ácido 2-diespiro[2.0.2.1]heptán-7-ilacético (2,19 g, rendimiento del 99 %, pureza del 98 %) como sólido de naranja que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 2,44 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 1,67 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 0,91 (ddd, J = 9,0, 5,2, 3,9 Hz, 2H), 0,81 (dddd, J = 8,9, 5,2, 3,9, 0,5 Hz, 2H), 0,69 (ddd, J = 8,9, 5,2, 3,9 Hz, 2H), 0,56 - 0,44 (m, 2H).

Etapa 4: 2-Diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletanol



Al hidruro de litio y aluminio (827,4 mg, 902,3 µL, 21,80 mmol) disuelto en tetrahidrofurano (33,71 ml) enfriado en un baño de hielo/agua se agregó ácido 2-diespiro[2.0.2.1]heptano-7-ilacético (2,552 g, 16,77 mmol) en tetrahidrofurano (7,470 ml) por goteo durante 15 min manteniendo la temperatura de reacción < 20 ºC. La mezcla se dejó agitar un total de 18 h, calentándose gradualmente a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió con un baño de hielo/agua y se inactivó de forma secuencial con la adición lenta de agua (838,4 mg, 838,4 µL, 46,54 mmol), seguido de hidróxido de sodio (1,006 ml de 5 M, 5,031 mmol), luego agua (2,493 g, 2,493 ml, 138,4 mmol) proporcionando una suspensión granular blanca que se filtró en celite. Se lavó el sólido filtrado con éter dietílico. El filtrado se concentró *al vacío* a ~ 300 mbar y 30 ºC de baño de agua. Se diluyó el residuo con éter dietílico, se secó (sulfato de magnesio), filtró y concentró *al vacío* a ~ 300 mbar y 30 ºC de baño de agua seguido de ~ 30 segundos al vacío para dar 2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletanol (2,318 g, 100 %) que se usó directamente en la etapa posterior sin purificación adicional. 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 3,64 (s, 2H), 1.68 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 1,39 (s, 1H), 1,31 (s, 1H), 0,82 (d, J = 14,0 Hz, 4H), 0,65 (s, 2H), 0.50 (d, J = 3,6 Hz, 2H).

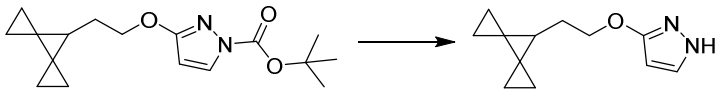
Etapa 5: 3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-carboxilato de *terc*-butilo



A una solución de 5-oxo-1H-pirazol-2-carboxilato de *terc*-butilo (2,942 g, 15,97 mmol) y 2-diespiro[2,0.2.1]heptan-7-iletanol (2,318 g, 16,77 mmol) en tetrahidrofurano (36,78 ml) se agregó trifenilfosfina (4,399 g, 16,77 mmol). A la mezcla se agregó lentamente azodicarboxilato de diisopropilo (3,391 g, 3,302 ml, 16,77 mmol) por goteo durante 10

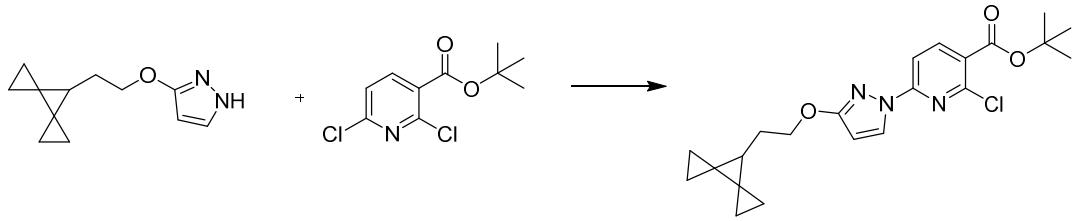
min (exotérmica suave observada). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y luego a 50 °C durante 30 min. El tetrahidrofurano se retiró *al vacío*. Al residuo crudo se agregó tolueno (23,54 ml) y la mezcla se agitó durante la noche como un precipitado cristalizado gradualmente. Se suspendió con Celite y luego el precipitado se retiró mediante filtración y se lavó con tolueno (8,705 ml) y nuevamente con tolueno (8,705 ml). El filtrado se concentró *al vacío*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice usando un gradiente superficial de 100 % hexanos a 100 % acetato de etilo que dio 3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,449 g, 71 %). ESI-MS m/z calc. 304.17868, hallado 305,1 (M+1)+; tiempo de retención: 0,82 min (Método A de LC).

Etapa 6: 3-(2-Diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)-1H-pirazol



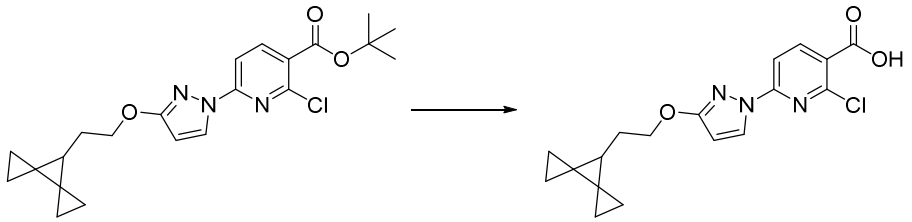
El 3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,304 g, 17,43 mmol) se disolvió en diclorometano (53,04 ml) con ácido trifluoroacético (29,81 g, 20,14 ml, 261,4 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 120 min. La reacción se evaporó y el aceite resultante se dividió entre acetato de etilo y una solución saturada de bicarbonato de sodio y las capas se separaron. La parte acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo, luego se combinaron las orgánicas, se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron para dar un aceite, 3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)-1H-pirazol (3,56 g, 100 %). ESI-MS m/z calc. 204.12627, hallado 205,1 (M+1)+; tiempo de retención: 0,59 min (Método A de LC).

Etapa 7: 2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxilato de *terc*-butilo



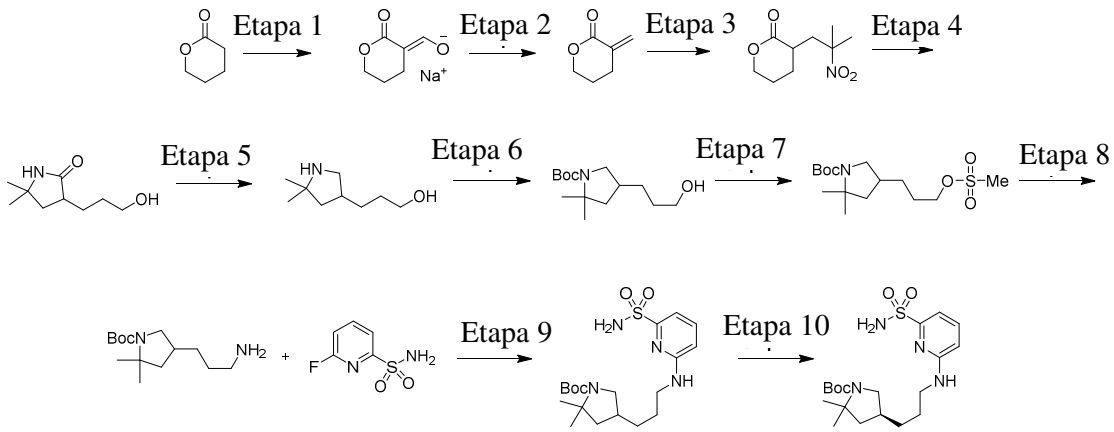
Se combinaron 2,6-dicloropiridina-3-carboxilato de *terc*-butilo (4,322 g, 17,42 mmol), 3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)-1H-pirazol (3,559 g, 17,42 mmol) y carbonato de potasio (2,891 g, 20,92 mmol) en dimetilsulfóxido anhidro (71,18 ml). Se agregó 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octano (391,1 mg, 3,487 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en nitrógeno durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (136,9 ml) y se agitó durante 15 min. El sólido blanco resultante se filtró y se lavó con agua. El sólido se disolvió en diclorometano y se secó en sulfato de magnesio. La mezcla se filtró y se evaporó para dar 2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxilato de *terc*-butilo (5,69 g, 79 %) como un sólido blanco. 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 8,35 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,18 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,94 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,25 (s, 2H), 1,90 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 1,62 (s, 9H), 1,49 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 0,85 (d, J = 1,5 Hz, 4H), 0,65 (d, J = 1,5 Hz, 2H), 0,52 (d, J = 1,1 Hz, 2H). ESI-MS m/z calc. 415.16626, hallado 360,0 (M-tBu)+; tiempo de retención: 2,09 min (Método B de LC).

Etapa 8: Ácido 2-Cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxílico

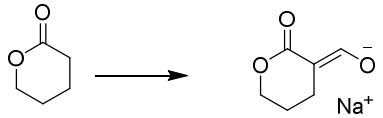


El 2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxilato de *terc*-butil (5,85 g, 14,07 mmol) se disolvió en diclorometano (58,5 ml) con ácido trifluoroacético (16,26 ml, 211,1 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se evaporó y al sólido resultante se agregó éter y luego se eliminó el éter a presión reducida. Esta evaporación del éter se repitió dos veces más dando como resultado un sólido blanco, ácido 2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxílico (5,06 g, 100 %). 1H NMR (400 MHz, Cloroformo-d) δ 8,41 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,37 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,97 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 4,27 (s, 2H), 1,91 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 1,50 (s, 1H), 0,85 (d, J = 1,5 Hz, 4H), 0,71 - 0,62 (m, 2H), 0,52 (d, J = 1,1 Hz, 2H). ESI-MS m/z calc. 359.10367, hallado 360,2 (M+1)+; tiempo de retención: 2,16 min (Método B de LC).

Parte B: Síntesis de (4*S*)-2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo

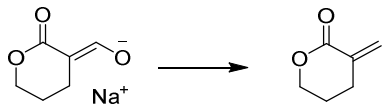


Etapa 1: (*E*)-(2-Oxotetrahidropiran-3-ilideno)metanolato (sal de sodio)



Un matraz de 5L de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un manto calefactor, un embudo de adición, una sonda/controlador de temperatura J-Kem y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con hidruro de sodio (59,91 g de 60 % p/p, 1,498 mol) seguido de heptano (1,5 L) que proporcionó una suspensión gris. Se comenzó a agitar y la temperatura del recipiente se registró a 19 °C. El recipiente se cargó entonces con alcohol etílico (3,451 g, 74,91 mmol) agregado *mediante* jeringa, lo que generó desprendimiento de gas. El embudo de adición se cargó con una solución transparente amarillo claro de tetrahidropiran-2-ona (150 g, 1,498 mol) y formiato de etilo (111 g, 1,50 mol). La solución se agregó por goteo durante 1 h, lo que dio como resultado un desprendimiento de gas y una exotermia gradual a 45 °C. La suspensión blanca espesa resultante se calentó entonces a 65 ºC durante 2 horas y entonces se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla continuó agitándose a temperatura ambiente durante la noche (aproximadamente 10 h). La mezcla de reacción se filtró al vacío a través de un embudo Buchner de vidrio poroso (porosidad media) bajo una corriente de nitrógeno. La torta de filtración se lavó por desplazamiento con heptano (2 X 250 ml) y se extrajo durante unos minutos. La torta húmeda ligeramente heptano se transfirió a una bandeja de vidrio y se secó en un horno de vacío a 45 °C durante 15 h para proporcionar un sólido blanco (205 g, 1,36 mol, 91 % de rendimiento) como el producto deseado, (*E*)-(2-oxotetrahidropiran-3-ilideno)metanolato (sal de sodio).

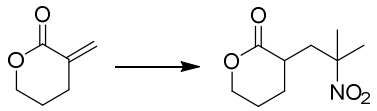
Etapa 2: 3-Metilenetetrahidropiran-2-ona



Un matraz de 5L de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un manto calefactor, un embudo de adición, una sonda/controlador de temperatura J-Kem

y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con (*E*)-(2-oxotetrahidropiran-3-ilideno)metanolato (sal de sodio) (205 g, 1,366 mol) (205 g, 1,366 mol) y tetrahidrofurano (1640 ml) que proporcionó una suspensión blanca. Se comenzó a agitar y la temperatura del recipiente se registró a 19 °C. El recipiente se cargó entonces con paraformaldehído (136,6 g, 4,549 mol) agregado como un sólido en una parte. La suspensión resultante se calentó a 63 °C y la condición se mantuvo durante 15 h. Al calentarse, la mezcla de reacción se volvió ligeramente gelatinosa. La mezcla gelatinosa blanca se concentró a presión reducida para retirar la mayor parte del tetrahidrofurano. El residuo restante se dividió con acetato de etilo (1000 ml), cloruro de sodio saturado (500 ml) e hidrogenocarbonato de sodio saturado (500 ml) en un embudo de separación. La orgánica se retiró y la acuosa residual se extrajo con acetato de etilo (5 X 300 ml). La orgánica combinada se secó en sulfato de sodio (500 g) y luego se filtró al vacío a través de un embudo Buchner de vidrio poroso con una capa de celite de 20 mm. La torta de filtración se lavó por desplazamiento con acetato de etilo (250 ml). El filtrado transparente se concentró a presión reducida para proporcionar un aceite transparente amarillo claro (135 g) como el producto bruto deseado. El material se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice ultrarrápida (carga de líquido) eluyendo con un gradiente de 100 % de hexano a 60 % de acetato de etilo en hexano durante 1 h recogiendo fracciones de 450 ml. El producto se detectó mediante análisis TLC en gel de sílice eluyente con 3:1 hexanos/acetato de etilo y se visualizó bajo UV. Las fracciones del producto se combinaron y se concentraron a presión reducida para proporcionar un aceite transparente, incoloro (132 g, 1,18 mol, rendimiento del 72 % que contiene 16 % en peso de acetato de etilo residual por NMR) como el producto deseado, 3-metilenetetrahidropiran-2-ona. 1H NMR (400 MHz, dimetilsulfóxido-d_6) δ 6,18 (q, J = 1,9 Hz, 1H), 5,60 (q, J = 1,9 Hz, 1H), 4,40 - 4,26 (m, 2H), 2,61 (ddt, J = 7,0, 6,3, 2,0 Hz, 2H), 1,90 - 1,75 (m, 2H).

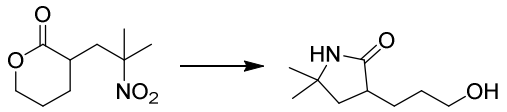
Etapa 3: 3-(2-Metil-2-nitro-propil)tetrahidropiran-2-ona



Un matraz de 5000 mL de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un baño refrigerante utilizado como contenedor secundario, una sonda de temperatura J-Kem, un embudo de adición y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con 2-nitropropano (104,9 g, 1,177 mol). Se comenzó a agitar y la temperatura del recipiente se registró a 19 °C. El recipiente se cargó entonces con 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno (22,41 g, 147,2 mmol) agregado puro en una parte que dio como resultado una solución transparente amarillo claro. No se observó exotermia. El embudo de adición se cargó con una solución de 3-metilenetetrahidropiran-2-ona (110 g, 981,0 mmol) en acetonitrilo (1100 ml) que se añadió por goteo durante 1 h que dio como resultado una solución transparente amarilla clara y una exotérmica gradual a 24 °C. La mezcla de reacción se continuó agitando a temperatura ambiente durante 3,5 h y entonces se concentró a presión reducida. El residuo restante se disolvió en diclorometano (1000 ml) y se dividió con 500 ml de una mezcla 3:2 de solución de ácido cítrico 1 molar/solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica resultante fue una solución transparente azul claro y la fase acuosa fue una solución azul muy claro ligeramente turbia. La orgánica se retiró y la acuosa residual se extrajo con diclorometano (300 ml). La orgánica combinada se lavó con solución saturada de cloruro de sodio (300 ml), se secó en sulfato de sodio (250 g) y luego se filtró a través de un embudo Buchner de vidrio poroso. El filtrado se concentró a presión reducida a un volumen de aproximadamente 200 mL. La solución transparente de diclorometano azul claro se diluyó con metil *terc*-butil éter (1500 ml) y la solución turbia se concentró a presión reducida hasta un volumen de

aproximadamente 200 ml que proporcionó una suspensión. La mezcla se diluyó nuevamente con metil *terc*-butil éter (1500 ml) y se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 250 ml. La suspensión resultante se dejó reposar a temperatura ambiente durante la noche (aproximadamente 12 h). El sólido se recogió mediante filtración al vacío en un embudo Buchner de vidrio poroso y la torta de filtración se lavó por desplazamiento con metil *terc*-butil éter frío (2 x 150 ml) y luego se extrajo durante 30 minutos. El material se secó adicionalmente en un horno de vacío a 45 °C durante 5 h para proporcionar (160 g, 0,795 mol, 81 % de rendimiento) de un sólido blanco como el producto deseado, 3-(2-metil-2-nitro-propil)tetrahidropiran-2-ona. 1H NMR (400 MHz, dimetilsulfóxido-d_6) δ 4,34 (ddd, J = 11,1, 9,3, 4,3 Hz, 1H), 4,20 (dt, J = 11,1, 5,1 Hz, 1H), 2,75 - 2,62 (m, 1H), 2,56 (dd, J = 14,9, 5,2 Hz, 1H), 2,01 - 1,89 (m, 2H), 1,89 - 1,67 (m, 2H), 1,55 (d, J = 6,0 Hz, 6H), 1,44 (dddd, J = 12,8, 11,5, 8,1, 6,6 Hz, 1H).

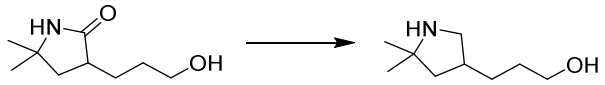
Etapa 4: 3-(3-Hidroxipropil)-5,5-dimetil-pirrolidin-2-ona



Un matraz de 1000 ml de fondo redondo de 3 bocas se equipó con una barra agitadora recubierta con Teflón, un manto calefactor, una sonda/controlador de temperatura J-Kem y tabiques de goma. El recipiente se cargó con 3-(2-metil-2-nitro-propil)tetrahidropiran-2-ona (25 g, 124,2 mmol) y alcohol etílico (375 ml) que proporcionó una suspensión blanca. Se comenzó a agitar y la suspensión se calentó a 40 °C durante 10 minutos, que proporcionó una solución transparente incolora. Entonces, el recipiente se equipó con un tubo de dispersión de gas y la solución se desgasificó con nitrógeno durante 15 minutos. El recipiente se cargó entonces con Raney Nickel (8,019 g de 50 % p/p, 68,31 mmol) y el recipiente se equipó entonces con los tabiques. El recipiente se

evacuó y colocó en una atmósfera de hidrógeno. El proceso se repitió durante tres ciclos. El recipiente se colocó entonces bajo 1 atmósfera de hidrógeno y la mezcla de reacción se calentó gradualmente a 60 °C. La reacción continuó agitándose a 60 °C durante 24 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, el recipiente se equipó con un tubo de dispersión de gas y la mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 15 min. La mezcla se filtró al vacío a través de un embudo Buchner de vidrio poroso con una capa de celito de 20 mm. La torta de filtración se lavó por desplazamiento con etanol (2 x 100 ml) y se extrajo hasta que se humedeció ligeramente con alcohol etílico, luego se humedeció con agua y el catalizador de níquel Raney usado se desechó bajo agua. El filtrado transparente ámbar claro concentró a presión reducida en un aceite ámbar viscoso transparente claro. El aceite se diluyó con metil terc-butil éter (1500 ml) y la solución turbia se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 150 ml que proporcionó una suspensión. La mezcla se diluyó nuevamente con metil terc-butil éter (1500 ml) y se concentró a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 150 ml. La suspensión resultante se dejó reposar a temperatura ambiente durante la noche (aproximadamente 12 h). El sólido se recogió mediante filtración al vacío en un embudo Buchner de vidrio poroso y la torta de filtración se lavó por desplazamiento con metil terc-butil éter frío (2 x 50 ml) y luego se extrajo durante 30 minutos. El material se secó adicionalmente en un horno de vacío a 45 °C durante 3 h para proporcionar un sólido blanco(19 g, 0,111 mol, 89 % de rendimiento) como el producto, 3-(3-hidroxipropil)-5,5-dimetil-pirrolidin-2-ona. 1H NMR (400 MHz, dimetilsulfóxido-d_6) δ 7,63 (s, 1H), 3,38 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,37 (tdd, J = 9,8, 8,5, 4,4 Hz, 1H), 2,02 (dd, J = 12,3, 8,6 Hz, 1H), 1,72 (tdd, J = 9,6, 7,5, 4,4 Hz, 1H), 1,52 - 1,32 (m, 3H), 1,28 - 1,03 (m, 7H).

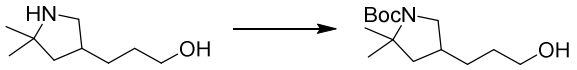
Etapa 5: 3-(5,5-Dimetilpirrolidin-3-il)propan-1-ol



Un matraz de 5L de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un manto calefactor, un embudo de adición, una sonda/controlador de temperatura J-Kem y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con gránulos de hidruro de litio y aluminio (19,39 g, 510,9 mmol). El recipiente entonces se cargó con tetrahidrofurano (500 ml, 20 ml/g). Se comenzó a agitar y la temperatura del recipiente se registró a 20 °C. La mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente durante 0,5 h para permitir que los gránulos se disolvieran. La temperatura del recipiente de la suspensión gris resultante se registró a 24 °C. El embudo de adición se cargó con una solución de 3-(3-hidroxipropil)-5,5-dimetil-pirrolidin-2-ona (25 g, 146,0 mmol) en tetrahidrofurano (500 ml) y la solución transparente amarilla claro se agregó por goteo durante 90 minutos. Se requirió un calentamiento leve para lograr la homogeneidad. Después de la adición completa, la temperatura del recipiente de la suspensión grisácea resultante se registró a 24 °C. La mezcla se calentó entonces a una temperatura de recipiente de 65 °C y la condición se mantuvo durante 72 h. El análisis de la mezcla de reacción en este punto indicó algún material inicial residual aún restante y ningún cambio en la formación del producto. La reacción se detuvo posteriormente en este punto. El manto calefactor se retiró y el recipiente se equipó con un baño refrigerante. La suspensión se enfrió a 0 °C con un baño refrigerante de hielo triturado/agua y luego se inactivó mediante la adición muy lenta por goteo de agua (19,93 ml), seguida por una solución de 15 % en peso de hidróxido de sodio (19,93 ml) y finalmente con agua (59,79 ml). La temperatura del recipiente de la suspensión blanca resultante se registró a 5 °C. El baño refrigerante se retiró y el recipiente se equipó de nuevo con un manto calefactor. La suspensión se calentó a 60 °C y la condición se mantuvo durante 30 minutos. La suspensión tibia se filtró al vacío a través de un embudo Buchner de vidrio poroso con

una capa de celite de 20 mm. La torta de filtración se lavó por desplazamiento con 60 °C de tetrahidrofurano (2 X 250 ml) y luego se extrajo durante 30 minutos. El filtrado transparente se concentró a presión reducida para proporcionar (23,5 g, 0,149 mol, rendimiento del 99 %) de un aceite viscoso amarillo claro transparente como el producto deseado, 3-(5,5-dimetilpirrolidin-3-il)propan-1-ol. 1H NMR (400 MHz, dimetilsulfóxido-d_6) δ 3,37 (dt, J = 8,3, 6,4 Hz, 3H), 2,95 (dd, J = 10,6, 7,6 Hz, 1H), 2,40 (dd, J = 10,7, 7,7 Hz, 1H), 2,04 (dt, J = 16,1, 8,1 Hz, 1H), 1,69 (dd, J = 12,2, 8,2 Hz, 1H), 1,50 - 1,24 (m, 5H), 1,11 - 0,94 (m, 7H).

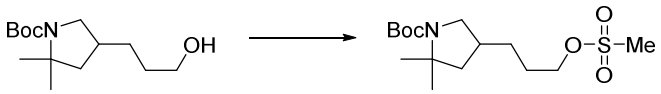
Etapa 6: 4-(3-hidroxipropil)-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Un matraz de 1 L de fondo redondo de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, un baño refrigerante, un embudo de adición, una sonda de temperatura J-Kem y una entrada/salida de nitrógeno. El recipiente se cargó en una atmósfera de nitrógeno con 3-(5,5-dimetilpirrolidin-3-il)propan-1-ol (15 g, 95,39 mmol) y diclorometano (225 ml, 15 ml/g) que proporcionó una solución amarilla claro transparente. Se comenzó a agitar y la temperatura del recipiente se registró a 19 °C. El baño refrigerante se cargó con hielo triturado/agua y la temperatura del recipiente se redujo a 0 °C. El embudo de adición se cargó con trietilamina (12,55 g, 124,0 mmol) que se agregó posteriormente puro por goteo durante 5 min. No se observó exotermia. El embudo de adición se cargó entonces con dicarbonato de di-*terc*-butilo (22,89 g, 104,9 mmol) disuelto en diclorometano (225 ml). Se agregó entonces la solución transparente amarilla claro por goteo durante 30 minutos, lo que dio como resultado un desprendimiento suave del gas. No se observó exotermia. El baño refrigerante se retiró y la solución transparente amarilla claro resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y continuó agitándose a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de

separación y se dividió con agua (75 ml). La orgánica se retiró y lavó con solución saturada de cloruro de sodio (75 ml), se secó en sulfato de sodio (150 g) y luego se filtró a través de un embudo Buchner de vidrio poroso. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (30 g) de un aceite transparente amarillo claro como el producto bruto deseado. El material se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice ultrarrápida (carga de líquido con diclorometano) eluyendo con un gradiente de 100 % de diclorometano a 10 % de alcohol metílico en diclorometano durante 60 min recogiendo fracciones de 50 ml. Las fracciones del producto deseadas se combinaron y se concentraron a presión reducida para proporcionar 4-(3-hidroxipropil)-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (22 g, 0,0855 mol, rendimiento del 90 %) como un aceite viscoso transparente amarillo claro. 1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 4,38 (td, J = 5,2, 1,4 Hz, 1H), 3,54 (dt, J = 10,3, 6,7 Hz, 1H), 3,38 (td, J = 6,6, 3,5 Hz, 2H), 2,76 (q, J = 10,3 Hz, 1H), 2,07 (td, J = 11,6, 5,7 Hz, 1H), 1,87 (ddd, J = 16,7, 12,1, 6,0 Hz, 1H), 1,37 (dd, J = 14,2, 10,4 Hz, 17H), 1,24 (s, 3H).

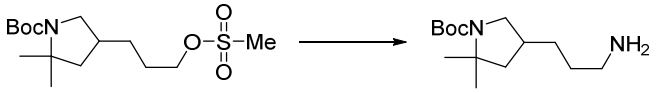
Etapa 7: 2,2-dimetil-4-(3-metilsulfonil oxipropil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Se disolvieron 4-(3-hidroxipropil)-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (50,5 g, 196,22 mmol) y trietilamina (39,711 g, 54,698 ml, 392,44 mmol) en diclorometano (500 ml) y la solución resultante se enfrió en un baño de agua helada durante 30 min. Se agregó cloruro de mesilo (24,725 g, 16,706 ml, 215,84 mmol) por goteo durante un período de 30 minutos, luego se retiró el baño de hielo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La reacción entonces se inactivó con solución saturada de bicarbonato de sodio (200 ml). Las fases se separaron y la fase orgánica se extrajo con bicarbonato de sodio saturado (200 ml) y agua (2 X 100 ml). Las fases acuosas se

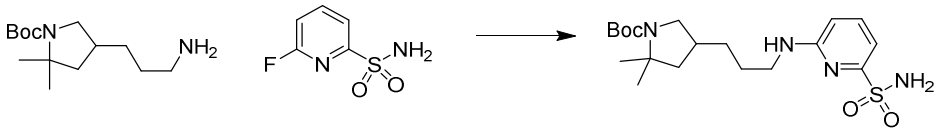
desecharon y la fase orgánica se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró *al vacío* para obtener 2,2-dimetil-4-(3-metilsulfonil oxipropil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (64,2 g, 93 %) como un aceite amarillo claro. ESI-MS m/z calc. 335.1766, hallado 336,4 (M+1)+; tiempo de retención: 5,54 min (Método Q de LC).

Etapa 8: 4-(3-aminopropil)-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



Se disolvió 2,2-dimetil-4-(3-metilsulfoniloxipropil)pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (64,2 g, 191,38 mmol) en dioxano (650 ml) y luego se agregó hidróxido de amonio (650 ml) y la mezcla resultante se calentó a 45 ℃ durante 18 h. Después de 18 h, la reacción se enfrió a temperatura ambiente. La solución se diluyó con hidróxido de sodio 1M (200 ml) y luego se extrajo con éter dietílico (3 X 650 ml). La fase acuosa se desechó y las fases orgánicas combinadas se extrajeron con agua (2 X 200 ml). Las fases acuosas se desecharon y la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró *al vacío* para proporcionar 4-(3-aminopropil)-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (48,9 g, 95 %) como un aceite amarillo claro. ESI-MS m/z calc. 256.2151, hallado 257,3 (M+1)+; tiempo de retención: 3,70 min (Método Q de LC).

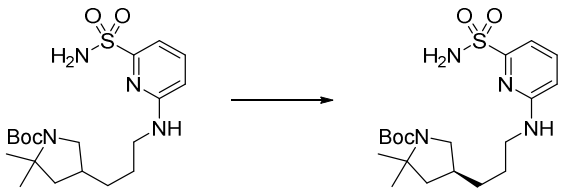
Etapa 9: 2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



A 4-(3-aminopropil)-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (8,91 g, 34,8 mmol) y 6-fluoropiridina-2-sulfonamida (6,13 g, 34,8 mmol) en dimetilsulfóxido (75 ml) se agregó carbonato de potasio (4,91 g, 35,5 mmol) y la mezcla se agitó a 100 ºC durante 12 h y entonces se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h

adicionales (16 h en total). La mezcla de reacción se vertió lentamente en ácido clorhídrico (35 ml de 1 M, 35,00 mmol) en agua (200 ml) (algunas espumas) y se diluyó con acetato de etilo (250 ml). La fase orgánica se separó y se lavó con 100 ml de salmuera. La fase orgánica se secó en sulfato de magnesio, se filtró en celite y se concentró al vacío para obtener un aceite amarillo oscuro. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0 % - 100 % de acetato de etilo en hexanos. Se recogieron fracciones puras (9,0 g) e impuras (3 g). Se purificó las fracciones impuras mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con 0 % - 100 % de acetato de etilo en hexanos que proporciona, en total, 2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (10,0 g, 69 %). 1H NMR (400 MHz, dimetilsulfóxidoe-d_6) δ 7,52 (dd, J = 8,5, 7,2 Hz, 1H), 7,07 (s, 2H), 6,95 (dd, J = 7,2, 0,7 Hz, 2H), 6,61 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 3,55 (q, J = 9,1 Hz, 1H), 3,32 - 3,24 (m, 2H), 2,79 (q, J = 10,0 Hz, 1H), 2,13 (d, J = 16,1 Hz, 1H), 1,96 - 1,82 (m, 1H), 1,51 (dt, J = 18,0, 9,3 Hz, 2H), 1,37 (dd, J = 12,9, 10,6 Hz, 15H), 1,24 (s, 3H). ESI-MS m/z calc. 412.21442, hallado 413,1 (M+1)+; tiempo de retención: 2,34 min (Método D de LC).

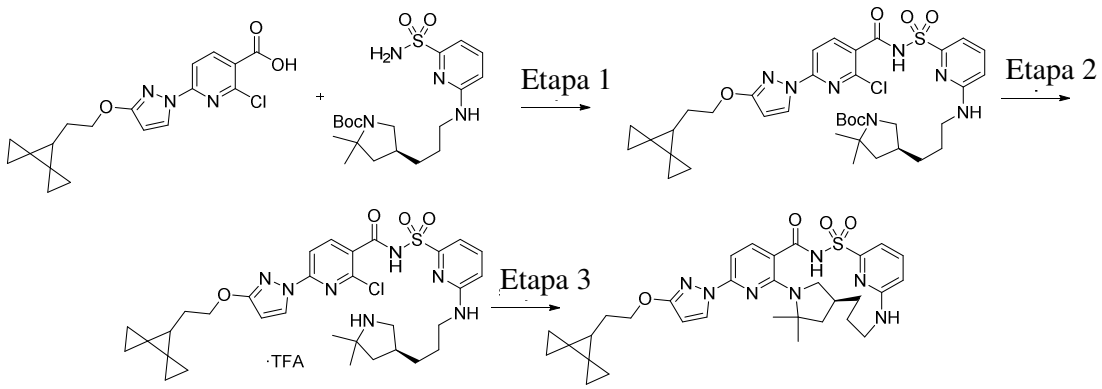
Etapa 10:(4*S*)-2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



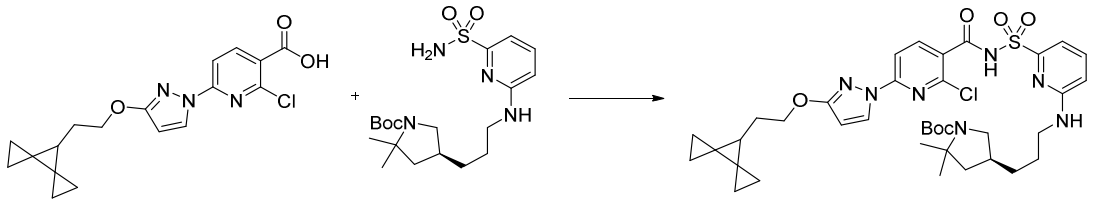
2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidin-1-carboxylato de *terc*-butilo racémico (7 g, 16,97 mmol) sometido a la separación quiral mediante cromatografía de fluidos supercríticos usando una columna Chiralpak IG (columna de 250 X 21,2 mm, tamaño de partícula de 5 µm) con una fase móvil de 40 % de metanol/60 % de dióxido

de carbono a 70 ml/min durante 11,0 min (volumen de inyección = 500 µL de solución de 32 mg/ml en metanol) proporcionando como el primer pico de elución, (4*S*)-2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (3,4481 g, 99 %). ESI-MS m/z calc. 412.21442, hallado 413,2 $(M+1)^+$; tiempo de retención: 0,63 min (Método A de LC).

Parte C: Síntesis de (14S)-8-[3-(2-{diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo [17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona (Compuesto I)

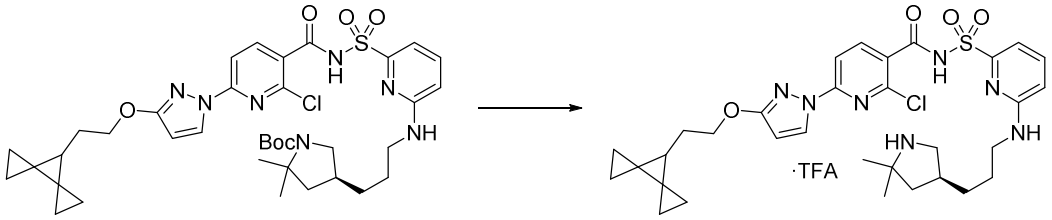


Etapa 1: (4*S*)-4-[3-[[6-[[2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptán-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carbonil]sulfamoil]-2-piridil]amino]propil]-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo



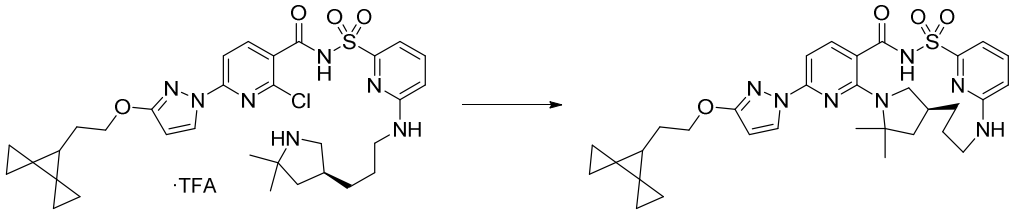
A una solución de ácido 2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxílico (5,2 g, 14,45 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) se agregó carbonil diimidazol (2,8 g, 16,51 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A esta mezcla se agregó (4*S*)-2,2-dimetil-4-[3-[(6-sulfamoil-2-piridil)amino]propil]pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,0 g, 14,54 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) seguido de 1,8-diazabiciclo[5,4.0]undec-7-eno (6,5 ml, 43,47 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La reacción se diluyó con agua (150 ml) y la mezcla se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (15 ml de 6 M, 90,00 mmol). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (300 ml) y la fase orgánica se separó. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró en Celite y se concentró *al vacío* proporcionando un precipitado blanco. El precipitado se suspendió con acetonitrilo y el sólido se recogió mediante filtración usando un embudo de vidrio poroso mediano y se lavó con acetonitrilo. El filtrado se concentró *al vacío* proporcionando un aceite amarillo. El aceite bruto se diluyó con acetonitrilo y un poco de *N*-metil-2-pirrolidona y se cromatografió en una columna C_{18} de fase inversa de 415 g con elución con 50 % - 100 % de acetonitrilo en agua proporcionando (4*S*)-4-[3-[[6-[[2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carbonil]sulfamoil]-2-piridil]amino]propil]-2,2-dimetil-pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (4,5 g, 41 %). ESI-MS m/z calc. 753.30756, hallado 754,4 $(M+1)^+$; tiempo de retención: 3,79 min (Método D de LC).

Etapa 2: 2-Cloro-*N*-[[6-[3-[(3S)-5,5-dimetilpirrolidin-3-il]propilamino]-2-piridil]sulfonil]-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilethoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxamida (sal de trifluoroacetato)



A una solución de (4*S*)-4-[3-[[6-[[2-cloro-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-iletoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carbonil]sulfamoil]-2-piridil]amino]propil]-2,2-dimetil-pirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (5,9 g, 7,821 mmol) en diclorometano (30 ml) y tolueno (15 ml) se agregó ácido trifluoroacético (6,0 ml, 77,88 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. El disolvente se retiró *al vacío* con la temperatura del baño establecida a 45 ºC, proporcionando un aceite amarillo espeso. El aceite se diluyó con tolueno (125 ml) y el disolvente se retiró *al vacío* con la temperatura del baño establecida a 45 ºC. El aceite se diluyó con tolueno y el disolvente se retiró *al vacío* proporcionando un aceite amarillo espeso y viscoso, 2-cloro-*N*-[[6-[3-[(3*S*)-5,5-dimetilpirrolidin-3-il]propilamino]-2-piridil]sulfonil]-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilethoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxamida (sal de trifluoroacetato) (6,0 g, 100 %) el cual se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ESI-MS m/z calc. 653.2551, hallado 654,3 $(M+1)^+$; tiempo de retención: 2,6 min (Método B de LC).

Etapa 3: (14*S*)-8-[3-(2-{diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo[17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona (Compuesto I)

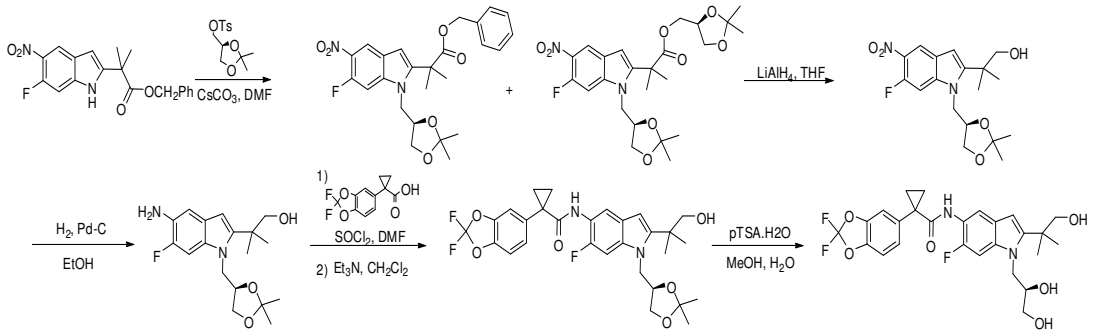


A una solución de 2-cloro-*N*-[[6-[3-[(3*S*)-5,5-dimetilpirrolidin-3-il]propilamino]-2-piridil]sulfonil]-6-[3-(2-diespiro[2.0.2.1]heptan-7-ilethoxi)pirazol-1-il]piridina-3-carboxamida (sal de trifluoroacetato) (6,0 g, 7,810 mmol) en NMP (140 ml) se agregó carbonato de potasio (5,3 g, 38,35 mmol). La mezcla se purgó con nitrógeno durante 5 min. Entonces, la mezcla se calentó a 150 ºC durante 22 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se agregó al agua (300 ml) proporcionando un precipitado sólido blancuzco. La mezcla se acidificó cuidadosamente con ácido clorhídrico acuoso (12 ml de 6 M, 72,00 mmol) proporcionando una suspensión espumosa. El sólido se recogió mediante filtración usando un embudo de vidrio poroso mediano. La torta de filtración húmeda se disolvió en acetato de etilo (500 ml) y se lavó con 200 ml de salmuera. La fase acuosa estaba ligeramente turbia por lo que se acidificó con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico 6N y volvió a la fase orgánica. La fase acuosa se separó y la fase orgánica se secó en sulfato de magnesio, se filtró y se concentró *al vacío* proporcionando un aceite amarillo claro. Este producto bruto se diluyó con acetonitrilo y se cromatografió en una columna de fase inversa C_{18} de 415 g con elución con 50 % - 100 % de acetonitrilo en agua. El producto se aisló como una espuma color crema. La espuma se secó *al vacío* a 45 ºC durante 48 horas, proporcionando (14*S*)-8-[3-(2-{diespiro[2.0.2.1]heptan-7-il}etoxi)-1H-pirazol-1-il]-12,12-dimetil-2λ6-tia-

3,9,11,18,23-pentaazatetraciclo[17.3.1.111,14.05,10]tetracosa-1(22),5,7,9,19(23),20-hexaeno-2,2,4-triona (Compuesto **I**) (3,32 g, 68 %). ^{1}H NMR (400 MHz, dimetilsulfóxido-d_6) δ 12,48 (s, 1H), 8,20 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,57 (dd, J = 8,5, 7,2 Hz, 1H), 7,05 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,08 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 4,21 (td, J = 6,7, 1,3 Hz, 2H), 3,92 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,16 (s, 1H), 2,95 (d, J = 13,3 Hz, 1H), 2,78 - 2,66 (m, 1H), 2,07 (s, 1H), 1,92 - 1,72 (m, 4H), 1,60 (s, 6H), 1,51 (s, 3H), 1,47 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 1,31 (q, J = 12,2 Hz, 1H), 0,89 - 0,77 (m, 4H), 0,69 - 0,61 (m, 2H), 0,53 - 0,45 (m, 2H). ESI-MS m/z calc. 617.27844, hallado 618,4 $(M+1)^+$; tiempo de retención: 10,29 min (Método F de LC).

Las sales Ca^{2+}, Na^+ y K^+ del Compuesto **I** se prepararon mezclando el Compuesto **I** con $Ca(OCH_3)_2$, $Na(OCH_3)$ y KOH, respectivamente: mezclando el Compuesto **I** (1 g) y $Ca(OCH_3)_2$ (83 mg) en metanol (65 ml) a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego a 65 °C durante 30 minutos; mezclando el Compuesto **I** (0,6 g (1 mMol)) en MeOH (40 ml) con 25 % en peso de $Na(OCH_3)$ en MeOH (250 ml (1 equiv molar)) a 60 °C durante 20 minutos; y mezclando el Compuesto **I** (0,6 g) en acetona (11 ml) con 1N KOH (1 equivalente molar) a 50 °C durante 1 hora. Después de la filtración de las soluciones calientes resultantes, los filtrados se evaporaron hasta la sequedad para producir las sales amorfas deseadas, respectivamente (no se muestran los datos de PXRD).

Ejemplo 2: Síntesis de (R)-1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-yl)ciclopropanocarboxamida (Compuesto II)



Etapa 1: 2-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoato de (R)-bencilo y 2-(1-(((R)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoato de ((S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo

Se agregó carbonato de cesio (8,23 g, 25,3 mmol) a una mezcla de 2-(6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoato de bencilo (3,0 g, 8,4 mmol) y 4-metilbencenosulfonato de (S)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metilo (7,23 g, 25,3 mmol) en DMF (17 ml). La reacción se agitó a 80 °C durante 46 horas en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se dividió entonces entre acetato de etilo y agua. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. Las capas combinadas de acetato de etilo se lavaron con salmuera, se secaron en $MgSO_4$, se filtraron y concentraron. El producto bruto, un aceite marrón viscoso que contiene ambos productos mostrados anteriormente, se llevó directamente a la siguiente etapa sin purificación adicional. 2-(1-((2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoato de (R)-bencilo, ESI-MS *m/z* calc. 470,2, hallado 471,5 $(M+1)^+$. Tiempo de retención 2,20 minutos. 2-(1-(((R)-2,2-Dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropanoato de ((S)-2,2-dimetil-1,3-

dioxolan-4-il)metil, ESI-MS *m/z* calc. 494,5, hallado 495,7 $(M+1)^+$. Tiempo de retención 2,01 minutos.

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

La mezcla de reacción bruta obtenida en la etapa (A) se disolvió en THF (42 ml) y se enfrió en un baño de agua helada. Se agregó $LiAlH_4$ (16,8 ml de solución 1 M, 16,8 mmol) por goteo. Después de que se completó la adición, la mezcla se agitó durante 5 minutos adicionales. La reacción se inactivó agregando agua (1 ml), solución de 15 % de NaOH (1 ml) y después agua (3 ml). La mezcla se filtró en Celite, y los sólidos se lavaron con THF y acetato de etilo. El filtrado se concentró y purificó mediante cromatografía de columna (30-60 % de acetato de etilo - hexanos) para obtener (R)-2-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol como un aceite marrón (2,68 g, 87 % en 2 etapas). ESI-MS *m/z* calc. 366,4, hallado 367,3 $(M+1)^+$. Tiempo de retención 1,68 minutos. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,34 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 13,4 Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,94 (t, J = 5,4 Hz, 1H), 4,64 - 4,60 (m, 1H), 4,52 - 4,42(m, 2H), 4,16 - 4,14 (m, 1H), 3,76 - 3,74 (m, 1H), 3,63 - 3,53 (m, 2H), 1,42 (s, 3H), 1,38 - 1,36 (m, 6H) y 1,19 (s, 3H) ppm

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

Se disolvió (R)-2-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-5-nitro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol (2,5 g, 6,82 mmol) en etanol (70 mL) y la reacción se enjuagó con N_2. Luego se agregó Pd-C (250 mg, 5 % peso). La reacción se enjuagó con nitrógeno nuevamente y luego se agitó bajo H_2 (atm). Después de 2,5 horas solo se observó una conversión parcial al producto mediante LCMS. La reacción se filtró a través de Celite y se concentró. El residuo se volvió a someter a las condiciones anteriores. Después de 2 horas LCMS indicó conversión completa al producto. La mezcla de reacción se filtró a

través de Celite. El filtrado se concentró para producir el producto como un sólido negro (1,82 g, 79 %). ESI-MS *m/z* calc. 336,2, hallado 337,5 $(M+1)^+$. Tiempo de retención 0,86 minutos. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 7,17 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,03 (s, 1H), 4,79 - 4,76 (m, 1H), 4,46 (s, 2H), 4,37 - 4,31 (m, 3H),4,06 (dd, J = 6,1, 8,3 Hz, 1H), 3,70 - 3,67 (m, 1H), 3,55 - 3,52 (m, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,32 (s, 6H) y 1,21 (s, 3H) ppm.

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

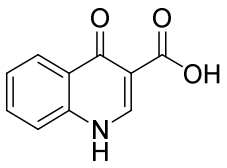
Se agregó DMF (3 gotas) a una mezcla de agitación de ácido 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxílico (1,87 g, 7,7 mmol) y cloruro de tionilo (1,30 ml, 17,9 mmol). Después de 1 hora se formó una solución transparente. La solución se concentró al vacío y entonces se agregó tolueno (3 ml) y la mezcla se concentró de nuevo. La etapa de tolueno se repitió una vez más y el residuo se colocó a alto vacío durante 10 minutos. El cloruro ácido se disolvió entonces en diclorometano (10 ml) y se agregó a una mezcla de (R)-2-(5-amino-1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-1H-indol-2-il)-2-metilpropan-1-ol (1,8 g, 5,4 mmol) y trietilamina (2,24 mL, 16,1 mmol) en diclorometano (45 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se lavó con solución de HCl 1N, solución saturada de $NaHCO_3$ y salmuera, se secó en $MgSO_4$ y se concentró para producir el producto como un sólido espumoso negro (3 g, 100 %). ESI-MS *m/z* calc. 560,6, hallado 561,7 $(M+1)^+$. Tiempo de retención 2,05 minutos. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,31 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,42 - 7,40 (m, 2H), 7,34 - 7,30 (m, 3H), 6,24 (s, 1H), 4,51 - 4,48 (m, 1H), 4,39 - 4,34 (m,2H), 4,08 (dd, J = 6,0, 8,3 Hz, 1H), 3,69 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,58 - 3,51 (m, 2H), 1,48 - 1,45 (m, 2H), 1,39 (s, 3H), 1,34 - 1,33 (m, 6H), 1,18 (s, 3H) y 1,14 - 1,12 (m, 2H) ppm

Etapa 5: (R)-1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida

Se disolvió (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida (3,0 g, 5,4 mmol) en metanol (52 ml). Se agregó agua (5,2 ml) seguido de p-TsOH.H_2O (204 mg, 1,1 mmol). La reacción se calentó a 80 °C durante 45 minutos. La solución se concentró y luego se dividió entre acetato de etilo y solución saturada de $NaHCO_3$. La capa de acetato de etilo se secó en $MgSO_4$ y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (50-100 % de acetato de etilo - hexanos) para producir el producto como un sólido espumoso de color crema. (1,3 g, 47 %, ee >98 % por SFC). ESI-MS *m/z* calc. 520,5, hallado 521,7 $(M+1)^+$. Tiempo de retención 1,69 minutos. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,31 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,42 - 7,38 (m, 2H), 7,33 - 7,30 (m, 2H), 6,22 (s, 1H), 5,01 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,90 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 4,75 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 4,40 (dd, J = 2,6, 15,1 Hz, 1H), 4,10 (dd, J = 8,7, 15,1 Hz, 1H), 3,90 (s, 1H), 3,65 - 3,54 (m, 2H), 3,48 - 3,33 (m, 2H), 1,48 - 1,45 (m, 2H), 1,35 (s, 3H), 1,32 (s, 3H) y 1,14 - 1,11 (m, 2H) ppm.

Ejemplo 3: Síntesis de N-(2,4-di-*terc*-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto III)

Parte A: Síntesis del ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico



Etapa 1: Éster dietílico de ácido 2-fenilaminometilen-malónico

Una mezcla de anilina (25,6 g, 0,275 mol) y 2-(etoximetileno)malonato de dietilo (62,4 g, 0,288 mol) se calentó a 140-150 °C durante 2 h. La mezcla se enfrió a temperatura

ambiente y se secó a presión reducida para producir éster dietílico de ácido 2-fenilaminometilen-malónico como un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 11,00 (d, 1H), 8,54 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 7,36-7,39 (m, 2H), 7,13-7,17 (m, 3H), 4,17-4,33 (m, 4H), 1,18-1,40 (m, 6H).

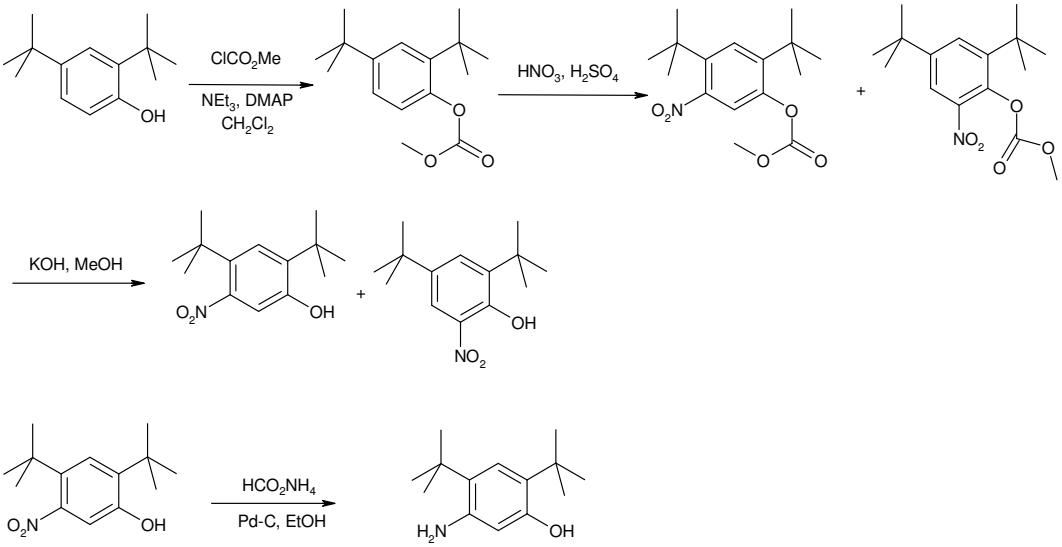
Etapa 2: Éster etílico de ácido 4-hidroxiquinolin-3-carboxílico

Se cargó un matraz de 1 l de tres bocas equipado con un agitador mecánico con éster dietílico de ácido 2-fenilaminometilen-malónico (26,3 g, 0,100 mol), ácido polifosfórico (270 g) y cloruro de fosforilo (750 g). La mezcla se calentó a 70 °C y se agitó durante 4 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El residuo se trató con solución acuosa de Na_2CO_3, se filtró, se lavó con agua y se secó. El éster etílico de ácido 4-hidroxiquinolin-3-carboxílico se obtuvo como un sólido marrón claro (15,2 g, 70 %). El producto bruto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 3: Ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico

El éster etílico de ácido 4-hidroxiquinolina-3-carboxílico (15 g, 69 mmol) se suspendió en solución de hidróxido de sodio (2N, 150 ml) y se agitó durante 2 horas a reflujo. Después de enfriar, la mezcla se filtró, y el filtrado se acidificó hasta un pH de 4 con HCl 2N. El precipitado resultante se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó al vacío para proporcionar el ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolin-3-carboxílico como un sólido blanco claro (10,5 g, 92 %). ^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 15,34 (s, 1 H), 13,42 (s, 1 H), 8,89 (s, 1H), 8,28 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,60 (m, 1H).

Parte B: Síntesis de N-(2,4-di-*terc*-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida



Etapa 1: 2,4-di-*terc*-butil-fenil éster metil éster de ácido carbónico

Se agregó cloroformato de metilo (58 ml, 750 mmol) por goteo a una solución de 2,4-di-*terc*-butil-fenol (103,2 g, 500 mmol), Et_3N (139 ml, 1000 mmol) y DMAP (3,05 g, 25 mmol) en diclorometano (400 ml) enfriado en un baño de agua helada a 0 °C. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente mientras se agitaba durante la noche, luego se filtró a través de gel de sílice (aprox. 1 L) usando 10 % de acetato de etilo - hexanos (~ 4 l) como el eluyente. Los filtrados combinados se concentraron para producir 2,4-di-*terc*-butil-fenil éster metil éster de ácido carbónico como un aceite amarillo (132 g, cuant.). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,35 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,5, 2,4 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H).

Etapa 2: 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenil éster metil éster de ácido carbónico y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenil éster metil éster de ácido carbónico

A una mezcla en agitación de 2,4-di-*terc*-butil-fenil éster metil éster de ácido carbónico (4,76 g, 180 mmol) en ácido sulfúrico conc. (2 mL), enfriado en un baño de agua helada,

se agregó una mezcla enfriada de ácido sulfúrico (2 mL) y ácido nítrico (2 mL). La adición se realizó lentamente para que la temperatura de reacción no superase los 50 °C. La reacción se dejó agitar durante 2 horas mientras se calentaba hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agregó entonces al agua helada y se extrajo en éter dietílico. La capa de éter se secó ($MgSO_4$), se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (0 - 10 % de acetato de etilo -hexanos) para producir una mezcla de 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenil éster metil éster de ácido carbónico y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenil éster metil éster de ácido carbónico como un sólido amarillo claro (4,28 g), que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa 3: 2,4-Di-*terc*-butil-5-nitro-fenol y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenol

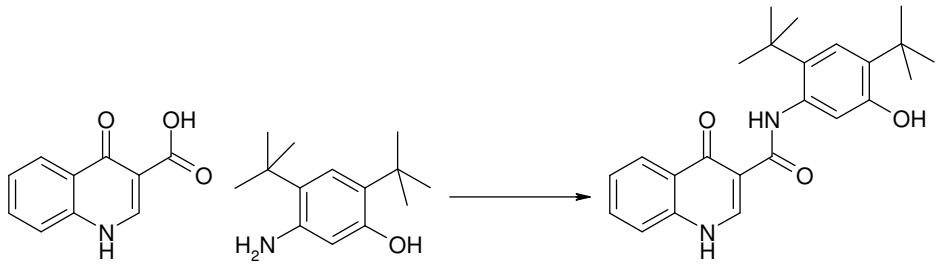
La mezcla de 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenil éster metil éster de ácido carbónico y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenil éster metil éster de ácido carbónico (4,2 g, 14,0 mmol) se disolvió en MeOH (65 mL) antes de agregar KOH (2,0 g, 36 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Entonces, la mezcla de reacción se acidificó (pH 2-3) mediante la adición de conc. HCl y dividió entre agua y éter dietílico. La capa de éter se secó ($MgSO_4$), se concentró y se purificó mediante cromatografía de columna (0 – 5 % de acetato de etilo – hexanos) para proporcionar 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenol (1,31 g, 29 % en 2 etapas) y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenol. 2,4-Di-*terc*-butil-5-nitro-fenol**:** ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 10,14 (s, 1H, OH), 7,34 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,30 (s, 9H). 2,4-Di-*terc*-butil-6-nitro-fenol: ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 11,48 (s, 1H), 7,98 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,34 (s, 9H).

Etapa 4: 5-Amino-2,4-di-*terc*-butil-fenol

A una solución a reflujo de 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenol (1,86 g, 7,40 mmol) y formato de amonio (1,86 g) en etanol (75 ml) se agregó Pd-5 % en peso en carbono activado (900 mg). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 2 h, se enfrió a temperatura

ambiente y se filtró a través de Celite. La Celite se lavó con metanol y los filtrados combinados se concentraron para producir 5-amino-2,4-di-*terc*-butil-fenol como un sólido gris (1,66 g, cuant.). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,64 (s, 1H, OH), 6,84 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,39 (s, 2H, NH_2), 1,27 (m, 18H); tiempo de ret. HPLC 2,72 min, 10-99 % CH_3CN, 5 min de ejecución; ESI-MS 222,4 m/z $[M+H]^+$.

Etapa 5: N-(5-hidroxi-2,4-di-*terc*-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida



A una suspensión de ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolin-3-carboxílico (35,5 g, 188 mmol) y HBTU (85,7 g, 226 mmol) en DMF (280 mL) se agregó Et_3N (63,0 mL, 451 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se volvió homogénea y se dejó agitar durante 10 minutos antes de agregar 5-amino-2,4-di-*terc*-butil-fenol (50,0 g, 226 mmol) en partes pequeñas. La mezcla se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se volvió heterogénea en el curso de la reacción. Después de que se consumió todo el ácido (análisis LC-MS, MH+ 190, 1,71 min), el solvente se retiró *al vacío*. Se agregó EtOH al material sólido anaranjado para producir una suspensión. La mezcla se agitó en un rotovaporizador (temperatura del baño 65 °C) durante 15 minutos sin colocar el sistema al vacío. La mezcla se filtró y el sólido capturado se lavó con hexanos para proporcionar un sólido blanco que era el cristalizado de EtOH. Se agregó Et_2O al sólido obtenido anteriormente hasta que se formó una suspensión. La mezcla se agitó en un rotovaporizador (temperatura del baño 25 °C) durante 15 minutos sin colocar el sistema al vacío. La mezcla se filtró y el sólido se capturó. Este procedimiento se realizó un total de cinco veces. El sólido obtenido después de la quinta precipitación se colocó al vacío

durante la noche para proporcionar N-(5-hidroxi-2,4-di-*terc*-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida como un sólido blanco en polvo (38 g, 52 %). Tiempo de ret. HPLC 3,45 min, 10-99 % de CH_3CN, 5 min de ejecución; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12,88 (s, 1H), 11,83 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,33 (dd, J = 8,2, 1,0 Hz, 1H), 7,83-7,79 (m, 1H), 7,76 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,54-7,50 (m, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,37 (s, 9H); ESI-MS m/z calc. 392,21; hallado 393,3 $[M+H]^+$.

Ejemplo 4: Síntesis de N-(2-(terc-butil)-4-(terc-butil-d,)-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto III-d)

Etapa 1. 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenol

A una solución de 4-terc-butil fenol (3,43 g, 22,7 mmol) y alcohol terc-butílico-d10 (3,00 mL, 31,8 mmol, 98 % átomo D, Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) en diclorometano (40,0 mL) se agregó D_2SO_4 (1,50 mL, 99,5 % átomo D, Sigma-Aldrich). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas, luego se diluyó con agua y se extrajo con diclorometano (3x100 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con $NaHCO_3$ saturado, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite resultante se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, 0-15 % de acetato de etilo/heptanos) para proporcionar 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenol (4,04 g, 83 % de rendimiento) como un aceite transparente. ^{1}HNMR (d_6-DMSO, 400MHz) δ 9,04 (s, 1H), 7,12 (d, *J=2,4* Hz, 1H), 6,98 (dd, J=3,8, 2,5 Hz, 1H), 6,67 (d, J=8,3 Hz, 0,3H), 1,22 (s, 10H).

Etapa 2: 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenil metil carbonato

A una solución de 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenol (4,04 g, 18,8 mmol), trietilamina (5,24 mL, 37,6 mmol) y N,N-dimetilaminopiridina (115 mg, 0,940 mmol) en CH_2Cl_2 (40,0 mL) a 0 ºC, se agregó cloroformiato de metilo (2,17 ml, 28,2 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas y se agregó trimetilamina (1,30 ml, 9,33 mmol) y cloroformato de metilo (0,550 ml, 7,15 mmol) adicionales. Después de agitar durante

1 hora adicional, la reacción se diluyó con 10 % de acetato de etilo/heptanos y se filtró a través de un tapón de sílice. El tapón de sílice se enjuagó luego con 10 % de acetato de etilo/heptanos adicional. El filtrado se combinó y se concentró al vacío para proporcionar 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenil metil carbonato (4,69 g, 91 % de rendimiento) como un aceite amarillo claro que se llevó adelante sin purificación. ^{1}H NMR (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 7,33 (d, *J=2,4* Hz, 1H), 7,30-7,20 (m, 1H), 7,06 (d, J=8,5 Hz, 0,3H), 3,84 (d, *J=0,7* Hz, 3H), 1,28 (s, 9H).

Etapa 3: 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-5-nitro-fenol

A una solución de 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenil metil carbonato (4,69 g, 17,2 mmol) en ácido sulfúrico (2,00 mL) a 0 ºC se agregó una mezcla 1:1 de ácido sulfúrico y ácido nítrico (4,00 mL) por goteo. La reacción luego se agitó a temperatura ambiente durante dos horas y luego se agregó lentamente al agua helada con agitación vigorosa. La suspensión resultante se extrajo con acetato de etilo (3x100 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron para proporcionar un aceite de ámbar que contiene una mezcla de regioisómeros. Este aceite bruto se tomó después en MeOH (100 ml) y se agregó KOH (3,50 g). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se acidificó a pH=2 con HCl concentrado. La solución resultante se extrajo con éter dietílico (3x100 ml), se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró. El residuo se purificó luego mediante cromatografía en columna (SiO_2, 0-5 % de acetato de etilo/heptanos) para proporcionar el 2-(terc-Butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-5-nitro-fenol (1,33 g, 30 %) como un sólido amarillo claro. MS (ESI) 260,2 [$(M-H)^-$].

Etapa 4: 5-amino-2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-fenol

Una solución de 2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-d-5-nitro-fenol (1,33 g, 5,11 mmol) y formiato de amonio (1,29 g, 20,4 mmol) en etanol (60,0 mL) se calentó hasta reflujo. En este momento, se agregó 10 % de Pd/C (650 mg, 50 % de humedad) en partes pequeñas y la reacción continuó agitándose a reflujo durante dos horas. La reacción se

enfrió luego hasta temperatura ambiente, se diluyó con THF, se filtró a través de Celite® y se concentró al vacío para proporcionar 5-amino-2-(terc-butil-d9)-4-(terc-butil)-6-d-fenol (1,19 g, 100 %) como un sólido rosado. MS (ESI) 232,3 [$(M+H)^+$].

Etapa 5: 5-amino-2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-fenol

Se disolvió 5-amino-2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-6-dfenol (298 mg, 1,29 mmol) en HCl 5M en 2-propanol (20 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La reacción se concentró después al vacío y se recuperó en HCl 5M en 2-propanol (20 ml). Después de agitar durante 15 horas adicionales a temperatura ambiente, la reacción se concentró al vacío y se diluyó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (100 ml). La solución acuosa resultante se extrajo con diclorometano (3x50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar 5-Amino-2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-fenol (240 mg, 81 %) como un sólido rosado. ^{1}H NMR (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 8,62 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 1,27 (s, 9H).

Etapa 6: N-(2-(terc-butil)-4-(terc-butil-d_9)-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto III-d)

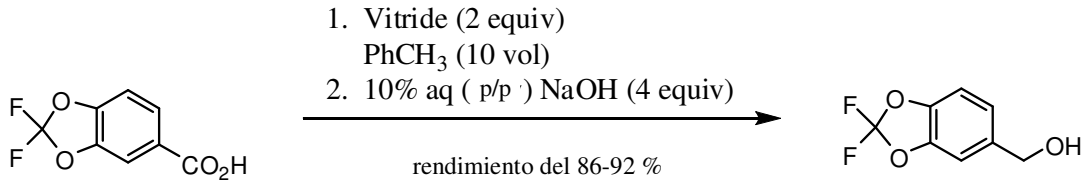
A una solución de 5-amino-2-(terc-butil-d_9)-4-(terc-butil)-fenol (240 mg, 1,04 mmol), ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (adquirido de Matrix Scientific, 99 mg, 0,521 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (181 µl, 1,04 mmol) en DMF (6.00 ml) se agregó HATU (198 mg, 0.521 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante tres horas y luego se diluyó con $NaHCO_3$ saturado y se extrajo con acetato de etilo (3x50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (3x20 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, 0,70 % de acetato de etilo/heptanos) para proporcionar N-(2-(terc-butil)-4-(terc-butil-d_9)-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto **III-d**) (80 mg, 38 % de rendimiento) como un sólido blanco.

^{1}H NMR (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 12,88 (s, 1H), 11,81 (s, 1H), 9,19 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,32 (dd, J=8,1, 1,4 Hz, 1H), 7,86-7,77 (m, 1H), 7,75 (d, J=8,2 Hz, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,09 (s, 1H) 1,37 (s, 9H); MS (ESI) 402,3 [$(M+H)^+$].

Ejemplo 5: Síntesis del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Compuesto IV)

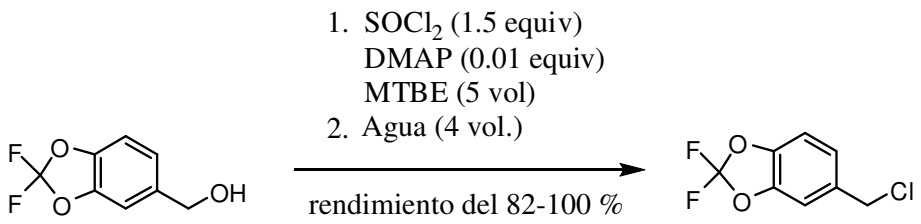
Se adquirió Vitride® (hidruro bis(2-metoxietoxi)aluminio de sodio [o $NaAlH_2(OCH_2CH_2OCH_3)_2$], 65 % en peso de solución en tolueno) de Aldrich Chemicals. El ácido 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxílico se adquirió de Saltigo (una filial de Lanxess Corporation).

Etapa 1: (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol



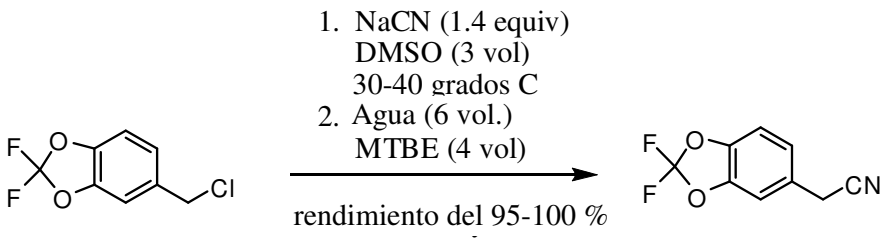
El ácido 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxílico disponible comercialmente (1,0 eq) se suspendió en tolueno (10 vol). Se añadió Vitride® (2 eq) mediante embudo de adición a una velocidad para mantener la temperatura a 15-25 °C. Al final de la adición, la temperatura aumentó a 40 °C durante 2 horas (h), luego se agregó cuidadosamente 10 % (p/p) de NaOH acuoso (aq) (4,0 eq) mediante embudo de adición, manteniendo la temperatura a 40-50 °C. Después de agitar durante 30 minutos (min) adicionales, las capas se dejaron separar a 40 °C. La fase orgánica se enfrió a 20 °C, luego se lavó con agua (2 x 1,5 vol), se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró para proporcionar (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol bruto que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa 2: 5-Clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol



Se disolvió (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol (1,0 eq) en MTBE (5 vol). Se agregó una cantidad catalítica de 4-(N,N-dimetil)aminopiridina (DMAP) (1 mol %) y se agregó $SOCl_2$ (1,2 eq) mediante embudo de adición. El $SOCl_2$ se agregó a una velocidad para mantener la temperatura en el reactor a 15-25 °C. La temperatura aumentó a 30 °C durante 1 h, y luego se enfrió a 20 °C. Se agregó agua (4 vol.) mediante embudo de adición mientras se mantenía la temperatura a menos de 30 °C. Después de agitar durante 30 min. adicionales, las capas se dejaron separar. La capa orgánica se agitó y se agregó 10 % (p/v) de NaOH acuoso (4,4 vol). Después de agitar durante 15 a 20 minutos, las capas se dejaron separar. La fase orgánica se secó después (Na_2SO_4), se filtró y se concentró para proporcionar 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol bruto que se usó directamente en la siguiente etapa.

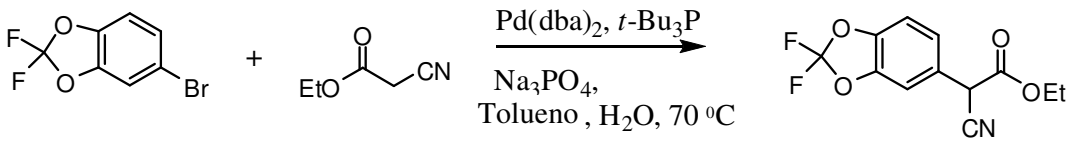
Etapa 3: (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo



Se agregó una solución de 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (1 eq) en DMSO (1,25 vol) a una suspensión de NaCN (1,4 eq) en DMSO (3 vol), mientras se mantiene la temperatura entre 30-40 °C. La mezcla se agitó durante 1 h, y luego se agregó agua (6 vol), seguido de metil *terc*-butil éter (MTBE) (4 vol). Después de agitar durante 30

min., las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con MTBE (1,8 vol). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1,8 vol), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron para proporcionar (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo bruto (95 %) que se usó directamente en la siguiente etapa. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,44 (br s, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,22 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 4,07 (s, 2H).

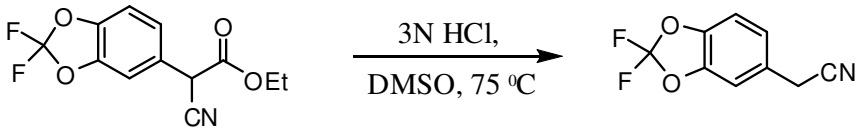
Etapa 3b: Síntesis alternativa de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrilo



Se purgó un reactor con nitrógeno y se cargó con tolueno (900 ml). El disolvente se desgasificó mediante burbujeo con nitrógeno durante no menos de 16 horas. Se cargó entonces al reactor Na_3PO_4 (155,7 g, 949,5 mmol), seguido de bis(dibencilideneacetona) paladio (0) (7,28 g, 12,66 mmol). Se cargó una solución al 10 % p/p de *terc*-butilfosfina en hexanos (51,23 g, 25,32 mmol) durante 10 minutos a 23 °C a partir de un embudo de adición purgado con nitrógeno. La mezcla se dejó agitar durante 50 minutos, en cuyo momento se agregó 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (75 g, 316,5 mmol) durante 1 minuto. Después de agitar durante 50 minutos adicionales, la mezcla se cargó con cianoacetato etílico (71,6 g, 633,0 mmol) durante 5 minutos, seguido de agua (4,5 ml) en una parte. La mezcla se calentó a 70 °C durante 40 minutos y se analizó mediante HPLC cada 1 a 2 horas para el porcentaje de conversión del reactivo al producto. Después de que se observó la conversión completa (normalmente 100 % de conversión después de 5 a 8 horas), la mezcla se enfrió a 20 a 25 °C y se filtró a través de una almohadilla de celite. La almohadilla de celite se enjuagó con tolueno (2 X 450 ml), y las orgánicas combinadas se concentraron en 300 ml al vacío a 60 a 65 °C. El concentrado se cargó con DMSO (225mL) y se concentró al vacío a 70 a 80 °C hasta que cesó la

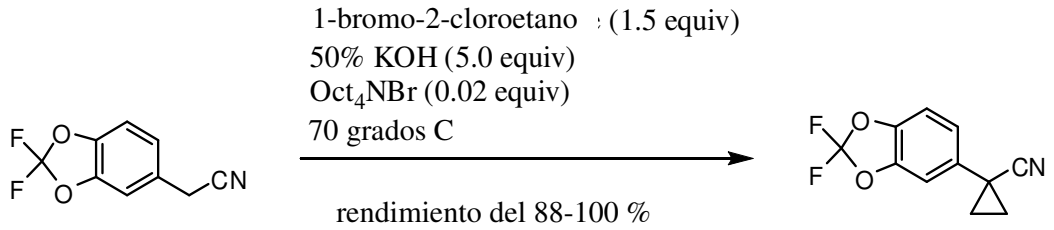
destilación activa del disolvente. La solución se enfrió a 20 a 25 °C y se diluyó a 900 ml con DMSO en preparación para la Etapa 3c. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,16 – 7,10 (m, 2H), 7,03 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,63 (s, 1H), 4,19 (m, 2H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

Etapa 3c: Síntesis alternativa de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo



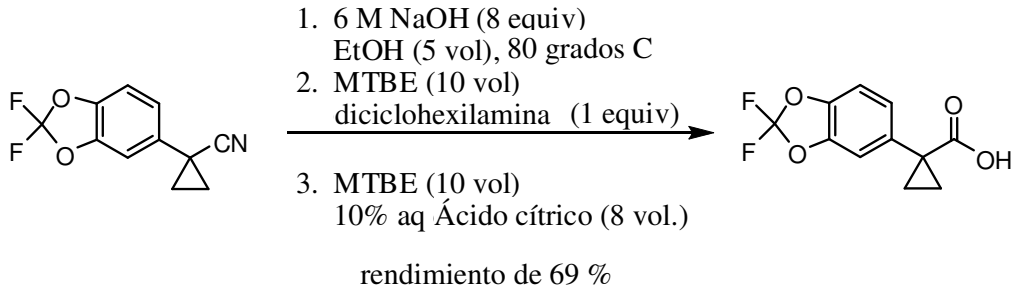
La solución DMSO de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrilo anterior se cargó con HCl 3 N (617,3 ml, 1,85 mol) durante 20 minutos mientras se mantenía una temperatura interna inferior a 40 °C. La mezcla se calentó entonces a 75 °C durante 1 hora y se analizó mediante HPLC cada 1 a 2 horas para la conversión porcentual. Cuando se observó una conversión mayor del 99 % (normalmente después de 5 a 6 horas), la reacción se enfrió a 20 a 25 °C y se extrajo con MTBE (2 X 525 ml), con tiempo suficiente para permitir la separación de fase completa durante las extracciones. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 5 % de NaCl (2 x 375 ml). La solución se transfirió luego al equipo adecuado para una destilación al vacío de 1,5 a 2,5 Torr que estaba equipado con un matraz receptor enfriado. La solución se concentró al vacío a menos de 60 °C para retirar los disolventes. Entonces se destilo (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo a partir del aceite resultante a 125 a 130 °C (temperatura del horno) y 1,5 a 2,0 Torr. Se aisló (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo como un aceite transparente en un rendimiento del 66 % de 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (2 etapas) y con una pureza de HPLC del 91,5 % de AUC (corresponde a un ensayo de p/p del 95 %). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,44 (br s, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,22 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 4,07 (s, 2H).

Etapa 4: (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo



Una mezcla de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo (1,0 eq), 50 % en peso de KOH acuoso (5,0 eq) 1-bromo-2-cloroetano (1,5 eq) y Oct_4NBr (0,02 eq) se calentó a 70 ℃ durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió y luego se trató con MTBE y agua. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera. El disolvente se retiró para proporcionar (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo. 1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,43 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 7,30 (dd, J = 8,4, 1,9 Hz, 1H), 1,75 (m, 2H), 1,53 (m, 2H).

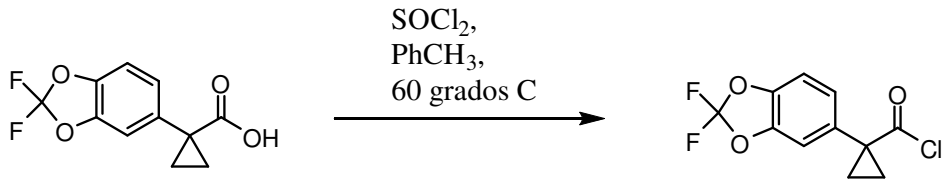
Etapa 5: Ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico



Se hidrolizó (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo usando de NaOH 6 M (8 equiv) en etanol (5 vol) a 80 ℃ durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el etanol se evaporó al vacío. El residuo se absorbió en agua y MTBE, se agregó HCl 1 M y las capas se separaron. La capa MTBE se trató después con diciclohexilamina (DCHA) (0,97 equiv). La suspensión se enfrió a 0 ℃, se filtró y se lavó con heptano para dar la sal DCHA correspondiente. La sal se llevó a MTBE y a 10 % de ácido cítrico y se agitó hasta que todos los sólidos se disolvieron. Las capas se separaron y la capa MTBE se lavó con agua y salmuera. Un intercambio de disolvente

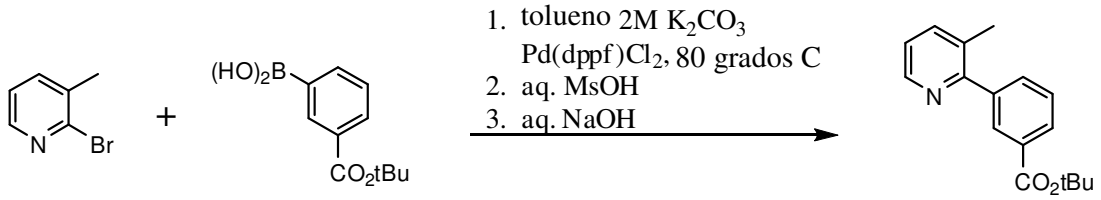
a heptano seguido de filtración proporcionó el ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico después de secarse en un horno de vacío a 50 °C durante la noche. ESI-MS m/z calc. 242,04, hallado 241,58 (M+1)+; 1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 12,40 (s, 1H), 7,40 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,17 (dd, J = 8,3, 1,7 Hz, 1H), 1,46 (m, 2H), 1,17 (m, 2H).

Etapa 6: Cloruro de 1-(2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonil



El ácido 1-(2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico (1,2 eq) se suspendió en tolueno (2,5 vol) y la mezcla se calentó a 60 °C. Se agregó $SOCl_2$ (1,4 eq) mediante embudo de adición. El tolueno y $SOCl_2$ se destilaron de la mezcla de reacción después de 30 minutos. Se agregó tolueno adicional (2,5 vol) y la mezcla resultante se destiló de nuevo, dejando el cloruro ácido del producto como un aceite, que se usó sin purificación adicional.

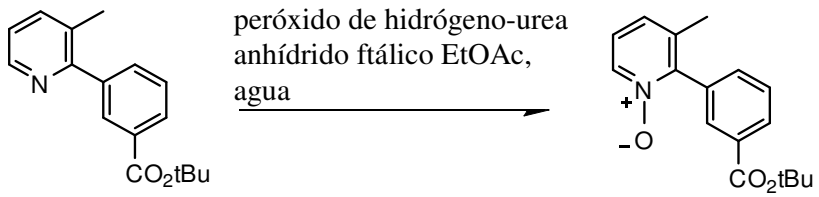
Step 7: terc-Butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato



Se disolvió 2-bromo-3-metilpiridina (1,0 eq) en tolueno (12 vol). Se agregó K_2CO_3 (4,8 eq), seguido de agua (3,5 vol). La mezcla resultante se calentó a 65 °C bajo una corriente de N_2 durante 1 hora. Luego se agregó ácido 3-(t-butoxicarbonil)fenilborónico (1,05 eq) y $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (0,015 eq) y la mezcla se calentó a 80 °C. Después de 2 horas, se apagó el calentamiento, se agregó agua (3,5 vol), y las capas se dejaron

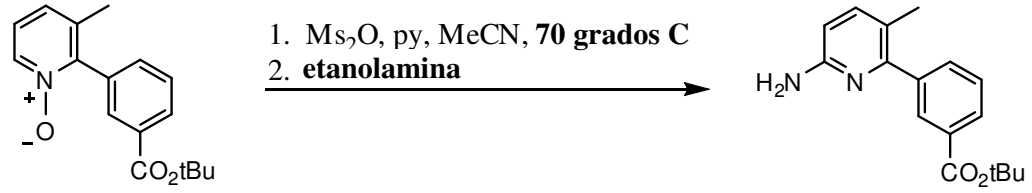
separar. La fase orgánica se lavó luego con agua (3,5 vol) y se extrajo con 10 % de ácido metanosulfónico acuoso (2 eq de MsOH, 7,7 vol). La fase acuosa se volvió básica con 50 % de NaOH acuoso (2 eq) y se extrajo con EtOAc (8 vol). La capa orgánica se concentró para proporcionar terc-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato bruto (82 %) que se usó directamente en la siguiente etapa.

Etapa 8: 2-(3-(terc-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido



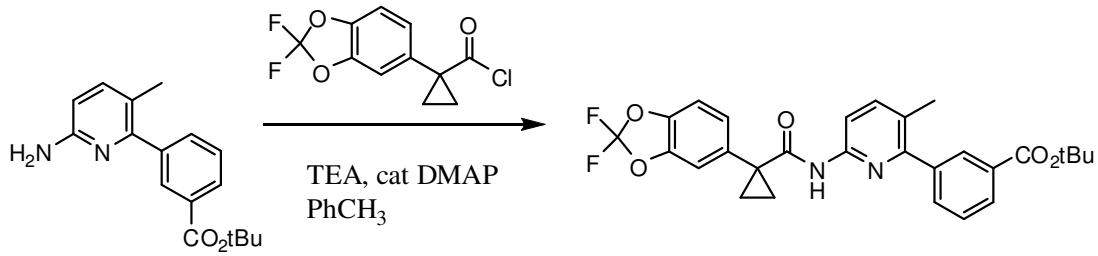
Se disolvió terc-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato (1,0 eq) en EtOAc (6 vol). Se agregó agua (0,3 vol) seguido de peróxido de urea-hidrógeno (3 eq). Luego se agregó anhídrido ftálico (3 eq) a partes a la mezcla como un sólido a una velocidad para mantener la temperatura en el reactor por debajo de 45 °C. Después de completar la adición de anhídrido ftálico, la mezcla se calentó a 45 °C. Después de agitar durante 4 horas adicionales, se apagó la calefacción. Se agregó 10 % p/p de Na_2SO_3 acuoso (1,5 eq) mediante un embudo de adición. Después de completar la adición de Na_2SO_3, la mezcla se agitó durante 30 min. adicionales y las capas se separaron. La capa orgánica se agitó y 10 % p/p acuoso. Na_2CO_3 (2 eq) se agregó. Después de agitar durante 30 minutos, las capas se dejaron separar. La fase orgánica se lavó con 13 % p/v de NaCl aq. Entonces, la fase orgánica se filtró y concentró para proporcionar 2-(3-(terc-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido crudo (95 %) que se usó directamente en la siguiente etapa.

Step 9: terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato



Se calentó una solución de 2-(3-(terc-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido (1 eq) y piridina (4 eq) en acetonitrilo (8 vol) a 70 °C. Se agregó una solución de anhídrido metanosulfónico (1,5 eq) en MeCN (2 vol) durante 50 min mediante embudo de adición mientras se mantiene la temperatura a menos de 75 °C. La mezcla se agitó durante 0,5 horas adicionales después de la adición completa. Luego se dejó enfriar la mezcla a temperatura ambiente. Se agregó etanolamina (10 eq) mediante embudo de adición. Después de agitar durante 2 horas, se agregó agua (6 vol.) y la mezcla se enfrió a 10 °C. Después de agitar durante 3 horas, el sólido se recogió mediante filtración y se lavó con agua (3 vol), 2:1 acetonitrilo/agua (3 vol) y acetonitrilo (2 x 1,5 vol). El sólido se secó a un peso constante (< 1 % de diferencia) en un horno de vacío a 50 °C con una ligera purga con N_2 para proporcionar terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato como un sólido rojo-amarillo (rendimiento del 53 %).

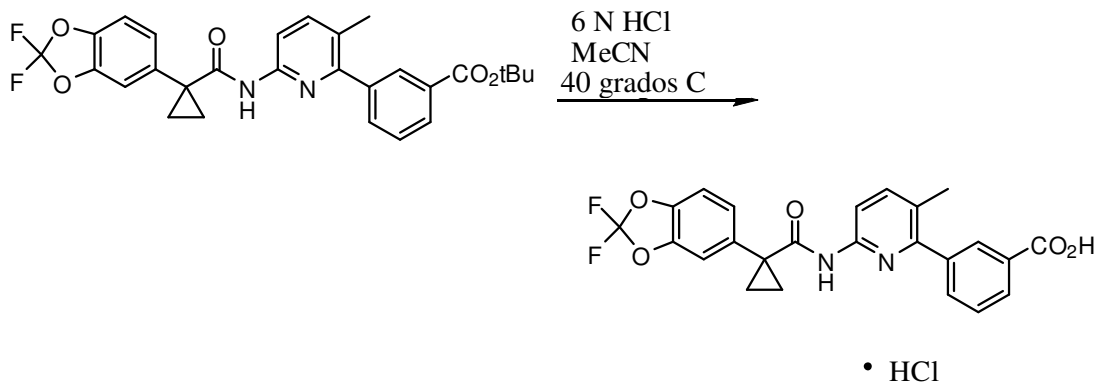
Etapa 10: 3-(6-(1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato



El cloruro de ácido bruto descrito anteriormente se disolvió en tolueno (2,5 vol en base a cloruro de ácido) y se agregó mediante embudo de adición a una mezcla de terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridina-2-il)benzoato (1 eq), DMAP, (0,02 eq) y trietilamina (3,0 eq)

en tolueno (4 vol en base a terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato). Después de 2 horas, se agregó agua (4 vol. en base a terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato) a la mezcla de reacción. Después de agitar durante 30 minutos, las capas se separaron. Entonces, la fase orgánica se filtró y concentró para proporcionar un aceite espeso de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (rendimiento bruto cuantitativo). Se agregó y destiló acetonitrilo (3 vol en base al producto bruto) hasta que se produce la cristalización. Se agregó agua (2 vol. en base al producto bruto) y la mezcla se agitó durante 2 h. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con 1:1 (por volumen) acetonitrilo/agua (2 x 1 volúmenes en base al producto bruto) y se secó parcialmente en el filtro al vacío. El sólido se secó a un peso constante (< 1 % de diferencia) en un horno de vacío a 60 °C con una ligera purga con N_2 para proporcionar 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato como un sólido marrón.

Etapa 11: Ácido 3-(6-(1-(2,2-Difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • sal HCl



A una suspensión de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) en MeCN (3,0 vol) se agregó agua (0,83 vol) seguido de HCl acuoso concentrado (0,83 vol). La mezcla se

calentó a 45 ± 5 °C. Después de agitar durante 24 a 48 h, la reacción se completó y la mezcla se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Se agregó agua (1,33 vol.) y la mezcla se agitó. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con agua (2 x 0,3 vol) y se secó parcialmente en el filtro al vacío. El sólido se secó a un peso constante (< 1 % de diferencia) en un horno de vacío a 60 °C con una ligera purga con N_2 para proporcionar ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • HCl como un sólido blancuzco.

Tabla 7: Datos físicos para el Compuesto IV

Compuesto	LC/MS M + 1	LC/RT minutos	NMR
Compuesto **IV**	453,3	1,93	^{1}HNMR (400 MHz, DMSO-d6) 9,14 (s, 1H), 7,99-7,93 (m, 3H), 7,80-7,78 (m,1H), 7,74-7,72 (m,1H), 7,60-7,55 (m,2H), 7,41-7,33 (m,2H), 2,24 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,19-1,17 (m, 2H).

Ejemplo 6. Preparación de un comprimido que contiene 5 mg del Compuesto I

La celulosa microcristalina se pasa a través de un tamiz de acero inoxidable (malla 30) y se cargan 210,1 g en un recipiente Bohle de 10 l. El compuesto **I** se pasa a través de un tamiz de acero inoxidable (malla 30) y se cargan 210,0 g en el recipiente Bohle de 10 l. El recipiente está sellado y los componentes se mezclan durante 2 min a una velocidad de 32 RPM para producir una mezcla de celulosa microcristalina/Compuesto **I**. La mezcla de celulosa microcristalina/Compuesto **I** se descarga en un contenedor de acero inoxidable. Los siguientes materiales se tamizan a través de un tamiz de malla 30 de acero inoxidable y se agrega al recipiente Bohle de 10 l en este orden: lactosa (aproximadamente la mitad de 1022,2 g), celulosa microcristalina (aproximadamente la mitad de 812 g), mezcla de celulosa microcristalina/Compuesto **I**, polivinilpirrolidona/acetato de vinilo (210,1 g), croscarmelosa sódica (133 g), celulosa

microcristalina (la mitad restante de la cantidad de 812 g), y lactosa (la mitad restante de la cantidad de 1022,2 g). El recipiente está sellado y los componentes se mezclan durante 18,5 min a una velocidad de 32 RPM. El estearilfumarato de sodio pruv® pasa a través de una malla 60 de acero inoxidable y se cargan 53,1 g en el recipiente Bohle. El recipiente está sellado y los componentes se mezclan durante 4 min a una velocidad de 32 RPM. El recipiente se somete a pruebas de homogeneidad. La mezcla se agrega a una prensa de comprimidos Piccola y se comprime en comprimidos con un peso de 67,0 mg.

Tabla 8: Composición del comprimido del Compuesto I

Componente	**% p/p comprimido (aprox.)**	**Cantidad de comprimidos (aprox.)**
Compuesto **I** (sal de Ca)	8	5 mg
Celulosa microcristalina (premezcla)	8	5 mg
polivinilpirrolidona/acetato de vinilo	8	5 mg
Celulosa microcristalina (mezcla de tabletas)	31	21 mg
Monohidrato de lactosa	38	26 mg
Croscarmelosa sódica	5	3 mg
Estearil fumarato de sodio pruv®	2	1 mg

Ejemplo 7. Ensayo de bioactividad

Soluciones

El medio básico (ADF+++) consistió en DMEM avanzado/F12 de Ham, Glutamax 2 mM, HEPES 10 mM, 1 µg/ml de penicilina/estreptomicina.

El medio de mantenimiento intestinal de tipo enteroide (IEMM, por su sigla en inglés) consistió en ADF+++, 1x complemento B27, 1x complemento N2, N-acetil cisteína 1,25 mM, nicotinamida 10 mM, 50 ng/mL de hEGF, gastrina 10 nM, 1 µg/mL de hR-espondina-1, 100 ng/mL de hNoggin, inhibidor del TGF-b de tipo 1 A-83-01, 100 µg/mL de primocina, inhibidor de MAPK P38 SB202190 10 µM.

El amortiguador de baño 1 consistió en $MgCl_2$ 1 mM, NaCl 160 mM, KCl 4,5 mM, HEPES 10 mM, glucosa 10 mM, $CaCl_2$ 2 mM.

El amortiguador libre de cloruro consistió en gluconato de magnesio 1 mM, gluconato de calcio 2 mM, gluconato de potasio 4,5 mM, gluconato de sodio 160 mM, HEPES 10 mM, glucosa 10 mM.

La solución de tinción del baño 1 consistió en amortiguador de baño 1, 0,04 % de Pluronic F127, metil oxonol 20 µM, CaCCinh-A01 30 µM, azul Chicago Sky 30 µM.

La solución de tinción libre de cloruro consistió en amortiguador libre de cloruro, 0,04 % de Pluronic F127, metil oxonol 20 µM, CaCCinh-A01 30 µM, azul Chicago Sky 30 µM.

La solución de estimulación libre de cloruro consistió en solución de tinción libre de cloruro, forskolina 10 µM, IBMX 100 µM y Compuesto **III** 300 nM.

Cultivo celular

Se obtuvieron células de tipo enteroide epiteliales del intestino humano a través del Hubrecht Institute for Developmental Biology and Stem Cell Research [Instituto Hubrecht de Biología del Desarrollo e Investigación de Células Madre], Utrecht, Países Bajos, y se expandieron en matraces T como se describió previamente (Dekkers JF, Wiegerinck CL, de Jonge HR, Bronsveld I, Janssens HM, de Winter-de Groot KM, Brandsma AM, de Jong NWM, Bijvelds MJC, Scholte BJ, Nieuwenhuis EES, van den Brink S, Clevers

H, van der Ent CK, Middendorp S y M Beekman JM. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. Nat Med. julio de 2013;19(7):939-45.

Extracción de células de tipo enteroide e inoculación

Se recuperaron células en solución de recuperación celular, se recogieron mediante centrifugado a 650 rpm durante 5 min a 4 ºC, se volvieron a suspender en TryPLE y se incubaron durante 5 min a 37 ºC. Luego se recogieron las células mediante centrifugado a 650 rpm durante 5 min a 4 º C y se volvieron a suspender en IEMM con inhibidor ROCK (RI, por su sigla en inglés) 10 µM. Se pasó la suspensión celular a través de un colador celular de 40 µm y se volvió a suspender a 1x106 células/mL en IEMM con RI 10 µm. Se inocularon las células a 5000 células/pocillo en placas de pocillos múltiples y se incubaron durante la noche a 37 ºC, 95 % de humedad y 5 % de CO_2 antes del ensayo.

Ensayo de tinción del potencial de membrana

Se incubaron las células de tipo enteroide con compuesto de prueba en IEMM durante 18-24 horas a 37 ºC, 95 % de humedad y 5 % de CO_2. Tras las incubaciones del compuesto, se utilizó un ensayo de tinción del potencial de membrana con un FLIPR Tetra para medir directamente la potencia y eficacia del compuesto de prueba en el transporte de cloruro mediado por el CFTR tras la adición aguda de 10 µM de forskolina y 300 nM de Compuesto **III**. En resumen, se lavaron las células 5 veces en el amortiguador de baño 1. Se agregó la solución de tinción de baño 1 y se incubaron las células durante 25 min a temperatura ambiente. Tras la incubación con tinción, se lavaron las células 3 veces en solución de tinción libre de cloruro. El transporte de cloruro se inició mediante la adición de solución de estimulación de tinción libre de cloruro y se leyó la señal de fluorescencia durante 15 min. El transporte de cloruro mediado por CFTR de cada condición se determinó a partir de la AUC de la respuesta de fluorescencia a la estimulación aguda con forskolina y la estimulación de 300 nM del

Compuesto **III**. El transporte de cloruro se expresó luego como un porcentaje del transporte de cloruro después del tratamiento con 3 μM del Compuesto **I** , 3 μM del Compuesto **II** y el control de triple combinación agudo de 300 nM del Compuesto **III** (% de actividad).

Lo que sigue a continuación representa los datos de la Tabla 9:

La actividad máxima: +++ es >60 %; ++ es 30-60 %; + es <30 %. EC50: +++ es <1 μM; ++ es 1-3 μM; + es >3 μM; y ND es "no determinado".

Tabla 9: Datos de ensayo para el Compuesto I

Molécula	**Máx. Actividad**	**EC50**
Compuesto **I**	+++	+++

Ejemplo 8.

El Compuesto I aumenta el transporte de cloruro solo y en combinación con el Compuesto II y/o el Compuesto III en F508del/F508del HBE y F508del/MF HBE

Se realizaron estudios de cámara de uso para medir el transporte de cloruro mediado por F508del CFTR en células HBE derivadas de 3 donantes homocigotos F508del y 5 donantes F508del/MF (G542X, 3 donantes; E585X, 1 donante; 3905InsT, 1 donante). Como un control positivo, las concentraciones máximas eficaces de N-(bencenosulfonol)-6-[3-[2-[1-(trifluorometil)ciclopropil]etoxi]pirazol-1-il]-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirrolidin-1-il]piridina-3-carboxamida (ver WO 2018/064632) y N-[(6-amino-2-piridil)sulfonil]-6-(3-fluoro-5-isobutoxi-fenil)-2-[(4S)-2,2,4-trimetilpirrolidin-1-il]piridina-3-carboxamida (ver WO 2016/057572) en combinación con el Compuesto **II**/Compuesto **III** se incluyeron en cada experimento.

En estas líneas celulares de FQ, el transporte de cloruro mediado por CFTR fue bajo en ausencia de moduladores de CFTR, lo que es coherente con la poca presencia o ausencia de CFTR en la superficie celular. El tratamiento con el Compuesto **I** solo durante 16 a 24 horas causó un aumento modesto en el transporte de cloruro en las células F508del/F508del HBE y en las células F508del/MF HBE. La combinación del Compuesto **I** y el Compuesto **II** aumentó adicionalmente el transporte de cloruro en comparación con el Compuesto **I** solo y fue similar al Compuesto **II**/Compuesto **III**. La adición del transporte de cloruro fuertemente potenciado del Compuesto **III** en la presencia del Compuesto **I** o en combinación con el Compuesto **I**/Compuesto **II**. Los análisis de sinergia mostraron que el efecto del Compuesto **I** era altamente sinérgico con una concentración fija del Compuesto **III** o Compuesto **II**/Compuesto **III** y fue modestamente sinérgico con una combinación fija del Compuesto **II**. En la mayoría de las concentraciones del Compuesto **I**, el Compuesto **I**/Compuesto **II**/Compuesto **III** aumentó el transporte de cloruro más que el Compuesto **I**/Compuesto **II** o el Compuesto **I**/Compuesto **III**. Sin embargo, la eficacia del Compuesto **I**/Compuesto **III** y el Compuesto **I**/Compuesto **II**/Compuesto **III** fue similar en sus valores de EC90 respectivos. Los valores de EC90 respectivos en condiciones que activan al máximo CFTR para el Compuesto **I**/Compuesto **III** y el Compuesto **I**/Compuesto **II**/Compuesto **III** fueron 0,848 µM y 0,152 µM en F508del/F508del HBE y 1,15 µM y 0,122 µM en F508del/MF HBE.

Después de una única administración oral del Compuesto **I** en animales machos, los valores t_{max} medios del Compuesto **I** fueron de 9 horas en ratas, 4 horas en perros y 3 horas en monos. La biodisponibilidad oral media (F) fue de baja a moderada en ratas (76,9 %), perros (49,7 %) y monos (12,9 %).

Parámetros farmacocinéticos del Compuesto I tras una única administración oral del Compuesto I en ratas, perros y monos machos

Especie	Dosis nominal (mg/kg)	$AUC_{0-\infty}$ (μg•h/ml)	$C_{máx}$ (μg/ml)	$t_{máx}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	F (%)
Rata	3	31,9 ± 11,1	1,10 ± 0,337	9,33 ± 2,31	22,6 ± 2,83	76,9
Perro	1	38,5 ± 4,70	2,44 ± 0,178	4,00 ± 0,00	11,1 ± 1,09	49,7
Mono	1	0,795 ± 0,233	0,102 ± 0,0132	3,33 ± 1,15	3,07 ± 1,16	12,9

Nota: Los datos se presentan como media ± SD (n = 3).

A medida que la dosis aumentó, la exposición sistémica del Compuesto **I** aumentó de una manera más que proporcional a la dosis en ratas y perros. La exposición normalizada a la dosis fue mayor en ratas hembra que en ratas macho. En perros, las exposiciones sistémicas al Compuesto **I** fueron similares en ambos sexos. Después de la administración oral repetida del Compuesto **I** durante 28 días en ratas y perros, se observó una acumulación de la exposición al Compuesto **I**. La exposición sistémica al Compuesto **I** el Día 28 fue mayor que el Día 1 (la relación AUC_{0-24h} del Día 28/Día 1 osciló entre 1,63 y 2,70 en ratas macho, 5,01 a 8,26 en ratas hembra, 1,73 a 2,64 en perros machos y 1,82 a 2,23 en perros hembra).

Ejemplo 9. Estudio de seguridad y eficacia del Compuesto I

Se realizó un análisis de seguridad de un estudio clínico en curso para 37 sujetos en las cohortes A1 a A5, 33 sujetos en la cohorte B y 17 sujetos en la cohorte C, que fueron

expuestos a al menos 1 dosis del fármaco del estudio (Compuesto **I** o placebo) como monoterapia y como parte de una triple combinación con el Compuesto **II** o el Compuesto **III**. El Compuesto **I** fue generalmente seguro y bien tolerado hasta una dosis de 60 mg qd en monoterapia y 20 mg qd en triple combinación con el Compuesto **II** y el Compuesto **III**.

Estudios de eficacia planificados

Este es un estudio en fase 2, de 3 partes, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo y TEZ/IVA, de prueba de concepto del Compuesto **I**. Las partes del estudio pueden realizarse en paralelo o secuencialmente. La aleatorización se estratificará por $ppFEV_1$.

Parte 1: Sujetos con genotipos F508*del*/MF

La Parte 1 evalúa el Compuesto **I** en triple combinación con el Compuesto **II** y el Compuesto **III-d** como se muestra en la Tabla a continuación.

El periodo de reposo farmacológico (18 ± 3 días) se incluye para permitir una evaluación más exhaustiva de las relaciones de exposición a respuesta del Compuesto **I** mediante la realización de evaluaciones de PK y PD durante el reposo farmacológico del Compuesto **I**.

<u>Dosis planificadas</u>

Las dosis planificadas del Compuesto **I** de 5 mg, 10 mg y 20 mg qd pueden ajustarse en función de los datos emergentes.

La dosis del Compuesto **II** será de 100 mg qd (una vez al día) y el Compuesto **III-d** será de 150 mg qd.

	Periodo de tratamiento (4 semanas)		Periodo de reposo farmacológico (18 ± 3 días)	
Periodo de examinación (4 semanas)	20 mg de TC (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d)	N = 18	Cpd II/Cpd III-d	Periodo de seguimiento de seguridad (4 semanas)
	10 mg de TC (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d)	N = 18		
	5 mg de TC (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d)	N = 9		
	Placebo triple	N = 9	Pbo doble	

Parte 2 (opcional): Sujetos con genotipo *F508*del/F508*del*

Se requiere que todos los sujetos completen el período de preinclusión del Compuesto **II**/Compuesto **III** para establecer un valor de referencia fiable durante el tratamiento (Cpd **II**/Cpd **III**). El periodo de reposo farmacológico de 4 semanas se incluye para evaluar el efecto sobre los criterios de valoración de la PD y la eficacia a medida que los sujetos pasan de la triple combinación a Cpd **II**/Cpd **III**, después del reposo farmacológico del Compuesto **I**.

<u>Dosis planificadas</u>

La Parte 2 evaluará la misma dosis del Compuesto **I** (20 mg qd) usada en la Parte 1. Esta dosis puede ajustarse a la baja en función de los datos emergentes de la Parte D del Estudio 001.

La dosis del Compuesto **II** será de 100 mg qd y del Compuesto **III-d** será de 150 mg qd. La dosis del Compuesto **II**/Compuesto **III** será 100 mg qd del Compuesto **II**/150 mg del Compuesto **III** cada 12 horas (q12h)

	Periodo de preinclusión (4 semanas)	Periodo de tratamiento (4 semanas)		Periodo de reposo farmacológico (4 semanas)	
Periodo de examinación (4 semanas)	Cpd II/Cpd III	20 mg de TC (Cpd I/Cpd II/Cpd III-d)	N = 18	Cpd II/Cpd III	Periodo de seguimiento de seguridad (4 semanas)
		Placebo + Cpd II/Cpd III	N = 9		

Parte 3 (opcional): Sujetos con genotipos F508*del*/MF

El periodo de reposo farmacológico (18 ± 3 días) se incluye para permitir una evaluación más exhaustiva de las relaciones de exposición a respuesta del Compuesto **I** mediante la realización de evaluaciones de PK y PD durante el reposo farmacológico del Compuesto **I**.

Dosis planificadas

La Parte 3 evaluará la misma dosis del Compuesto **I** (20 mg qd) usada en la Parte 1. Esta dosis puede ajustarse en función de los datos emergentes.

La dosis del Compuesto **II**/Compuesto **III** será 100 mg qd del Compuesto **II**/150 mg del Compuesto **III** cada 12 horas (q12h)

	Periodo de tratamiento (4 semanas)		Periodo de reposo farmacológico (18 ± 3 días)	
Periodo de examinación (4 semanas)	20 mg de TC (Cpd I/Cpd II/Cpd III)	N = 18	Cpd II/Cpd III	Periodo de seguimiento de seguridad (4 semanas)
	Placebo triple	N = 9	Pbo doble	

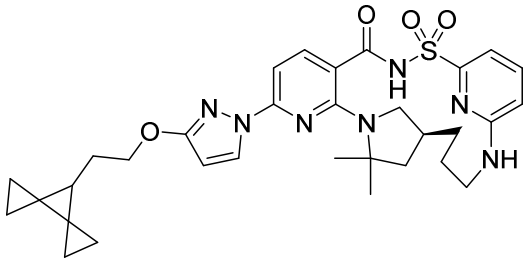
Otras modalidades

La discusión anterior divulga y describe modalidades meramente ilustrativas de esta descripción. Un experto en la técnica reconocerá fácilmente a partir de tal análisis y de las figuras y reivindicaciones adjuntas, que se pueden realizar diversos cambios, modificaciones y variaciones en esta sin apartarse del espíritu y alcance de esta descripción como se define en las siguientes reivindicaciones.

REINVINDICACIONES

1. Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar a un paciente que lo necesita:

(A) de 5 mg a 20 mg de al menos un compuesto elegido del Compuesto **I**

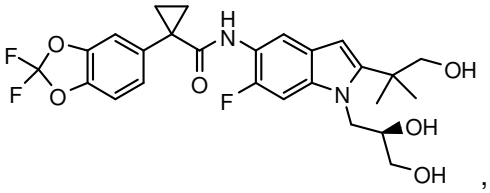


I

y sales farmacéuticamente aceptables de este diariamente; y

(B) al menos un compuesto elegido de:

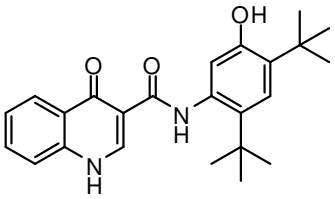
(i) Compuesto **II**:



,

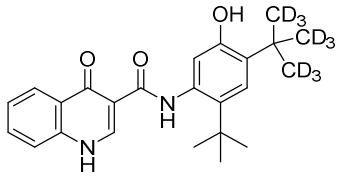
y sales farmacéuticamente aceptables de este, y

(ii) (a) Compuesto **III**:



y sales farmacéuticamente aceptables de este o

(b) Compuesto **III-d**:



y sales farmacéuticamente aceptables de este.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende administrar a dicho paciente:

(a) al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este;

(b) al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y

(c) al menos un compuesto elegido del (i) Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este, o (ii) Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende administrar a dicho paciente:

(a) al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este;

(b) al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y

(c) al menos un compuesto elegido del Compuesto **III** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende administrar a dicho paciente:

(a) al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este;

(b) al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y

(c) al menos un compuesto elegido del Compuesto **III-d** y sales farmacéuticamente aceptables de este.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administra en una única composición con el al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, el Compuesto **III**, **el** Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este, y el al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, el Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en una o más composiciones separadas.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde una primera composición farmacéutica comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con una segunda composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **II**, el Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde una primera composición farmacéutica comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con una segunda composición farmacéutica que comprende (a) al menos un compuesto elegido del Compuesto **II** y sales farmacéuticamente aceptables de este; y (b) al menos un

compuesto elegido del Compuesto **III**, el Compuesto **III-d**, y sales farmacéuticamente aceptables de este.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde una primera composición farmacéutica comprende al menos un compuesto elegido del Compuesto **I** y sales farmacéuticamente aceptables de este se administra en combinación con una segunda composición farmacéutica que comprende el Compuesto **II** y el Compuesto **III-d**.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende administrar una única composición que comprende el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este, el Compuesto **II y** el Compuesto **III-d**.

11. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra como una dosis única, una vez al día.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en dos dosis diarias.

14. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en una a cuatro dosis diarias.

15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde de 50 mg a 150 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde 50 mg del Compuesto **II** o o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra por dosis una vez al día o dos veces al día.

17. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde 100 mg del Compuesto **II** o o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

18. El método de acuerdo con la reivindicación 17, en donde 100 mg del Compuesto **II** o o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra como una única dosis, una vez al día.

19. El método de acuerdo con la reivindicación 17, en donde los 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en dos dosis diarias.

20. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en donde:

(a) de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente; o

(a) de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

21. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

22. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

23. El método de acuerdo con la reivindicación 20, en donde:

(a) de 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra dos veces al día; o

(b) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra diariamente.

24. El método de acuerdo con la reivindicación 20, en donde la cantidad diaria de 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en una, dos o tres dosis diarias.

25. El método de acuerdo con la reivindicación 20, en donde la cantidad diaria de 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este se administra en una, dos, tres o cuatro dosis.

26. Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesita:

(a) de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) de 50 mg a 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) (i)de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; o

(ii) de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

27. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) (i) 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sales farmacéuticamente aceptables de este; o

(ii) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

28. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 5 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

29. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 10 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

30. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sales farmacéuticamente aceptables de este.

31. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 5 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

32. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 10 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sales farmacéuticamente aceptable de este.

33. El método de la reivindicación 26, en donde el método comprende administrar:

(a) 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este;

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

34. Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesita:

(a) una primera composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) una segunda composición farmacéutica diaria que comprende

(i) de 50 a 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(ii) (1)de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este o (2) de 50 mg a 150 mg del

Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

35. El método de la reivindicación 34, en donde el método comprende:

(a) administrar diariamente a un paciente que lo necesita una primera composición farmacéutica que comprende 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) administrar diariamente al paciente una segunda composición farmacéutica que comprende (i) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y (ii) 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(c) administrar diariamente al paciente una tercera composición farmacéutica que comprende 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

36. El método de la reivindicación 34, en donde el método comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesite:

(a) una primera composición farmacéutica que comprende 5 mg, 10 mg o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) una segunda composición farmacéutica que comprende (i) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y (ii) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

37. Un método para tratar la fibrosis quística que comprende administrar diariamente a un paciente que lo necesita una primera composición farmacéutica que comprende

(a) de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este,

(b) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este, y

(c) 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

administrar posteriormente al paciente diariamente una segunda composición farmacéutica que comprende 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

38. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-37, en donde el paciente es heterocigoto para la mutación F508del CFTR.

39. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-37, en donde el paciente es homocigoto para la mutación F508del CFTR.

40. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde el método comprende administrar una sal farmacéuticamente aceptable del Compuesto **I**.

41. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-40, en donde el método comprende administrar el Compuesto **II**.

42. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 5-8, 11-21, 23, 25-30, 34, 35, y 37, en donde el método comprende administrar el Compuesto **III**.

43. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4-8, 11-20, 22-24, 26, 27, 31-34, y 36, en donde el método comprende administrar el Compuesto **III-d**.

44. Una composición farmacéutica que comprende de 5 mg a 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este, y que comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales.

45. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 que comprende además:

(a) de 50 a 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) (i)de 150 mg a 300 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este o

(ii) de 50 mg a 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

46. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 que comprende además:

(a) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) (i) 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este, o

(ii) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

47. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 que comprende además:

(a) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) 150 mg del Compuesto **III** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

48. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 que comprende además:

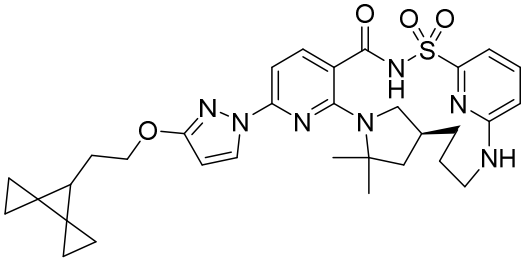
(a) 100 mg del Compuesto **II** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este; y

(b) 150 mg del Compuesto **III-d** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

49. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 44-48, en donde la composición comprende 5 mg, 10 mg, o 20 mg del Compuesto **I** o una cantidad equivalente de una sal farmacéuticamente aceptable de este.

RESUMEN

Esta solicitud describe métodos para tratar la fibrosis quística o una enfermedad mediada por CFTR que comprende administrar el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este.



I

La solicitud describe además composiciones farmacéuticas que comprenden el Compuesto **I** o una sal farmacéuticamente aceptable de este y que comprende opcionalmente uno o más agentes moduladores de CFTR adicionales.