



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112015009913-0 B1

(22) Data do Depósito: 01/11/2013

(45) Data de Concessão: 11/04/2023

(54) Título: COMPRIMIDO COMPREENDENDO COMPOSTO CRISTALINO E DISPERSÃO SÓLIDA DE COMPOSTO SUBSTANCIALMENTE AMORFO, SEU PROCESSO DE PREPARAÇÃO, KIT E MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE UM GRÂNULO COMPREENDENDO COMPOSTO CRISTALINO E DISPERSÃO SÓLIDA DE COMPOSTO SUBSTANCIALMENTE AMORFO

(51) Int.Cl.: A61K 9/20; A61K 45/06; A61K 31/443; A61K 31/47.

(30) Prioridade Unionista: 02/11/2012 US 61/721,622; 16/05/2013 US 61/824,005; 20/11/2012 US 61/728,328; 28/02/2013 US 61/770,668; 28/06/2013 US 61/840,668.

(73) Titular(es): VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED.

(72) Inventor(es): MARINUS JACOBUS VERWIJS; RADHIKA KARKARE; MICHAEL DOUGLAS MOORE.

(86) Pedido PCT: PCT US2013067952 de 01/11/2013

(87) Publicação PCT: WO 2014/071122 de 08/05/2014

(85) Data do Início da Fase Nacional: 30/04/2015

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS MEDIADAS POR CFTR A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzóico (Composto 1) na Forma I e uma dispersão sólida compreendendo N-(5-hidróxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida substancialmente amorfada (Composto 2), métodos para tratar, diminuir a severidade de, ou sintomaticamente tratar doenças mediadas por CFTR, tal como fibrose cística, métodos de fabricação, métodos de administração, e kits dos mesmos são divulgados.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
"COMPRIMIDO COMPREENDENDO COMPOSTO CRISTALINO E DISPERSÃO SÓLIDA DE COMPOSTO SUBSTANCIALMENTE AMORFO, SEU PROCESSO DE PREPARAÇÃO, KIT E MÉTODO DE PREPARAÇÃO DE UM GRÂNULO COMPREENDENDO COMPOSTO CRISTALINO E DISPERSÃO SÓLIDA DE COMPOSTO SUBSTANCIALMENTE AMORFO".

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS DE PATENTE RELACIONADOS

[001] Este pedido de patente reivindica prioridade ao Pedido de Patente Provisória U.S. Nos. de série: 61/721.622, depositado em 2 de novembro de 2012; 61/728.328, depositado em 20 de novembro de 2012; 61/770.668, depositado em 28 de fevereiro de 2013; 61/824.005, depositado em 16 de maio de 2013; e 61/840.668, depositado em 28 de junho de 2013, todo o conteúdo de todas as patentes é aqui incorporado por referência na sua totalidade.

CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

[002] A invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1) e a Forma I de uma dispersão sólida compreendendo N-(5-hidróxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida substancialmente amorfá (Composto 2), métodos de tratamento, métodos de fabricação, métodos de administração, e kits dos mesmos.

ANTECEDENTES

[003] A fibrose cística (FC) é uma doença genética recessiva que afeta cerca de 30.000 crianças e adultos nos Estados Unidos e cerca de 30 mil crianças e adultos na Europa. Apesar do progresso no tratamento de CF, não há cura.

[004] Em pacientes com FC, as mutações em CFTR endogenamente expresso no epitélio respiratório levam à redução da

secreção do ânion apical provocando um desequilíbrio no transporte fluido e iônico. A redução resultante no transporte de ânion contribui para o acúmulo de muco intenso no pulmão e as infecções microbianas de acompanhamento que, finalmente, causam a morte em pacientes com FC. Em adição à doença respiratória, os pacientes com FC tipicamente sofrem de problemas gastrointestinais e insuficiência pancreática que, se não forem tratados, resultam em morte. Além disso, a maioria dos homens com fibrose cística é infértil e a fertilidade é diminuída entre as mulheres com fibrose cística. Em contraste com os efeitos severos de duas cópias do gene associado à CF, indivíduos com uma única cópia do gene associado à CF exibem aumento da resistência à cólera e à desidratação resultante da diarreia -isto talvez explique a frequência relativamente elevada do gene CF dentro da população .

[005] A análise da sequência do gene CFTR de cromossomos CF revelou uma variedade de doenças causando mutações (Cutting, G.R. et al (1990) Nature 346: 366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61: 863: 870; e Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245: 1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 8447-8451). Até hoje, mais de 1000 doenças que causam mutações no gene CF foram identificadas (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>). A mutação mais predominante é uma deleção de fenilalanina na posição 508 da sequência de aminoácido CFTR, e é vulgarmente referida como ΔF508-CFTR. Esta mutação ocorre em aproximadamente 70% dos casos de fibrose cística e está associada com uma doença grave.

[006] A eliminação de resíduo 508 em ΔF508-CFTR impede a proteína nascente de dobrar corretamente. Isto resulta na incapacidade da proteína mutante para sair do ER, e o tráfego para a membrana plasmática. Como resultado, o número de canais presentes na membrana é muito menor do que o observado em células que

expressam CFTR do tipo selvagem. Além do tráfico prejudicado, a mutação resulta em porta de canal defectiva. Juntos, o reduzido número de canais na membrana e a porta defectiva levam à redução do transporte de ânions através de epitélios levando a defeitos de transporte de fluido e íons. (Quinton, P.M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Os estudos mostraram, no entanto, que os números reduzidos de ΔF508-CFTR na membrana são funcionais, ainda que menores do que CFTR de tipo selvagem. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Denning et al., supra; Pasik e Foskett (1995), J. Cell Biochem 270: 12347-50). Além de ΔF508-CFTR, outra doença que provoca mutações no gene CFTR que resulta do tráfico defectivo, síntese e/ou porta de canal pode ser regulada para cima ou para baixo para alterar a secreção do ânion e modificar a progressão e/ou a gravidade da doença.

[007] Composto 1 na forma de sal é divulgado na Publicação Internacional PCT WO2007056341 e Patente U.S. No. 7.741.321 como um indutor de atividade de CFTR e, assim, como um tratamento útil para doenças mediadas por CFTR, tal como a fibrose cística. Composto I de Forma I, que é uma forma substancialmente cristalina e isenta de sal, é divulgado na Publicação Internacional PCT WO2009073757 e Patente U.S. No. 8.507.534. O Composto 2 é divulgado na Publicação Internacional PCT WO2006002421 e Patente U.S. No. 7.495.103 como um indutor de atividade de CFTR e assim útil para tratamento de doenças mediadas por CFTR tal como a fibrose cística. Uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo é divulgada na Publicação Internacional PCT WO2010019239 e Pedido de Patente Publicado U.S. No. US20100074949. Todos os pedidos e patentes acima referidas são incorporados na sua totalidade por referência.

[008] Os compostos que são potenciadores de CFTR, tal como o

Composto 2, e compostos que são corretores de CFTR, tal como o Composto 1, foram demonstrados de forma independente como tendo utilidade no tratamento de doenças relacionadas a CFTR, tais como a fibrose cística.

[009] Consequentemente, existe uma necessidade de novos tratamentos de doenças mediadas por CFTR que envolvem compostos de corretor e potenciador de CFTR.

[0010] Particularmente, existe uma necessidade de terapias de combinação para o tratamento de doenças mediadas por CFTR, tal como fibrose cística, as quais incluem compostos potenciadores e corretores de CFTR.

[0011] Mais particularmente, há uma necessidade de terapias de combinação para o tratamento de doenças mediadas por CFTR, tal como fibrose cística, as quais incluem compostos potenciadores de CFTR, tal como o Composto 2 substancialmente amorfado, em combinação com compostos corretores de CFTR, tais como o Composto 1 Forma I .

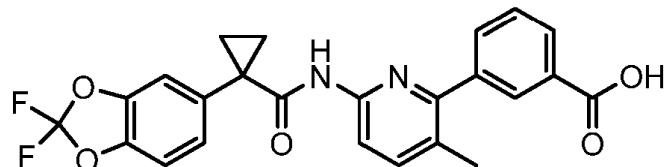
[0012] Composto 1 como parte de uma combinação com Composto 2 foi concedido uma Breakthrough Therapy Designation da Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento de fibrose cística, uma das duas únicas tais concessões no momento da apresentação deste pedido (o outro é para o Composto 2). Isto demonstra uma significativa necessidade não satisfeita para o tratamento eficaz da causa da fibrose cística em relação aos tratamentos sintomáticos. Além disso, um desafio comum para fármacos aprovados pela FDA é a falta ocasional da disponibilidade do fármaco para os pacientes em necessidade da mesma. Por conseguinte, existe uma necessidade não satisfeita significativa para as formulações e processos do Composto 1 e Composto 2 presentemente divulgados para a sua preparação de um modo

contínuo e controlado.

[0013] Além disso, a adesão do paciente com esquemas de tratamento e quantidades de dosagem depende em grande medida da facilidade de administração do fármaco. Uma composição farmacêutica que compreende quantidades de dosagem fixas de um corretor de CFTR e potenciador de CFTR, em que as formas sólidas do referido corretor e potenciador são estáveis, é um avanço significativo para o tratamento de doenças mediadas por CFTR, tal como a fibrose cística.

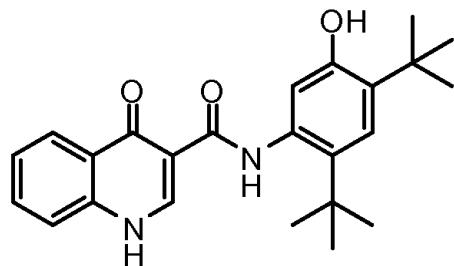
SUMÁRIO

[0014] A invenção apresenta uma composição farmacêutica compreendendo ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico, o Composto 1 da Forma I, que tem a estrutura a seguir:



[0015] Composto 1; e

[0016] uma dispersão sólida de cloridrato de N-(5-hidróxi-2,4-di-terc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida substancialmente amorfo, Composto 2, que tem a estrutura a seguir:



[0017] Composto 2;

[0018] métodos de tratamento, métodos de fabricação, métodos de administração, e kits dos mesmos.

[0019] Em um aspecto, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica compreendendo:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo;
- c. um preenchedor;
- d. um desintegrante;
- e. um tensoativo; e
- f. um aglutinante;

Referido como PC-I.

[0020] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção compreendem 30 a 55 por cento em peso de um composto da Forma I, e 10 a 45 por cento em peso de dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo.

[0021] Em uma modalidade, o preenchedor é selecionado a partir de celulose, celulose modificada, carboximetilcelulose de sódio, etil celulose hidroximetil celulose, hidroxipropil celulose, acetato de celulose, celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico, sacarose, lactose, amido de milho, amido de batata, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o preenchedor é celulose microcristalina, e está presente em uma quantidade que varia de 10 a 20 por cento em peso.

[0022] Em uma modalidade, o desintegrante é selecionado a partir de ágar-ágar, alginas, carbonato de cálcio, carboximetilcelulose, celulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilcelulose substituída inferior, argilas, croscarmelose de sódio, crospovidona, gomas, silicato de alumínio de magnésio, metilcelulose, polacrilina de potássio, alginato de sódio, amido glicolato de sódio, amido de milho, amido de batata, amido de tapioca, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o desintegrante é croscarmelose de sódio, e está presente

em uma quantidade que varia de 1 a 3 por cento em peso.

[0023] Em uma modalidade, o tensoativo é selecionado a partir de lauril sulfato de sódio, estearil fumarato de sódio, mono-oleato de polioxietileno 20 de sorbitano, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o tensoativo é lauril sulfato de sódio, e está presente em uma quantidade que varia de 0,5 a 2 por cento em peso.

[0024] Em uma modalidade, o ligante é selecionado a partir de polivinilpirrolidona, fosfato de cálcio dibásico, sacarose, amido de milho, celulose modificada, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o ligante é polivinilpirrolidona, e está presente em uma quantidade que varia de 0 a 5 por cento em peso.

[0025] Em uma modalidade, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica com a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	35-50
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	25-40
Celulose microcristalina	10-20
Croscarmelose de sódio	1-3
Lauril sulfato de sódio	0,5-2
Polivinilpirrolidona	0-5

Referido como PC-II.

[0026] Em outro aspecto, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica compreendendo:

- a. Composto 1 da Forma I;
- b. uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo;
- c. um preenchedor;
- d. um desintegrante;
- e. um tensoativo;

f. um aglutinante; e

g. um lubrificante;

Referido como PC-III.

[0027] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção compreendem cerca de 100 a 250 mg de Composto 1 Forma I, e cerca de 100 a 150 mg de Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção compreendem cerca de 200 mg de Composto 1 da Forma I, e cerca de 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção compreendem cerca de 150 mg de Composto 1 da Forma I, e cerca de 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfó.

[0028] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção compreendem 25 a 50 por cento em peso de um composto da Forma I, e 15 a 35 por cento em peso de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó.

[0029] Em uma modalidade, o preenchedor é selecionado a partir de celulose, celulose modificada, carboximetilcelulose de sódio, etil celulose, hidroximetil celulose, hidroxipropil celulose, acetato de celulose, celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico, sacarose, lactose, amido de milho, amido de batata, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o preenchedor é celulose microcristalina, e está presente em uma quantidade que varia de 20 a 30 por cento em peso.

[0030] Em uma modalidade, o desintegrante é selecionado a partir de ágar-ágar, alginas, carbonato de cálcio, carboximetilcelulose, celulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilcelulose substituída inferior, argilas, croscarmelose de sódio, crospovidona, gomas, silicato de alumínio e magnésio, metilcelulose, polacrilina de potássio, alginato de sódio, amido glicolato de sódio, amido de milho, amido de batata,

amido de tapioca, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o desintegrante é croscarmelose de sódio, e está presente em uma quantidade que varia de 3 a 10 por cento em peso.

[0031] Em uma modalidade, o tensoativo é selecionado a partir de lauril sulfato de sódio, estearil fumarato de sódio, mono-oleato de polioxietileno 20 de sorbitano, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o tensoativo é lauril sulfato de sódio, e está presente em uma quantidade que varia de 0,5 a 2 por cento em peso.

[0032] Em uma modalidade, o aglutinante é selecionado a partir de polivinilpirrolidona, fosfato de cálcio dibásico, sacarose, amido de milho, celulose modificada, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o ligante é polivinilpirrolidona, e está presente em uma quantidade que varia de 0 a 5 por cento em peso.

[0033] Em uma modalidade, o lubrificante é selecionado entre estearato de magnésio, estearato de cálcio, estearato de zinco, estearato de sódio, ácido esteárico, estearato de alumínio, leucina, beenato de glicerila, óleo vegetal hidrogenado ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma outra modalidade, o lubrificante é estearato de magnésio, e está presente em uma quantidade que varia de 0,5 a 2 por cento em peso.

[0034] Em uma modalidade, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica com a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	25-50
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	15-35
Celulose microcristalina	20-30
Croscarmelose de sódio	3-10
Lauril sulfato de sódio	0,5-2
Polivinilpirrolidona	0-5
Estearato de magnésio	0,5-2

Referido como PC-IV.

[0035] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção adicionalmente compreendem um corante e opcionalmente uma cera. Em uma outra modalidade, o corante está presente em uma quantidade que varia de 2 a 4 por cento em peso. Em uma outra modalidade, a cera é cera de carnaúba presente em uma quantidade que varia 0 a 0,020 por cento em peso.

[0036] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas da presente invenção são as composições farmacêuticas orais sólidas. Em uma outra modalidade, as composições farmacêuticas orais sólidas são uma composição farmacêutica granular ou comprimido.

[0037] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas granulares da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	43
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	34
Celulose microcristalina	17
Croscarmelose de sódio	2
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3

Referido como PC-V.

[0038] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas granulares da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	38
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	40
Celulose microcristalina	16
Croscarmelose de sódio	2
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3

Referido como PC-VI.

[0039] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas granulares da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	51
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	27
Celulose microcristalina	16
Croscarmelose de sódio	2
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3

Referido como PC-VII.

[0040] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	35
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	28
Celulose microcristalina	26
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnésio	1

Referido como PC-VIII.

[0041] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	31
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	32
Celulose microcristalina	26

	% em peso
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnésio	1

Referido como PC-IX.

[0042] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	41
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorf	22
Celulose microcristalina	26
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnésio	1

Referido como PC-X.

[0043] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorf	156
Celulose microcristalina	150
Croscarmelose de sódio	31
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	15
Estearato de magnésio	6

Referido como PC-XI.

[0044] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	150
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	156
Celulose microcristalina	129
Croscarmelose de sódio	30
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	13
Esterato de magnésio	5

Referido como PC-XII.

[0045] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	104
Celulose microcristalina	128
Croscarmelose de sódio	29
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	13
Esterato de magnésio	5

Referido como PC-XIII.

[0046] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	34
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	27
Celulose microcristalina	25
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1

	% em peso
Polivinilpirrolidona	3
Esterato de magnésio	1
Corante	3

Referido como PC-XIV.

[0047] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	30
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	31
Celulose microcristalina	25
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Esterato de magnésio	1
Corante	3

Referido como PC-XV.

[0048] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	40
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	21
Celulose microcristalina	25
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Esterato de magnésio	1
Corante	3

Referido como PC-XVI.

[0049] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	156
Celulose microcristalina	150
Croscarmelose de sódio	34
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	15
Esterato de magnésio	6
Corante	17

Referido como PC-XVII.

[0050] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	125
Celulose microcristalina	150
Croscarmelose de sódio	34
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	15
Esterato de magnésio	6
Corante	17

Referido como PC-XVIII

[0051] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	150
Dispersão sólida compreendendo Composto 2	156

	mg
substancialmente amorfo	
Celulose microcristalina	129
Croscarmelose de sódio	29
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnésio	5
Corante	15

Referido como PC-XIX.

[0052] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	104
Celulose microcristalina	128
Croscarmelose de sódio	29
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnésio	5
Corante	14

Referido como PC-XX.

[0053] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	mg
Composto I de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo	83
Celulose microcristalina	128
Croscarmelose de sódio	29

	mg
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	13
Esterato de magnésio	5
Corante	14

Referido como PC-XXI.

[0054] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

	% em peso
Composto I de Forma I	20-40
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó	30-40
Celulose microcristalina	20-30
Croscarmelose de sódio	1-10
Polivinilpirrolidona	1-5
Lauril sulfato de sódio	0,1-1
Esterato de magnésio	0,5-1,5

Referido como PC-XXII.

[0055] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

Composto 1 / Composto 2 100mg/125mg			
Componente	% em grânulo	% em comprimido	mg/Comprimido
Composto 1 Forma 1	30	25	100
Dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfó	47	38	156
Celulose microcristalina	17	13	55
Croscarmelose de	2	2	7

Composto 1 / Composto 2 100mg/125mg			
Componente	% em grânulo	% em comprimido	mg/Comprimido
sódio			
Polivinilpirrolidona	3	3	11
Lauril sulfato de sódio	1	1	3
Grânulos totais	100	82	332
Croscarmelose de sódio		4	18
Celulose microcristalina		13	53
Esterato de magnésio		1	4
Comprimido total		100	407

Referido como PC-XXIII.

[0056] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção têm a seguinte formulação:

Composto 1 / Composto 2 150mg/125mg			
Componente	% em grânulo	% em comprimido	mg/Comprimido
Composto 1 Forma 1	38	31	150
Dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo	40	32	156
Celulose microcristalina	16	13	65
Croscarmelose de sódio	2	2	8
Polivinilpirrolidona	3	3	13
Lauril sulfato de sódio	1	1	4
Grânulos totais	100	82	396
Croscarmelose de sódio		4	22
Celulose microcristalina		13	64
Esterato de magnésio		1	5
Comprimido total		100	487

Referido como PC-XXIV.

[0057] Em uma modalidade, os comprimidos da presente invenção

têm a seguinte formulação:

Composto 1 / Composto 2 75mg/125mg			
Componente	% em grânulo	% em comprimido	mg/Comprimido
Composto 1 Forma 1	25	20	75
Dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo	52	43	156
Celulose microcristalina	17	13	49
Croscarmelose de sódio	2	2	6
Polivinilpirrolidona	3	3	10
Lauril sulfato de sódio	1	1	3
Grânulos totais	100	82	299
Croscarmelose de sódio		4	17
Celulose microcristalina		13	48
Esterato de magnésio		1	4
Comprimido Núcleo		100	368
Opadry Pink		3	11
Comprimido revestido de filme			379

Referido como PC-XXV.

[0058] Em um aspecto, a presente invenção apresenta um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente compreendendo administrar ao paciente de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica, composição farmacêutica granular, ou comprimido da presente invenção.

[0059] Na modalidade, a presente invenção apresenta um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose

cística em um paciente compreendendo administrar ao paciente uma quantidade eficaz da composição farmacêutica, composição farmacêutica granular ou comprimido de qualquer uma das formulações de **PC-I** a **PC-XXV**.

[0060] Em uma modalidade, o paciente tem uma mutação ΔF508 CFTR. Em uma outra modalidade, o paciente é homozigótico em ΔF508. Em uma outra modalidade, o paciente é heterozigótico em ΔF508. Em uma outra modalidade, dois comprimidos são administrados ao paciente por dia.

[0061] Em um aspecto, a presente invenção apresenta um método de preparação de uma composição farmacêutica granular compreendendo granulação úmida dos seguintes componentes:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo;
- c. um preenchedor;
- d. um desintegrante;
- e. um tensoativo; e
- f. um aglutinante.

[0062] Em um aspecto, a presente invenção apresenta um método de preparação de um comprimido que compreende comprimir:

i) uma pluralidade de composições farmacêuticas granulares compreendendo os seguintes componentes:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo;
- c. um preenchedor;
- d. um desintegrante;
- e. um tensoativo; e
- f. um aglutinante;

- ii) um desintegrante;
- iii) um preenchedor; e
- iv) um lubrificante.

[0063] Em um aspecto, a presente invenção oferece um kit compreendendo composições farmacêuticas, composições farmacêuticas granulares ou comprimidos da presente invenção, e um agente terapêutico separado ou uma sua composição farmacêutica.

[0064] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas, composições farmacêuticas granulares ou comprimidos da presente invenção, e o agente terapêutico separado ou composição farmacêutica do mesmo estão em recipientes separados. Em uma outra modalidade, os recipientes separados são garrafas. Em uma outra modalidade, os recipientes separados são frascos. Em uma outra modalidade, os recipientes separados são blisters.

[0065] Em outro aspecto, a invenção proporciona um processo contínuo ou semicontínuo para a preparação das composições farmacêuticas aqui descritas por um processo de granulação úmida de parafuso duplo que compreende as etapas de seleção e pesagem do Composto 1, Composto 2, e excipientes; mistura do Composto 1, Composto 2, e excipientes em um misturador e alimentação da mistura em um granulador contínuo enquanto adiciona um fluido de granulação que compreende tensoativo e um aglutinante, a uma taxa adequada por um período de tempo adequado e corte da mistura em grânulos; secagem dos grânulos; mistura dos grânulos com excipientes extragranulares por um período de tempo adequado; compressão da mistura em comprimidos; revestimento dos comprimidos; e, opcionalmente, impressão de um monograma em um ou ambos lados do comprimido.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0066] **A Figura 1** é um padrão de difração de raios-X calculado a

partir de uma estrutura de cristal única de um composto da Forma I.

[0067] **A Figura 2** é um padrão de raios-X de difração de pó real de um composto da Forma I.

[0068] **A Figura 3** é um gráfico que descreve o perfis de dissolução de gradiente de pH do Composto 1 para um comprimido feito por um processo de granulação de alto corte (HSG) e um processo de granulação úmida de dois parafusos (TSWG) (LOD significa a perda por secagem, uma medida para definir a quantidade de água em um pó / grânulo).

[0069] **A Figura 4** é um gráfico que ilustra a estabilidade da forma substancialmente amorfa do Composto 2 na formulação de comprimido PC-XVII, a 50 °C, após pré-equilibrar a 60% de umidade relativa, mostrando apenas uma pequena quantidade de cristalinidade ao longo do tempo.

[0070] **A Figura 5** é um gráfico que ilustra a estabilidade da forma substancialmente amorfa do Composto 2 na formulação de comprimido PC-XVII, a 60 °C, após pré-equilibrar a 60% de umidade relativa, mostrando apenas uma pequena quantidade de cristalinidade ao longo do tempo.

[0071] **A Figura 6** é um gráfico que ilustra a estabilidade da forma substancialmente amorfa do Composto 2 na formulação de comprimido de PC-XX a 60 °C, após pré-equilibrar a 60% de umidade relativa, mostrando apenas uma pequena quantidade de cristalinidade ao longo do tempo.

[0072] **A Figura 7** é um gráfico que ilustra a estabilidade da forma substancialmente amorfa do Composto 2 na formulação de comprimido de PC-XX a 50 °C, após pré-equilibrar a 60% de umidade relativa, mostrando apenas uma pequena quantidade de cristalinidade ao longo do tempo.

[0073] **A Figura 8** é um espectro de $^1\text{HRMN}$ do Composto 1.

[0074] **A Figura 9** é um espectro de $^1\text{HRMN}$ do composto 1 de sal HCl.

[0075] **A Figura 10** é um traço de calorimetria de varredura diferencial (DSC) do Composto 1 Forma I.

[0076] **A Figura 11** é uma imagem conformacional do Composto 1 Forma I com base na análise de raios-X de cristal único.

DESCRÍÇÃO DETALHADA

DEFINIÇÕES

[0077] Tal como aqui utilizado, "CFTR" significa regulador da condutância transmembranar de fibrose cística.

[0078] Tal como aqui utilizado, uma "mutação $\Delta F508$ " ou "mutação F508-del", é uma mutação específica no interior da proteína CFTR. A mutação é uma deleção de três nucleotídeos que compreendem o códon para o aminoácido fenilalanina na posição 508, resultando em proteína CFTR que carece deste resíduo de fenilalanina.

[0079] Tal como aqui utilizado, um paciente que é "homozigótico" para uma mutação específica, por exemplo, $\Delta F508$, tem a mesma mutação em cada alelo.

[0080] Tal como aqui utilizado, um paciente que é "heterozigótico" para uma mutação específica, por exemplo, $\Delta F508$, possui esta mutação em um alelo, e uma mutação diferente no outro alelo.

[0081] Tal como aqui utilizado, o termo "corretor de CFTR" refere-se a um composto que aumenta a quantidade de proteína de CFTR funcional para a superfície celular, resultando em transporte de íons aumentado.

[0082] Tal como aqui utilizado, o termo "potenciador de CFTR" refere-se a um composto que aumenta a atividade do canal de proteína CFTR localizado na superfície celular, resultando em transporte de íons aumentado.

[0083] Tal como aqui utilizado, o termo "ingrediente

"farmaceuticamente ativo" ou "API" refere-se a um composto biologicamente ativo.

[0084] Os termos "forma sólida", "formas sólidas" e termos relacionados, quando aqui utilizados referem-se ao Composto 1 ou Composto 2, em uma forma sólida particular, por exemplo, cristais, estados amorfos, e semelhantes.

[0085] Tal como aqui utilizado, o termo "substancialmente amorfo" refere-se a um material sólido que tem pouca ou nenhuma ordem de longo alcance na posição das suas moléculas. Por exemplo, materiais substancialmente amorfos têm menos do que cerca de 15% de cristalinidade (por exemplo, menos do que cerca de 10% de cristalinidade ou menos do que cerca de 5% de cristalinidade). Também deve ser notado que o termo "substancialmente amorfo" inclui o descriptor, "amorfo", que se refere a materiais não tendo nenhuma (0%) cristalinidade.

[0086] Tal como aqui utilizado, o termo "substancialmente cristalino" (como na frase Composto 1 substancialmente cristalino Forma I refere-se a um material sólido que tem ordem de alcance longa predominantemente na posição das suas moléculas. Por exemplo, materiais cristalinos substancialmente têm mais de cerca de 85% de cristalinidade (por exemplo, mais do que cerca de 90% de cristalinidade, ou mais do que cerca de 95% de cristalinidade). Também deve ser notado que o termo 'substancialmente cristalino' inclui o descriptor, 'cristalino', que se refere a materiais com 100% de cristalinidade.

[0087] O termo "cristalino" e termos relacionados aqui utilizados, quando utilizados para descrever uma substância, componente, produto, ou forma, significa que a substância, componente ou produto é substancialmente cristalino tal como determinado por difração de raios-X. (Vide, por exemplo, Remington: The Science and Practice of

Pharmacy, 21a Ed, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md (2003); The United States Pharmacopeia, 23 rd ed., 1843-1844 (1995)).

[0088] Tal como aqui utilizado, um "excipiente" inclui ingredientes funcionais e não funcionais em uma composição farmacêutica.

[0089] Tal como aqui utilizado, um "desintegrante" é um excipiente que hidrata uma composição farmacêutica e ajuda na dispersão do comprimido. Tal como aqui utilizado, um "diluente" ou "preenchedor" é um excipiente que adiciona volumosidade a uma composição farmacêutica.

[0090] Tal como aqui utilizado, um "tensoativo" é um excipiente farmacêutico que confere composições com melhor solubilidade e/ou molhabilidade.

[0091] Tal como aqui utilizado, um "ligante" é um excipiente que confere uma composição farmacêutica com uma melhor coesão ou de resistência à tração (por exemplo, dureza).

[0092] Tal como aqui utilizado, um "glidante" é um excipiente que confere uma composição farmacêutica com propriedades de fluxo melhoradas.

[0093] Tal como aqui utilizado, um "corante" é um excipiente que confere uma composição farmacêutica, por exemplo, um comprimido, com uma cor desejada. Exemplos de corantes incluem pigmentos disponíveis comercialmente, tais como FD&C Blue # 1 Aluminum Lake, FD &C Blue # 2, outras cores FD&C Blue, dióxido de titânio, óxido de ferro, e/ou suas combinações. Em uma modalidade, o comprimido proporcionado pela invenção é cor de rosa.

[0094] Tal como aqui utilizado, um "lubrificante" representa um excipiente que é adicionado a composições farmacêuticas que são prensadas para formar comprimidos. Os auxiliares lubrificantes em compactação de grânulos em comprimidos e a ejeção de um

comprimido de uma composição farmacêutica a partir de uma prensa de molde.

[0095] Tal como aqui utilizado, "centímetro cúbico" e "cc" são usados alternadamente para representar uma unidade de volume. Note-se que 1 cc = 1 mL.

[0096] Tal como aqui utilizado, "kiloPond" e "kp" são utilizados indiferentemente e referem-se à medida da força onde um kP = cerca de 9,8 Newtons.

[0097] Tal como aqui utilizado, "friabilidade" refere-se à propriedade de um comprimido de permanecer intacto e manter a sua forma, apesar de uma força externa de pressão. A friabilidade pode ser quantificada utilizando a expressão matemática apresentada na equação 1:

$$\% \text{ de friabilidade} = 100 \times \frac{(W_0 - W_1)}{W_0}$$

[0098] em que W_0 é o peso original do comprimido e W_1 é o peso final do comprimido depois que ele é colocado através do friabilidor. A friabilidade é medida utilizando um aparelho de ensaio padrão USP que seca comprimidos experimentais a 100 ou 400 revoluções. Alguns comprimidos da invenção possuem uma friabilidade inferior a 5,0%. Em uma outra modalidade, a friabilidade é inferior a 2,0%. Em uma outra modalidade, a friabilidade alvo é inferior a 1,0%, após 400 revoluções.

[0099] Tal como aqui usado, "diâmetro de partícula médio" é o diâmetro médio de partícula tal como medido utilizando técnicas, tais como a dispersão de luz a laser, análise de imagem, ou análise de seleção. Em uma modalidade, os grânulos usados para preparar as composições farmacêuticas proporcionadas pela presente invenção têm um diâmetro médio de partícula de menos do que 1,0 mm.

[00100] Tal como aqui utilizado, "densidade em massa" é a massa de partículas de material dividido pelo volume total que as partículas

ocupam. O volume total inclui o volume de partículas, volume de vazios entre partículas e volume de poro interno. A densidade aparente não é uma propriedade intrínseca de um material; pode mudar, dependendo de como o material é processado. Em uma modalidade, os grânulos usados para preparar as composições farmacêuticas proporcionadas pela presente invenção têm uma densidade a granel de cerca de 0,5-0,7 g/cc.

[00101] Uma "quantidade eficaz" ou "quantidade terapeuticamente eficaz" de um composto da invenção pode variar de acordo com fatores tais como o estado da doença, idade e peso do indivíduo, e a capacidade do composto da invenção para eliciar uma resposta desejada no indivíduo. Os regimes de dosagem podem ser ajustados para proporcionar a resposta terapêutica ideal. Uma quantidade eficaz é também aquela em que quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais (por exemplo, efeitos colaterais) do composto da invenção são compensados pelos efeitos terapeuticamente benéficos.

[00102] Tal como aqui usado, e a menos que especificado de outra forma, os termos "quantidade terapeuticamente eficaz" e "quantidade eficaz" de um composto significa uma quantidade suficiente para proporcionar um benefício terapêutico no tratamento ou controle de uma doença ou distúrbio, ou para retardar ou minimizar um ou mais sintomas associados com a doença ou desordem. Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" e "quantidade eficaz" de um composto significa uma quantidade de agente terapêutico, sozinho ou em combinação com um ou mais outros agentes (s), que proporciona um benefício terapêutico no tratamento ou gestão da doença ou desordem. Os termos "quantidade terapeuticamente eficaz" e "quantidade eficaz" pode englobar uma quantidade que melhora a terapia global, reduz ou evita sintomas ou causas de uma doença ou desordem, ou melhora a eficácia terapêutica de um outro agente terapêutico.

[00103] O termo "substancialmente puro" tal como utilizado na frase "Composto 1 Forma I substancialmente puro" significa superior a cerca de 90% de pureza. Em uma outra modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 95% de pureza. Em uma outra modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 98% de pureza. Em uma outra modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 99% de pureza.

[00104] No que diz respeito ao Composto 1 Forma I, ou uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, os termos "cerca de" e "aproximadamente", quando utilizados em conexão com as doses, quantidades, ou percentagem em peso de ingredientes de uma composição ou um forma de dosagem, significa uma percentagem de dose, a quantidade ou peso que é reconhecido por um versado na técnica comum, para proporcionar um efeito farmacológico equivalente ao obtido a partir da dose especificada, a quantidade ou percentagem em peso. Especificamente, o termo "cerca de" ou "aproximadamente" significa um erro aceitável para um determinado valor, tal como determinado por um versado comum na técnica, que depende em parte da forma como o valor é medido ou determinado. Em certas modalidades, o termo "cerca de" ou "aproximadamente" significa dentro de 1, 2, 3, ou 4 desvios padrão. Em certas modalidades, o termo "cerca de" ou "aproximadamente" significa dentro de 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, ou 0,05% de um dado valor ou gama.

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

[00105] A presente invenção proporciona composições farmacêuticas que compreendem um composto de Forma I e uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo. Em algumas modalidades deste aspecto, a quantidade de Composto 1 Forma I que está presente na composição farmacêutica é

de 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg ou 400 mg. Em algumas modalidades deste aspecto, por cento em peso do Composto 1 Forma I presente na composição farmacêutica é de 10 a 75 por cento. Nestas e noutras modalidades, o Composto 1 Forma I está presente como um Composto 1 da Forma I substancialmente puro. Em algumas modalidades deste aspecto, a quantidade de Composto 2 substancialmente amorfó que está presente na composição farmacêutica é de 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg ou 250 mg. Em algumas modalidades deste aspecto, por cento em peso do Composto 2 substancialmente amorfó que está presente na composição farmacêutica é de 10 a 75 por cento. Nestas e em outras modalidades, Composto 2 substancialmente amorfó está presente como Composto 2 substancialmente puro e amorfó. O termo "substancialmente puro" significa superior a noventa por cento puro; de preferência superior a 95 por cento puro; mais preferivelmente maior do que 99,5 por cento puro.

[00106] Deste modo, em um aspecto, a invenção proporciona uma composição farmacêutica compreendendo:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfó;
- c. um preenchedor;
- d. um desintegrante;
- e. um tensoativo; e
- f. um aglutinante.

[00107] Em uma modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende de 25 mg do Composto 1 Forma I. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 50 mg do Composto 1 Forma I. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 100 mg do

Composto 1 Forma I. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 125 mg de Composto 1 Forma I. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 150 mg de Composto 1 Forma I. Em outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 200 mg de Composto 1 Forma I. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 250 mg do Composto 1 Forma I. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 400 mg de Composto 1 da Forma I.

[00108] Em uma modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 25 mg do Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende de 50 mg do Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 100 mg de Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 150 mg de Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 200 mg de Composto 2 substancialmente amorfó. Em uma outra modalidade deste aspecto, a composição farmacêutica compreende 250 mg do Composto 2 substancialmente amorfó.

[00109] Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas que compreendem Composto 1 Forma I, em que o Composto 1 Forma I está presente em uma quantidade de pelo menos 15% em peso (por exemplo, pelo menos 20% em peso, pelo menos 30% em peso, pelo menos 40 % em peso, pelo menos 50% em peso, ou, pelo menos, 60% em peso) em peso da composição.

[00110] Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas compreendem Composto 2 substancialmente amorfó, em que o Composto 2 substancialmente amorfó está presente em uma quantidade de pelo menos 15% em peso (por exemplo, pelo menos 20% em peso, pelo menos 30% em peso de, pelo menos 40% em peso, pelo menos 50% em peso, ou, pelo menos, 60% em peso) em peso da composição.

[00111] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende Composto 1 Forma I, uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, um preenchedor, um desintegrante, um tensoativo e um aglutinante. Nesta modalidade, a composição compreende de cerca de 25% em peso a cerca de 55% em peso (por exemplo, cerca de 30-50% em peso) de Composto 1 Forma I em peso da composição, e mais tipicamente, de 40% em peso a cerca de 45 em peso % de Composto 1 Forma I em peso da composição. Nesta modalidade, a composição compreende cerca de 15% em peso a cerca de 40% em peso (por exemplo, cerca de 20-35% em peso) de Composto 2 substancialmente amorfó em peso da composição, e mais tipicamente, de 25% em peso a cerca de 30% em peso do Composto 2 substancialmente amorfó em peso da composição.

[00112] A concentração do Composto 1 Forma I e Composto 2 substancialmente amorfó na composição depende de vários fatores, tais como a quantidade de composição farmacêutica necessária para proporcionar uma quantidade desejada de Composto 1 Forma I e Composto 2 substancialmente amorfó e o perfil de dissolução desejado da composição farmacêutica.

[00113] Em uma outra modalidade, a composição farmacêutica compreende Composto 1 Forma I, em que o Composto 1 Forma I na sua forma sólida tem um diâmetro médio das partículas, medido por

difusão de luz (por exemplo, utilizando um Malvern Mastersizer disponível a partir de Malvern Instruments na Inglaterra) de 0,1 mícron a 10 mícrons. Em uma outra modalidade, o tamanho de partícula do Composto 1 Forma I é de 1 mícron a 5 mícrons. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I tem um tamanho de partícula D50 de 2,0 mícrons.

[00114] Conforme indicado, em adição ao Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfo, em algumas modalidades da invenção, as composições farmacêuticas que são formulações orais também compreendem um ou mais excipientes, tais como preenchedores, desintegrantes, tensoativos, diluentes, ligantes, deslizantes, lubrificantes, corantes ou fragrâncias e qualquer combinação dos mesmos.

[00115] Os preenchedores adequados para a invenção são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a solubilidade, a dureza, a estabilidade química, a estabilidade física, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Preenchedores ilustrativos incluem: celuloses, celuloses modificadas, por exemplo (carboximetilcelulose de sódio, etil celulose, hidroximetil celulose, hidroxipropil celulose), acetato de celulose, celulose microcristalina, fosfatos de cálcio, fosfato de cálcio dibásico, amidos (por exemplo amido de milho, amido de batata), açúcares (por exemplo, sorbitol), lactose, sacarose, ou outros semelhantes), ou qualquer combinação dos mesmos.

[00116] Deste modo, em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende pelo menos um preenchedor em uma quantidade de pelo menos 5% em peso (por exemplo, pelo menos cerca de 20% em peso, pelo menos cerca de 30% em peso, ou pelo menos cerca de 40% em peso) em peso da composição. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 10% em peso a

cerca de 60% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 55% em peso, a partir de cerca de 25% em peso a cerca de 50% em peso, ou de cerca de 27% em peso a cerca de 45% em peso) de preenchedor, em peso da composição. Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende pelo menos cerca de 20% em peso (por exemplo, pelo menos 30% em peso ou, pelo menos, 40% em peso) de celulose microcristalina, por exemplo Avicel MCC PH102, em peso da composição. Em ainda outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 10% em peso a cerca de 60% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 55% em peso ou de cerca de 25% em peso a cerca de 45% em peso) de microcelulose, em peso da composição.

[00117] Os desintegrantes adequados para a invenção aumentam a dispersão da composição farmacêutica e são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a estabilidade química, a estabilidade física, a dureza, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Desintegrantes exemplares incluem croscarmelose de sódio, glicolato de amido de sódio, ou uma combinação dos mesmos.

[00118] Deste modo, em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende desintegrante em uma quantidade de cerca de 10% em peso ou menos (por exemplo, cerca de 7% em peso ou menos, cerca de 6% em peso ou menos, ou cerca de 5% em peso ou menos) em peso da composição. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 1% em peso a cerca de 10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1,5% em peso a cerca de 7,5% em peso ou de cerca de 2,5% em peso a cerca de 6% em peso) de agente desintegrante, em peso da composição. Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende cerca de 10% em peso ou menos (por exemplo, 7% em peso ou menos, 6% em peso ou menos,

ou 5% em peso ou menos) de croscarmelose de sódio, em peso da composição. Em ainda outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 1% em peso a cerca de 10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1,5% em peso a cerca de 7,5% em peso ou de cerca de 2,5% em peso a cerca de 6% em peso) de croscarmelose de sódio, em peso da composição. Em alguns exemplos, a composição farmacêutica compreende de cerca de 0,1% a cerca de 10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 0,5% em peso a cerca de 7,5% em peso ou entre cerca de 1,5% em peso a cerca de 6% em peso) de desintegrante, em peso da composição. Em ainda outros exemplos, a composição farmacêutica compreende de cerca de 0,5% a cerca de 10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1,5% em peso a cerca de 7,5% em peso ou entre cerca de 2,5% em peso a cerca de 6% em peso) de desintegrante, em peso da composição.

[00119] Os agentes tensoativos adequados para a invenção melhoram a molhabilidade da composição farmacêutica e são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a estabilidade química, a estabilidade física, a dureza, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Tensoativos exemplares incluem lauril sulfato de sódio (SLS), estearil fumarato de sódio (SSF), mono-oleato de polioxietileno 20 de sorbitano (por exemplo, Tween™), qualquer combinação dos mesmos, ou semelhantes.

[00120] Deste modo, em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende um tensoativo em uma quantidade de cerca de 10% em peso ou menos (por exemplo, cerca de 5% em peso ou menos, cerca de 2% em peso ou menos, cerca de 1% em peso ou menos, cerca de 0,8% em peso ou menos, ou cerca de 0,6% em peso ou menos), em peso da composição. Por exemplo, a composição

farmacêutica inclui de cerca de 10% em peso a cerca de 0,1% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 5% em peso a cerca de 0,2% em peso ou de cerca de 2% em peso a cerca de 0,3% em peso) de tensoativo, em peso da composição. Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de 10% em peso ou menos (por exemplo, cerca de 5% em peso ou menos, cerca de 2% em peso ou menos, cerca de 1% em peso ou menos, cerca de 0,8% em peso ou menos, ou cerca de 0,6% em peso ou menos) de lauril sulfato de sódio, em peso da composição. Em ainda outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 10% em peso a cerca de 0,1% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 5% em peso a cerca de 0,2% em peso ou de cerca de 2% em peso a cerca de 0,3% em peso) de lauril sulfato de sódio, em peso da composição.

[00121] Aglutinantes adequados para a presente invenção aumentam a força de comprimido, a composição farmacêutica e são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a estabilidade química, a estabilidade física, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Aglutinantes exemplares incluem polivinilpirrolidona, fosfato de cálcio dibásico, sacarose, milho (milho) amido, celulose modificada (por exemplo, hidroximetil celulose), ou qualquer combinação dos mesmos.

[00122] Deste modo, em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende um aglutinante em uma quantidade de pelo menos cerca de 0,1% em peso (por exemplo, pelo menos cerca de 1% em peso, pelo menos cerca de 3% em peso de, pelo menos, cerca de 4% em peso, ou pelo menos cerca de 5% em peso) em peso da composição. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 0,1% em peso a cerca de 10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1% em peso a cerca de 10% em peso ou de cerca

de 2% em peso a cerca de 7% em peso) de aglutinante, em peso da composição. Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende pelo menos cerca de 0,1% em peso (por exemplo, pelo menos cerca de 1% em peso, pelo menos cerca de 2% em peso, pelo menos cerca de 3% em peso, ou, pelo menos, cerca de 4% em peso) de polivinilpirrolidona, em peso da composição. Em ainda outro exemplo, a composição farmacêutica compreende um glidante em uma quantidade que varia de cerca de 0,1% em peso a cerca de 10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1% em peso a cerca de 8% em peso ou de cerca de 2% em peso a cerca de 5% em peso) de polivinilpirrolidona, em peso da composição.

[00123] Os diluentes adequados para a invenção podem adicionar grandes quantidades necessárias para uma formulação para preparar comprimidos com o tamanho desejado e são geralmente compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a solubilidade, a dureza, a estabilidade química, a estabilidade física, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Exemplos de diluentes incluem: açúcares, por exemplo, o açúcar de confeiteiro, açúcar compressível, dextratos, dextrina, dextrose, lactose, manitol, sorbitol, celulose e celuloses modificadas, por exemplo, pó de celulose, talco, fosfato de cálcio, amido, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00124] Deste modo, em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende um diluente em uma quantidade de 40% em peso ou menos (por exemplo, 35% em peso ou menos, 30% em peso ou menos, ou 25% em peso ou menos, ou 20% em peso ou menos, ou 15% em peso ou menos, ou 10% em peso ou menos), em peso da composição. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 40% em peso a cerca de 1% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 35% em peso a cerca de 5% em peso ou de cerca de 30%

em peso a cerca de 7% em peso, a partir de cerca de 25% em peso a cerca de 10 % em peso, a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 15% em peso) de diluente, em peso da composição. Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de 40% em peso ou menos (por exemplo, 35% em peso ou menos, 25% em peso ou menos, ou 15% em peso ou menos) de manitol, em peso da composição. Em ainda outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 35% em peso a cerca de 1% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 30% em peso a cerca de 5% em peso ou de cerca de 25% em peso a cerca de 10% em peso) de manitol, em peso, de da composição.

[00125] Os deslizantes adequados para a presente invenção melhoram as propriedades de fluidez da composição farmacêutica e são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a solubilidade, a dureza, a estabilidade química, a estabilidade física, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Agentes de deslizamento exemplares incluem dióxido de silício coloidal, talco, ou uma sua combinação.

[00126] Deste modo, em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende um glidante em uma quantidade igual ou inferior a 2% em peso (por exemplo, 1,75% em peso, 1,25% em peso ou menos, ou 1,00% em peso ou menos), em peso da composição. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 2% em peso a cerca de 0,05% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1,5% em peso a cerca de 0,07% em peso ou de cerca de 1,0% em peso a cerca de 0,09% em peso) de glidante, em peso da composição. Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende ou menos 2% em peso (por exemplo, 1,75% em peso, 1,25% em peso ou menos, ou 1,00% em peso ou menos) de dióxido de silício coloidal, em peso da composição. Em ainda outro exemplo, a composição

farmacêutica compreende de cerca de 2% em peso a cerca de 0,05% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 1,5% em peso a cerca de 0,07% em peso ou de cerca de 1,0% em peso a cerca de 0,09% em peso) de dióxido de silício coloidal, em peso da composição.

[00127] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica pode incluir uma forma farmacêutica de dosagem sólida oral que pode compreender um lubrificante que pode impedir a adesão de uma mistura granulada de grânulo a uma superfície (por exemplo, uma superfície de uma bacia de mistura, uma matriz de compressão e/ou perfuração). Um lubrificante pode também reduzir a fricção interpartículas no interior do granulado e melhorar a compressão e ejeção de composições farmacêuticas comprimidas a partir de uma prensa de matriz. O lubrificante é também compatível com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a solubilidade, a dureza, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Lubrificantes exemplares incluem estearato de magnésio, estearato de cálcio, estearato de zinco, estearato de sódio, ácido esteárico, estearato de alumínio, leucina, beenato de glicerila, óleo vegetal hidrogenado ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende um lubrificante em uma quantidade de 5% em peso ou menos (por exemplo, 4,75% em peso, 4,0% em peso ou menos, ou 3,00% em peso ou menos, ou 2,0% em peso ou menos), em peso da composição. Por exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 5% em peso a cerca de 0,10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 4,5% em peso a cerca de 0,5% em peso ou de cerca de 3% em peso a cerca de 1% em peso) de lubrificante, em peso da composição . Em outro exemplo, a composição farmacêutica compreende 5% em peso ou menos (por exemplo, 4,0% em peso ou menos, 3,0% em peso ou menos, ou 2,0% em peso ou menos, ou

1,0% em peso ou menos) de estearato de magnésio, em peso, da composição. Em ainda outro exemplo, a composição farmacêutica compreende de cerca de 5% em peso a cerca de 0,10% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 4,5% em peso a cerca de 0,15% em peso ou de cerca de 3,0% em peso a cerca de 0,50% em peso) de estearato de magnésio, em peso da composição.

[00128] As composições farmacêuticas da invenção podem compreender, opcionalmente, um ou mais agentes corantes, aromatizantes, e/ou fragrâncias para aprimorar o apelo visual, sabor e/ou cheiro da composição. Os corantes adequados, aromas, ou fragrâncias são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a solubilidade, a estabilidade química, a estabilidade física, a dureza, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Em uma modalidade, a composição farmacêutica compreende um corante, um aromatizante e/ou uma fragrância. Em uma modalidade, as composições farmacêuticas proporcionadas pela presente invenção são púrpura.

[00129] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica inclui ou pode ser feita em comprimidos, e os comprimidos podem ser revestidos com um corante e opcionalmente marcados com um logotipo, outra imagem e/ou texto utilizando uma tinta apropriada. Em ainda outras modalidades, a composição farmacêutica inclui ou pode ser feita em comprimidos, e os comprimidos podem ser revestidos com um corante, encerados, e opcionalmente marcados com um logotipo, outra imagem e/ou texto utilizando uma tinta apropriada. Os corantes adequados e as tintas são compatíveis com os ingredientes da composição farmacêutica, isto é, eles não reduzem substancialmente a solubilidade, a estabilidade química, a estabilidade física, a dureza, ou a atividade biológica da composição farmacêutica. Os corantes e

tintas adequadas podem ser de qualquer cor e são à base de água ou baseado em solvente. Em uma modalidade, os comprimidos feitos a partir da composição farmacêutica são revestidos com um corante e então marcados com um logotipo, outra imagem e/ou texto utilizando uma tinta apropriada. Por exemplo, os comprimidos compreendendo a composição farmacêutica tal como aqui descrita podem ser revestidos com cerca de 3% em peso (por exemplo, menos do que cerca de 6% em peso ou menos do que cerca de 4% em peso) de revestimento de filme que compreende um corante. Os comprimidos coloridos podem ser marcados com um logotipo e um texto que indica a intensidade do ingrediente ativo no comprimido utilizando uma tinta apropriada. Em outro exemplo, os comprimidos que compreendem a composição farmacêutica tal como aqui descrita podem ser revestidos com cerca de 3% em peso (por exemplo, menos do que cerca de 6% em peso ou menos do que cerca de 4% em peso) de um revestimento de filme que compreende um corante.

[00130] Em uma outra modalidade, os comprimidos feitos a partir da composição farmacêutica são revestidos com um corante, encerados e, em seguida marcados com um logotipo, outra imagem e/ou texto utilizando uma tinta apropriada. Por exemplo, os comprimidos que compreendem a composição farmacêutica tal como aqui descrita podem ser revestidos com cerca de 3% em peso (por exemplo, menos do que cerca de 6% em peso ou menos do que cerca de 4% em peso) de revestimento de filme que compreende um corante. Os comprimidos coloridos podem ser encerados com cera de carnaúba em pó pesada na quantidade de cerca de 0,01% p/p do peso inicial do núcleo do comprimido. Os comprimidos encerados podem ser marcados com um logotipo e um texto que indica a intensidade do ingrediente ativo no comprimido utilizando uma tinta apropriada. Em outro exemplo, os comprimidos que compreendem a composição

farmacêutica tal como aqui descrita podem ser revestidos com cerca de 3% em peso (por exemplo, menos do que cerca de 6% em peso ou menos do que cerca de 4% em peso) de um revestimento de filme que compreende um corante. Os comprimidos podem ser encerados com cera de carnaúba em pó pesada na quantidade de cerca de 0,01% p/p do peso inicial do núcleo do comprimido. Os comprimidos encerados podem ser marcados com um logotipo e um texto que indica a intensidade do ingrediente ativo no comprimido usando uma tinta de grau farmacêutico, tais como uma tinta preta (por exemplo, Opacode® SL-17823, uma tinta à base de solvente, comercialmente disponível a partir de Colorcon, Inc. de West Point, PA.).

[00131] Uma composição farmacêutica exemplar compreende de cerca de 15% em peso a cerca de 70% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 60% em peso, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 50% em peso, ou a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 30% em peso a cerca de 70% em peso) do Composto 1 da Forma I, em peso da composição; e de cerca de 15% em peso a cerca de 40% em peso (por exemplo, cerca de 20-35% em peso) do Composto 2 substancialmente amorfo em peso da composição, e mais tipicamente, de 25% em peso a cerca de 30% em peso Composto de substancialmente amorfa 2, em peso da composição. As composições acima referidas também podem incluir um ou mais excipientes farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 50% em peso de um preenchedor; de cerca de 1% em peso a cerca de 5% em peso de um desintegrante; de cerca de 2% em peso a cerca de 0,3% em peso de um tensoativo; e de cerca de 0,1% em peso a cerca de 5% em peso de um aglutinante.

[00132] Uma outra composição farmacêutica exemplar compreende de cerca de 15% em peso a cerca de 70% em peso (por exemplo, a

partir de cerca de 15% em peso a cerca de 60% em peso, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 50% em peso, ou de cerca de 15% em peso a cerca de 40% em peso ou de cerca de 20% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 30% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 40% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 50% em peso a cerca de 70 em peso %) do Composto 1 Forma I em peso da composição, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 40% em peso (por exemplo, cerca de 20-35% em peso) de Composto 2 substancialmente amorfo, em peso da composição, e mais tipicamente, entre 25 % em peso a cerca de 30% em peso de Composto 2 substancialmente amorfo em peso da composição, e um ou mais excipientes, por exemplo, a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 50% em peso de um preenchedor; de cerca de 1% em peso a cerca de 5% em peso de um desintegrante; de cerca de 2% em peso a cerca de 0,3% em peso de um tensoativo; de cerca de 0,1% em peso a cerca de 5% em peso de um aglutinante; e de cerca de 2% em peso a cerca de 0,1% em peso de um lubrificante.

[00133] Uma outra composição farmacêutica exemplar compreende de cerca de 15% em peso a cerca de 70% em peso (por exemplo, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 60% em peso, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 50% em peso, ou de cerca de 15% em peso a cerca de 40% em peso ou de cerca de 20% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 30% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 40% em peso a cerca de 70% em peso, ou de cerca de 50% em peso a cerca de 70 em peso %) do Composto 1 Forma I em peso da composição, a partir de cerca de 15% em peso a cerca de 40% em peso (por exemplo, cerca de 20-35% em peso) de Composto 2 substancialmente amorfo, em peso da composição, e mais tipicamente, entre 25 % em peso a cerca de 30% em peso de Composto 2 substancialmente amorfo em peso da composição, e um

ou mais excipientes, por exemplo, a partir de cerca de 20% em peso a cerca de 50% em peso de um preenchedor; de cerca de 1% em peso a cerca de 5% em peso de um desintegrante; de cerca de 2% em peso a cerca de 0,3% em peso de um tensoativo; de cerca de 0,1% em peso a cerca de 5% em peso de um aglutinante; de cerca de 2% em peso a cerca de 0,1% em peso de um lubrificante; de cerca de 2% em peso a cerca de 4% em peso de corante; e cerca de 0,005% em peso a cerca de 0,015% em peso de cera.

[00134] Em uma modalidade, a invenção é uma composição farmacêutica granular compreendendo:

- a. cerca de 43% em peso de Composto 1 Forma I em peso da composição;
- b. cerca de 34% em peso de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó em peso da composição;
- c. cerca de 17% em peso de celulose microcristalina em peso da composição;
- d. cerca de 2% em peso de croscarmelose de sódio, em peso da composição;
- e. cerca de 1% em peso de lauril sulfato de sódio, em peso da composição; e
- f. cerca de 3% em peso de polivinilpirrolidona em peso da composição.

[00135] Em uma modalidade, a invenção é um comprimido compreendendo:

- a. cerca de 35% em peso de Composto 1 Forma I em peso da composição;
- b. cerca de 28% em peso de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, em peso da composição;

- c. cerca de 26% em peso de celulose microcristalina em peso da composição;
- d. cerca de 6% em peso de croscarmelose de sódio, em peso da composição;
- e. cerca de 3% em peso de polivinilpirrolidona em peso da composição;
- f. cerca de 1% em peso de lauril sulfato de sódio, em peso da composição; e
- g. cerca de 1% em peso de estearato de magnésio, em peso da composição.

[00136] Em uma modalidade, a invenção é um comprimido compreendendo:

- a. cerca de 34% em peso de Composto 1 Forma I em peso da composição;
- b. cerca de 27% em peso de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó em peso da composição;
- c. cerca de 26% em peso de celulose microcristalina em peso da composição;
- d. cerca de 6% em peso de croscarmelose de sódio, em peso da composição;
- e. cerca de 2% em peso de polivinilpirrolidona em peso da composição
- f. cerca de 1% em peso de lauril sulfato de sódio, em peso da composição;
- g. cerca de 1% em peso de estearato de magnésio, em peso da composição;
- h. cerca de 3% em peso de um corante, em peso da composição; e
- i. cerca de 0,010% em peso de uma cera, em peso da

composição.

- [00137] Um outro comprimido da invenção compreende:
- a. cerca de 150 a 250 mg de Composto 1 Forma I;
 - b. cerca de 100 a 150 mg de Composto 2 substancialmente amorfo;
 - c. cerca de 125 a 175 mg de celulose microcristalina;
 - d. cerca de 20 a 40 mg de croscarmelose de sódio;
 - e. cerca de 10 a 20 mg de polivinilpirrolidona;
 - f. cerca de 2 a 6 mg de lauril sulfato de sódio; e
 - g. cerca de 3 a 7 mg de estearato de magnésio.
- [00138] Um outro comprimido da invenção compreende:
- a. cerca de 200 mg de Composto 1 Forma I;
 - b. cerca de 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo;
 - c. cerca de 150 mg de celulose microcristalina;
 - d. cerca de 34 mg de croscarmelose de sódio;
 - e. cerca de 15 mg de polivinilpirrolidona;
 - f. cerca de 4 mg de lauril sulfato de sódio; e
 - g. cerca de 6 mg de estearato de magnésio.
- [00139] Um outro comprimido da invenção compreende:
- a. cerca de 200 mg de Composto 1 Forma I;
 - b. cerca de 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo;
 - c. cerca de 150 mg de celulose microcristalina;
 - d. cerca de 34 mg de croscarmelose de sódio;
 - e. cerca de 15 mg de polivinilpirrolidona;
 - f. cerca de 4 mg de lauril sulfato de sódio;
 - g. cerca de 6 mg de estearato de magnésio;
 - h. cerca de 17 mg de um corante; e
 - i. cerca de 0,06 mg de uma cera.

[00140] Em uma modalidade, a invenção é uma composição farmacêutica granular compreendendo:

- a. cerca de 38% em peso de Composto 1 Forma I em peso da composição;
- b. cerca de 40% em peso de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó em peso da composição;
- c. cerca de 16% em peso de celulose microcristalina em peso da composição;
- d. cerca de 2% em peso de croscarmelose de sódio, em peso da composição;
- e. cerca de 1% em peso de lauril sulfato de sódio, em peso da composição; e
- f. cerca de 3% em peso de polivinilpirrolidona em peso da composição.

[00141] Em uma modalidade, a invenção é um comprimido compreendendo:

- a. cerca de 31% em peso de Composto 1 Forma I em peso da composição;
- b. cerca de 32% em peso de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, em peso da composição;
- c. cerca de 26% em peso de celulose microcristalina em peso da composição;
- d. cerca de 6% em peso de croscarmelose de sódio, em peso da composição;
- e. cerca de 3% em peso de polivinilpirrolidona em peso da composição
- f. cerca de 1% em peso de lauril sulfato de sódio, em peso da composição;

g. cerca de 1% em peso de estearato de magnésio, em peso da composição; e

h. cerca de 3% em peso de um corante, em peso da composição.

[00142] Um outro comprimido da invenção compreende:

a. cerca de 100 a 200 mg de Composto 1 Forma I;

b. cerca de 100 a 150 mg de Composto 2 substancialmente amorfo;

c. cerca de 100 a 150 mg de celulose microcristalina;

d. cerca de 20 a 40 mg de croscarmelose de sódio;

e. cerca de 10 a 20 mg de polivinilpirrolidona;

f. cerca de 2 a 6 mg de lauril sulfato de sódio; e

g. cerca de 3 a 7 mg de estearato de magnésio.

[00143] Um outro comprimido da invenção compreende:

a. cerca de 150 mg de Composto 1 Forma I;

b. cerca de 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo;

c. cerca de 129 mg de celulose microcristalina;

d. cerca de 29 mg de croscarmelose de sódio;

e. cerca de 13 mg de polivinilpirrolidona;

f. cerca de 4 mg de lauril sulfato de sódio;

g. cerca de 5 mg de estearato de magnésio; e

h. cerca de 15 mg de um corante.

[00144] As composições farmacêuticas da invenção podem ser processadas em uma forma de comprimido, forma de cápsula, forma de sachês, forma de losango, ou outras formas sólidas que são adequadas para administração oral. Assim, em algumas modalidades, as composições farmacêuticas estão em forma de comprimido.

[00145] Um outro aspecto da invenção proporciona uma formulação farmacêutica que consiste em um comprimido que inclui Composto 1

Forma I, de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, e excipientes (por exemplo, um preenchedor, um desintegrante, um tensoativo, um aglutinante, um corante, um lubrificante, ou qualquer combinação dos mesmos), cada um dos quais é descrito acima e nos Exemplos abaixo, em que o comprimido tem uma dissolução de pelo menos cerca de 50% (por exemplo, pelo menos cerca de 60%, pelo menos cerca de 70%), pelo menos cerca de 80%, pelo menos cerca de 90%, ou pelo menos cerca de 99%) em cerca de 30 minutos.

[00146] Em um exemplo, a composição farmacêutica constituída por um comprimido que inclui Composto 1 Forma I em uma quantidade que varia entre 25 mg e 400 mg, por exemplo, 25 mg, ou 50 mg, ou 75 mg, ou 100 mg, ou 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg ou 400 mg, Composto 2 substancialmente amorfo em uma quantidade que varia entre 25 mg e 250 mg, por exemplo, 25 mg, ou 50 mg, ou 75 mg, ou 100 mg, ou 150 mg, 200 mg, 250 mg, e um ou mais excipientes (por exemplo, um preenchedor, um desintegrante, um tensoativo, um aglutinante, um corante, um lubrificante, ou qualquer combinação dos mesmos) cada um dos quais é descrito acima e nos Exemplos abaixo, em que o comprimido tem uma dissolução dentre cerca de 50% a cerca de 100% (por exemplo, a partir de cerca de 55% a cerca de 95% ou de cerca de 60% a cerca de 90%) em cerca de 30 minutos.

[00147] A dissolução pode ser medida com um aparelho USP tipo II padrão que emprega um meio de dissolução de 0,1% de CTAB dissolvido em 900 ml de água DI, tamponada a pH 6,8 com 50 mM de fosfato de potássio monobásico, agitação a cerca de 50-75 rpm, a uma temperatura de cerca de 37 °C. Um único comprimido experimental foi testado em cada recipiente de ensaio do aparelho. A dissolução pode também ser medida com um aparelho USP tipo II padrão que emprega um meio de dissolução de 0,7% de lauril sulfato de sódio dissolvido em

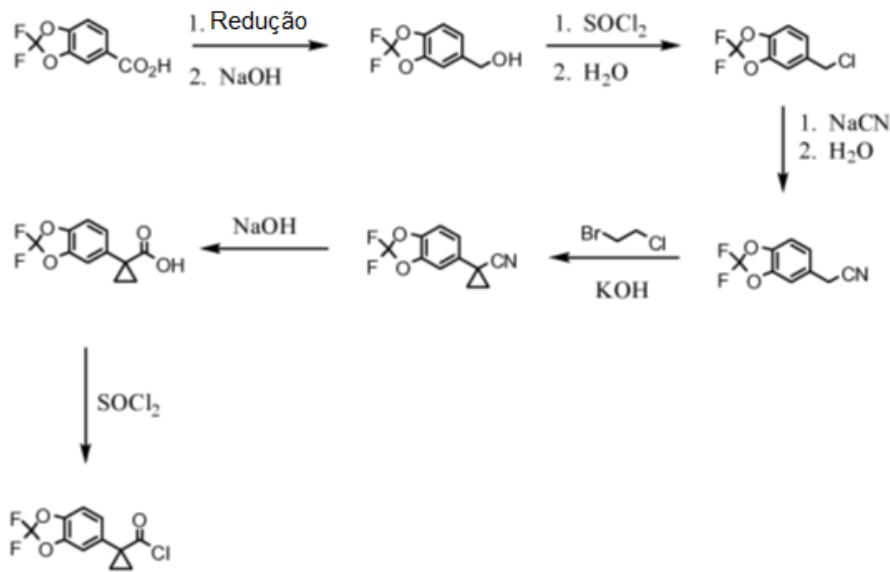
900 ml de tampão de fosfato de sódio a 50 mM (pH 6,8), agitando a cerca de 65 rpm a uma temperatura de cerca de 37 °C. Um único comprimido experimental foi testado em cada recipiente de ensaio do aparelho. A dissolução pode também ser medida com um aparelho USP tipo II padrão que emprega um meio de dissolução de 0,5% de lauril sulfato de sódio dissolvido em 900 ml de tampão de fosfato de sódio a 50 mM (pH 6,8), agitando a cerca de 65 rpm a uma temperatura de cerca de 37 °C. Um único comprimido experimental foi testado em cada recipiente de ensaio do aparelho.

MÉTODOS PARA PREPARAR O COMPOSTO 1 FORMA I E UMA DISPERSÃO SÓLIDA COMPREENDENDO O COMPOSTO 2 SUBSTANCIALMENTE AMORFO

Composto 1

[00148] O composto 1 é utilizado como o ponto de partida para o Composto 1 Forma I e pode ser preparado por acoplamento de uma porção de cloreto de ácido com um grupo amina de acordo com os Esquemas 1-4.

Esquema 1. Síntese da porção de cloreto de ácido.

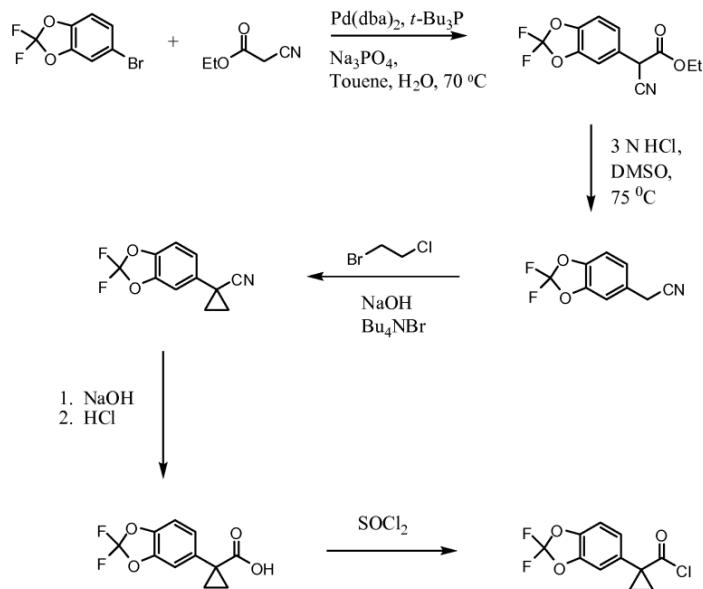


[00149] O Esquema 1 descreve a preparação de cloreto de 1-(2,2-

difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarbonila, que é utilizado no Esquema 3 para fazer a ligação amida do Composto 1.

[00150] O material de partida, ácido 2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-carboxílico, encontra-se comercialmente disponível a partir de Saltigo (uma filial da Lanxess Corporation). A redução da porção ácido 2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-carboxílico para o álcool primário, seguido por conversão no cloreto correspondente utilizando cloreto de tionila (SOCl_2), fornece 5-(clorometil)-2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol, que é subsequentemente convertido em 2-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) acetonitrila utilizando cianeto de sódio. O tratamento de 2-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) acetonitrila com base e 1-bromo-2-cloroetano fornece 1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarbonitrila. A porção nitrila em 1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarbonitrila é convertida em um ácido carboxílico utilizando uma base para dar ácido 1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxílico, que é convertido no cloreto de ácido desejado, utilizando cloreto de tionila.

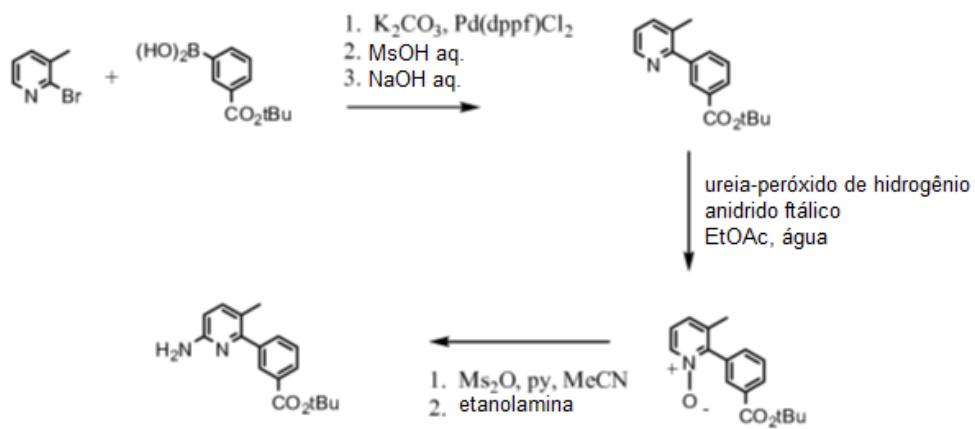
2. Esquema de síntese alternativa da porção de cloreto de ácido.



[00151] O Esquema 2 ilustra uma síntese alternativa do cloreto de

ácido requerido. 5-bromometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol é acoplado com cianoacetato de etila na presença de um catalisador de paládio para formar o etil éster de alfa ciano correspondente. A saponificação da porção éster de ácido carboxílico dá o composto cianoetila. A alquilação do composto cianoetila com 1-bromo-2-cloro etano na presença da base dá o composto cianociclopropila. O tratamento do composto cianociclopropila com uma base dá o sal carboxilato, que é convertido no ácido carboxílico por tratamento com ácido. A conversão do ácido carboxílico no cloreto de ácido é então conseguido usando um agente de cloração tal como cloreto de tionila ou semelhante.

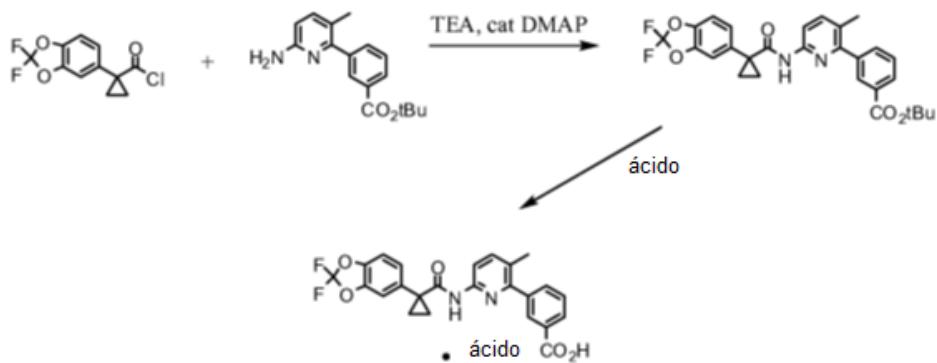
Esquema 3. Síntese da porção amina.



[00152] Esquema 3 descreve a preparação do requisito de 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato de terc-butila, que é acoplado com cloreto de 1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarbonila no Esquema 3 para dar o Composto 1. O acoplamento catalisado por paládio de 2-bromo-3-metilpiridina com ácido 3-(terc-butoxicarbonil)fenilborônico dá (3-metilpiridin-2-il)benzoato de terc-butila, que é subsequentemente convertido no composto desejado.

Esquema 4. Formação de um sal de ácido de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-

metilpiridin-2-il)benzoico.



[00153] O esquema 4 descreve o acoplamento de cloreto de 1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarbonila com 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il) benzoato de terc-butila utilizando trietilamina e 4-dimetilaminopiridina, para proporcionar inicialmente o terc-butil éster do Composto 1.

Composto 1 Forma I

[00154] O Composto 1 Forma I é preparado por dispersão ou dissolução de uma forma de sal, tal como o sal de HCl, de Composto 1 em um solvente apropriado por uma quantidade eficaz de tempo. Tratamento do terc-butil éster com um ácido tal como HCl, dá o sal de HCl do Composto 1, que é tipicamente um sólido cristalino. Composto 1 Forma I pode também ser preparado diretamente a partir do precursor terc-butil éster por tratamento com um ácido apropriado, tal como ácido fórmico.

[00155] O sal de HCl de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico pode ser usado para fazer a Forma I, dispersando ou dissolvendo o sal de HCl de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico em um solvente apropriado por uma quantidade eficaz de tempo. Outros sais de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico podem ser utilizados, tal como, por exemplo,

sais derivados de outros minerais ou ácidos orgânicos. Os outros sais resultam da hidrólise mediada por ácido da porção terc-butil éster. Os sais derivados de outros ácidos podem incluir, por exemplo, nítrico, sulfúrico, fosfórico, bórico, acético, benzoico e malônico. Essas formas de sal de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico podem ou não ser solúveis, dependendo do solvente utilizado, mas a falta de solubilidade não impede a formação de Composto 1 Forma I. Por exemplo, em uma modalidade, o solvente adequado pode ser água ou um álcool / água, tal como mistura de 50% de mistura de metanol / água, embora a forma de sal de HCl de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico seja apenas pouco solúvel em água. Em uma modalidade, o solvente apropriado é a água.

[00156] A quantidade eficaz de tempo para a formação de Composto 1 Forma I a partir do sal de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico pode ser a qualquer momento entre 2 a 24 horas ou mais. Reconhece-se que a quantidade de tempo necessário é inversamente proporcional à temperatura. Isto é, quanto maior a temperatura menor o tempo necessário para afetar dissociação de ácido, para formar o Composto 1 da Forma I. Quando o solvente é água, agitar a dispersão durante cerca de 24 horas à temperatura ambiente fornece o Composto 1 Forma I com um rendimento de aproximadamente 98%. Se uma solução do sal de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico é desejada para fins de processo, pode ser usada uma temperatura elevada. Depois de agitar a solução durante uma quantidade eficaz de tempo a uma temperatura elevada, recristalização após arrefecimento fornece o Composto 1 Forma I substancialmente puro. Em uma

modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 90% de pureza. Em uma outra modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 95% de pureza. Em uma outra modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 98% de pureza. Em uma outra modalidade, substancialmente puro refere-se a maior do que cerca de 99% de pureza. A temperatura escolhida depende, em parte, do solvente utilizado e está bem dentro das capacidades de determinação de um versado na técnica. Em uma modalidade, a temperatura está entre a temperatura ambiente e cerca de 80 °C. Em uma outra modalidade, a temperatura está entre a temperatura ambiente e cerca de 40 °C. Em uma outra modalidade, a temperatura está entre cerca de 40 °C e cerca de 60 °C. Em uma outra modalidade, a temperatura está entre cerca de 60 °C e cerca de 80 °C.

[00157] O Composto 1 Forma I pode também ser formado diretamente a partir de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (vide Esquema 3), que é um precursor para o sal do Composto 1. Deste modo, 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato é permitido se submeter à reação com um ácido apropriado, tal como, por exemplo, ácido fórmico sob condições de reação adequadas para se obter o Composto 1 da Forma I.

[00158] O Composto 1 Forma I pode ser ainda purificado por recristalização a partir de um solvente orgânico. Exemplos de solventes orgânicos incluem, mas não estão limitados a, tolueno, cumeno, anisol, 1-butanol, acetato de isopropila, acetato de butila, acetato de isobutila, metil-t-butil éter, metil isobutil cetona e misturas de 1-propanol-água. A temperatura pode ser como descrita acima. Por exemplo, o Composto 1 Forma I é dissolvido em 1-butanol a 75 °C até que esteja completamente dissolvido. Arrefecer a solução para 10 °C a

uma velocidade de 0,2 °C / min rende cristais de Composto 1 Forma I, que podem ser isolados por filtração.

[00159] Em uma modalidade, o Composto 1 Forma I é caracterizado por um ou mais picos a 15,2-15,6 graus, 16,1-16,5 graus, e 14,3-14,7 graus em uma difração de pó por raios X obtida utilizando radiação alfa Cu K. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é caracterizado por um ou mais picos a 15,4, 16,3, e 14,5 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 14,6-15,0 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 14,8 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 17,6-18,0 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 17,8 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 16,4-16,8 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 16,4-16,8 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 16,6 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 7,6-8,0 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 7,8 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 25,8-26,2 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda mais caracterizado por um pico a 26,0 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 21,4-21,8 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 21,6 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 23,1-23,5 graus. Em uma outra modalidade, o Composto 1 Forma I é ainda caracterizado por um pico a 23,3 graus. Em algumas

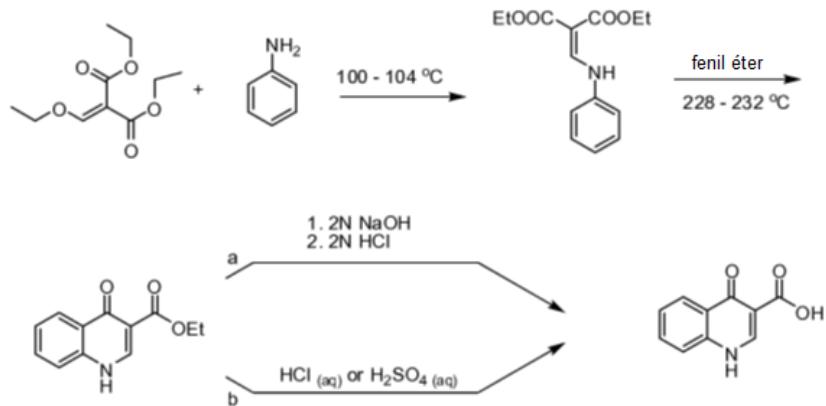
modalidades, o Composto 1 Forma I é caracterizado por um padrão de difração substancialmente semelhante ao da Figura 1. Em algumas modalidades, o Composto 1 Forma I é caracterizado por um padrão de difração substancialmente semelhante ao da Figura 2.

[00160] Em algumas modalidades, a distribuição do tamanho de partícula D90 é de cerca de 82 µm ou menos para o Composto 1 da Forma I. Em algumas modalidades, a distribuição do tamanho de partícula D50 é de cerca de 30 ou menos µm para o Composto 1 da Forma I.

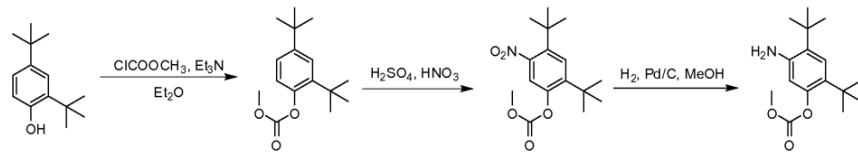
Composto 2

[00161] O composto 2 é o ponto de partida para a dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó e pode ser preparado por acoplamento de uma porção de ácido 4-oxo-di-hidroquinolina carboxílico com um grupo amina de acordo com os Esquemas 5-7.

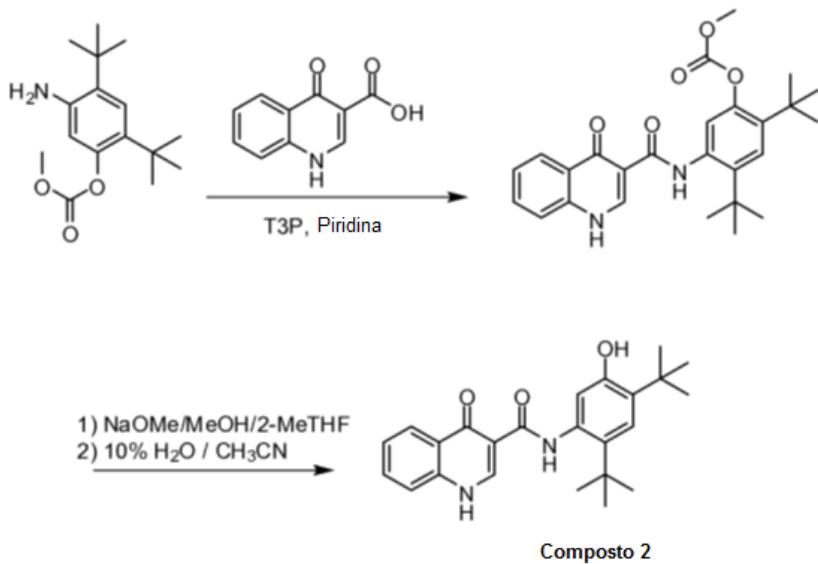
Esquema 5: Síntese da porção de ácido 4-oxo di-hidroquinolina carboxílico.



Esquema 6: Síntese da porção amina.



Esquema 7: O acoplamento da porção ácido carboxílico 4-oxo-di-hidroquinolina com a porção amina.



Dispersão Sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfó

[00162] A partir do composto 2 a forma amorfa do Composto 2 pode ser preparada por métodos secos por pulverização. A secagem por pulverização é um processo que converte uma alimentação de líquido em uma forma em partículas secas. Opcionalmente, um processo de secagem secundário, tais como a secagem em leito fluidizado ou secagem a vácuo, pode ser usado para reduzir solventes residuais para níveis farmaceuticamente aceitáveis. Normalmente, a secagem por pulverização envolve o contato de uma suspensão líquida altamente dispersa ou solução, e um volume suficiente de ar quente para produzir evaporação e secagem das gotículas líquidas. A preparação a ser seca pode ser qualquer solução, suspensão grosseira, suspensão, dispersão coloidal ou pasta fluida que possa ser atomizada utilizando o aparelho de secagem por aspersão selecionado. Em um procedimento padrão, a preparação é pulverizada para uma corrente de ar quente filtrado que evapora o solvente e

transporta o produto seco para um coletor (por exemplo, um ciclone). O ar é então passado esgotado com o solvente, ou, alternativamente, o ar esgotado é enviado para um condensador para capturar e potencialmente reciclar o solvente. Tipos comercialmente disponíveis de aparelhos podem ser usados para realizar a secagem por pulverização. Por exemplo, os secadores por pulverização comerciais são fabricados por Buchi Ltd. e Niro (por exemplo, a linha PSD de secadores por pulverização produzidos por Niro) (vide, US 2004/0105820, US 2003/0144257).

[00163] A secagem por pulverização tipicamente emprega cargas sólidas de material de cerca de 3% a cerca de 30% em peso, (isto é, a fármaco e os excipientes), por exemplo cerca de 4% a cerca de 20% em peso, de preferência pelo menos cerca de 10%. Em geral, o limite superior de cargas sólidas é governado pela viscosidade (por exemplo, a capacidade de bombear) a solução resultante e a solubilidade dos componentes na solução. Geralmente, a viscosidade da solução pode determinar o tamanho da partícula no produto em pó resultante.

[00164] As técnicas e os métodos para a secagem por pulverização podem ser encontrados em Perry's Chemical Engineering Handbook, 6^a ed., R.H. Perry, D.W. Green & J.O. Maloney, eds.), McGraw-Hill book co. (1984); e Marshall "Atomization and Spray-Drying" 50, Chem. Eng. Prog. Monogr. Série 2 (1954). Em geral, a secagem por pulverização é realizada com uma temperatura de entrada de cerca de 60 °C até cerca de 200 °C, por exemplo, a partir de cerca de 95 °C até cerca de 185 °C, a partir de cerca de 110 °C a cerca de 182 °C, a partir de cerca de 96 °C até cerca de 180 °C, por exemplo, cerca de 145 °C. A secagem por pulverização é geralmente realizada com uma temperatura de saída de cerca de 30 °C a cerca de 90 °C, por exemplo de cerca de 40 °C até cerca de 80 °C, cerca de 45 °C até cerca de 80 °C, por exemplo, cerca de 75 °C . A taxa de fluxo de atomização é geralmente de cerca de 4

kg/h até cerca de 12 kg/h, por exemplo, a partir de cerca de 4,3 kg/h a cerca de 10,5 kg/h, por exemplo, cerca de 6 kg/h ou cerca de 10,5 kg/h. A taxa de fluxo de alimentação é geralmente de cerca de 3 kg/h a cerca de 10 kg/h, por exemplo, entre cerca de 3,5 kg/h a cerca de 9,0 kg/h, por exemplo, cerca de 8 kg/h ou cerca de 7,1 kg/h. A proporção de atomização é geralmente de cerca de 0,3 a 1,7, por exemplo, a partir de cerca de 0,5 a 1,5, por exemplo, cerca de 0,8 ou cerca de 1,5.

[00165] A remoção do solvente pode exigir uma etapa de secagem subsequente, tal como secagem em bandeja, secagem em leito fluido (por exemplo, a partir de cerca da temperatura ambiente até cerca de 100 °C), secagem sob vácuo, secagem por micro-ondas, secagem em tambor rotativo ou secagem em vácuo bicônico (por exemplo, a partir de cerca da temperatura ambiente até cerca de 200 °C).

[00166] Em uma modalidade, a dispersão é seca por pulverização em leito fluidizado seco.

[00167] Em um processo, o solvente inclui um solvente volátil, por exemplo, um solvente tendo um ponto de fusão de menos do que cerca de 100 °C. Em algumas modalidades, o solvente inclui uma mistura de solventes, por exemplo uma mistura de solventes voláteis ou uma mistura de solventes voláteis e não voláteis. Quando são utilizadas misturas de solventes, a mistura pode incluir um ou mais solventes não voláteis, por exemplo, onde o solvente não volátil está presente na mistura em menos do que cerca de 15%, por exemplo, menos do que cerca de 12%, menos do que cerca de 10%, menos do que cerca de 8%, menos do que cerca de 5%, menos do que cerca de 3%, ou menos do que cerca de 2%.

[00168] Os solventes preferidos são os solventes em que o Composto 2 tem uma solubilidade de pelo menos cerca de 10 mg/ml, (por exemplo, pelo menos cerca de 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg / m1,30 mg / m1,35 mg/ml, 40 mg/ml, 45 mg/ml, 50 mg/ml, ou superior).

Os solventes mais preferidos incluem aqueles onde Composto 2 tem uma solubilidade de pelo menos cerca de 20 mg/ml.

[00169] Exemplos de solventes que podem ser testados incluem acetona, ciclo-hexano, diclorometano, N,N-dimetilacetamida (DMA), N,N-dimetilformamida (DMF), 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (DMI), dimetil sulfóxido (DMSO), dioxano, acetato de etila, etil éter, o ácido acético glacial (HAc), metil etil cetona (MEK), N-metil-2-pirrolidinona (NMP), metil terc-butil éter (MTBE), tetra-hidrofurano (THF), pentano, acetonitrila, metanol, etanol, álcool isopropílico, acetato de isopropila, e tolueno. Os cossolventes exemplares incluem acetona / DMSO, acetona / DMF, acetona / água, MEK / água, THF / água, dioxano / água. Em um sistema de dois solventes, os solventes podem estar presentes em de cerca de 0,1% a cerca de 99,9%. Em algumas modalidades preferidas, a água é um cossolvente com acetona onde a água está presente entre cerca de 0,1% a cerca de 15%, por exemplo cerca de 9% a cerca de 11%, por exemplo, cerca de 10%. Em algumas modalidades preferidas, a água é um cossolvente com MEK em que a água está presente entre cerca de 0,1% a cerca de 15%, por exemplo cerca de 9% a cerca de 11%, por exemplo, cerca de 10%. Em algumas modalidades da solução de solvente incluir três solventes. Por exemplo, a acetona e a água podem ser misturadas com um terceiro solvente, tal como DMA, DMF, DMI, DMSO, ou HAc. Nos casos em que o Composto 2 substancialmente amorfó é um componente de uma dispersão sólida, os solventes preferidos dissolvem tanto o Composto 2 quanto o polímero. Os solventes adequados incluem os descritos acima, por exemplo, MEK, acetona, água, metanol e suas misturas.

[00170] O tamanho de partícula e da gama de temperatura de secagem podem ser modificados para preparar uma dispersão de secagem por pulverização ideal. Como seria apreciado por

profissionais especializados, um tamanho pequeno de partícula iria conduzir a uma melhor remoção do solvente. Os requerentes descobriram no entanto, que as partículas menores podem conduzir a partículas macias que, em algumas circunstâncias não proporcionam dispersões de secagem por pulverização ideais para processamento a jusante, tais como comprimidos. A temperaturas mais elevadas, cristalização ou degradação química de Composto 2 substancialmente amorfo pode ocorrer. A temperaturas mais baixas, uma quantidade suficiente do solvente não pode ser removida. Os métodos aqui proporcionam um tamanho de partícula ideal e uma temperatura de secagem ideal.

[00171] Em geral, o tamanho de partícula é tal que D10 (μm) é menos do que cerca de 5, por exemplo, menos do que cerca de 4,5, menos do que cerca de 4,0, ou menos do que cerca de 3,5, D50 (μm) é geralmente menos do que cerca de 17, por exemplo, menos do que cerca de 16, menos do que cerca de 15, menos do que cerca de 14, menos do que cerca de 13, e D90 (μm) é geralmente menos do que cerca de 175, por exemplo, menos do que cerca de 170, menos do que cerca de 170, menos do que cerca de 150, menos do que cerca de 125, menos do que cerca de 100, menos do que cerca de 90, menos do que cerca de 80, menos do que cerca de 70, menos do que cerca de 60, ou menos do que cerca de menos do que cerca de 50. Em geral, a densidade a granel das partículas secas por pulverização é entre cerca de 0,08 g/cc até cerca de 0,20 g/cc, por exemplo, a partir de cerca de 0,10 até cerca de 0,15 g/cc, por exemplo, cerca de 0,11 g/cc ou cerca de 0,14 g/cc. A densidade de empacotamento das partículas secas por pulverização em geral, varia de cerca de 0,08 g/cc até cerca de 0,20 g/cc, por exemplo, a partir de cerca de 0,10 até cerca de 0,15 g/cc, por exemplo, cerca de 0,11 g/cc ou cerca de 0,14 g/cc, para 10 derivações; 0,10 g/cc até cerca de 0,25 g/cc, por exemplo, a partir de

cerca de 0,11 até cerca de 0,21 g/cc, por exemplo, cerca de 0,15 g/cc, cerca de 0,19 g/cc, ou cerca de 0,21 g/cc para 500 derivações; 0,15 g/cc até cerca de 0,27 g/cc, por exemplo, a partir de cerca de 0,18 até cerca de 0,24 g/cc, por exemplo, cerca de 0,18 g/cc, cerca de 0,19 g/cc, cerca de 0,20 g/cc, ou cerca de 0,24 g/cc para 1250 derivações; e 0,15 g/cc até cerca de 0,27 g/cc, por exemplo, a partir de cerca de 0,18 até cerca de 0,24 g/cc, por exemplo, cerca de 0,18 g/cc, cerca de 0,21 g/cc, cerca de 0,23 g/cc, ou cerca de 0,24 g/cc por 2500 derivações.

Polímeros

[00172] Dispersões secas por pulverização incluindo o Composto 2 amorfó e um polímero (ou veículo de estado sólido), também são aqui incluídas. Por exemplo, o Composto 2 está presente como um composto amorfó como um componente de uma dispersão sólida amorfá. A dispersão sólida amorfá, inclui, geralmente, o Composto 2 substancialmente amorfó e um polímero. Exemplos de polímeros incluem polímeros celulósicos, tais como HPMC ou HPMCAS e pirrolidona contendo polímeros tais como PVP/VA. Em algumas modalidades, a dispersão sólida amorfá inclui um ou mais excipientes adicionais, tais como um tensoativo.

[00173] Em uma modalidade, um polímero é capaz de se dissolver em meio aquoso. A solubilidade dos polímeros pode ser independente do pH ou dependente do pH. Estes últimos incluem um ou mais polímeros entéricos. O termo "polímero entérico" refere-se a um polímero que é preferivelmente solúvel no meio menos ácido do intestino relativo ao ambiente mais ácido do estômago, por exemplo, um polímero que é insolúvel em meios aquosos ácidos, mas solúvel quando o pH está acima de 5-6. Um polímero adequado deve ser química e biologicamente inerte. A fim de melhorar a estabilidade física das dispersões de secagem por pulverização, a temperatura de transição vítreia (Tg) do polímero deve ser tão elevada quanto

possível. Por exemplo, os polímeros preferidos têm uma temperatura de transição vítreia pelo menos igual a ou maior do que a temperatura de transição vítreia do fármaco (isto é, o Composto 2). Outros polímeros preferidos têm uma temperatura de transição vítreia que está dentro de cerca de 10 a cerca de 15 °C do fármaco (isto é, o Composto 2). Exemplos de temperaturas de transição vítreia dos polímeros adequados incluem, pelo menos, cerca de 90 °C, pelo menos cerca de 95 °C, pelo menos cerca de 100 °C, pelo menos cerca de 105 °C, pelo menos cerca de 110 °C, pelo menos cerca de 115 °C, pelo menos cerca de 120 °C, pelo menos cerca de 125 °C, pelo menos cerca de 130 °C, pelo menos cerca de 135 °C, pelo menos cerca de 140 °C, pelo menos cerca de 145 °C, pelo menos cerca de 150 °C, pelo menos cerca de 155 °C, pelo menos cerca de 160 °C, pelo menos cerca de 165 °C, pelo menos cerca de 170 °C, ou pelo menos cerca de 175 °C (como medido em piso seco). Sem se pretender ficar limitado pela teoria, acredita-se que o mecanismo subjacente é que um polímero com uma Tg elevada geralmente tem mobilidade molecular mais baixa, à temperatura ambiente, o que pode ser um fator crucial na estabilização da estabilidade física da dispersão de secagem por pulverização amorfada.

[00174] Além disso, a higroscopicidade dos polímeros deve ser tão baixa, por exemplo, menos do que cerca de 10%. Para fins de comparação neste pedido, a higroscopicidade de um polímero ou composição caracteriza-se em cerca de 60% de umidade relativa. Em algumas modalidades preferidas, o polímero tem menos do que cerca de 10% de absorção de água, por exemplo menos do que cerca de 9%, menos do que cerca de 8%), menos do que cerca de 7%, menos do que cerca de 6%, menos do que cerca de 5%, menos do que cerca de 4%, menos do que cerca de 3%, ou menos do que a absorção de água de cerca de 2%. A higroscopicidade pode também afetar a

estabilidade física das dispersões de secagem por pulverização. Geralmente, a umidade adsorvida nos polímeros pode reduzir significativamente a Tg dos polímeros, bem como as dispersões de secagem por pulverização resultantes, que irão reduzir ainda mais a estabilidade física das dispersões de secagem por pulverização tal como descrito acima.

[00175] Em uma modalidade, o polímero é um ou mais polímero (s) solúvel em água ou polímero (s) parcialmente solúvel em água. Polímeros solúveis em água ou parcialmente solúveis em água incluem mas não estão limitados a derivados de celulose (por exemplo, hidroxipropilmetylcelulose (HPMC), hidroxipropilcelulose (HPC)) ou etilcelulose; polivinilpirrolidonas (PVP); polietilenoglicóis (PEG); álcoois polivinílicos (PVA); acrilatos, tal como polimetacrilato (por exemplo, Eudragit® E); (por exemplo, ciclodextrinas, β -ciclodextrina) e copolímeros e seus derivados, incluindo, por exemplo PVP-VA (acetato de polivinilpirrolidona-vinila).

[00176] Em algumas modalidades, o polímero é hidroxipropilmetylcelulose (HPMC), tais como HPMCAS, HPMC E50, HPMCE15, ou HPMC60SH50.

[00177] Conforme aqui discutido, o polímero pode ser um polímero entérico dependente do pH. Tais polímeros entéricos dependentes do pH incluem, mas não estão limitados a, derivados de celulose (por exemplo, ftalato de acetato de celulose (CAP)), ftalatos de hidroxipropil metilcelulose (HPMCP), succinato de acetato de hidroxipropil metil celulose (HPMCAS), carboximetilcelulose (CMC) ou um seu sal (por exemplo, um sal de sódio tal como (CMC-Na)); trimelitato de acetato de celulose (CAT), ftalato de acetato de hidroxipropilcelulose (HPCAP), ftalato de acetato de hidroxipropilmetyl celulose (HPMCAP), e ftalato de acetato de metilcelulose (MCAP), ou polimetacrilatos (por exemplo, Eudragit® S). Em algumas modalidades, o polímero é

succinato de acetato de hidroxipropil metilcelulose (HPMCAS). Em algumas modalidades, o polímero é grau HG de succinato de acetato de hidroxipropil metilcelulose (HPMCAS-HG).

[00178] Em ainda outra modalidade, o polímero é um copolímero de polivinilpirrolidona, por exemplo, copolímero de avinilpirrolidona / acetato de vinila (PVP/VA).

[00179] Em modalidades onde o composto 2 forma uma dispersão de secagem por pulverização com um polímero, por exemplo com um polímero HPMC, HPMCAS, ou PVP/VA, a quantidade de polímero em relação ao peso total da dispersão de secagem por pulverização varia de cerca de 0,1% a 99% em peso. Salvo especificação em contrário, as percentagens de fármaco, polímero e outros excipientes como descritos dentro de uma dispersão são dadas em percentagens em peso. A quantidade de polímero é geralmente pelo menos cerca de 20%, e de preferência pelo menos cerca de 30%, por exemplo, pelo menos cerca de 35%, pelo menos cerca de 40%, pelo menos cerca de 45%, ou cerca de 50% (por exemplo, 49,5%). A quantidade é tipicamente de cerca de 99% ou menos, e preferivelmente cerca de 80% ou menos, por exemplo cerca de 75% ou menos, cerca de 70% ou menos, cerca de 65% ou menos, cerca de 60% ou menos, ou cerca de 55% ou menos. Em uma modalidade, o polímero está presente em uma quantidade de até cerca de 50% do peso total da dispersão (e ainda mais especificamente, entre cerca de 40% e 50%, tal como cerca de 49%, cerca de 49,5%, ou cerca de 50%). HPMC e HPMCAS estão disponíveis numa variedade de graus de ShinEtsu, por exemplo, HPMCAS está disponível em um número de variedades, incluindo AS-LF, MF-AS, AS-HF, AS-LG, AS-MG, AS-HG. Cada um destes tipos pode variar com a percentagem de substituição de acetato e succinato.

[00180] Em algumas modalidades, Composto 2 substancialmente

amorfo e polímero estão presentes em quantidades aproximadamente iguais, por exemplo cada um dentre o polímero e o fármaco constituem cerca de metade da percentagem em peso da dispersão. Por exemplo, o polímero está presente em cerca de 49,5% e o fármaco está presente em cerca de 50%.

[00181] Em algumas modalidades, Composto 2 substancialmente amorfo e o polímero combinado representam 1% a 20% p/p teor de sólidos total da dispersão de pulverização não seca antes da secagem por pulverização. Em algumas modalidades, o Composto 2 e substancialmente amorfo do polímero combinados representam 5% a 15% p/p teor de sólidos total da dispersão de pulverização não seca antes da secagem por pulverização. Em algumas modalidades, o Composto 2 e substancialmente amorfo do polímero combinados representam cerca de 11% p/p de conteúdo total de sólidos da dispersão não seco por pulverização antes da secagem por pulverização.

[00182] Em algumas modalidades, a dispersão inclui adicionalmente outros ingredientes menores, tais como um tensoativo (por exemplo, o SLS). Em algumas modalidades, o tensoativo está presente em menos do que cerca de 10% de dispersão, por exemplo, menos do que cerca de 9%, menos do que cerca de 8%, menos do que cerca de 7%, menos do que cerca de 6%, menos do que cerca de 5%, menos do que cerca de 4%, menos do que cerca de 3%, menos do que cerca de 2%, cerca de 1%), ou cerca de 0,5%.

[00183] Em modalidades incluindo um polímero, o polímero deve estar presente em uma quantidade eficaz para estabilizar a dispersão de secagem por pulverização. Estabilizar inclui inibição ou prevenção da cristalização do Composto 2 substancialmente amorfo. Tal estabilização iria inibir a conversão de Composto 2 de amorfó para a forma cristalina. Por exemplo, o polímero impediria, pelo menos, uma

porção (por exemplo, cerca de 5%, cerca de 10%, cerca de 15%, cerca de 20%, cerca de 25%, cerca de 30%, cerca de 35%, cerca de 40%, cerca de 45%, cerca de 50%, cerca de 55%, cerca de 60%, cerca de 65%, cerca de 70%, cerca de 75%, ou maior) do Composto 2 de conversão de um amorfó para uma forma cristalina. A estabilização pode ser medida, por exemplo, através da medição da temperatura de transição vítreia da dispersão de secagem por pulverização, a medição da taxa de relaxamento do material amorfó, ou medindo a solubilidade ou a biodisponibilidade do Composto 2.

[00184] Os polímeros adequados para utilização em combinação com o composto 2, por exemplo, para formar uma dispersão de secagem por pulverização, tal como uma dispersão de secagem por pulverização amorfa deve ter uma ou mais das seguintes propriedades:

[00185] A temperatura de transição vítreia do polímero deve ter uma temperatura de não menos do que cerca de 10-15 °C mais baixa do que a temperatura de transição vítreia do Composto 2 substancialmente amorfó. De preferência, a temperatura de transição vítreia do polímero é maior do que a temperatura de transição vítreia do Composto 2 substancialmente amorfó, e em geral pelo menos 50 °C mais elevada do que a temperatura de armazenamento desejada do produto do fármaco. Por exemplo, pelo menos cerca de 100 °C, pelo menos cerca de 105 °C, pelo menos cerca de 105 °C, pelo menos cerca de 110 °C, pelo menos cerca de 120 °C, pelo menos cerca de 130 °C, pelo menos cerca de 140 °C, pelo menos cerca de 150 °C, pelo menos cerca de 160 °C, pelo menos cerca de 160 °C, ou superior.

[00186] O polímero deve ser relativamente não higroscópico. Por exemplo, o polímero deve, quando armazenado sob condições padrão, absorver menos do que cerca de 10% de água, por exemplo, menos do que cerca de 9%, menos do que cerca de 8%, menos do que cerca

de 7%, menos do que cerca de 6%, ou menos do que cerca de 5%, menos do que cerca de 4%, ou menos do que cerca de 3% de água. De preferência, o polímero irá, quando armazenado em condições normais, ser substancialmente livre de água absorvida.

[00187] O polímero deve ter uma solubilidade semelhante ou melhor em solventes apropriados para os processos de secagem por pulverização em relação aos do Composto 2. Em modalidades preferidas, o polímero irá dissolver-se em um ou mais dos mesmos solventes ou sistemas de solventes como Composto 2. É preferido que o polímero seja solúvel em pelo menos um não hidróxi contendo solvente, tal como cloreto de metileno, acetona, ou uma sua combinação.

[00188] O polímero, quando combinado com o Composto 2 substancialmente amorfó, por exemplo, em uma dispersão de secagem por pulverização ou em uma suspensão líquida, deve aumentar a solubilidade do Composto 2 em meios aquosos e fisiologicamente relativos quer em relação à solubilidade do Composto 2 na ausência de polímero ou em relação à solubilidade do Composto 2 quando combinado com um polímero de referência. Por exemplo, o polímero pode aumentar a solubilidade do Composto 2 amorfó, reduzindo a quantidade de Composto 2 amorfó que se converte em Composto 2 cristalino, quer a partir de uma dispersão sólida amorfá ou de uma suspensão líquida.

[00189] O polímero deve diminuir a taxa de relaxamento da substância amorfá.

[00190] O polímero deve aumentar a estabilidade física e/ou química do Composto 2 substancialmente amorfó.

[00191] O polímero deve melhorar a capacidade de fabricação do Composto 2 substancialmente amorfó.

[00192] O polímero deve melhorar uma ou mais das propriedades

de manipulação, administração ou armazenamento de Composto 2 substancialmente amorfo.

[00193] O polímero não deve interagir desfavoravelmente com outros componentes farmacêuticos, por exemplo, excipientes.

[00194] A adequação de um polímero candidato (ou outros componentes) pode ser testada utilizando os métodos de secagem por pulverização (ou outros métodos aqui descritos) para formar uma composição amorfa. A composição candidata pode ser comparada, em termos de estabilidade, resistência à formação de cristais, ou outras propriedades, e em comparação com uma preparação de referência, por exemplo, uma preparação de Composto 2 amorfó puro ou Composto 2 cristalino. Por exemplo, uma composição candidata poderia ser testada para determinar se ela inibe o tempo para o início de cristalização mediada por solvente, ou conversão em percentagem em um determinado momento, sob condições controladas, por, pelo menos, 50%, 75%, 100%, ou 110%, bem como a preparação de referência, ou uma composição candidata pode ser testada para determinar se ela tem uma biodisponibilidade melhorada ou solubilidade em relação ao Composto 2 cristalino.

Tensoativos

[00195] A dispersão de secagem por pulverização pode incluir um tensoativo. Uma mistura tensoativo ou tensoativo, em geral, diminui a tensão interfacial entre a dispersão e secagem por pulverização de um meio aquoso. Uma mistura de tensoativos ou tensoativo adequado pode também aumentar a solubilidade aquosa e biodisponibilidade do Composto 2 a partir de uma dispersão de secagem por pulverização. Os tensoativos para uso em conexão com a presente invenção incluem, mas não estão limitados a, ésteres de sorbitano de ácidos graxos (por exemplo, Spans®), ésteres de ácidos graxos de polioxietileno de sorbitano (por exemplo, Tweens®), lauril sulfato de

sódio (SLS), dodecilbenzeno sulfonato de sódio (SDBS) dioctil sulfosuccinato de sódio (Docusate), sal de sódio de ácido dioxicólico (DOSS), monoestearato de sorbitano, triestearato de sorbitano, brometo de hexadeciltrimetil amônio (HTAB), N-lauroilsarcosina de sódio, oleato de sódio, miristato de sódio, estearato de sódio, palmitato de sódio, Gelucire 44/14, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), succinato 100 de d-alfa-tocoferil polietileno glicol de Vitamina E (TPGS), lecitina, 677-692 MW, mono-hidrato de ácido glutâmico monossódico, Labrasol, glicerídeos caprílico / cáprico PEG 8, Transcutol, monoetil éter de dietileno glicol, Solutol HS-15, polietileno glicol / hidroxiestearato, ácido taurocólico, Pluronic F68, Pluronic F108, e Pluronic F127 (ou quaisquer outros copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (Pluronics®) ou glicerídeos poliglicolizados saturados (Gelucirs®)). Exemplos específicos de tais agentes tensoativos que podem ser utilizados em ligação com esta invenção incluem, mas não estão limitados a, Span 65, Span 25, Tween 20, Capryol 90, Pluronic F108, lauril sulfato de sódio (SLS), Vitamina E TPGS, Pluronics e copolímeros. SLS é geralmente preferido.

[00196] A quantidade de tensoativo (por exemplo, SLS) em relação ao peso total da dispersão de secagem por pulverização pode ser entre 0,1-15%. De preferência, é de cerca de 0,5% a cerca de 10%, mais preferivelmente de cerca de 0,5 a cerca de 5%, por exemplo, cerca de 0,5 a 4%, cerca de 0,5 a 3%, cerca de 0,5 a 2%, cerca de 0,5 a 1%), ou cerca de 0,5%.

[00197] Em certas modalidades, a quantidade de tensoativo em relação ao peso total da dispersão de secagem por pulverização é pelo menos cerca de 0,1%, de preferência cerca de 0,5%. Nestas modalidades, o tensoativo estará presente em uma quantidade de não mais do que cerca de 15%, e de preferência não mais do que cerca de 12%, cerca de 11%, cerca de 10%, cerca de 9%, cerca de 8%, cerca

de 7%, cerca de 6%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3%, cerca de 2% ou cerca de 1%. Uma modalidade em que o tensoativo está presente em uma quantidade de cerca de 0,5% em peso é preferida.

[00198] Tensoativos candidatos (ou outros componentes) podem ser testados quanto à adequação para o uso na invenção de um modo semelhante ao descrito para os polímeros de ensaio.

MÉTODOS PARA PREPARAR AS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

[00199] As composições farmacêuticas da invenção podem ser produzidas por, granulação úmida, compactação ou compressão de uma mistura ou composição, por exemplo, um pó ou grânulos, sob pressão para formar uma forma tridimensional estável (por exemplo, um comprimido). Tal como aqui utilizado, "comprimido" inclui formas de unidade de dosagem farmacêuticas comprimidas de todos os formatos e tamanhos, quer revestidas ou não revestidas.

[00200] O termo "comprimido", tal como aqui utilizado refere-se a uma unidade fisicamente discreta de agente apropriada para o paciente a ser tratado. Em geral, uma mistura compactada tem uma densidade maior do que a da mistura antes da compactação. Um comprimido de dosagem da invenção pode ter quase qualquer forma incluindo faces côncavas e/ou convexas, cantos arredondados ou angulosos, e uma forma arredondada para retilínea. Em algumas modalidades, os comprimidos prensados da presente invenção compreendem um comprimido arredondado tendo faces planas. Os comprimidos da invenção podem ser preparados por qualquer método conhecido de compactação e compressão por pessoas com conhecimentos normais na técnica de formar formas de dosagem farmacêuticas sólidas comprimidas. Em modalidades particulares, as formulações aqui proporcionadas podem ser preparadas utilizando métodos convencionais conhecidos pelos especialistas no domínio da formulação farmacêutica, tal como descrito, por exemplo, em livros de

texto pertinentes. Vide, por exemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21a Ed, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md (2003); Ansel et al, Pharmaceutical Dosage Frms And Drug Delivery Systems, 7^a Edição, Lippincott Williams & Wilkins, (1999); The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4th Edition, Rowe et al., Eds, American Pharmaceuticals Association (2003); Gibson, Pharmaceutical Preformulation And Formulation, CRC Press (2001), estas referências aqui incorporadas como referência na sua totalidade.

Granulação e Compressão

[00201] Em algumas modalidades, os ingredientes são pesados de acordo com a fórmula aqui definida. Em seguida, todos os ingredientes intragranulares são peneirados e misturados bem. Os ingredientes podem ser lubrificados com um lubrificante adequado, por exemplo, estearato de magnésio. A próxima etapa pode compreender compactação / trituração da mistura em pó e ingredientes dimensionados. Em seguida, as misturas compactadas ou trituradas são moídas em grânulos e peneiradas para se obter o tamanho desejado. Em seguida, os grânulos podem ainda ser lubrificados com, por exemplo, estearato de magnésio. Em seguida, a composição granular da presente invenção pode ser comprimida em punções adequadas para várias formulações farmacêuticas de acordo com a invenção. Opcionalmente, os comprimidos podem ser revestidos com um filme, corante ou outro revestimento.

[00202] Um outro aspecto da invenção proporciona um método para a produção de uma composição farmacêutica que compreende proporcionar uma mistura de uma composição compreendendo Composto 1 Forma I, de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo e um ou mais excipientes selecionados dentre: um preenchedor, um diluente, um aglutinante, um tensoativo, um lubrificante, um desintegrante, e comprimindo a

composição para formar um comprimido possuindo uma dissolução de pelo menos cerca de 50% em cerca de 30 minutos.

[00203] Em uma outra modalidade, um processo de granulação úmida é realizado para se obter a formulação farmacêutica da presente invenção a partir de uma mistura de ingredientes em pó e líquido. Por exemplo, uma composição farmacêutica compreendendo uma mistura de uma composição compreendendo Composto 1 Forma I, uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, e um ou mais excipientes selecionados dentre: um preenchedor, um aglutinante, um tensoativo, ou um agente de desintegração, são pesados de acordo com a fórmula aqui definida. Em seguida, todos os ingredientes intragranulares são peneirados e misturados num granulador de alto cisalhamento ou de baixo cisalhamento usando água ou água com um tensoativo ou água com um ligante ou água com um tensoativo e um ligante para granular a mistura em pó. Um outro fluido que não a água também pode ser usado com ou sem tensoativo e/ou agente de ligação para granular a mistura em pó. Em seguida, os grânulos úmidos podem opcionalmente ser moídos utilizando um moinho adequado. Em seguida, a água pode, opcionalmente, ser removida da mistura por secagem dos ingredientes de qualquer maneira adequada. Em seguida, os grânulos secos podem ser opcionalmente moídos para o tamanho necessário. Em seguida, os excipientes adicionais granulares podem ser adicionados por mistura (por exemplo um preenchedor, um diluente e um desintegrante). Em seguida, os grânulos dimensionados podem ser mais lubrificados com estearato de magnésio e um agente de desintegração, por exemplo, croscarmelose de sódio. Em seguida, a composição granular da presente invenção pode ser peneirada durante um tempo suficiente para obter o tamanho correto e, em seguida, comprimida em punções adequadas para várias formulações

farmacêuticas de acordo com a invenção. Opcionalmente, os comprimidos podem ser revestidos com um filme, corante ou outro revestimento. Surpreendentemente, granulação a úmido pode ser realizada sem perda substancial das formas de estado sólido de Composto 1 Forma I ou Composto 2 substancialmente amorfo.

[00204] Em uma modalidade particularmente preferida, as composições farmacêuticas da presente invenção são preparadas por um processo de granulação úmida de duplo parafuso contínuo (TSWG). Fabricação contínua proporciona produto de alta qualidade e altamente consistente com monitoramento e controle on-line. Fabricação contínua também facilita a qualidade por desenvolvimento de projeto com um espaço de projeto "rico em dados" e um impacto mais fácil de entender de variáveis a montante sobre o processo a jusante e a qualidade do produto final. Além disso, as composições farmacêuticas da presente invenção podem ser finalizadas no início, no equipamento de escala comercial, que evita os riscos de aumento de escala e modificações da formulação no desenvolvimento posterior. Finalmente, fabricação contínua tem vantagens comerciais de fabricação tais como a melhoria de controle de processos, manipulação do produto reduzida e eficiências de liberação tempo real. O resultado global é um processo mais robusto, controlável, e expansível que tem menos controles de processo, resultando em aumento da qualidade do produto e, por conseguinte, uma maior segurança do paciente. Estas vantagens remetem a Janet Woodcock's (diretor do Centro de Avaliação e Pesquisa de Fármacos (CDER)) referem-se à química, fabricação e controle (CMC) que não serão capazes de manterem-se com o desenvolvimento clínico rápido de terapias altamente eficazes ("O que nós estamos vendo é que muitas vezes a etapa limitante irá ser de fabricação". 24 de julho de 2013 Amigos de Câncer hospedaram a coletiva no Congresso

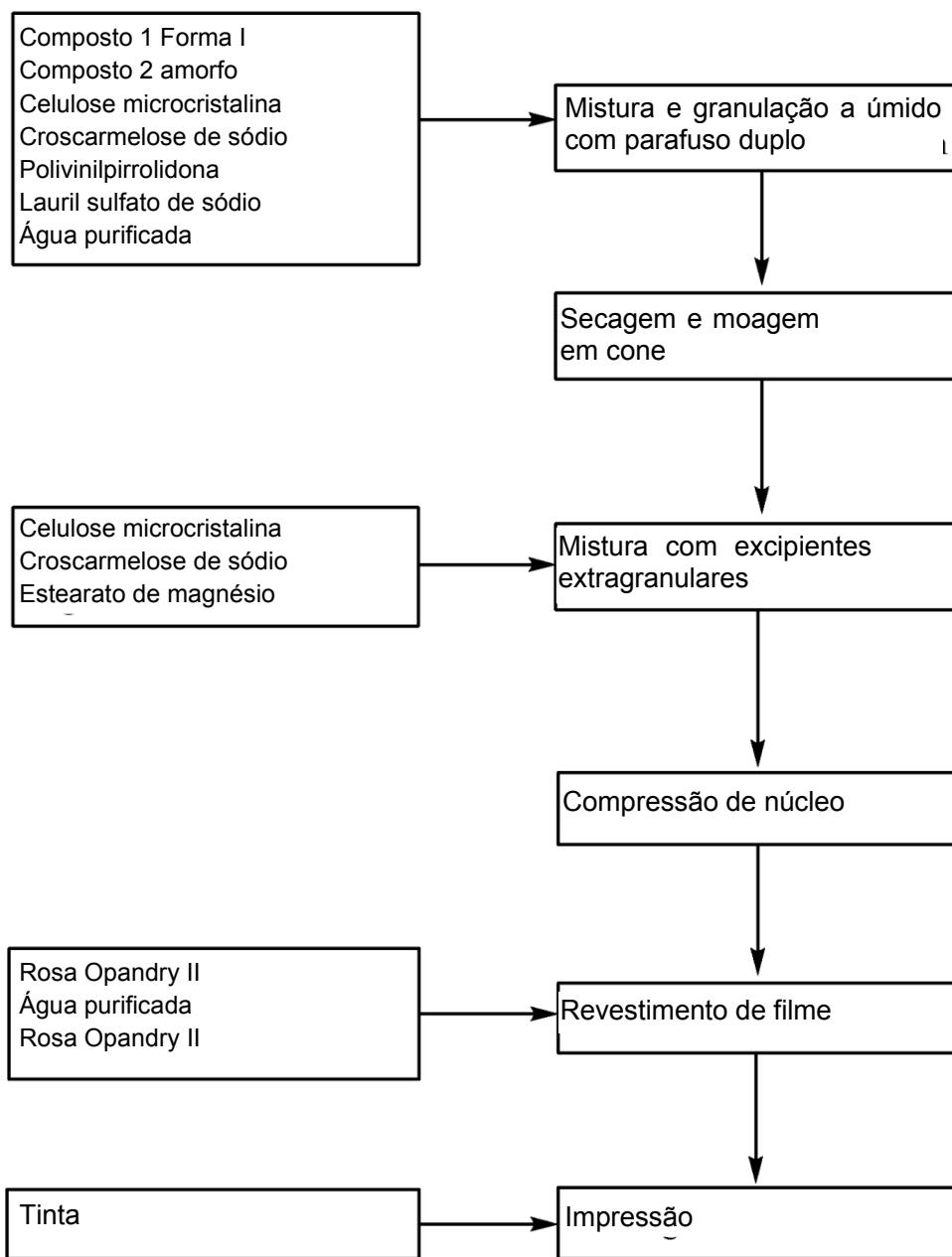
"Respondendo a uma necessidade imperiosa: Fornecendo tratamentos que salvam vidas para pacientes" para discutir Designação de Terapia Breakthrough da Food and Drug Administration).

[00205] Por exemplo, granulação de alto cisalhamento (HSG), uma técnica de granulação comum é bem conhecida para o risco de excesso de granulação e controle de processos fraco. Escalonar este processo é muito desafiador e envolve riscos significativos. A alteração a partir de um processo HSG para um processo contínuo TSWG, permite escalar usando o mesmo equipamento para produzir diferentes tamanhos de lote, através da execução de um tempo mais longo. Isso elimina o risco de escalonamento comumente encontrado com outros processos de granulação. Além disso, verificou-se que o processo TSWG é mais robusto, sendo menos sensível a um excesso de granulação. Como pode ser visto na Figura 3 para um comprimido do Composto 1, o processo HSG mostrou desaceleração de dissolução significativa com o aumento do teor de água, enquanto que o processo TSWG não mostrou uma mudança para uma gama semelhante de adição de água. Surpreendentemente, não houve alterações no desempenho encontrado com as formulações de comprimidos que compreende Composto 1 entre 45-55 por cento, em peso, e as formulações de comprimidos que compreendem o Composto 1 entre 60-70 por cento, em peso, usando o processo de granulação a úmido de parafuso duplo. Este não foi o caso com o processo de HSG. Além disso, este processo contínuo e de aumento da qualidade do produto apresenta queixa comum pela FDA quanto à falta de disponibilidade do fármaco para os pacientes em necessidade do mesmo.

[00206] Em uma modalidade o processo contínuo começa com a alimentação de excipientes individuais, Composto 1, e Composto 2 em um misturador contínuo in-line através de alimentação de perda-em-

peso. Deste misturador, o material é continuamente transportado e processado através da granulação úmida de duplo parafuso, secagem, moagem, adição de excipiente extragrânular, mistura, compressão e revestimento com filme.

[00207] Por exemplo, em uma modalidade, um comprimido compreendendo o Composto 1 e o Composto 2 pode ser preparado continuamente de acordo com o fluxograma abaixo.



[00208] Cada um dos ingredientes desta mistura exemplar é descrito acima e nos Exemplos abaixo. Além disso, a mistura pode compreender aditivos opcionais, tais como, um ou mais corantes, um ou mais aromatizantes, e/ou uma ou mais fragrâncias como descrito acima e nos Exemplos abaixo. Em algumas modalidades, as concentrações relativas (por exemplo, % em peso) de cada um desses ingredientes (e quaisquer aditivos opcionais) na mistura são também apresentadas acima e nos Exemplos abaixo. Os ingredientes que constituem a mistura podem ser fornecidos sequencialmente ou em qualquer combinação de adições; e, os ingredientes ou combinações de ingredientes podem ser fornecidos em qualquer ordem. Em uma modalidade, o lubrificante é o último componente adicionado à mistura.

[00209] Em uma outra modalidade, a mistura compreende uma composição de Composto 1 Forma I, de uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfo, e qualquer um ou mais dos excipientes; um aglutinante, um tensoativo, um diluente, um lubrificante, um desintegrante e um preenchedor, em que cada um destes ingredientes é fornecido na forma de pó (por exemplo, fornecido na forma de partículas tendo uma média ou diâmetro médio, medido por difusão de luz, de 250 µm ou menos (por exemplo, 150 µm ou menos, 100 µm ou menos, 50 ou menos µm, 45 µm ou menos, 40 µm ou menos, ou 35 µm ou menos)).

[00210] Em uma outra modalidade, comprimir a mistura num comprimido é conseguido por preenchimento de uma forma (por exemplo, um molde) com a mistura e a aplicação de pressão à mistura. Isto pode ser realizado utilizando uma prensa de molde ou outro dispositivo semelhante. Em algumas modalidades, a mistura do Composto 1 Forma I, uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, e excipientes podem ser primeiro processados na forma granular. Os grânulos podem então ser

dimensionados e prensados em comprimidos ou formulados para encapsulação de acordo com métodos conhecidos na técnica farmacêutica. Note-se também que a aplicação de pressão à mistura na forma pode ser repetida utilizando a mesma pressão durante cada compressão ou utilizando diferentes pressões durante as compressões. Em outro exemplo, a mistura de ingredientes em pó ou grânulos pode ser comprimida usando uma prensa de molde que aplica pressão suficiente para formar um comprimido possuindo uma dissolução de cerca de 50% ou mais em cerca de 30 minutos (por exemplo, cerca de 55% ou mais em cerca de 30 minutos ou cerca de 60% ou mais em cerca de 30 minutos). Por exemplo, a mistura é comprimida utilizando uma prensa de molde a produzir uma dureza de comprimido de pelo menos cerca de 5 kP (pelo menos cerca de 5,5 kP, pelo menos cerca de 6 kP, pelo menos cerca de 7 kP, pelo menos cerca de 10 kP, ou pelo menos 15 kp). Em alguns casos, a mistura é comprimida para produzir um comprimido de dureza dentre cerca de 5 e 20 kP.

[00211] Em algumas modalidades, os comprimidos que compreendem uma composição farmacêutica como aqui descrito podem ser revestidos com cerca de 3,0% em peso de um revestimento de filme que compreende um corante em peso do comprimido. Em certos casos, a suspensão ou a solução corante usada para revestir os comprimidos compreende cerca de 20% p/p de sólidos por peso da suspensão ou solução de corante. Em ainda outros exemplos, os comprimidos revestidos podem ser marcados com um logotipo, imagem ou outro texto.

[00212] Em uma outra modalidade, o método para a produção de uma composição farmacêutica que compreende o fornecimento de uma mistura de uma forma sólida, por exemplo uma mistura de ingredientes em pó e/ou líquidos, a mistura compreendendo Composto

1 Forma I, uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó e um ou mais excipientes selecionados a partir de: um aglutinante, um diluente, um tensoativo, um lubrificante, um desintegrante e um preenchedor; misturar a mistura até que a mistura seja substancialmente homogênea, e comprimir ou compactar a mistura em uma forma granular. Em seguida, a composição granular compreendendo Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó pode ser comprimida em comprimidos ou formulada em cápsulas como acima descrito ou nos Exemplos abaixo. Alternativamente, os métodos para a produção de uma composição farmacêutica compreende o fornecimento de uma mistura do Composto 1 Forma I, uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, e um ou mais excipientes, por exemplo, um aglutinante, um diluente, um tensoativo, um lubrificante, um desintegrante, e um preenchedor; misturar a mistura até que a mistura seja substancialmente homogênea, e comprimir / compactar a mistura em uma forma granular através de um processo de compactação de grânulos úmido de alto cisalhamento, conforme estabelecido nos exemplos abaixo. As formulações farmacêuticas, por exemplo um comprimido tal como aqui descrito, podem ser feitas utilizando os grânulos preparados incorporando o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, além dos excipientes selecionados aqui descritos.

[00213] Em algumas modalidades, a mistura é misturada por agitação, mistura, agitação, ou semelhantes, utilizando a mistura manual, um misturador, um liquidificador, qualquer combinação dos mesmos, ou semelhantes. Quando os ingredientes ou combinações de ingredientes são adicionados sequencialmente, a mistura pode ocorrer entre as adições sucessivas, de forma contínua ao longo da adição de

ingredientes, depois da adição de todos os ingredientes ou combinações de ingredientes, ou qualquer combinação dos mesmos. A mistura é misturada até que tenha uma composição substancialmente homogênea.

[00214] Em uma outra modalidade, a presente invenção compreende moagem a jato de uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Forma I e de uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfos em um aparelho de moagem apropriado, convencional, utilizando pressão de ar adequada para produzir partículas com uma fração de tamanho de partícula significativa entre 0,1 mícron e 50 mícrons. Em uma outra modalidade, o tamanho de partícula é entre 0,1 mícron e 20 mícrons. Em uma outra modalidade, o tamanho das partículas está entre 0,1 mícron e 10 mícrons. Em uma outra modalidade, o tamanho de partícula é entre 1,0 mícrons e 5 mícrons. Em ainda outra modalidade, a composição farmacêutica tem um tamanho de partícula D50 de 2,0 mícrons.

[00215] As formulações da presente invenção proporcionam uma dosagem fixa de duas APIs para o tratamento eficaz de fibrose cística, uma combinação que tenha recebido uma de apenas duas Breakthrough Therapy Designation da FDA, e fazê-lo com a estabilidade surpreendente como medido pela perda pequena da forma sólida amorfada do Composto 2. A Figura 4 representa a pequena quantidade de cristalinidade do Composto 2 ao longo do tempo no PC-XVII, a 50 °C, após pré-equilíbrio a 60% de umidade relativa. Mesmo depois de cerca de 1000 horas sob estas condições, menos do que 5% em peso de Composto 2 foi cristalizado. A Figura 5 mostra, para PC-XVII que, mesmo na maior temperatura de 60 °C, após o pré-equilibrar a 60% de umidade relativa, a cerca de 1000 horas sob estas condições, menos do que 10% em peso do Composto 2 foi

cristalizado. Figuras 6 e 7 mostram resultados semelhantes para PC-XIX. As presentes formulações, por conseguinte, proporcionam a comodidade de uma dose fixa de duas API de avanço em uma surpreendentemente composição farmacêutica estável. Tais formulações aumentam a adesão do paciente que está diretamente relacionada com o tratamento eficaz de doenças.

[00216] As formas de dosagem preparadas como acima podem ser submetidas a avaliações de dissolução in vitro de acordo com o Test 711 "Dissolution" em United States Pharmacopoeia 29, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md., 2005 ("USP"), para determinar a taxa à qual a substância ativa é liberada das formas de dosagem. O teor de substância ativa e os níveis de impurezas são convenientemente medidos por meio de técnicas tais como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

[00217] Em algumas modalidades, a invenção inclui o uso de materiais de embalagem, tais como recipientes e tampas de polietileno de alta densidade (HDPE), polietileno de baixa densidade (PEBD) e ou polipropileno e/ou vidro, folha de papel glassine, embalagens de alumínio, e bolhas ou tiras compostas de alumínio ou cloreto de polivinila de alta densidade (PVC), incluindo opcionalmente um agente de secagem, polietileno (PE), dicloreto de polivinilideno (PVDC), PVC / PE / PVDC, e semelhantes. Estes materiais de embalagem podem ser utilizados para armazenar as várias composições e formulações farmacêuticas em forma estéril após a esterilização adequada do pacote e dos seus conteúdos utilizando técnicas de esterilização químicas ou físicas comumente utilizadas nas áreas farmacêuticas.

MÉTODOS PARA ADMINISTRAR AS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

[00218] Em um aspecto, as composições farmacêuticas da invenção podem ser administradas a um paciente uma vez por dia ou

cerca de cada 24 horas. Alternativamente, as composições farmacêuticas da invenção podem ser administradas a um paciente duas vezes por dia. Alternativamente, a composição farmacêutica da invenção pode ser administrada a cada 12 horas. Estas composições farmacêuticas são administradas como formulações orais contendo cerca de 25 mg, 50 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, ou 400 mg de Composto 1 Forma I; e cerca de 25 mg, 50 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, ou 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfo. Neste aspecto, em adição ao Composto 1 e Forma I e Composto 2 substancialmente amorfo, as composições farmacêuticas compreendem um preenchedor; um desintegrante; um tensoativo; um ligante; e um lubrificante (dependendo de se a composição farmacêutica é um grânulo ou um comprimido). Por exemplo, uma dose de 400 mg de Composto 1 Forma I pode compreender dois comprimidos da invenção, contendo cada um 200 mg de Composto 1 Forma I. Uma dose de 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfo, pode compreender dois comprimidos da invenção cada contendo 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo.

[00219] Irá também ser apreciado que os compostos e as composições e formulações farmaceuticamente aceitáveis da invenção podem ser utilizados em terapias de combinação; isto é, o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfo e composições farmaceuticamente aceitáveis podem ser administrados concomitantemente com, antes de, ou subsequentemente a, um ou mais outras terapêuticas ou procedimentos médicos desejados.

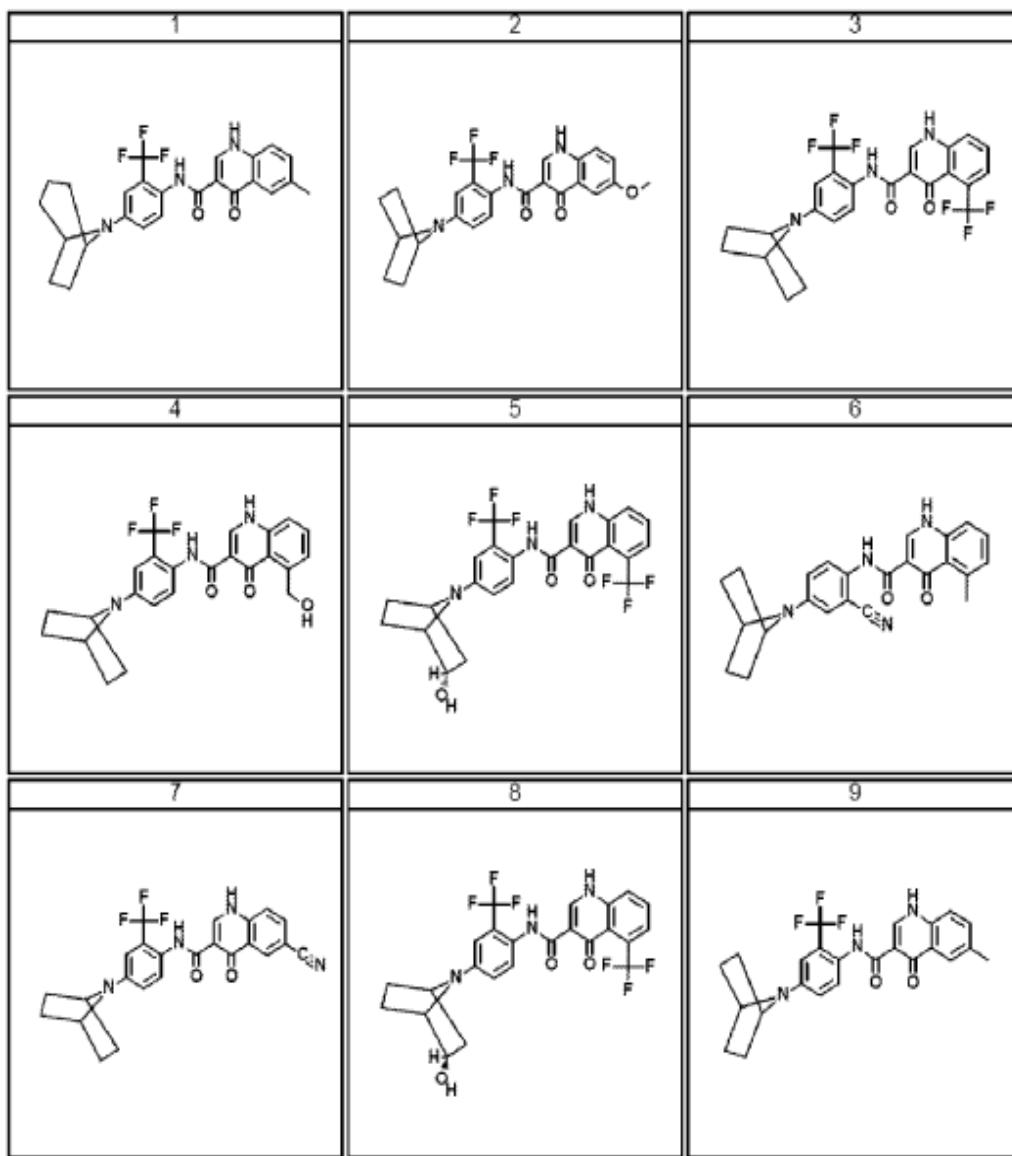
[00220] Em uma modalidade, o agente terapêutico adicional é selecionado dentre um agente mucolítico, broncodilator, um antibiótico, um agente anti-infeccioso, um agente anti-inflamatório, um composto

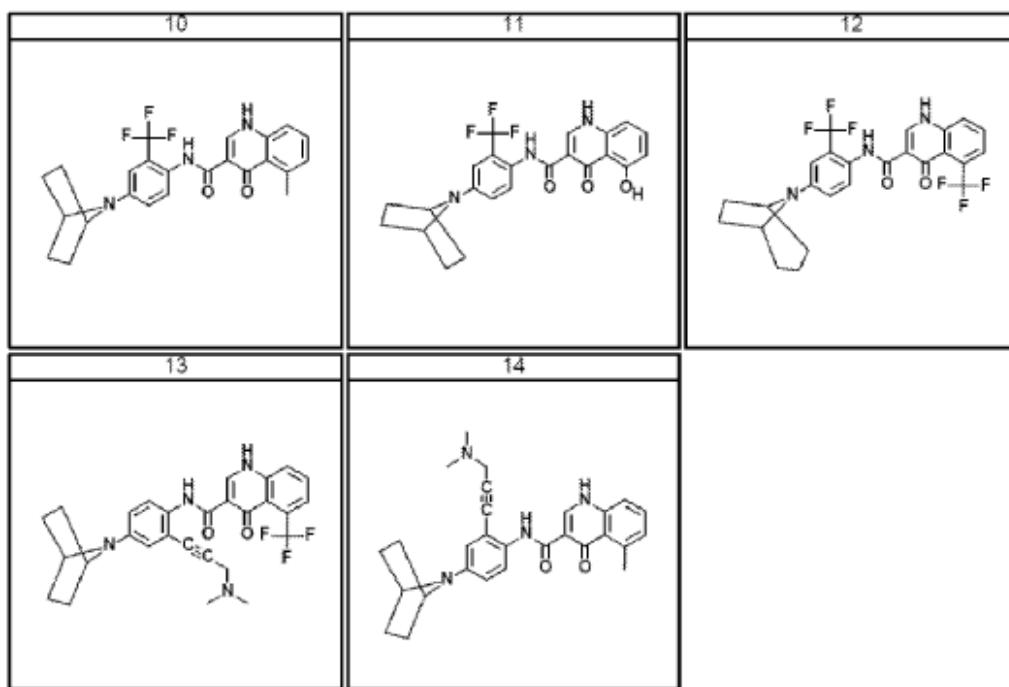
que induz a atividade de CFTR diferente de Composto 1 Forma I e Composto 2 substancialmente amorfos, ou um agente nutricional.

[00221] Em uma modalidade, o agente adicional é (R)-1-(2,2-difluorobenzeno[d] [1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidróxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida.

Em uma outra modalidade, o agente adicional é ácido 4-(3-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido) isoquinolin-1-il) benzoico. Em uma outra modalidade, o agente adicional é selecionado a partir da Tabela 1:

TABELA 1.





[00222] Em uma outra modalidade, o agente adicional é qualquer combinação dos agentes anteriores. Por exemplo, a combinação pode compreender uma composição farmacêutica ou comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfos, e o agente terapêutico adicional é (R)-1-(2,2-difluorobenzeno[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidróxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida. Em outro exemplo, a combinação pode compreender uma composição farmacêutica ou comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfos, e o agente terapêutico adicional é ácido 4-(3-(1-(2,2-difluorobenzeno[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido) isoquinolin-1-il)benzoico. Em outro exemplo, a combinação pode compreender uma composição farmacêutica ou comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfos, e o agente terapêutico adicional é qualquer um dos compostos da Tabela 1, isto é, os compostos 1 a 14 da Tabela

1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00223] Em uma outra modalidade, o agente adicional é selecionado a partir da Tabela 1:

TABELA 1
Compostos divulgados na Patente US No. 7.407.976 (Col 13, linha 35-Na col 66, linha 67; Compostos 1-100 na Tabela 1 na coluna 67, linha 1-col 127, linha 42)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.645.789 (Col 16, linha 52-col 50, linha 22; Compostos 1-322 na Tabela 1 na coluna 50, linha 24-col 167, linha 42)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.659.268 (Col 16, linha 20 col 70,linha 52; Compostos 1-528 na Tabela 1 na col 70, linha 53 col-331, linha 34)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.671.221 (Col 16, linha 12, col-54 linha 48 Compostos 1-1216 na Tabela 1 na coluna 54, linha 49-col 699, linha 27)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.691.902 (Col 16, linha 11-col 54, linha 29; Compostos 1-959 na Tabela 1 na coluna 54, linha 29-col 683, linha 44)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.741.321 (Col 16, linha 25-col 72, linha 17; Compostos 1-422 na Tabela 1 na coluna 72, linha 20-col 279, linha 15)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.754.739 (Col 16, linha 1-col 22, linha 47; Compostos 1-2 na Tabela 1 na coluna 18, linhas 26-65)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.776.905 (Col 16, linha 23-col 38, linha 40; Compostos 1-306 na Tabela 1 na coluna 38, linha 45-col 96, linha 40)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.973.169 (Col 9, linha 16-col 40, linha 40; Compostos 1-289 na Tabela 1 na coluna 40, linha 41-col 289, linha 39)
Compostos divulgados na Patente US No. 7.977.322 (Col 6, linha 26-col 37, linha 47; Compostos 1-498 na Tabela 1 na coluna 37, linha 50-col 141, linha 40)

TABELA 1
Compostos divulgados na Patente US No. 7.999.113 (Col 6, linha 13-col 10, linha 67; Compostos 1-13 na Tabela 1 na coluna 11, linha 5-col 13, linha 65)
Compostos divulgados na Patente US No. 8.227.615 (Col 6, linha 10-col 29, linha 66; Compostos 1-78 na Tabela 1 na coluna 30, linha 1-col 46, linha 48)
Compostos divulgados na Patente US No. 8.299.099 (Col 6, linha 10-col 34, linha 18; Compostos 1-47 na Tabela 1 na coluna 34, linha 20-col 42, linha 35)
Compostos divulgados em Pedido publicado US No. 2006-0052358 (parágrafos [0034] -[0056], [0077] -[0240]; Compostos 1-320 na Tabela 1 no parágrafo [0241])
Compostos divulgados em Pedido Publicado US No. 2009-0143381 (parágrafos [0102] -[0263]; Compostos 1-28 na Tabela 1 no parágrafo [0264])
Os compostos divulgados em Pedido publicado US No. 2009-0170905 (parágrafos [0012] -[0013]; [0030] -[0051])
Compostos divulgados em Pedido Publicado US No. 2009-0253736 (parágrafos [0031] -[0162]; Compostos 1-15 na Tabela 1 no parágrafo [0163])
Compostos divulgados em Pedido publicado US No. 2011-0263654 (parágrafos [0012] -[0013]; [0066] -[0141])
Compostos divulgados em Pedido publicado US No. 2011-0251253 (parágrafos [0012] -[0013]; [0054] -[0079])
Compostos divulgados em pedido PCT WO2008141119 (parágrafos [0100] -[0339]; Compostos 1-117 na Tabela 1 no parágrafo [0340])
Compostos divulgados em Pedido US No.11 / 047.361
Compostos divulgados em Pedido publicado US No. 2013-0116238 (parágrafos [0028] -[0044]; [0117] -[0128]), ou combinações dos mesmos.
[00224] Em uma outra modalidade, o agente adicional é selecionado a partir da Tabela 2:

TABELA 2

Compostos divulgados em Pedido Publicado US No. 2005-0113423 (parágrafo [00146]; Compostos 1A-1-1A—136 e Compostos 1-1-1-2-1 nas Tabelas 1 e 2 nos parágrafos [0391]-[0392]
Compostos divulgados no Pedido US Publicado No. 2005-0059687 (parágrafos [00100]-[00101]; Compostos 1-405 na Tabela 1 no parágrafo [0169]
Compostos 1-108 divulgados na Patente US No. 7.598.412 (Col 22, linha 14 col 79, linha 20; Tabela 1
Compostos 1-485 divulgados na Patente US No. 7.495.103 (Col 51, linha 1- col 63, linha 43; Tabela 1
Compostos 1-781 divulgados na Patente US No. 8.354.427 (Col 51, linha 3- col 71, linha 46; Tabela 1
Compostos 1-233 divulgados no Pedido Publicado US No. 2007-0105833 (Parágrafo [00145]; Tabela 1)
Compostos 1-26 divulgados na Patente US No. 8.242.149 (Col 46, linha 57- col 57, linha 37; Tabela 1
Compostos 1-18 divulgados na Patente US No. 8.314.256 (Col 21, linha 1- col 26, linha 19;
Compostos 1-14 divulgados na Patente US No. 8.399.479 (Col 36, linha 20- col 38, linha 40; Tabela 1
Compostos 1-18 divulgados na Patente US No. 8.188.283 (Col 38, linha 43- col 43, linha 36; Tabela 1
Compostos 1-16 divulgados no Pedido Publicado US No. 2010-0249180 (Parágrafo [0173]; Tabela 1)
Compostos 1-19 divulgados no Pedido Publicado US No. 2011-0008259 (Parágrafo [0172]; Tabela 1)
Compostos 1-129 divulgados na Patente US No. 8.367.660 (Col 57, linha 31- col 81, linha 24; Tabela 1

[00225] Em uma modalidade, o agente terapêutico adicional é um antibiótico. Exemplos de antibióticos úteis para esta invenção incluem

tobramicina, incluindo pó de tobramicina inalada (TIP), azitromicina, caiston, aztreonam, incluindo a forma de aerossol de aztreonam, amicacina, incluindo formulações lipossômicas dos mesmos, ciprofloxacina, incluindo suas formulações adequadas para administração por inalação, levoflaxacina, incluindo aerossol As formulações dos mesmos, e combinações de dois antibióticos, por exemplo, fosfomicina e tobramicina.

[00226] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um mucolítico. Mucolíticos exemplares úteis aqui incluem Pulmozyme®.

[00227] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um broncodilatador. Broncodilatadores exemplares incluem o albuterol, sulfato de metaprotenerol, acetato de pirbuterol, salmeterol, ou sulfato de tetrabulina.

[00228] Em uma outra modalidade, o agente adicional é eficaz no restabelecimento do líquido da superfície das vias aéreas do pulmão. Tais agentes melhoram a circulação de sal dentro e fora das células, permitindo que o muco nas vias aéreas do pulmão seja mais hidratado e, por conseguinte, mais facilmente afastado. Exemplos de tais agentes incluem solução salina hipertônica, denufosol tetrassódico (hidrogeno fosfato de [(3S,5R)-5-(4-amino-2-oxopirimidin-1-il)-3-hidroxioxolan-2-il]metóxi-hidroxifosforil] [[[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxopirimidin-1-il)-3,4-di-hidroxioxolan-2-il]metóxi-hidroxifosforil]óxi-hidroxifosforil]), ou bronquitol (formulação inalado de manitol).

[00229] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um agente anti-inflamatório, ou seja, um agente que pode reduzir a inflamação nos pulmões. Exemplos de tais agentes úteis na presente invenção incluem ibuprofeno, ácido docosa-hexanoico (DHA), sildenafil, glutationa inalado, pioglitazona, hidroxicloroquina, ou simavastatin.

[00230] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um composto que aumenta ou induz a atividade de CFTR diferente de

Composto 1 Forma I ou uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, isto é, um agente que tem o efeito de induzir ou aumentar a atividade de CFTR. Exemplos de tais agentes incluem ataluren ("PTC124®"; ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico), sinapultida, lancovutida, depelestat (um inibidor de elastase de neutrófilos humana recombinante), e cobiprostone ácido (7-{(2R,4aR,5R,7aR)-2-[(3S)-1,1-difluoro-3-metilpentil]-2-hidróxi-6-oxo-octahidrociclopenta[b]piran-5-il}-heptanoico).

[00231] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um agente nutricional. Agentes nutricionais exemplares incluem pancrelipase (substituição enzimática de pâncreas), incluindo Pancrease®, Pancreacarb®, Ultrase®, ou Creon®, Liprotomase® (anteriormente Trizytek®), Aquadeks®, ou inalação de glutamina. Em uma modalidade, o agente adicional é Pancrelipase nutricional.

[00232] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um composto selecionado a partir de gentamicina, curcumina, ciclofosfamida, 4-fenilbutirato, miglustato, felodipina, nimodipina, Philoxin B, genistein, apigenina, aumentadores ou indutores de cAMP / cGMP, tais como rolipram, sildenafil, milrinona, tadalafil, amrinona, isoproterenol, albuterol, e almeterol, desoxispergualina, inibidores de HSP 90, inibidores de HSP 70, inibidores de proteossoma, tal como epoxomicina, lactacistina, etc.

[00233] Em uma outra modalidade, o agente adicional é um composto selecionado a partir de (3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; (3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 5-amino-6'-metil-3-trifluorometil-[2,3]bipiridinil-6-carboxílico; 3-amino-6-ciclopropil-N-(3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metilpropil)-5-(trifluorometil)picolinamida; 3-amino-6-metóxi-N-(3,3,3-trifluoro-2-

hidróxi-2-(trifluorometil)propil)-5-(trifluoro-metil)picolinamida; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-metóxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-metóxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; (2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; (S)-3-amino-6-etóxi-N-(3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metilpropil)-5-(trifluoro metil) picolinamida; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-metóxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidróxi-2-metil-propil)-amida de ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridino-2-carboxílico, ou os seus sais farmaceuticamente aceitáveis. Em uma outra modalidade, o agente adicional é um composto divulgado na Patente U.S. No. 8.247.436 e Publicação Internacional PCT WO 2011113894, aqui incorporadas na sua totalidade por referência.

[00234] Em uma outra modalidade, o agente adicional pode ser um modulador do canal de sódio epitelial (ENaC) divulgado nas publicações PCT WO2012035158, WO2009074575, WO2011028740,

WO2009150137, WO2011079087, ou WO2008135557, aqui incorporadas na sua totalidade por referência.

[00235] Em outras modalidades, o agente adicional é um composto divulgado em WO 2004028480, WO 2004110352, WO 2005094374, WO 2005120497, ou WO 2006101740, aqui incorporadas na sua totalidade por referência. Em uma outra modalidade, o agente adicional é um derivado de benzo [c] quinolizínio que exibe CFTR induzindo ou aumentando atividade ou um derivado de benzopirano que exibe CFTR induzindo ou aumentando atividade. Em uma outra modalidade, o agente adicional é um composto divulgado em Pat. US No. 7.202.262, Pat. US No. 6.992.096, US20060148864, US20060148863, US20060035943, US20050164973, WO2006110483, WO2006044456, WO2006044682, WO2006044505, WO2006044503, WO2006044502, ou WO2004091502, incorporadas na sua totalidade em referência. Em outra modalidade, o agente adicional é um composto divulgado em WO2004080972, WO2004111014, WO2005035514, WO2005049018, WO2006099256, WO2006127588, ou WO2007044560, incorporadas na sua totalidade em referência.

[00236] Em uma modalidade, 400 mg de Composto 1 Forma I e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as quantidades de dosagem podem ser conseguidas por administração de um ou mais comprimidos da invenção. Por exemplo, a administração de 400 mg de Composto 1 Forma I e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfos pode ser conseguida através da administração de dois comprimidos contendo cada um 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfos. A duração da administração pode continuar até melhora da doença ser alcançada ou até que um médico aconselhe indivíduo, por

exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, uma semana, 2 semanas, 3 semanas, quatro semanas (28 dias), ou um mês ou mais. Em uma modalidade, dois comprimidos compreendendo cada um 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo podem ser administrados ao paciente por dia. Em uma outra modalidade, os dois comprimidos podem ser administrados ao mesmo tempo ou em momentos diferentes durante o dia. Em uma outra modalidade, um comprimido é administrado a cada 12 horas.

[00237] Em uma modalidade, 400 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfo podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as quantidades de dosagem podem ser conseguidas por administração de dois comprimidos, cada um contendo 200 mg do Composto 1 Forma I, e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfo. Em uma modalidade de um comprimido é administrado uma vez a cada 12 horas. Em uma outra modalidade, a quantidade de dosagem também pode ser conseguida através da administração de dois comprimidos, cada um contendo 100 mg de Composto 1 Forma I e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo, a cada 12 horas. Em uma outra modalidade, as quantidades de dosagem também podem ser conseguidas administrando Composto 1 Forma I e Composto 2 substancialmente amorfo em comprimidos separados. Por exemplo, as quantidades de dosagem podem ser alcançadas através da administração de dois comprimidos que contêm 200 mg de Composto 1 da Forma I, e quatro comprimidos contendo 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo ou dois comprimidos contendo 150 mg do Composto 2 substancialmente amorfo e dois comprimidos contendo 100 mg Composto de substancialmente amorfo 2. A duração da administração pode continuar até melhora da doença ser alcançada ou

até que o médico do indivíduo aconselhe, por exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas (28 dias), ou um mês ou mais. Em uma modalidade, dois comprimidos compreendendo 200 mg de Composto 1 Forma I, e quatro comprimidos compreendendo 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados ao paciente por dia. Em uma modalidade, dois comprimidos compreendendo 200 mg de Composto 1 Forma I podem ser administrados ao paciente por dia, e dois comprimidos compreendendo 150 mg e 100 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados ao paciente duas vezes por dia. Em uma outra modalidade, os dois comprimidos podem ser administrados ao mesmo tempo ou em momentos diferentes durante o dia. Em uma outra modalidade, um comprimido compreendendo 200 mg de Composto 1 é administrado a cada 12 horas, e dois comprimidos compreendendo 150 mg e 100 mg do Composto 2 substancialmente amorfos são administrados a cada 12 horas.

[00238] Em uma modalidade, 300 mg de Composto 1 Forma I e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as quantidades de dosagem podem ser conseguidas por administração de um ou mais comprimidos da invenção. Por exemplo, a administração de 300 mg de Composto 1 Forma I e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfos pode ser conseguida através da administração de dois comprimidos contendo cada um 150 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfos. A duração da administração pode continuar até melhora da doença seja alcançada ou até que um médico aconselhe o indivíduo, por exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, quatro semanas (28 dias),

ou um mês ou mais. Em uma modalidade, dois comprimidos compreendendo cada um 150 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados ao paciente por dia. Em uma outra modalidade, os dois comprimidos podem ser administrados ao mesmo tempo ou em momentos diferentes durante o dia. Em uma outra modalidade, um comprimido é administrado a cada 12 horas.

[00239] Em uma modalidade, 600 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as quantidades de dosagem podem ser conseguidas por administração de um ou mais comprimidos da invenção. Por exemplo, a administração de 600 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfos pode ser conseguida através da administração de dois comprimidos, cada um contendo 150 mg de Composto 1 Forma I, e 125 mg do Composto 2 substancialmente amorfos, a cada 12 horas. A duração da administração pode continuar até melhora da doença ser alcançada ou até que o médico do indivíduo aconselhe, por exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas (28 dias), ou um mês ou mais. Em uma modalidade, quatro comprimidos, cada um compreendendo 150 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados ao paciente por dia. Em uma outra modalidade, os quatro comprimidos podem ser administrados ao mesmo tempo ou em momentos diferentes durante o dia. Em uma outra modalidade, dois comprimidos são administrados a cada 12 horas.

[00240] Em uma modalidade, 800 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfos podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as

quantidades de dosagem podem ser conseguidas por administração de um ou mais comprimidos da invenção. Por exemplo, a administração de 800 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfo pode ser conseguida através da administração de quatro comprimidos cada um contendo 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg do Composto 2 substancialmente amorfo. A duração da administração pode continuar até melhora da doença ser alcançada ou até que um médico aconselhe o indivíduo, por exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas (28 dias), ou um mês ou mais. Em uma modalidade, quatro comprimidos, cada um compreendendo 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo podem ser administrados ao paciente por dia. Em uma outra modalidade, os quatro comprimidos podem ser administrados ao mesmo tempo ou em momentos diferentes durante o dia. Em uma outra modalidade, são administrados dois comprimidos por dosagem ocasião, e existem duas ocasiões de dosagem por dia. Em uma outra modalidade, 800 mg de Composto 1 e 500 mg do Composto 2 são administrados ao paciente por administração de dois comprimidos compreendendo cada um 200 mg de Composto 1 e 125 mg de Composto 2 duas vezes por dia (BID). Em uma outra modalidade, 800 mg de Composto 1 e 500 mg do Composto 2 são administrados ao paciente por administração de dois comprimidos compreendendo cada um 200 mg de Composto 1 e 125 mg do Composto 2 a cada 12 horas (qI2h).

[00241] Em uma modalidade, 600 mg de Composto 1 Forma I e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfo podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as quantidades de dosagem podem ser alcançadas por administração de um ou mais comprimidos da invenção. Por exemplo, a administração

de 600 mg de Composto 1 Forma I e 250 mg de Composto 2 substancialmente amorfo pode ser conseguida através da administração de três comprimidos, cada um contendo 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 83,3 mg de Composto 2 substancialmente amorfo. A duração da administração pode continuar até melhora da doença seja alcançada ou até que um médico aconselhe o indivíduo, por exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, uma semana, 2 semanas, 3 semanas, quatro semanas (28 dias), ou um mês ou mais. Em uma modalidade, três comprimidos compreendendo cada um 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 83,3 mg de Composto 2 substancialmente amorfo podem ser administrados ao paciente por dia. Em uma outra modalidade, os três comprimidos podem ser administrados ao mesmo tempo ou em momentos diferentes durante o dia. Em uma outra modalidade, três comprimidos são administrados ao mesmo tempo.

[00242] Em uma modalidade, 600 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfo podem ser administrados a um indivíduo em necessidade do mesmo. Nessas modalidades, as quantidades de dosagem podem ser conseguidas por administração de um ou mais comprimidos da invenção. Por exemplo, a administração de 600 mg de Composto 1 Forma I e 500 mg de Composto 2 substancialmente amorfo pode ser conseguida através da administração de três comprimidos, cada um contendo 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 83,3 mg de Composto 2 substancialmente amorfo, seguido por dois comprimidos compreendendo cada um adicional de 125 mg de Composto 2. A duração da administração pode continuar até melhora da doença ser alcançada ou até que o médico do indivíduo aconselhe, por exemplo, duração da administração pode ser inferior a uma semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas (28 dias), ou um mês ou mais. Em uma modalidade, 600 mg

de composto 1 podem ser administrados diariamente (qd) e 250 mg de Composto 2 administrados duas vezes por dia (bid) através da administração de três comprimidos compreendendo cada um 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 83,3 mg de Composto 2 substancialmente amorfos diariamente (qd) e dois comprimidos compreendendo cada um 125 mg do Composto 2 a cada 12 horas (q12h). Em uma modalidade, 600 mg de composto 1 podem ser administrados diariamente (qd) e 250 mg do Composto 2 administrados a cada 12 horas (q12h) através da administração de três comprimidos compreendendo cada um 200 mg de Composto 1 da Forma I, e 83,3 mg de Composto 2 substancialmente amorfos diariamente (qd) e dois comprimidos compreendendo cada um 125 mg do Composto 2 a cada 12 horas (q12h).

[00243] Estas combinações são úteis para o tratamento das doenças aqui descritas, incluindo fibrose cística. Estas combinações também são úteis nos kits aqui descritos. Em um outro aspecto, a presente invenção apresenta um kit compreendendo uma composição farmacêutica ou comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfos, e um agente terapêutico adicional separado ou sua composição farmacêutica. Em uma outra modalidade, a composição farmacêutica ou comprimidos da presente invenção, o agente terapêutico adicional separado ou sua sua composição farmacêutica estão em recipientes separados. Em uma outra modalidade, os recipientes separados são garrafas. Em uma outra modalidade, os recipientes separados são frascos. Em uma outra modalidade, os recipientes separados são blisters.

[00244] A quantidade de agente terapêutico adicional presente nas composições da presente invenção não será superior à quantidade que seria normalmente administrada em uma composição que

compreende esse agente terapêutico como o único agente ativo. De preferência, a quantidade de agente terapêutico adicional nas composições presentemente divulgadas variará de cerca de 50% a 100% da quantidade normalmente presente em uma composição compreendendo esse agente como único agente terapeuticamente ativo.

UTILIZAÇÕES TERAPÊUTICAS DA COMPOSIÇÃO

[00245] Em um aspecto, a invenção também fornece um método para tratar, diminuir a gravidade de ou sintomaticamente tratar uma doença em um paciente, o método compreendendo a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que a doença é selecionada de fibrose cística, asma, COPD induzida por fumo, bronquite crônica, rinossinusite, obstipação, pancreatite, insuficiência pancreática, infertilidade masculina causada pela ausência congênita bilateral dos canais deferentes (CBAVD), doença pulmonar leve, pancreatite idiopática, aspergilose broncopulmonar alérgica (ABPA), doenças do fígado, enfisema hereditário, hemocromatose hereditária, deficiências de coagulação-fibrinólise, tais como deficiência de proteína C, angioedema hereditário tipo 1, deficiências de processamento de lipídios, tal como a hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, doenças de depósito lisossômico, tais como doença de I-célula / pseudo-Hurler, mucopolissacaridoses, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatia / hiperinsulemia, Diabetes mellitus, nanismo de Laron, deficiência de mileoperoxidase, hipoparatireoidismo primário, melanoma, CDG glicanose tipo 1, hipertireoidismo congênito, osteogênese imperfeita, hipofibrinogenemia hereditária, deficiência de ACT, Diabetes insipidus (DI), DI neurofiseal, DI neprogênico, síndrome do dente de Charcot-

Marie, doença de Perlizaeus-Merzbacher, doenças neurodegenerativas tais como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, plasia supranuclear progressiva, doença de Pick, vários distúrbios neurológicos de poliglutamina tais como doença de Huntington, ataxia spinocerebular tipo I, atrofia muscular bulbar e espinhal, palidoluisiana dentatorubal, e distrofia miotônica, bem como encefalopatias espongiformes, tal como a doença de Creutzfeldt-Jakob hereditária (devido ao processamento da proteína prion defeituoso), doença de Fabry, síndrome de Straussler-Scheinker, COPD, doença do olho seco, ou doença de Sjogren, osteoporose, osteopenia, cicatrização óssea e crescimento ósseo (incluindo reparo ósseo, regeneração óssea, diminuindo a reabsorção óssea e aumentando a deposição óssea), síndrome de Gorham, canalopatias de cloreto tal como miotonia congênita (formas de Thomson e Becker), síndrome de Bartter tipo III, doença de Dent, hiperekplexia, epilepsia, doença de depósito lisossômico, síndrome de Angelman, e Discinesia Ciliar Primária (PCD), um termo para distúrbios hereditários da estrutura e/ou função dos cílios, incluindo PCD com situs inversus (também conhecido como síndrome de Kartagener), PCD sem situs inversus e aplasia ciliar.

[00246] Em um aspecto, a invenção também fornece um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente uma doença em um paciente, que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que a doença é selecionada de epilepsia generalizada com convulsões febris mais (GEFS+), epilepsia geral com convulsões febris e afebris, miotonia, paramiotonia congênita, miotonia agravada por potássio, paralisia periódica hipercalêmica, LQTS, SQTL / síndrome de Brugada, LQTS autossômica dominante com surdez, LQTS autossômica recessiva,

LQTS com características dismórficas, LQTS congênita e adquirida, síndrome de Timothy, hipoglicemias hiperinsulinêmicas persistentes de infância, cardiomiopatia dilatada, LQTS autossômica dominante, doença de Dent, osteopetrose, síndrome de Bartter tipo III, doença de núcleo central, hipertermia maligna, e taquicardia polimórfica catecolaminérgica.

[00247] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente possui a mutação genética CFTR N1303K, ΔI507, ou R560T.

[00248] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente possui a mutação genética CFTR G551D. Em uma outra modalidade, o paciente é homozigótico em G551D. Em uma outra modalidade, o paciente é heterozigótico em G551D em que outra mutação genética CFTR é qualquer um de ΔF508, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G->A, 621+1G->T, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, ΔI507, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA, ou 711+1G->T.

[00249] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente possui a mutação genética CFTR ΔF508. Em uma outra modalidade, o

paciente é homozigótico em ΔF508. Em uma outra modalidade, o paciente é heterozigótico em ΔF508, em que a outra mutação genética CFTR é qualquer um de G551D, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G->A, 621+1G->T, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, ΔI507, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA, ou 711+1G->T.

[00250] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3a>C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G.

[00251] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R,

S1251N, E193K, F1052V e G1069R. Em uma modalidade deste aspecto, a invenção proporciona um método de tratamento CFTR compreendendo a administração de Composto 1 a um paciente possuindo uma mutação CFTR humano selecionada a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S1251N. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de E193K, F 1052V e G1069R. Em algumas modalidades deste aspecto, o método produz um aumento superior a 10 vezes em transporte de cloreto em relação ao transporte de cloreto de linha de base.

[00252] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H. Em uma modalidade deste aspecto, o método produz um aumento no transporte de cloreto que é maior ou igual a 10% acima do de transporte de cloreto de linha de base.

[00253] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente

que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->L. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2,789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 2,789+5G->A e 3272-26A->G.

[00254] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q,

E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811 + 1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+ 3A->G, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H, e G551D.

[00255] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H, e G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S 1255M, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H, e G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a

administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de E193K, F 1052V e G1069R, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H, e G551D. Em algumas modalidades deste aspecto, o método produz um aumento superior a 10 vezes de transporte de cloreto em relação ao transporte de cloreto de linha de base.

[00256] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H,e G551D. Em uma modalidade deste aspecto, o método produz um aumento no transporte de cloreto, que é maior ou igual a 10% acima do transporte de cloreto de linha de base.

[00257] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 621+1G->T,3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G-

>A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->L, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H, e G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 2,789+5G->A e 3272-26A->G, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir de ΔF508, R117H.

[00258] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T,

3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811 + 1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir ΔF508, R117H, e G551D.

[00259] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S 1251N. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente compreendendo a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de E193K, F1052V e G1069R. Em algumas modalidades deste aspecto, o método produz um

aumento superior a 10 vezes de transporte de cloreto em relação ao transporte de cloreto de linha de base.

[00260] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H. Em uma modalidade deste aspecto, o método produz um aumento no transporte de cloreto, que é maior ou igual a 10% acima do transporte de cloreto de linha de base.

[00261] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->L. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao

paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2,789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 2,789+5G->A e 3272-26A->G.

[00262] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e uma mutação CFTR humana selecionada a partir ΔF508, R117H, e G551D, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, e G551D.

[00263] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S1251N, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente compreendendo a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética de CFTR é selecionado a partir de E193K, F1052V e G1069R, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em algumas modalidades deste aspecto, o método produz um aumento superior a 10 vezes de transporte de cloreto em relação ao transporte de cloreto de linha de base.

[00264] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente

fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N DI e 152H, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em uma modalidade deste aspecto, o método produz um aumento no transporte de cloreto, que é maior ou igual a 10% acima do transporte de cloreto de linha de base.

[00265] Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+LG->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+1.6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->L, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é

selecionado a partir de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2,789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, G551D. Em um aspecto, a presente invenção é dirigida a um método de tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em um paciente que compreende a administração de uma quantidade eficaz da composição farmacêutica ou comprimido da invenção ao paciente, de preferência um mamífero, em que o paciente que possui a mutação genética CFTR é selecionado a partir de 2,789+5G->A e 3272-26A->G, e uma ou mais mutações de CFTR humanas selecionadas a partir de ΔF508, R117H, e G551D.

[00266] Em certas modalidades, a composição farmaceuticamente aceitável ou comprimido da presente invenção compreende o composto 1 Forma I e uma dispersão sólida do Composto 2 substancialmente amorfo são úteis para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em pacientes que exibem atividade de CFTR residual na membrana apical do epitélio respiratório e não respiratório. A presença de atividade de CFTR residual na superfície epitelial pode ser facilmente detectada usando métodos conhecidos na técnica, por exemplo, técnicas eletrofisiológicas, bioquímicas, ou histoquímicas padrão. Tais métodos identificam atividade de CFTR usando técnicas eletrofisiológicas *in vivo* ou *ex vivo*, medição de suor ou concentrações salivares de Cl⁻, ou técnicas bioquímicas ou histoquímicas *ex vivo*, para monitorar a densidade da superfície da célula. Usando tais métodos, a atividade de CFTR residual pode ser facilmente detectada em pacientes homozigóticos ou heterozigóticos para uma variedade de mutações diferentes, incluindo pacientes homozigóticos ou heterozigóticos para a mutação ΔF508, a mais comum, bem como para outras mutações, tais como a mutação G551D, ou mutação R117H. Em certas modalidades, as composições

ou comprimidos farmaceuticamente aceitáveis que compreendem o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo são úteis para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em pacientes que exibem pouca ou nenhuma atividade de CFTR residual. Em certas modalidades, as composições farmaceuticamente aceitáveis ou comprimidos compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo são úteis para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em pacientes que exibem pouca ou nenhuma atividade de CFTR residual na membrana apical do epitélio respiratório.

[00267] Em uma outra modalidade, os compostos e as composições da presente invenção são úteis para o tratamento ou diminuição da gravidade de fibrose cística em pacientes que têm atividade de CFTR residual induzida ou aumentada usando métodos farmacológicos. Em uma outra modalidade, os compostos e as composições da presente invenção são úteis para o tratamento ou diminuição da gravidade de fibrose cística em pacientes que têm atividade de CFTR residual induzida ou aumentada usando ou terapia gênica. Tais métodos aumentam a quantidade de CFTR presente na superfície da célula, desse modo induzindo uma atividade de CFTR até agora ausente em um paciente ou aumentando o nível de atividade de CFTR residual existente em um paciente.

[00268] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas e comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, tal como aqui descrito, são úteis para o tratamento ou diminuição da gravidade de fibrose cística em pacientes dentro de certos genótipos exibindo atividade de CFTR residual, por exemplo, mutações de classe I (não sintetizadas), mutação de classe

II (perda de desdobramento), mutações de classe III (regulação prejudicada ou aberta), mutações de classe IV (condutância alterada), ou mutações de classe V (síntese reduzida).

[00269] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas e comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, tal como aqui descrito, são úteis para tratar, diminuir a gravidade de, ou tratar sintomaticamente fibrose cística em pacientes dentro de certos fenótipos clínicos, por exemplo, um fenótipo clínico de moderado a leve que normalmente está correlacionado com a quantidade de atividade de CFTR residual na membrana apical do epitélio. Tais fenótipos incluem pacientes que exibem suficiência pancreática.

[00270] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas e comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, tal como aqui descrito, são úteis para tratar, diminuir a gravidade de ou sintomaticamente tratamento de pacientes com diagnóstico de suficiência pancreática, pancreatite idiopática e ausência congênita bilateral dos vasos deferentes, ou doença pulmonar leve em que o paciente apresenta atividade de CFTR residual.

[00271] Em uma modalidade, as composições farmacêuticas e comprimidos da presente invenção compreendendo o Composto 1 Forma I e uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, tal como aqui descrito, são úteis para tratar, diminuir a gravidade de ou sintomaticamente tratamento de pacientes com diagnóstico de suficiência pancreática, pancreatite idiopática e ausência congênita bilateral dos vasos deferentes, ou doença pulmonar leve em que o paciente tem o CFTR de tipo selvagem.

[00272] Em adição à fibrose cística, a modulação da atividade de CFTR pode ser benéfica para outras doenças não diretamente causadas por mutações no CFTR, tal como as doenças secretórias e outras doenças mediadas por desdobramento de proteína por CFTR. Aquelas incluem, mas não estão limitadas a, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), doença do olho seco, e síndrome de Sjogren. DPOC é caracterizada por limitação do fluxo aéreo que é progressiva e não totalmente reversível. A limitação do fluxo de ar é devido a uma hipersecreção de muco, enfisema, e bronquiolite. Ativadores de CFTR de tipo selvagem ou mutante oferecem um tratamento potencial de hipersecreção de muco e transporte mucociliar prejudicado que é comum em pacientes com DPOC. Especificamente, aumentar a secreção de ânion através de CFTR pode facilitar o transporte de fluido para dentro do líquido da superfície das vias aéreas para hidratar o muco e a viscosidade do fluido periciliar optimizado. Isto levaria ao aumento da limpeza mucociliar e uma redução dos sintomas associados com DPOC. Doença do olho seco é caracterizada por uma diminuição na produção aquosa lacrimal e perfis de lipídio, proteína e mucina de filme de lágrima anormais. Existem muitas causas de olho seco, algumas das quais incluem idade, cirurgia ocular de Lasik, artrite, medicamentos, produtos químicos / queimaduras térmicas, alergias e doenças, tais como a fibrose cística e síndrome de Sjögren. O aumento da secreção de ânions através de CFTR iria reforçar o transporte de fluidos das células endoteliais da córnea e glândulas secretoras que rodeiam o olho para aumentar a hidratação da córnea. Isso ajudaria a aliviar os sintomas associados à doença do olho seco. Síndroma de Sjögren é uma doença autoimune em que o sistema imune ataca glândulas produtoras de umidade em todo o corpo, incluindo o olho, boca, pele, tecido respiratório, fígado, vagina, e intestino. Sintomas incluem o olho

seco, boca e vagina, assim como a doença pulmonar. A doença também está associada com a artrite reumatoide, lúpus sistêmico, esclerose sistêmica, e polimiposite / dermatomiosite. Acredita-se que o tráfego de proteína defeituosa provoque a doença, para a qual as opções de tratamento são limitadas. Aumentadores ou indutores da atividade de CFTR podem hidratar os vários órgãos atingidos pela doença e ajudar a elevar os sintomas associados.

[00273] Em uma modalidade, a invenção refere-se a um método de aumentar ou induzir a atividade do canal de ânion in vitro ou in vivo, compreendendo contatar o canal com qualquer uma das composições farmacêuticas PC-I a PC-XXV. Em uma outra modalidade, o canal de ânion é um canal de cloreto ou um canal de bicarbonato. Em uma outra modalidade, o canal de ânion é um canal de cloreto.

[00274] A quantidade exata necessária irá variar de indivíduo para indivíduo, dependendo da espécie, idade, e condição geral do indivíduo, da gravidade da infecção, do agente particular, seu modo de administração, e semelhantes. Os compostos da invenção são preferivelmente formulados em uma forma de unidade de dosagem para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A "forma de unidade de dosagem" como a expressão é aqui utilizada refere-se a uma unidade fisicamente discreta de agente apropriado para o paciente a ser tratado. Será entendido, no entanto, que a utilização diária total dos compostos e composições da invenção será decidida pelo médico assistente dentro do âmbito julgamento médico. O nível de dose eficaz específico para qualquer paciente ou organismo em particular dependerá de uma variedade de fatores incluindo a desordem a ser tratada e a gravidade da desordem; a atividade do composto específico empregue; a composição específica empregue; a idade, peso corporal, saúde geral, sexo e dieta do paciente; o tempo de administração, via de administração, e taxa de excreção do

composto específico empregue; a duração do tratamento; fármacos utilizados em combinação ou coincidentes com o composto específico empregue, e fatores como bem conhecidos nas áreas médicas. O termo "paciente", tal como aqui utilizado, significa um animal, preferivelmente um mamífero, e mais preferivelmente um ser humano.

[00275] Em qualquer parte do presente pedido de patente, onde um nome de um composto pode não descrever corretamente a estrutura do composto, a estrutura substitui o nome e o rege.

EXEMPLOS

XRPD (difração de raios X em pó)

[00276] Dados de difração de Raios-X (XRD) do Composto 1 Forma I foram coletados em um difractômetro de pó Bruker D8 DISCOVER com detector bidimensional HI-STAR e um monocromador de grafite plana. Tubo vedado com Cu com radiação $\text{K}\alpha$ foi utilizado a 40 kV, 35mA. As amostras foram colocadas em wafers de silício de fundo zero, a 25 °C. Para cada amostra, dois quadros de dados foram coletados em 120 segundos cada um em 2 ângulos θ diferentes: 8 ° e 26 °. Os dados foram integrados com software GADDS e fundidos com software DIFFRACT^{plus}EVA. Incertezas para as posições de pico relatadas são de $\pm 0,2$ graus.

Calorimetria de Varrimento Diferencial (DSC)

[00277] Dados de calorimetria de varrimento diferencial (DSC) do Composto 1 Forma I foram coletados por meio de um DSC Q100 v9.6 Build 290 (TA Instruments, New Castle, DE). Temperatura foi calibrada com índio e capacidade de calor foi calibrada com safira. As amostras de 3-6 mg foram pesadas em recipientes de alumínio que foram frisados utilizando tampas com um buraco de alfinete. As amostras foram digitalizadas a partir de 25 °C a 350 °C a uma taxa de aquecimento de 1,0 °C / min e com uma purga de gás nitrogênio de 50 ml/min. Os dados foram coletados por software Thermal Advantage Q

SeriesTM versão 2.2.0.248 e analisados por software de Análise Universal versão 4.1D (TA Instruments, New Castle, DE). Os números apresentados representam análises individuais.

Determinação de Estrutura de Cristal Único do Composto 1 Forma I

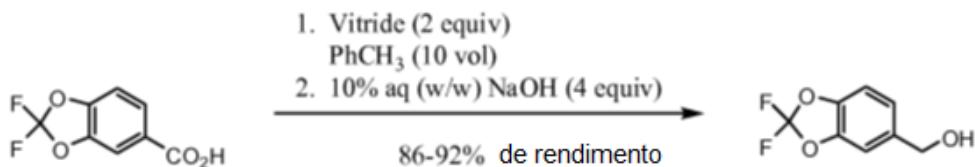
[00278] Dados de difração foram adquiridos em difratômetro Bruker Apex II equipado com tubo vedado com Cu fonte K-alfa e um detector CCD Apex II. A estrutura foi resolvida e refinada utilizando o programa SHELX (Sheldrick, GM, Acta Crys, (2008) A64, 112-122). Com base em ausências sistemáticas e estatísticas de intensidades a estrutura foi resolvida e refinada no grupo de espaço P2₁/n.

[00279] hidreto de (bis (2-metoxietóxi)alumínio Vitrile® [ou NaAlH₂(OCH₂CH₂OCH₃)₂], solução de 65% em peso em tolueno) foi adquirido de Aldrich Chemicals.

[00280] Ácido 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxílico foi adquirido de Saltigo (uma afiliada da Lanxess Corporation).

Preparação do Composto 1

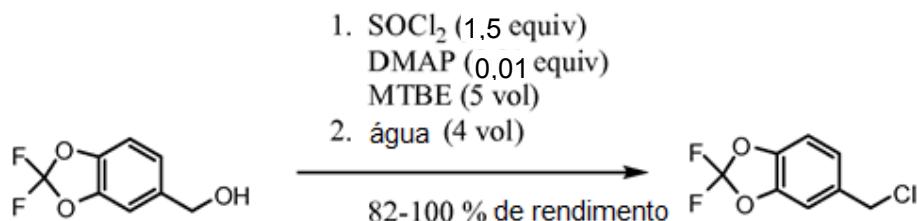
Preparação de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol.



[00281] Ácido 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxílico (1,0 eq) comercialmente disponível foi suspenso em tolueno (10 vol). Vitrile® (2 eq) foi adicionado por meio de funil de adição a uma velocidade para manter a temperatura a 15-25 °C. No final da adição, a temperatura foi aumentada para 40 °C durante 2 horas (h), em seguida, 10% (p/p) de NaOH aquoso (aq) (4,0 eq) foram adicionados cuidadosamente através de um funil de adição, mantendo a temperatura a 40-50 °C. Após agitação durante um adicional de 30 minutos (min), as camadas foram

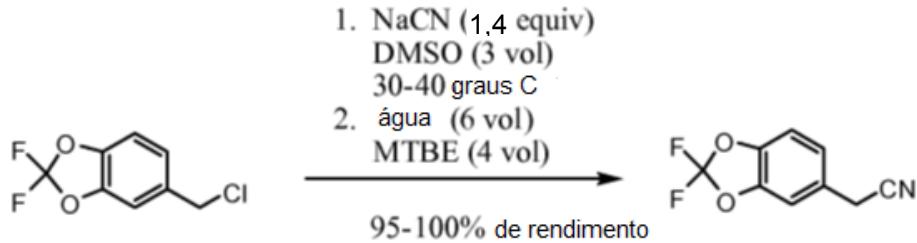
deixadas separar a 40 °C. A fase orgânica foi arrefecida a 20 °C, depois lavada com água (2 x 1,5 vol), seca (Na_2SO_4), filtrada, e concentrada para dar (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol bruto que foi utilizado diretamente na etapa seguinte.

Preparação de 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol.



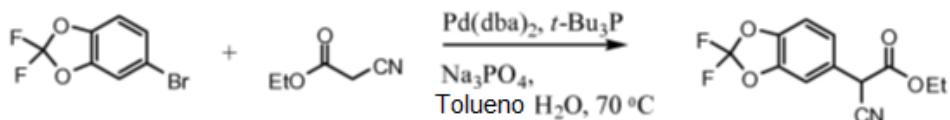
[00282] (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol (1,0 eq) foi dissolvido em MTBE (5 vol). Uma quantidade catalítica de 4-(N,N-dimetil) aminopiridina (DMAP) (1% molar) foi adicionada e SOCl_2 (1,2 eq) foi adicionado através de um funil de adição. O SOCl_2 foi adicionado a uma velocidade para manter a temperatura do reator a 15-25 °C. A temperatura foi aumentada para 30 °C durante 1 h, e, em seguida, foi arrefecida até 20 °C. Água (4 vol) foi adicionada através do funil de adição enquanto se mantinha a temperatura a menos de 30 °C. Depois de se agitar durante mais 30 min, as camadas foram deixadas separar. A camada orgânica foi agitada e 10% (p/v) de NaOH aquoso (4,4 vol) foram adicionados. Depois de se agitar durante 15 a 20 min, as camadas foram deixadas separar. A fase orgânica foi em seguida seca (Na_2SO_4), filtrada, e concentrada para dar o 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol bruto que foi utilizado diretamente na etapa seguinte.

Preparação de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrila.



[00283] Uma solução de 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (1 eq) em DMSO (1,25 vol) foi adicionada a uma suspensão de NaCN (1,4 eq) em DMSO (3 vol), enquanto mantinha a temperatura entre 30-40 °C. A mistura foi agitada durante 1 h, e em seguida água (6 vol) foi adicionada, seguido de metil terc-butil éter (MTBE) (4 vol). Depois de se agitar durante 30 min, as camadas foram separadas. A camada aquosa foi extraída com MTBE (1,8 vol). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (1,8 vol), secas (Na_2SO_4), filtradas, e concentradas para dar (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrila (95%) bruta que foi utilizada diretamente na etapa seguinte.

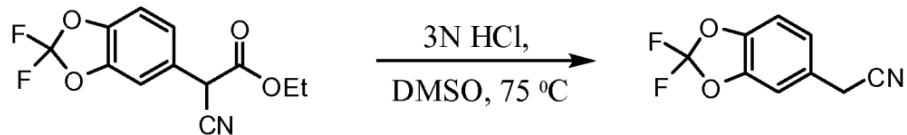
Síntese de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrila



[00284] Um reator foi purgado com nitrogênio e carregado com 900 mL de tolueno. O solvente foi desgaseificado através de aspersão de nitrogênio por não menos que 16 h. Ao reator foi em seguida carregado de Na_3PO_4 (155,7 g, 949,5 mmol), seguido de cloreto de bis(dibenzilidenoacetona)paládio (0) (7,28 g, 12,66 mmol). Uma solução a 10% p/p de terc-butilfosfina em hexanos (51,23 g, 25,32 mmol) foi carregada durante 10 min a 23 °C a partir de nitrogênio purgado com um funil de adição. A mistura foi deixada agitar durante 50 min, altura em que 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (75 g, 316,5 mmol) foi adicionado durante 1 min. Depois de se agitar durante mais 50 minutos adicionais, a mistura foi carregada com cianoacetato de etila (71,6 g, 633,0 mmol) durante 5 min, seguido por água (4,5 mL) em uma só porção. A mistura foi aquecida a 70 °C durante 40 min e analisada por HPLC a cada 1-2 h para a conversão percentual do

reagente para o produto. Depois observou-se a conversão completa (tipicamente uma conversão de 100% após 5-8 h), a mistura foi arrefecida a 20-25 °C e filtrada através de uma almofada de celite. A almofada de celite foi lavada com tolueno (2 x 450 mL) e os orgânicos combinados foram concentrados até 300 mL sob vácuo a 60-65 °C. O concentrado foi carregado com 225 mL de DMSO e concentrado sob vácuo a 70-80 °C até a destilação ativa do solvente cessar. A solução foi arrefecida a 20-25 °C e diluída em 900 mL com DMSO, em preparação para a etapa 2. ^1H RMN (500 MHz, CDCL₃) 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).

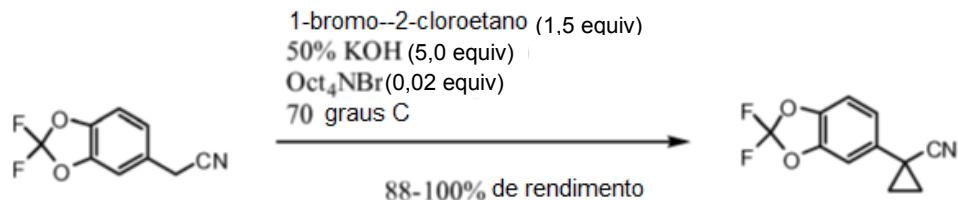
Síntese de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrila.



[00285] A solução de DMSO (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrila acima, foi carregada com HCl a 3N (617,3 mL, 1,85 mol) durante 20 min enquanto se mantinha uma temperatura interna < 40 °C. A mistura foi então aquecida a 75 °C durante 1 h, e analisada por HPLC a cada 1-2 h para a conversão %. Quando foi observada uma conversão de > 99% (geralmente após 5-6 h), a reação foi arrefecida até 20-25 °C e extraída com MTBE (2 X 525 mL), com tempo suficiente para permitir a separação de fase completa durante as extrações. Os extratos orgânicos combinados foram lavados com 5% de NaCl (2 x 375 mL). A solução foi então transferida para um equipamento adequado por uma destilação sob vácuo de 1,5-2,5 Torr que foi equipada com um frasco recipiente arrefecido. A solução foi concentrada sob vácuo a < 60 °C para remover os solventes. (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrila, em seguida, foi destilada a partir do óleo resultante a 125-130 °C (temperatura do

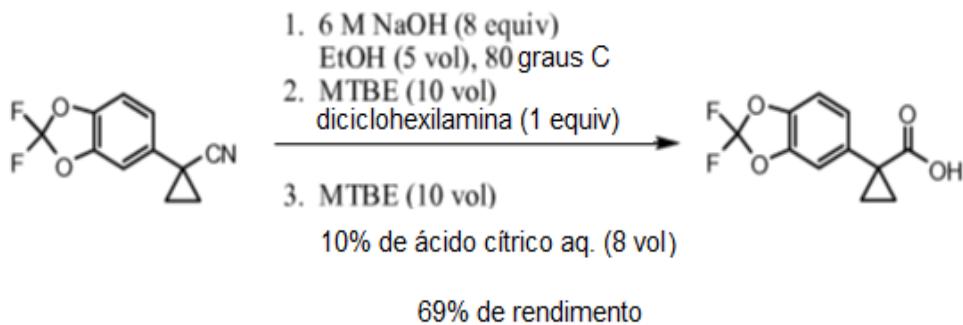
forno) e 1,5-2,0 torr. (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrila foi isolado como um óleo límpido com 66% de rendimento a partir de 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (2 etapas) e com uma pureza HPLC de 91,5% AUC (corresponde a ensaio p/p de 95%). ^1H RMN (500 MHz, DMSO) δ 7,44 (s largo, 1H), 7,43 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,22 (dd, J = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 4,07 (s, 2H).

Preparação de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrila.



[00286] Uma mistura de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrila (1,0 eq), 50% em peso de KOH aquoso (5,0 eq) 1-bromo-2-cloroetano (1,5 eq), e Oct₄NBr (0,02 eq) foram aquecidos a 70 °C durante 1 h. A mistura de reação foi arrefecida, em seguida, processada com MTBE e água. A fase orgânica foi lavada com água e salmoura. O solvente foi removido para se obter (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrila.

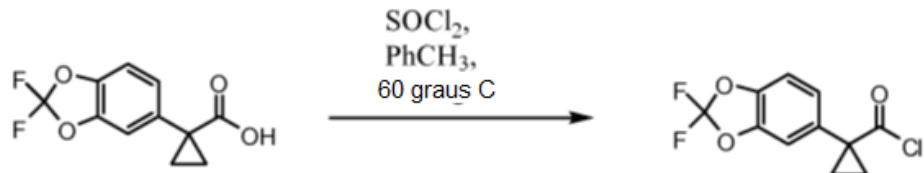
Preparação de ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico.



[00287] (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrila foi hidrolisado com NaOH a 6 M (8 equiv) em etanol (5 vol) a 80 °C

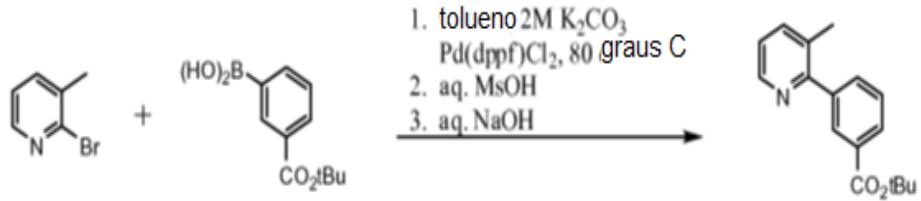
durante a noite. A mistura foi arrefecida até a temperatura ambiente e o etanol foi evaporado sob vácuo. O resíduo foi retomado em água e MTBE, HCl a 1M foi adicionado, e as camadas foram separadas. A camada de MTBE foi então tratada com diciclohexilamina (DCHA) (0,97 equiv). A suspensão foi arrefecida a 0 °C, filtrada e lavada com heptano para se obter o sal de DCHA correspondente. O sal foi tomado em MTBE e 10% de ácido cítrico e agitado até todos os sólidos se dissolverem. As camadas foram separadas e a camada de MTBE foi lavada com água e salmoura. Uma permuta de solvente para heptano seguida de filtração deu ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico após secagem em um forno de vácuo a 50 °C durante a noite.

Preparação de cloreto de 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonila.



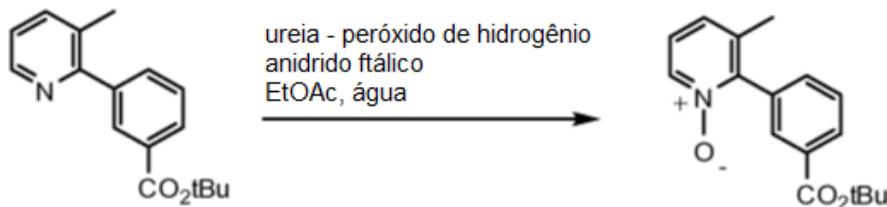
[00288] Ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)ciclopropano carboxílico (1,2 eq) é suspenso em tolueno (2,5 vol) e a mistura foi aquecida a 60 °C. SOCl_2 (1,4 eq) foi adicionado através de um funil de adição. O tolueno e SOCl_2 foram destilados a partir da mistura de reação após 30 minutos. Tolueno adicional (2,5 vol) foi adicionado e a mistura resultante foi destilada novamente, deixando o cloreto de ácido do produto como um óleo, que foi utilizado sem purificação adicional.

Preparação de terc-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato



[00289] 2-bromo-3-metilpiridina (1,0 eq) foi dissolvido em tolueno (12 vol). K₂CO₃ (4,8 eq) foi adicionado, seguido por água (3,5 vol). A mistura resultante foi aquecida a 65 °C sob um fluxo de N₂ durante 1 hora. Ácido 3-(t-butoxicarbonil)fenilborônico (1,05 eq) e Pd (dppf) Cl₂-CH₂Cl₂ (0,015 eq) foram então adicionados e a mistura foi aquecida a 80 °C. Após 2 horas, o calor foi desligado, água foi adicionada (3,5 vol), e as camadas foram deixadas separar. A fase orgânica foi então lavada com água (3,5 vol) e extraída com 10% de solução aquosa de ácido metanossulfônico (MsOH 2 eq, 7,7 vol). A fase aquosa foi tornada básica com 50% de NaOH aquoso (2 eq) e extraída com EtOAc (8 vol). A camada orgânica foi concentrada para dar terc-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato bruto (82%) que foi utilizado diretamente na etapa seguinte.

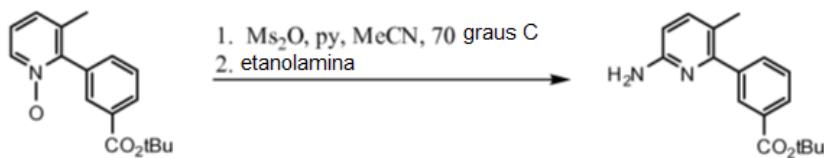
Preparação de 2-(3-(terc-butoxicarbonil)fenil)-3-metil-piridina-1-óxido.



[00290] terc-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato (1,0 eq) foi dissolvido em EtOAc (6 vol). Água (0,3 vol) foi adicionada, seguido por ureia - peróxido de hidrogênio (3 eq). O anidrido ftálico (3 eq) foi então adicionado em porções à mistura como um sólido a uma velocidade para manter a temperatura no reator abaixo de 45 °C. Depois de se completar a adição de anidrido ftálico, a mistura foi aquecida a 45 °C. Depois de se agitar durante um período adicional de 4 horas, o aquecimento foi desligado. 10% p/p de solução aquosa de Na₂SO₃ (1,5 eq) foram adicionados através de um funil de adição. Após a conclusão de adição de Na₂SO₃, a mistura foi agitada durante mais 30

min e as camadas foram separadas. A camada orgânica foi agitada e 10% p/p de Na₂SO₃ aquoso (2 eq) foram adicionados. Depois de se agitar durante 30 minutos, as camadas foram deixadas separar. A fase orgânica foi lavada 13% p/v de NaCl aq. A fase orgânica foi, em seguida, filtrada e concentrada para dar o produto 2-(3-(terc-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido bruto (95%), que foi utilizado diretamente na etapa seguinte.

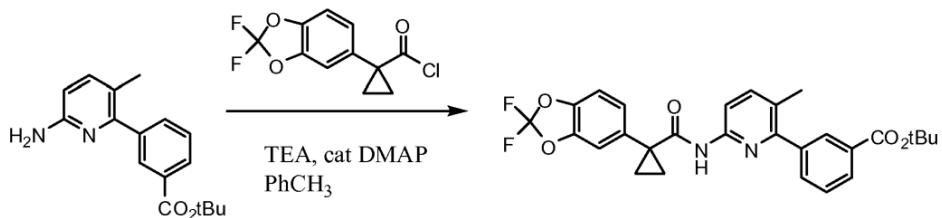
Preparação de terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato.



[00291] Uma solução de 2-(3-(terc-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido (1 eq) e piridina (4 eq) em acetonitrila (8 vol) foi aquecida a 70 °C. Uma solução de anidrido metanossulfônico (1,5 eq) em MeCN (2 vol) foi adicionada durante 50 minutos através de um funil de adição enquanto se mantinha a temperatura a menos de 75 °C. A mistura foi agitada durante mais 0,5 hora após a adição estar completa. A mistura foi então deixada arrefecer até a temperatura ambiente. A etanolamina (10 eq) foi adicionada através de um funil de adição. Depois de se agitar durante 2 horas, água (6 vol) foi adicionada e a mistura foi arrefecida a 10 °C. Depois de se agitar durante 3 horas, o sólido foi recolhido por filtração e lavado com água (3 vol), 2: 1 acetonitrila / água (3 vol), e acetonitrila (2 x 1,5 vol). O sólido foi seco até peso constante (<1% de diferença) em uma estufa de vácuo a 50 °C com um ligeiro vazamento de N₂ para se obter terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il) benzoato sob forma de um sólido (53% de rendimento) vermelho-amarelo.

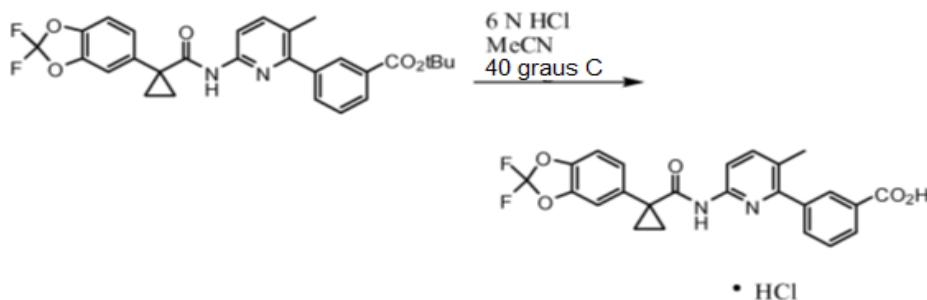
Preparação de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)-

ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato.



[00292] O cloreto de ácido bruto descrito acima foi dissolvido em tolueno (2,5 vol com base no cloreto de ácido) e adicionado por meio de funil de adição a uma mistura de terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato (1 eq), DMAP (0,02 eq), e trietilamina (3,0 eq) em tolueno (4 vol com base em terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il) benzoato). Após 2 horas, água (4 vol com base em terc-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il) benzoato) foi adicionada à mistura de reação. Depois de se agitar durante 30 minutos, as camadas foram separadas. A fase orgânica foi, em seguida, filtrada e concentrada para se obter um óleo espesso de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)cyclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-yl)-t-butilbenzoato (rendimento bruto quantitativo). Acetonitrila (3 vol com base no produto bruto) foi adicionada e destilada até a cristalização ocorrer. Água (2 vol com base no produto bruto) foi adicionada e a mistura agitada durante 2 h. O sólido foi coletado por filtração, lavado com 1:1 (em volume) de acetonitrila / água (2 x 1 volumes com base no produto bruto), e parcialmente seco no filtro sob vácuo. O sólido foi seco até um peso constante (<1% de diferença) em uma estufa de vácuo a 60 °C com um ligeiro vazamento de N₂ para se obter 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)cyclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-yl)-t-butilbenzoato como um sólido castanho.

Preparação de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)cyclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-yl)benzoico • sal HCl.



[00293] A uma suspensão de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) em MeCN (3,0 vol) (0,83 vol), foi adicionada água seguido de HCl aquoso concentrado (0,83 vol). A mistura foi aquecida a 45 ± 5 °C. Depois de se agitar durante 24 a 48 h, a reação estava completa, e a mistura foi deixada arrefecer até a temperatura ambiente. Água (1,33 vol) foi adicionada e a mistura agitada. O sólido foi recolhido por filtração, lavado com água (2 x 0,3 vol), e parcialmente seco no filtro sob vácuo. O sólido foi seco a um peso constante (<1% de diferença) em uma estufa de vácuo a 60 °C com um ligeiro vazamento de N₂ para se obter ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • sal de HCl como um sólido esbranquiçado.

[00294] Um espectro de ¹HRMN do composto 1 é mostrado na Figura 8 e Figura 9 representa um espectro de ¹HRMN do Composto 1 como um sal de HCl.

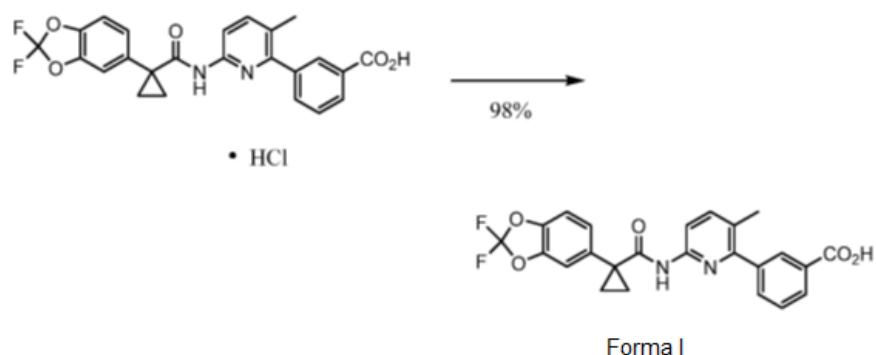
[00295] A Tabela 2 abaixo relata os dados de ¹HRMN para o Composto I.

TABELA 2.

Composto No.	LC/MS M+1	LC/RT Minutos	RMN
1	453,3	1,93	¹ HRMN (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)

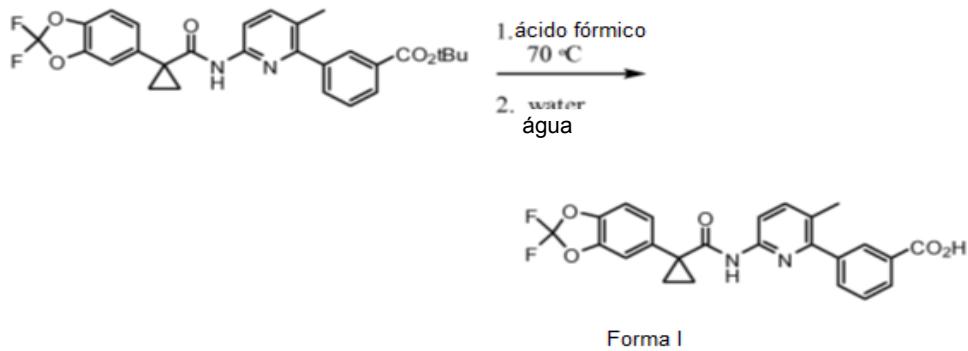
Preparação do Composto 1 Forma I

Preparação do Composto 1 Forma I, Método A.



[00296] Uma suspensão de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • HCl (1 eq) em água (10 vol) foi agitada a temperatura ambiente. Uma amostra foi retirada depois de se agitar durante 24 h. A amostra foi filtrada e o sólido foi lavado com água (2 vezes). A amostra sólida foi submetida à análise de DSC. Quando a análise DSC indicou a conversão completa em Forma I, o sólido foi recolhido por filtração, lavado com água (2 x 1,0 vol), e parcialmente seco num filtro sob vácuo. O sólido foi então seco a um peso constante (<1% de diferença) numa estufa de vácuo a 60 °C com um leve vazamento N2, para se obter o Composto 1 Forma I como um sólido (98% de rendimento) esbranquiçado. 1H RMN (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).

Preparação do Composto 1 Forma I, Método B.



[00297] Uma solução de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) em ácido fórmico (3,0 vol) foi aquecida com agitação a 70 ± 10 °C, durante 8 h. A reação foi considerada completa quando não mais do que 1,0% de AUC por métodos cromatográficos de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato permaneceu. A mistura foi deixada arrefecer até a temperatura ambiente. A solução foi adicionada a água (6 vol), aquecida a 50 °C, e a mistura foi agitada. A mistura foi então aquecida a 70 ± 10 °C até o nível de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo [d] [1,3] dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato não ser maior do que 0,8% (AUC). O sólido foi recolhido por filtração, lavado com água (2 x 3 vol), e parcialmente seco no filtro sob vácuo. O sólido foi seco até um peso constante (<1% de diferença) numa estufa de vácuo a 60 °C com um ligeiro vazamento de N₂, para se obter o Composto 1 Forma I como um sólido esbranquiçado.

[00298] O vestígio de DSC do Composto 1 Forma I é mostrado na Figura 10. Fusão para o Composto 1 Forma I ocorre a cerca de 204 °C.

[00299] Um padrão de difração de raios-X foi calculado a partir de uma estrutura cristalina única do Composto 1 Forma I e é mostrado na Figura 1. A Tabela 3 lista os picos calculados para a Figura 1.

TABELA 3.

Classificação de Pico	2º Ângulo (graus)	Intensidade Relativa [%]
11	14,41	48,2
8	14,64	58,8
1	15,23	100,0
2	16,11	94,7
3	17,67	81,9
7	19,32	61,3
4	21,67	76,5
5	23,40	68,7

Classificação de Pico	2º Ângulo (graus)	Intensidade Relativa [%]
9	23,99	50,8
6	26,10	67,4
10	28,54	50,1

[00300] Um padrão de difração em pó de raio-X do Composto 1 Forma I é mostrado na Figura 2. A Tabela 4 lista os picos reais para a Figura 2.

TABELA 4.

Classificação de Pico	2º Ângulo (graus)	Intensidade Relativa [%]
7	7,83	37,7
3	14,51	74,9
4	14,78	73,5
1	15,39	100,0
2	16,26	75,6
6	16,62	42,6
5	17,81	70,9
9	21,59	36,6
10	23,32	34,8
11	24,93	26,4
8	25,99	36,9

[00301] Cristais incolores do Composto 1 Forma I foram obtidos por arrefecimento de uma solução de 1-butanol concentrado a partir de 75 °C a 10 °C a uma velocidade de 0,2 °C / min. Um cristal, com as dimensões de 0,50 x 0,08 x 0,03 mm foi selecionado, limpo com óleo mineral, montado sobre um MicroMount e centrado num sistema Bruker APEXU. Três lotes de 40 quadros separados no espaço recíproco foram obtidos para fornecer uma matriz de orientação e os parâmetros celulares iniciais. Parâmetros celulares finais foram obtidos e refinados com base no conjunto de dados completo.

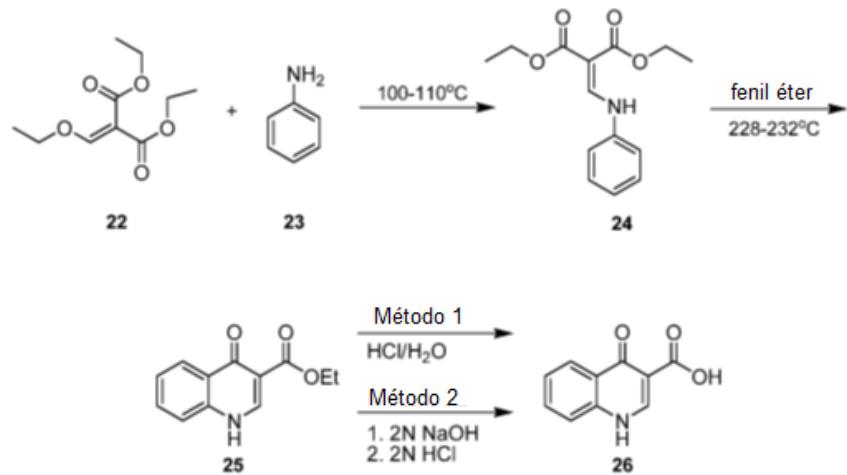
[00302] Um conjunto de dados de difração de espaço recíproco foi obtido para uma resolução de 0,82 Å utilizando 0,5° etapa usando

exposição de 30 s para cada quadro. Os dados foram coletados em 100 (2) K. Integração de intensidades e refinamento dos parâmetros celulares foram realizados utilizando o software APEXII. Observação do cristal após a coleta de dados não mostrou sinais de decomposição.

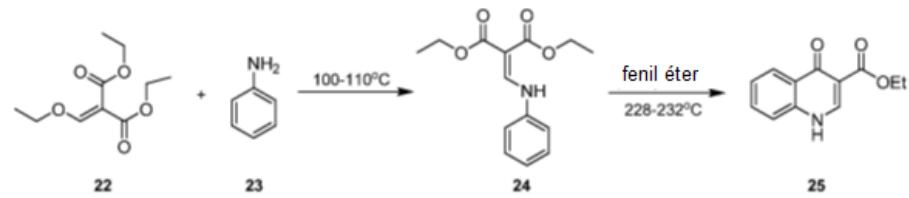
[00303] Uma imagem conformacional do Composto 1 Forma I com base na análise de cristal único de raios-X é mostrada na Figura 11. Composto 1 Forma I é monoclínico, P_21/n , com as seguintes dimensões de célula unitária: $a = 4,9626 (7)$ Å, $b = 12,299 (2)$ Å, $c = 33,075 (4)$ Å, $\beta = 93,938 (9)^\circ$, $V = 2014,0$ Å³, $Z = 4$. Densidade do Composto 1 Forma I calculada a partir de dados estruturais é 1,492 g/cm³ a 100 K.

Preparação do Composto 2

Síntese de ácido 4-oxo-1,3-di-hidroquinolina-3-carboxílico (26)

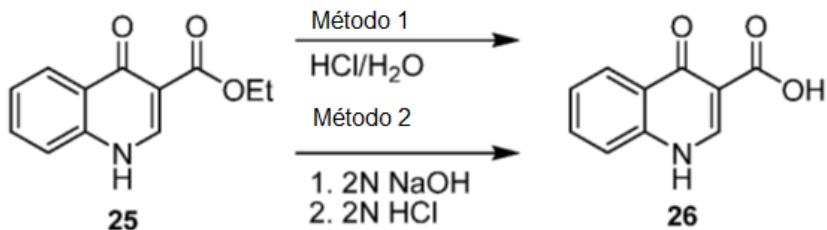


Processo para a preparação de 4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxilato de etila



[00304] O composto 23 (4,77 g, 47,7 mmol) foi adicionado gota a gota, ao composto 22 (10 g, 46,3 mmol) com fluxo de N₂ de subsuperfície para conduzir para fora de etanol inferior a 30 °C durante 0,5 hora. A solução foi então aquecida até 100-110 °C e agitada durante 2,5 horas. Depois de se arrefecer a mistura para abaixo de 60 °C, foi adicionado difenil éter. A solução resultante foi adicionada gota a gota a difenil éter que foi aquecido a 228-232 °C durante 1,5 horas com fluxo de N₂ de subsuperfície para conduzir para fora de etanol. A mistura foi agitada a 228-232 °C durante mais 2 horas, arrefecida até abaixo de 100 °C e, em seguida, foi adicionado heptano para precipitar o produto. A pasta fluida resultante foi agitada a 30 °C durante 0,5 hora. Os sólidos foram, em seguida, filtrados, e o bolo foi lavado com heptano e seco in vácuo para dar composto 25 como um sólido castanho. ¹H RMN (DMSO-d₆; 400 MHz) δ 12,25 (s), d 8,49 (d), d 8,10 (m), d 7,64 (m), d 7,55 (m), d 7,34 (m), d 4,16 (q), d 1,23 (t).

Processo para a preparação de ácido 4-oxo-1,4-di-hidroquinolina 3-carboxílico (26)



Método 1

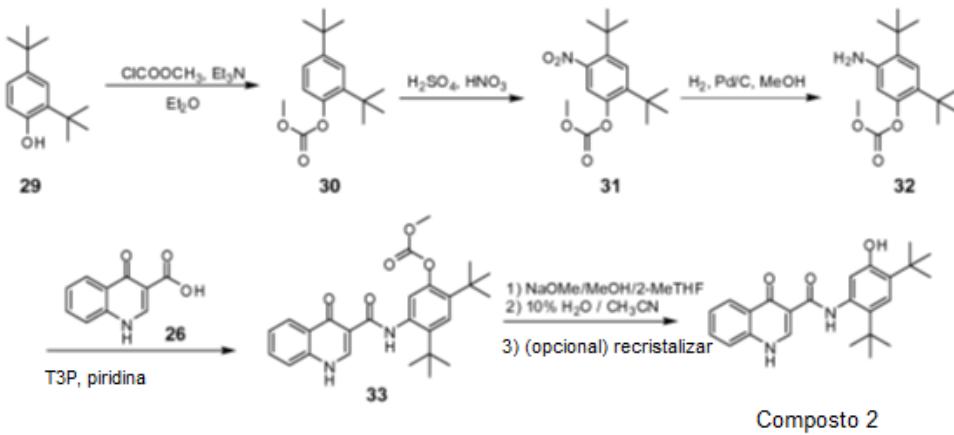
[00305] O composto 25 (1,0 eq) foi suspenso em uma solução de HCl (10,0 eq) e H₂O (11,6 vol). A pasta fluida foi aquecida até 85-90 °C, embora temperaturas alternativas sejam também adequadas para esta etapa de hidrólise. Por exemplo, a hidrólise pode, alternativamente, ser realizada a uma temperatura de cerca de 75 até cerca de 100 °C. Em alguns casos, a hidrólise é realizada a uma temperatura de cerca de 80 a cerca de 95 °C. Em outros casos, a

etapa de hidrólise é realizada a uma temperatura de cerca de 82 a cerca de 93 °C (por exemplo, a partir de cerca de 82,5 até cerca de 92,5 °C ou entre cerca de 86 a cerca de 89 °C). Após agitação a 85-90 °C durante cerca de 6,5 horas, a reação foi amostrada para a conclusão da reação. A agitação pode ser realizada em qualquer uma das temperaturas adequadas para a hidrólise. A solução foi então arrefecida a 20-25 °C e filtrada. O reator / bolo foi lavado com H₂O (2 x 2 vol). O bolo foi então lavado com 2 vol H₂O até que o pH ≥ 3,0. O bolo foi então seco sob vácuo a 60 °C para dar o composto 26.

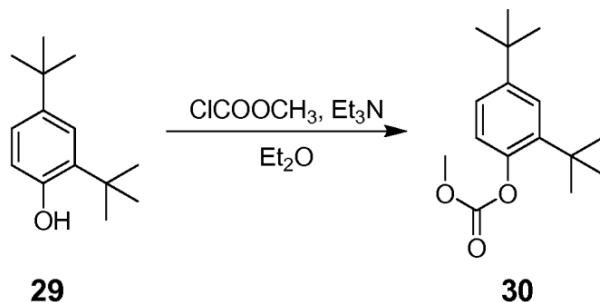
Método 2

[00306] O composto 25 (11,3 g, 52 mmol) foi adicionado a uma mistura de 10% de NaOH (aq) (10 ml) e etanol (100 mL). A solução foi aquecida a refluxo durante 16 horas, arrefecida para 20-25 °C e, em seguida, o pH foi ajustado a 2-3 com 8% de HCl. A mistura foi então agitada durante 0,5 hora e filtrada. O bolo foi lavado com água (50 ml) e depois seco in vácuo para dar o composto 26 como um sólido castanho. ¹H RMN (DMSO-d6; 400 MHz) δ 15,33 (s), δ 13,39 (s), δ 8,87 (s), δ 8,26 (m), δ 7,87 (m), δ 7,80 (m), 7,56 δ (m).

Síntese total de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxamida (Composto 2)



[00307] Processo para a preparação de carbonato de 2,4-di-terc-butilfenil metila (30)



Método 1

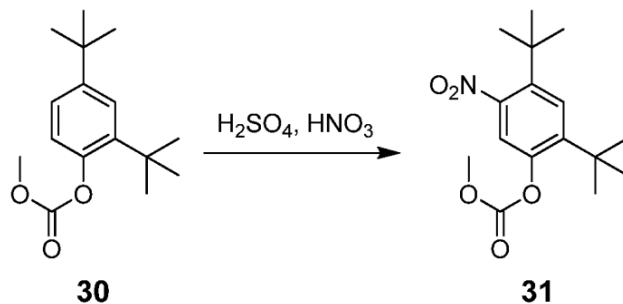
[00308] A uma solução de 2,4-di-terc-butil fenol, 29, (10 g, 48,5 mmol) em dietil éter (100 mL) e trietilamina (10,1 mL, 72,8 mmol), foi adicionado cloroformiato de metila (7,46 mL, 97 mmol) gota a gota a 0 °C. A mistura foi então deixada aquecer até a temperatura ambiente e agitada durante mais 2 horas. Um adicional de 5 mL de trietilamina e 3,7 mL de cloroformiato de metila foi então adicionado e a reação foi agitada durante a noite. A reação foi então filtrada, o filtrado foi arrefecido a 0 °C, e, em seguida, foi adicionado um adicional de 5 mL de trietilamina e 3,7 mL de cloroformiato de metila e a reação foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e, em seguida, agitada durante por mais 1 hora. Nesta fase, a reação estava quase completa e foi processada por filtração, seguida de lavagem com água (2x), seguida por salmoura. A solução foi então concentrada para produzir um óleo amarelo e purificado utilizando cromatografia em coluna para dar o composto 30. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,35 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H).

Método 2

[00309] A um recipiente de reator carregado com 4-dimetilaminopiridina (DMAP, 3,16 g, 25,7 mmol) e 2,4-di-terc-butil fenol (composto 29, 103,5 g, 501,6 mmol) foi adicionado cloreto de metileno (415 g, 313 mL) e a solução foi agitada até todos os sólidos estarem dissolvidos. Trietilamina (76 g, 751 mmol) foi então adicionado e a solução foi arrefecida a 0-5 °C. Cloroformiato de metila (52 g, 550,3

mmol) foi então adicionado gota a gota durante 2,5-4 horas, enquanto mantinha a temperatura da solução entre 0-5 °C. A mistura de reação foi então lentamente aquecida até 23-28 °C e agitada durante 20 horas. A reação foi então arrefecida a 10-15 °C e carregada com 150 mL de água. A mistura foi agitada a 15-20 °C durante 35-45 minutos e a camada aquosa foi então separada e extraída com 150 mL de cloreto de metileno. As camadas orgânicas foram combinadas e neutralizadas com HCl a 2,5% (aq) a uma temperatura de 5-20 °C para dar um pH final de 5-6. A camada orgânica foi então lavada com água e concentrada in vácuo a uma temperatura abaixo de 20 °C até 150 mL para dar o composto 30 em cloreto de metileno.

Processo para a preparação de carbonato de 5-nitro-2,4-di-terc-butilfenil metila (31)



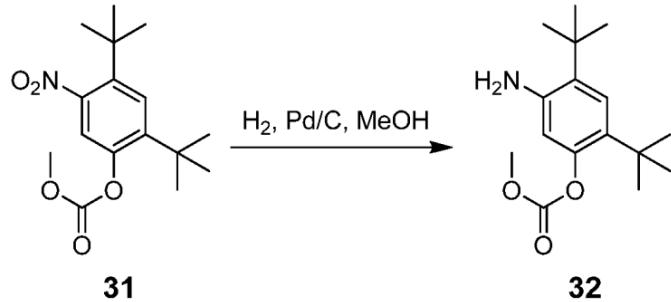
Método 1

[00310] A uma solução agitada de composto 30 (6,77g, 25,6 mmol) foram adicionados 6 mL de uma mistura 1:1 de ácido sulfúrico e ácido nítrico, a 0 °C gota a gota. A mistura foi deixada aquecer até a temperatura ambiente e agitada durante 1 hora. O produto foi purificado por cromatografia líquida (ISCO, 120 g, 0-7% de EtOAc / Hexanos, 38 min), produzindo cerca de 8:1 - 10:1 de mistura de regioisômeros de composto 31 como um sólido branco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,63 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 1,36 (s, 9H), 1,32 (s, 9H). HPLC tempo de ret. tempo 3,92 min 10-99% CH 3 CN, 5 min de execução; ESI-MS 310 m / z (MH^+).

Método 2

[00311] Ao composto 30 (100g, 378 mmol) foi adicionado DCM (540 g, 408 mL). A mistura foi agitada até todos os sólidos estarem dissolvidos, e depois arrefecida a 5-0 °C. O ácido sulfúrico concentrado (163 g) foi então adicionado, gota a gota, enquanto se mantinha a temperatura inicial da reação, e a mistura foi agitada durante 4,5 horas. Ácido nítrico (62 g) foi em seguida adicionado gota a gota durante 2-4 horas, enquanto se mantinha a temperatura inicial da reação, e, em seguida, foi agitado a esta temperatura durante mais 4,5 horas. A mistura de reação foi, em seguida, lentamente adicionada à água fria, mantendo a temperatura abaixo de 5 °C. A reação arrefecida bruscamente foi então aquecida a 25 °C e a camada aquosa foi removida e extraída com cloreto de metileno. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água, secas usando Na₂SO₄, e concentradas para 124-155 ml. Hexano (48 g) foi adicionado e a mistura resultante foi de novo concentrada até 124-155 ml. Mais hexano (160 g) foi subsequentemente adicionado à mistura. A mistura foi então agitada a 23-27 °C durante 15,5 horas, e foi, em seguida, filtrada. Ao bolo do filtro foi adicionado hexano (115 g), a mistura resultante foi aquecida a refluxo e agitada durante 2-2,5 horas. A mistura foi então arrefecida a 3-7 °C, agitada durante um adicional de 1-1,5 horas e filtrada para dar o composto 31 como um sólido amarelo pálido.

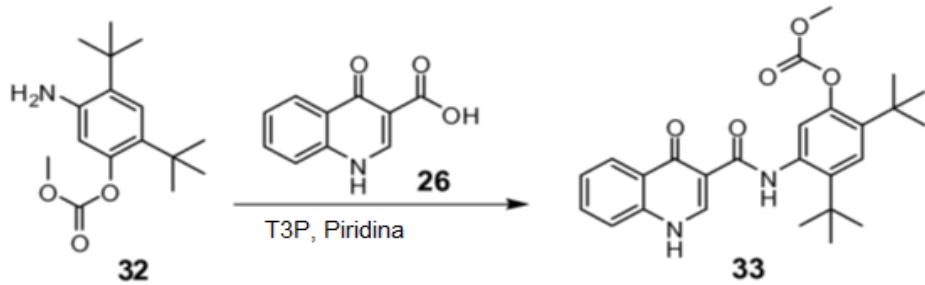
Processo para a preparação de carbonato de 5-amino-2,4-di-terc-butilfenil metila (32)

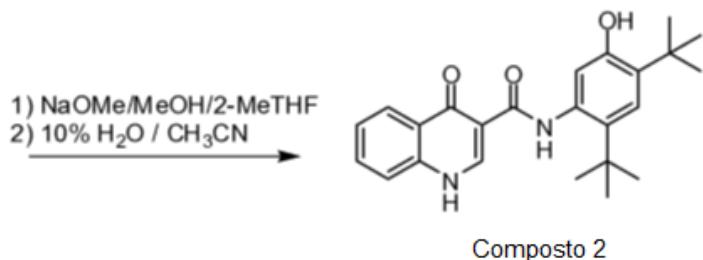


[00312] Carbonato de 2,4-di-terc-butil-5-nitrofenil metila (1,00 eq) foi carregado para um reator de hidrogenação adequado, seguido de 5% de Pd/C (2,50% em peso, base seca, Johnson-Matthey Tipo 37). MeOH (15,0 vol) foi carregado no reator, e o sistema foi fechado. O sistema foi purgado com N₂ (g), e foi, em seguida, pressurizado até 2,0 bar com H₂ (g). A reação foi realizada a uma temperatura de reação de 25 °C +/- 5 °C. Quando completa, a reação foi filtrada, e o reator / bolo foi lavado com MeOH (4,00 vol). O filtrado resultante foi destilado sob vácuo a não mais do que 50 °C a 8,00 vol. Água (2,00 vol) foi adicionada a 45 °C +/- 5 °C. A pasta fluida resultante foi arrefecida a 0 °C +/- 5. A pasta fluida foi mantida a 0 °C +/- 5 °C durante não menos de 1 hora, e filtrada. O bolo foi lavado uma vez com 0 °C +/- 5 °C de MeOH / H₂O (8:2) (2,00 vol). O bolo foi seco sob vácuo (- 0,90 bar e -0,86 bar) a 35 °C - 40 °C para dar o composto 32. 1H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 7,05 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 4,80 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,23 (s, 9H).

[00313] Uma vez que a reação estava completa, a mistura resultante foi diluída com de cerca de 5 a 10 volumes de MeOH (por exemplo, a partir de cerca de 6 a cerca de 9 volumes de MeOH, a partir de cerca de 7 a cerca de 8,5 volumes de MeOH, a partir de cerca de 7,5 a cerca de 8 volumes de MeOH, ou cerca de 7,7 volumes de MeOH), aquecida a uma temperatura de cerca de 35 ± 5 °C, filtrada, lavada e seca, tal como descrito acima.

Preparação de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxamida (Composto 2).

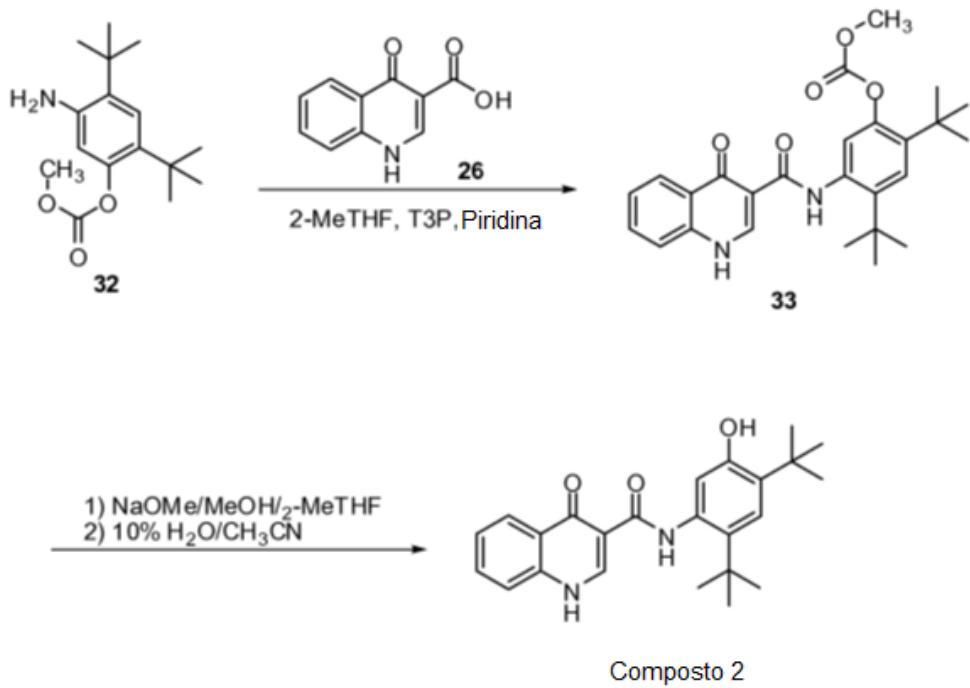




[00314] Ácido 4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxílico, 26, (1,0 eq) e carbonato de 5-amino-2,4-di-terc-butilfenil metil, 32, (1,1 eq) foram carregados em um reator. 2-MeTHF (4,0 vol, em relação ao ácido) foi adicionado seguido de solução de T3P ® a 50% em 2-MeTHF (1,7 eq). O recipiente que foi carregado com T3P foi lavado com 2-MeTHF (0,6 vol). Piridina (2,0 eq) foi então adicionada, e a suspensão resultante foi aquecida a 47,5 +/-5,0 °C e mantida a esta temperatura durante 8 horas. A amostra foi colhida e analisada para a finalização por HPLC. Uma vez completa, a mistura resultante foi arrefecida a 25,0 °C +/-2,5 °C. 2-MeTHF foi adicionado (12,5 vol) para diluir a mistura. A mistura de reação foi lavada com água (10,0 vol) 2 vezes. 2-MeTHF foi adicionado para levar o volume total de reação para 40,0 vol (-16,5 vol carregada). A esta solução foi adicionado NaOMe / MeOH (1,7 equiv) para executar a metanolise. A reação foi agitada durante não menos do que 1,0 h, e verificada para a finalização por HPLC. Uma vez completa, a reação foi arrefecida com 1 N de HCl (10,0 vol), e lavada com 0,1 N de HCl (10,0 vol). A solução orgânica foi polida filtrada para remover quaisquer partículas e colocada em um segundo reator. A solução filtrada foi concentrada a não mais do que 35 °C (temperatura da camisa) e não menos do que 8,0 °C (temperatura interna da reação) sob pressão reduzida a 20 vol. CH₃CN foi adicionado a 40 volumes e a solução foi concentrada a não mais do que 35 °C (temperatura da camisa) e não menos do que 8,0 °C (temperatura interna da reação) a 20 vol. A adição de CH₃CN e ciclo de

concentração foram repetidos mais duas vezes a um total de três adições de CH₃CN e 4 concentrações para 20 vol. Após a concentração final a 20 vol, 16,0 vol de CH₃CN foi adicionado seguido por 4,0 vol de H₂O para fazer uma concentração final de 40 vol de 10% de H₂O / CH₃CN em relação ao ácido de partida. Esta pasta fluida foi aquecida a 78,0 °C +/-5,0 °C (refluxo). A pasta fluida foi então agitada durante não menos do que 5 horas. A pasta fluida foi arrefecida até 0,0 °C +/-5 °C durante 5 horas, e filtrada. O bolo foi lavado com 0,0 °C +/-5,0 °C CH₃CN (5 vol) 4 vezes. O sólido resultante (composto 2) foi seco em um forno de vácuo a 50,0 °C +/-5,0 °C. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ 12,8 (s, 1H), 11,8 (s, 1H), 9,2 (s, 1H), 8,9 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 7,2 (s, 1H), 7,9 (t, 1H), 7,8 (d, 1H), 7,5 (t, 1H), 7,1 (s, 1H), 1,4 (s, 9H), 1,4 (s, 9H).

Preparação alternativa de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxamida (Composto 2).



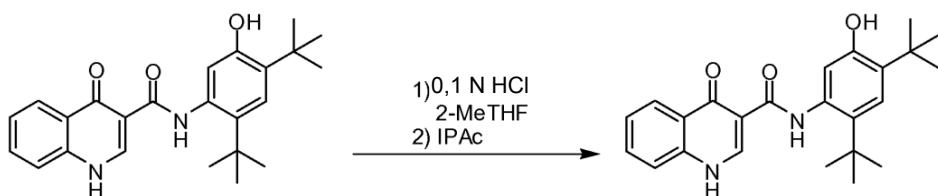
[00315] Ácido 4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxílico, 26, (1,0 eq) e carbonato de 5-amino-2,4-di-terc-butilfenil metila, 32, (1,1 eq) foram

carregados em um reator. 2-MeTHF (4,0 vol, em relação ao ácido) foi adicionado seguido de solução T3P ® a 50% em 2-MeTHF (1,7 eq). O recipiente que foi carregado com T3P foi lavado com 2-MeTHF (0,6 vol). Piridina (2,0 eq) foi então adicionada, e a suspensão resultante foi aquecida a 47,5 +/-5,0 °C e mantida a esta temperatura durante 8 horas. A amostra foi colhida e analisada para a finalização por HPLC. Uma vez completa, a mistura resultante foi arrefecida a 20 °C +/-5 °C. 2-MeTHF foi adicionado (12,5 vol) para diluir a mistura. A mistura de reação foi lavada com água (10,0 vol) 2 vezes e 2-MeTHF (16,5 vol) foi carregado no reator. Esta solução foi carregada com 30% p/p de NaOMe / MeOH (1,7 equiv) para executar a metanolise. A reação foi agitada a 25,0 °C +/-5,0 °C durante não menos do que 1,0 h, e analisada para a finalização por HPLC. Uma vez completa, a reação foi arrefecida com HCl a 1,2 N / H₂O (10,0 vol), e lavada com 0,1 N de HCl / H₂O (10,0 vol). A solução orgânica foi polida filtrada para remover quaisquer partículas e colocada em um segundo reator.

[00316] A solução filtrada foi concentrada a não mais do que 35 °C (temperatura da camisa) e não menos do que 8,0 °C (temperatura interna da reação) sob pressão reduzida a 20 vol. CH₃CN foi adicionado a 40 volumes e a solução foi concentrada a não mais do que 35 °C (temperatura da camisa) e não menos do que 8,0 °C (temperatura interna da reação) a 20 vol. A adição de CH₃CN e ciclo de concentração foram repetidos mais duas vezes para um total de três adições de CH₃CN e 4 concentrações para 20 vol. Após a concentração final a 20 vol, 16,0 vol de CH₃CN foi carregado seguido por 4,0 vol de H₂O para fazer uma concentração final de 40 vol de 10% de H₂O / CH₃CN em relação ao ácido de partida. Esta pasta fluida foi aquecida a 78,0 °C +/-5,0 °C (refluxo). A pasta fluida foi então agitada durante não menos do que 5 horas. A pasta fluida foi arrefecida para 20 a 25 °C durante 5 horas, e filtrada. O bolo foi lavado com CH₃CN (5

vol) aquecido para 20 a 25 °C quatro vezes. O sólido resultante (composto 2) foi seco num forno de vácuo a 50,0 °C +/-5,0 °C. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-de) δ 12,8 (s, 1H), 1 1,8 (s, 1H), 9,2 (s, 1H), 8,9 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 7,2 (s, 1H), 7,9 (t, 1H), 7,8 (d, 1H), 7,5 (t, 1H), 7,1 (s, 1H), 1,4 (s, 9H), 1,4 (s, 9H).

**Procedimento para a recristalização de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-di-hidroquinolina-3-carboxamida
(Composto 2)**



[00317] O composto 2 (1,0 eq) foi carregado no reator. 2-MeTHF (20,0 vol) foi adicionado seguido de HCl a 0,1 N (5,0 vol). A solução bifásica foi agitada e separada e a fase orgânica superior foi lavada mais duas vezes com HCl a 0,1 N (5,0 vol). A solução orgânica foi polida filtrada para remover quaisquer partículas e colocada em um segundo reator. A solução filtrada foi concentrada a não mais do que 35 °C (temperatura da camisa) e não mais do que 8,0 °C (temperatura interna da reação) sob pressão reduzida a 10 vol. Acetato de isopropila (IPAc) (10 vol) foi adicionado e a solução foi concentrada a não mais do que 35 °C (temperatura da camisa) e não mais do que 8,0 °C (temperatura interna da reação) de 10 vol. A adição de IPAc e concentração foi repetida mais duas vezes a um total de três adições de IPAc e 4 concentrações a 10 vol. Após a concentração final, 10 vol de IPAc foi carregado e a suspensão foi aquecida a refluxo e mantida a esta temperatura durante 5 horas. A pasta fluida foi arrefecida até 0,0 °C +/-5 °C durante 5 horas e filtrada. O bolo foi lavado com IPAc (5 vol) uma vez. O sólido resultante foi seco em um forno de vácuo a 50,0 °C +/-5,0 °C.

Preparação de uma Dispersão Sólida Compreendendo Composto

2 Substancialmente Amorfo

[00318] Um sistema de solventes de MEK e água DI, formulada de acordo com a proporção em peso de 90% de MEK / 10% em peso de água deionizada, foi aquecido a uma temperatura de 20-30 °C em um reator, equipado com um agitador magnético e circuito térmico. Dentro deste sistema de solventes, polímero de succinato de acetato de hipromelose (HPMCAS) (grau HG), SLS, e Composto 2 foram adicionados de acordo com a relação de 19,5% em peso de succinato de acetato de hipromelose / 0,5% em peso de SLS / 80% em peso de Composto 2. A mistura resultante continha 10,5% em peso de sólidos. As quantidades reais de ingredientes e solventes usados para gerar esta mistura são recitadas na Tabela 5, abaixo:

TABELA 5: Ingredientes de Dispersão de Spray Sólidos para Intermediário F.

	Unidades	Batelada
Composto 2	Kg	70,0
HPMCAS	Kg	17,1
SLS	Kg	0,438
Sólidos Totais	Kg	87,5
MEK	Kg	671
Água	Kg	74,6
Solventes Totais	Kg	746
Peso Total da Solução de Spray	Kg	833

[00319] A temperatura da mistura foi ajustada para uma gama de 20-45 °C e misturada até que fosse substancialmente homogênea e todos os componentes fossem substancialmente dissolvidos.

[00320] Um secador em spray, Niro PSD4 comercial Spray Dryer, equipado com bico de pressão (Spray Systems Maximum Passage SK-MFP tendo tamanho de orifício / núcleo de 54/21) equipado com

tampa anti-incrustação, foi utilizado no modo de secagem por spray normal, seguindo os parâmetros do processo de pulverização a seco recitados na Tabela 6, abaixo.

TABELA 6: Parâmetros de processo de spray a seco utilizados para gerar Intermediário F.

Parâmetro	Valor
Pressão de alimentação	20 bar
Taxa de fluxo de alimentação	92 – 100 kg/h
Temperatura de entrada	93 – 99 °C
Temperatura de saída	53 – 57 °C
Temperatura do secador a vácuo	80 °C por 2 horas em seguida 110 °C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$)
Tempo de secagem a vácuo	20 – 24 horas

[00321] Um ciclone de alta eficiência separou o produto úmido do gás de spray e vapores de solventes. O produto úmido contido 8,5-9,7% de MEK e 0,56-0,83% de água e tinha um tamanho médio de partícula de 17-19 um e uma densidade a granel de 0,27-0,33 g/cc. O produto úmido foi transferido para um secador a vácuo de duplo cone de aço inoxidável de 4000L para a secagem para reduzir solventes residuais a um nível menos do que cerca de 5000 ppm, e para gerar a dispersão de secagem por pulverização seca do Composto 2 amorfado, contendo <0,03% de MEK e 0,3% Água .

Formação de comprimidos a partir de um Processo de Granulação Úmida totalmente Contínuo

Equipamentos / Processo

Equipamento

[00322] Desenvolvimento totalmente contínuo e Rig Launch (DLR) ou um tipo similar de equipamentos.

Triagem

[00323] O Composto 1 Forma I, a dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfado, e excipientes podem ser dispensados em recipientes de faixas intermediárias separadas (IBCs).

Estes materiais podem ser rastreados utilizando uma operação de triagem "faixa-a-faixa". Tamanhos de tela adequados são de 20 mesh, 40 mesh, ou 60 mesh.

Mistura

[00324] Os IBCs contendo o Composto 1 Forma I selecionado, a dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, e excipientes podem ser acoplados ao sistema de um alimentador, que pode alimentar o material de uma maneira controlada, por exemplo, usando perda volumétrica ou gravimétrica em alimentadores de peso, em um misturador contínuo. As taxas de alimentação dos componentes individuais são definidas pela formulação da composição e a taxa de linha geral. A taxa de linha pode ser de 8 kg/h a 30 kg/h. O misturador contínuo pode ter configurações diferentes de lâmina para permitir a mistura adequada e a velocidade de rotação dessas lâminas pode estar entre 80 rpm e 300 rpm.

Granulação Úmida

[00325] Uma solução de granulação pode ser preparada por dissolução de 48 g de lauril sulfato de sódio e 159 g de polivinilpirrolidona em 1626 g de água num recipiente de aço inoxidável, utilizando um agitador mecânico com uma velocidade de agitação de 700 rpm. A solução de granulação pode ser colocada num recipiente em que a solução pode ser bombeada para dentro do granulador de parafuso duplo, usando uma bomba peristáltica com um medidor de fluxo de massa e de controle, utilizando uma taxa de fluxo que é apropriada para o processo. A mistura pode ser granulada utilizando um granulador de parafuso duplo tal como o granulador que é parte do DLR. A mistura pode ser adicionada ao granulador de parafuso duplo utilizando um alimentador de perda de peso, tais como o alimentador de K-Tron no DLR, com uma taxa de alimentação de 8 kg/h a 24 kg/h. O granulador de parafuso duplo pode ser operado com

uma temperatura de cilindro de 25 graus Celsius e uma velocidade de parafuso de 200-950 rpm. O processo de granulação pode ser realizado por três minutos para tamanhos de lotes pequenos ou várias horas para grandes tamanhos de lotes.

Secagem

[00326] Os grânulos úmidos podem ser alimentados diretamente para dentro de um secador de leito fluido, tal como o secador de leito fluidizado segmentado no DLR. O ponto final de secagem pode ser escolhido a uma temperatura do produto durante a descarga que vai de 40 a 55 graus Celsius, altura em que o teor de água dos grânulos pode ser de 2,1% p/p ("Perda na Secagem, LOD") ou menos. O tempo de secagem pode ser de 12 minutos ou mais curto ou mais longo, para atingir o ponto final de secagem desejada.

Moagem

[00327] Os grânulos secos podem ser moídos para diminuir o tamanho dos grânulos. Um moinho de cone, tal como o Quadro CoMil U10 integrado pode ser utilizado para isto.

Mistura

[00328] Os grânulos podem ser misturados com excipientes extragranulares, tais como preenchedores e lubrificantes usando a perda de peso em alimentadores e um misturador contínuo. A velocidade de mistura pode ser de 80-300 RPM.

Compressão

[00329] A mistura de compressão pode ser comprimida em comprimidos utilizando uma única estação ou prensa rotativa para comprimidos, tais como a prensa Courtoy Modul P, que é parte do sistema de DLR, utilizando ferramentas de tamanho apropriado. O peso dos comprimidos para a dose de 200 mg de Composto 1 Forma I e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo, pode ser cerca de 500 ou 600 mg.

Revestimento de Filme

[00330] Os comprimidos podem ser revestidos com filme usando o dispositivo de revestimento de filme Omega inovador, que faz parte do sistema de DLR. Este dispositivo de revestimento permite revestimento de filme rápido de sub-bateladas de 1 a 4 kg para permitir a fabricação contínua.

Impressão

[00331] Os comprimidos revestidos de filme podem ser impressos com um monograma em um ou ambos os lados do comprimido com, por exemplo, uma impressora de rampa Ackley.

**Formação de Comprimido a partir do Processo de Granulação
Úmido de Parafuso Duplo**Equipamentos / ProcessoEquipamento

[00332] Granuladores Úmidos de Duplo Parafuso: ConsiGma-1, ConsiGma-25 ou Leistritz nano.

Triagem / Pesagem

[00333] O Composto 1 Forma I, a dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, e excipientes podem ser rastreados antes ou depois da pesagem. Tamanhos de tela apropriados são de 20 mesh, 40 mesh, ou 60 mesh. Composto 1 Forma I e/ou a dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo podem ser pré-misturados com um ou mais dos excipientes para simplificar a triagem.

Misturas

[00334] O Composto 1 da Forma I, a dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, e excipientes podem ser adicionados ao misturador em ordem diferente. A mistura pode ser realizada em um misturador Turbula, um misturador em concha V, ou um misturador com uma caixa. Os componentes podem

ser misturados durante 10 minutos.

Granulação Úmida

[00335] Uma solução de granulação pode ser preparada por dissolução de 48 g de lauril sulfato de sódio e 159 g de polivinilpirrolidona em 1626 g de água em um recipiente de aço inoxidável, utilizando um agitador mecânico com uma velocidade de agitação de 700 rpm. A mistura pode ser granulada utilizando um granulador de parafuso duplo tal como o ConsiGma-1. A solução de granulação pode ser adicionada ao granulador de parafuso duplo, usando uma bomba peristáltica, tal como a bomba na ConsiGma -1, com uma taxa de alimentação de 67 g/min. A mistura pode ser adicionada ao granulador de parafuso duplo utilizando um alimentador de perda de peso, tal como o alimentador Brabender na ConsiGma-1, com uma taxa de alimentação de 10 kg/h. O granulador de parafuso duplo pode ser operado com uma temperatura de cilindro de 25 graus Celsius e uma velocidade de parafuso de 400 rpm. O processo de granulação pode ser realizado durante quatro minutos. O processo de granulação pode ser realizado durante um período mais curto ou mais longo de tempo para produzir uma quantidade menor ou maior de grânulos úmidos.

Secagem

[00336] Os grânulos úmidos podem ser alimentados diretamente para dentro de um secador de leito fluidizado, tal como na câmara de secagem no ConsiGma-1 ou o secador de leito fluidizado segmentado no CTL-25. O ponto final de secagem pode ser escolhido a uma temperatura de produto de 43 graus Celsius, em cujo ponto o teor de água dos grânulos pode ser de 1,6% p/p ("Perda na Secagem, LOD"). O tempo de secagem pode ser de 12 minutos ou mais curto ou mais longo, para atingir o ponto final de secagem desejada. A secagem pode ser realizada com um fluxo de ar de 59 m³/min, e

temperatura de entrada de 60 graus Celsius. Alternativamente, os grânulos úmidos provenientes do granulador de parafuso duplo podem ser recolhidos em uma caixa ou recipiente durante um certo período de tempo após o qual os grânulos úmidos são transferidos para um secador autônomo de leito fluido separado, tal como o Vetor Multi 15.

Moagem

[00337] Os grânulos secos podem ser moídos para diminuir o tamanho dos grânulos. Um moinho de cone, tal como o CoMil Quadro 194 pode ser utilizado para isto.

Misturas

[00338] Os grânulos podem ser misturados com excipientes extragranulares, tais como preenchedores e lubrificantes, utilizando uma misturadora de concha em V ou uma misturadora com caixa. O tempo de mistura pode ser de 5, 3 ou 1 minuto (s).

Compressão

[00339] A mistura de compressão pode ser comprimida em comprimidos utilizando uma única estação ou prensa de comprimidos rotativa, tais como a prensa Courtoy Modul P, utilizando ferramentas de forma oval de 0,55' x 0,33'. O peso dos comprimidos para a dose de 200 mg de Composto 1 Forma I e 125 mg de Composto 2 substancialmente amorfo, pode ser cerca de 500 ou 600 mg.

Revestimentos de Filme

[00340] Os comprimidos podem ser revestidos com filme usando um revestidor de bandeja, tais como, por exemplo, um revestidor Thomas Engeneering Compu-Lab. Uma quantidade vestigial de cera de carnaúba pode ser adicionada para melhorar a aparência do comprimido e a capacidade do processo.

Impressão

[00341] Os comprimidos revestidos de filme podem ser impressos com um monograma em um ou ambos lados do comprimido com, por

exemplo, uma impressora Hartnett Delta.

Formação de Comprimido de Processo de Granulação Úmida de Parafuso Duplo Contínuo

Equipamentos / Processo

Equipamento

[00342] Granulador: Granulador de parafuso duplo ConsiGma ou Leistritz ou Thermo Fisher.

Triagem / Pesagem

[00343] Composto 1 e excipientes podem ser rastreados antes de ou após a pesagem. Tamanhos de tela possíveis são de 20 mesh, 40 mesh, ou 60 mesh. O composto 1 pode ser pré-misturado com um ou mais dos excipientes para simplificar a triagem.

Mistura

[00344] O Composto 1 e os excipientes podem ser adicionados ao misturador em ordem diferente. A mistura pode ser realizada num misturador Turbula, um misturador de concha em V, um misturador com caixa, ou um misturador contínuo. Os componentes podem ser misturados durante 10 minutos para misturadores descontínuos ou continuamente para um misturador contínuo.

Operação de granulação

[00345] Fluido de Granulação - SLS e aglutinante são adicionados à água purificada e misturados até se dissolver. Uma relação adequada é de 2,5% p/p de SLS e 10,0% p/p PVP K30 em água.

[00346] Granulação - A mistura contendo o Composto 1 e excipientes pode ser doseada para dentro do granulador de parafuso duplo utilizando um alimentador de perda em peso a uma taxa de 10 kg/h. O líquido de granulação pode ser adicionado através de uma bomba peristáltica a um fluxo de 3,5 kg/h. O granulador pode ser executado a uma velocidade de 400 RPM. Uma vantagem notável do processo de granulação úmida de parafuso duplo presente é usar um

fluido de granulação que compreende tanto um tensoativo quanto o aglutinante para uma melhor granulação através do aumento da molhabilidade. Em uma modalidade, o tensoativo é de SLS. Outra vantagem notável é que porque o processo é contínuo e em qualquer momento no tempo, apenas uma quantidade limitada de material é processada, o processo pode ser bem controlado e resulta em um produto de alta qualidade.

Moagem

[00347] Os grânulos podem ser reduzidos em tamanho utilizando um moinho de peneira ou um moinho de cone, quer antes da secagem ou após secagem, ou ambos.

Secagem

[00348] Os grânulos podem ser secos utilizando um forno de vácuo, secador de bandeja, secador bicônico, ou secador de leito fluidizado.

Mistura

[00349] Os grânulos podem ser misturados com excipientes extragranulares. Os grânulos foram misturados usando um liquidificador de caixa 300 litros para 60 rotações.

Compressão

[00350] A mistura de compressão foi compactada em comprimidos usando uma prensa rotativa Courtoy Modul P

Revestimentos de Filme

[00351] Os comprimidos podem ser revestidos com filme usando um revestidor de bandeja, tais como, por exemplo, um O'Hara Labcoat.

Impressão

[00352] Os comprimidos revestidos de filme podem ser impressos com um monograma em um ou ambos os lados do comprimido com, por exemplo, uma impressora Hartnett Delta.

ENSAIOS

PROTOCOLO 1

Ensaios para detectar e medir Propriedades de Potenciação de ΔF508-CFTR de Compostos

Métodos ópticos potenciais de membrana para ensaiar propriedades de modulação de ΔF508-CFTR de compostos

[00353] O ensaio utiliza corantes de detecção de tensão fluorescente para medir alterações no potencial de membrana usando um leitor de placas fluorescente (por exemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como uma leitura para aumento em ΔF508-CFTR funcional em células N1H 3T3. A força motriz para a resposta é a criação de um gradiente de íon de cloreto, em conjunto com a ativação do canal por uma única etapa de adição do líquido após as células serem previamente tratadas com os compostos e subsequentemente carregadas com um corante de detecção de tensão.

Identificação de Compostos Potenciadores

[00354] Para identificar potenciadores de ΔF508-CFTR, um formato de ensaio HTS de adição dupla foi desenvolvido. Este ensaio HTS utiliza corantes de detecção de tensão fluorescentes para medir as mudanças no potencial da membrana no FLIPR III como uma medição para aumento de gating (condutância) de ΔF508 CFTR em células ΔF508 CFTR NIH 3T3 corrigidas em temperatura. A força motriz para a resposta é um gradiente de íon Cl⁻ em conjunto com a ativação do canal com forscolina em uma única etapa de adição de líquido usando um leitor de placas fluorescente, tal como FLIPR III após as células serem previamente tratadas com os compostos potenciadores (ou controle de veículo de DMSO) e subsequentemente carregadas com um corante de redistribuição.

Soluções

[00355] Solução de banho # 1: (em mM) 160 de NaCl, 4,5 de KCl, 2 de CaCl₂, 1 de MgCl₂, 10 de HEPES, pH 7,4 com NaOH.

[00356] Solução de banho livre de cloreto: sais de cloreto na solução de banho # 1 (acima) são substituídos por sais de gluconato.

Cultura de Células

[00357] Fibroblastos de camundongo NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR são usados para medições ópticas de potencial de membrana. As células são mantidas a 37 °C em 5% de CO₂ e 90% de umidade no meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado 2 mM com de glutamina, 10% de soro fetal bovino, 1 X NEAA, β-ME, 1 X Pen / Strep, e 25 mM de HEPES em frascos de cultura de 175 cm². Para todos os ensaios ópticos, as células foram semeadas a ~20.000/poço em placas revestidas com matriz de 384 poços e cultivadas durante 2 horas a 37 °C antes da cultura a 27 °C durante 24 horas para o ensaio de potenciador. Para os ensaios de correção, as células são cultivadas a 27 °C ou 37 °C, com e sem compostos por 16 - 24 horas.

[00358] Ensaios eletrofisiológicos para ensaiar propriedades de modulação de ΔF508-CFTR de compostos.

Câmara de Ensaio Ussing

[00359] Experimentos com câmara Ussing foram realizados em células epiteliais das vias respiratórias polarizadas que expressam ΔF508-CFTR para adicionalmente caracterizar os potenciadores ou indutores de ΔF508-CFTR identificados nos ensaios ópticos. Epitélios das vias respiratórias não-CF e CF foram isolados a partir de tecido brônquico, cultivados tal como descrito anteriormente (Galietta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G.A., & Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481), e plaqueados em filtros Costar® Snapwell™ que foram pré-revestidos com meio condicionado por NIH3T3. Depois de quatro dias, os meios apicais foram removidos e as células foram cultivadas em uma interface de ar-líquido por >14 dias antes da utilização. Isto resultou

em uma monocamada de células colunares totalmente diferenciadas que foram ciliadas, recursos que são características do epitélio das vias respiratórias. HBE Não CF foram isoladas de não fumantes que não têm nenhuma doença pulmonar conhecida. CF-HBE foram isolados de pacientes homozigóticos para ΔF508.

[00360] HBE cultivados em inserções de cultura de células Costar® Snapwell™ foram montados em uma câmara de Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), e a resistência transepitelial e corrente de curto-círculo na presença de um gradiente Cl⁻ basolateral a apical (Isc) foram medidas utilizando um sistema de grampo de tensão (Departamento de bioengenharia, Universidade de Iowa, IA). Resumidamente, HBE foram examinados em condições de registro de grampo de tensão ($V_{hold} = 0$ mV) a 37 °C. A solução basolateral continha (em mM) 145 NaCl, 0,83 de K₂HPO₄, 3,3 KH₂PO₄, 1,2 MgCl₂, 1,2 de CaCl₂, 10 de glucose, 10 de HEPES (pH ajustado a 7,35 com NaOH) e a solução apical continha (em mM) 145 de NaGluconato, 1,2 de MgCl₂, 1,2 de CaCl₂, 10 de glucose, 10 de HEPES (pH ajustado a 7,35 com NaOH).

Identificação de Compostos Potenciador

[00361] Protocolo típico utilizou um gradiente de concentração de membrana Cl⁻ basolateral para apical. Para configurar este gradiente, campainhas normais foram utilizadas na membrana basolateral, enquanto NaCl apical foi substituído por gluconato de sódio equimolar (titulado para pH 7,4 com NaOH) para dar uma grande gradiente de concentração Cl⁻ através do epitélio. Forscolina (10 μM) e todos os compostos de teste foram adicionados ao lado apical das inserções de cultura de células. A eficácia dos potenciadores de ΔF508-CFTR putativos foi comparada com a do potenciador conhecido, genisteína.

Registros de patch clamp

[00362] Corrente de Cl⁻ total em células ΔF508-NIH3T3 foi

monitorizada usando a configuração de registro patch-clamp como anteriormente descrito (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) *J. Neurosci. Methods* 37, 15-26). Registros de tensão-clamp foram efetuados a 22 °C, utilizando um amplificador de patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). A solução da pipeta continha (em mM) 150 de N-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl, 2 de MgCl₂, de 2CaCl₂, 10 de EGTA, 10 de HEPES, e 240 µg/mL de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 com HCl). O meio extracelular continha (em mM) 150 de NMDG-C1, 2 de MgCl₂, 2 de CaCl₂, 10 de HEPES (pH ajustado a 7,35 com HCl). Geração de pulso, aquisição de dados e análise foram realizados utilizando um computador equipado com uma interface Digidata 1320 A/D em conjunto com Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para ativar ΔF508-CFTR, 10 µM de forskolina e 20 µM de genisteína foram adicionados ao banho e a relação de corrente-tensão foi monitorizada a cada 30 s.

Identificação de Compostos Potenciadores

[00363] A capacidade de potenciadores ΔF508-CFTR para aumentar a corrente macroscópica Cl⁻ de ΔF508-CFTR ($I_{\Delta F508}$) em células NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR também foi investigada usando técnicas de registro perfurada-patch. Os potenciadores identificados a partir dos ensaios ópticos evocaram um aumento dependente da dose em $I_{\Delta F508}$ com potência e eficácia observada nos ensaios ópticos semelhantes. Em todas as células examinadas, o potencial de inversão, antes e durante a aplicação de potenciador era de cerca -30 mV, que é a E_{Cl} calculada (-28 mV).

Cultura Celular

[00364] Fibroblastos de camundongo NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR são utilizados para registros de células inteiras. As células são mantidas a 37 °C em 5% de CO₂ e 90% de umidade no meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 2

mM de glutamina, 10% de soro fetal bovino, 1 X NEAA, β -ME, 1 X Pen / Strep, e 25 mM de HEPES em frascos de cultura de 175 cm₂. Para os registros de células inteiras, 2500 - 5000 células foram semeadas em lamelas de vidro revestidas com poli-L-lisina e cultivadas durante 24 - 48 horas a 27 °C antes da sua utilização para testar a atividade de potenciadores; e incubadas com ou sem o composto de correção a 37 °C para a medição da atividade de corretores.

Registros de canal único

[00365] Atividade de gating de peso-CFTR e Δ F508-CFTR corrigido em temperatura expresso em células NIH3T3 foi observada usando registros de adesivo de membrana dentro-fora excisadas como descrito anteriormente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Cristal, RG, Pavirani, A., Lecocq, JP, Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526-. 528), utilizando um amplificador patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). A pipeta continha (em mM): 150 de NMDG, 150 de ácido aspártico, 5 de CaCl₂, 2 de MgCl₂, e 10 de HEPES (pH ajustado a 7,35 com base Tris). O banho continha (em mM): 150 de NMDG-C1, 2 de MgCl₂, 5 de EGTA, 10 de TES, 14 de base Tris (pH ajustado a 7,35 com HCl). Após a excisão, ambos Δ F508 em peso e -CFTR foram ativados através da adição de 1 mM de Mg-ATP, 75 nM da subunidade catalítica de proteína quinase dependente de cAMP (PKA; Promega Corp. Madison, WI), e 10 mM de NaF para inibir a proteína fosfatase, que impediu corrente degradada. O potencial da pipeta foi mantido a 80 mV. Atividade de canal foi analisada a partir de pedaços de membrana contendo \leq 2 de canais ativos. O número máximo de aberturas simultâneas determinou o número de canais ativos durante o curso de um experimento. Para determinar a amplitude da corrente de canal único, os dados gravados a partir de 120 segundos de atividade Δ F508-CFTR foram filtrados "off-line" em 100 Hz e, em seguida,

utilizados para construir os histogramas de amplitude de todos os pontos que foram equipados com funções multigaussiana utilizando software de análise Bio-Patch (Bio-Logic Comp. França). A probabilidade de corrente e aberta microscópica total (P_o) foi determinada a partir de 120 segundos de atividade do canal. A P_o foi determinada utilizando o software Bio-Patch ou a partir da relação $P_o = I/i(N)$, em que I = corrente média, i = amplitude de corrente de canal único, e N = número de canais ativos no pedaço.

Cultura Celular

[00366] Fibroblastos de camundongo NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR são utilizados para os registros de patch-clamp de membrana excisada. As células são mantidas a 37 °C em 5% de CO₂ e 90% de umidade no meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 2 mM de glutamina, 10% de soro fetal bovino, 1 X NEAA, β-ME, 1 X Pen / Strep, e 25 mM de HEPES em frascos de cultura de 175 cm². Para os registros de canal único, 2500 - 5000 células foram semeadas em lamelas de vidro revestidas com poli-L-lisina e cultivadas durante 24 - 48 horas a 27 °C antes da utilização.

PROTOCOLO 2

Ensaios para Detectar e Medir Propriedades de Correção de ΔF508-CFTR de Compostos

[00367] Métodos ópticos potenciais de membrana para ensaiar as propriedades de modulação de ΔF508-CFTR de compostos.

[00368] O ensaio de potencial de membrana óptico utilizou sensores FRET sensíveis à voltagem descritos por Gonzalez e Tsien (Vide Gonzalez, J.E. e R.Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" *Biophys J* 69(4): 1272-80, e Gonzalez, J.E. e R.Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" *Chem Biol* 4(4): 269-77), em combinação com a

instrumentação para mudanças medir alterações de fluorescência, tais como a Leitor de Sonda de tensão/Ión (VIPR) (Vide, Gonzalez, J.E., K. Oades, et al. (1999) "Cell-basedassays and instrumentation for screening ion-channel targets" Drug Discov Today 4(9): 431-439).

[00369] Estes ensaios sensíveis à voltagem se baseiam na alteração na transferência de energia de ressonância de fluorescência (FRET) entre o corante sensível à tensão, solúvel em membrana, DiSBAC₂(3), e um fosfolipídio fluorescente, CC2-DMPE, que está ligado a folha externa da membrana plasmática e atua como um doador de FRET. Alterações no potencial de membrana (V_m) fazem com que a carga negativa DiSBAC₂(3) redistribua através da membrana plasmática e a quantidade de transferência de energia de CC2-DMPE mude consequentemente. As alterações na emissão de fluorescência foram monitorizadas utilizando VIPR™ II, que é um manipulador de líquidos integrado e detector fluorescente projetado para realizar triagens baseadas em células em placas de microtitulação de 96 ou 384 poços.

Identificação de Compostos Correção

[00370] Para identificar pequenas moléculas que corrigem o defeito de tráfego relacionado com ΔF508-CFTR; um formato de ensaio de HTS de adição única foi desenvolvido. As células foram incubadas em meio isento de soro durante 16 horas a 37 °C na presença ou ausência (controle negativo) do composto de teste. Como um controle positivo, as células plaqueadas em placas de 384 poços foram incubadas durante 16 horas a 27 °C até "a temperatura correta" de ΔF508-CFTR. As células foram subsequentemente lavadas 3X com solução de Krebs Ringer e carregadas com os corantes sensíveis à voltagem. Para ativar ΔF508-CFTR, 10 μM de forscolina e o potenciador de CFTR, a genisteína (20 μM), foram adicionados, juntamente com meio livre de Cl⁻ a cada poço. A adição de meio livre de Cl⁻ promoveu efluxo de Cl⁻

em resposta à ativação de ΔF508-CFTR e a despolarização da membrana resultante foi monitorizada opticamente utilizando os corantes de tensão-sensores baseados em FRET.

Identificação de Compostos Potenciadores

[00371] Para identificar potenciadores de ΔF508-CFTR, um formato de ensaio de HTS de adição dupla foi desenvolvido. Durante a primeira adição, um meio livre de Cl⁻ com ou sem composto de teste foi adicionado a cada poço. Depois de 22 segundos, uma segunda adição de meio livre de Cl⁻ contendo 2 - 10 μM de forskolina foi adicionado para ativar ΔF508-CFTR. A concentração extracelular de Cl⁻, após ambas as adições foi de 28 mM, o que promoveu efluxo de ⁻ em resposta à ativação de ΔF508-CFTR e a despolarização da membrana resultante foi monitorizada opticamente utilizando os corantes sensores de tensão baseados em FRET.

Soluções

[00372] Solução de banho # 1: (em mM) 160 de NaCl, 4,5 de KC1, 2 de CaCl₂, 1 de MgCl₂, 10 de HEPES, pH 7,4 com NaOH.

[00373] Solução de banho livre de cloreto: Sais de cloreto na solução de banho # 1 (acima) são substituídos por sais de gluconato.

[00374] CC2-DMPE: Preparado como 10 mM de uma solução de estoque em DMSO e armazenado a -20 °C.

[00375] DiSBAC₂(3): Preparado como 10 mM de uma estoque em DMSO e armazenado a -20 °C.

Cultura Celular

[00376] Fibroblastos de camundongo NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR são usados para medições ópticas de potencial de membrana. As células são mantidas a 37 °C em 5% de CO₂ e 90% de umidade no meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 2 mM de glutamina, 10% de soro fetal bovino, 1 X NEAA, β-ME, 1 X Pen / Strep, e 25 mM de HEPES em frascos de

cultura de 175 cm². Para todos os ensaios ópticos, as células foram cultivadas a 30.000 / poço em placas de 384 poços revestidas com matriz e cultivadas durante 2 horas a 37 °C antes da cultura a 27 °C durante 24 horas para o ensaio de potenciador. Para os ensaios de correção, as células são cultivadas a 27 °C ou 37 °C, com e sem compostos de 16 - 24 horas.

[00377] Os ensaios eletrofisiológicos para ensaiar as propriedades de modulação de ΔF508-CFTR de compostos

Câmara de Ensaio Ussing

[00378] Experimentos de câmara Ussing foram realizados em células epiteliais polarizadas que expressam ΔF508-CFTR para caracterizar adicionalmente os potenciadores de ΔF508-CFTR ou indutores identificados nos ensaios ópticos. Células epiteliais FRT^{ΔF508-CFTR} cultivadas em inserções de cultura de células Costar Snapwell foram montadas em uma câmara Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), e as monocamadas foram continuamente colocadas em curto-círcuito através de um sistema de tensão-grampo (Departamento de bioengenharia, Universidade de Iowa, IA, e, Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA). Resistência transepitelial foi medida por aplicação de um pulso de 2-mV. Sob estas condições, os epitélios FRT demonstraram resistências de 4 KΩ / cm² ou mais. As soluções foram mantidas a 27 °C e borbulhadas com ar. O potencial de deslocamento de eletrodo e resistência de fluido foram corrigidos usando uma inserção livre de células. Sob estas condições, a corrente de fluxo reflete o fluxo de Cl⁻ através de ΔF508-CFTR expresso na membrana apical I_{SC} foi digitalmente adquirido utilizando uma interface MP100A-CE e software AcqKnowledge (v3.2.6, Biopac Systems, Santa Barbara, CA).

Identificação de Compostos de Correção

[00379] Protocolo típico utilizou um gradiente de concentração de Cl⁻

de membrana basolateral para apical. Para configurar este gradiente, campainha normal foi usada na membrana basolateral, enquanto NaCl apical foi substituído por gluconato de sódio equimolar (titulado para pH 7,4 com NaOH) para dar um grande gradiente de concentração de Cl⁻ através do epitélio. Todas as experiências foram realizadas com monocamadas intactas. Para ativar completamente ΔF508-CFTR, forscolina (10 μM) e o inibidor de PDE, IBMX (100 μM), foram aplicados após a adição de potenciador CFTR, genisteína (50 μM).

[00380] Conforme observado em outros tipos de células, incubação a baixas temperaturas de células FRT que expressam estavelmente ΔF508 DRF-CFTR aumenta a densidade funcional de CFTR na membrana plasmática. Para determinar a atividade dos compostos de correção, as células foram incubadas com 10 μM do composto de teste durante 24 horas a 37 °C e foram subsequentemente lavadas 3X antes do registro. I_{SC} mediado por cAMP e genisteína em células tratadas com composto foi normalizado para os controles de 27 °C e 37 °C e expressos como atividade percentual. A pré-incubação das células com o composto de correção aumentou significativamente o I_{SC} mediado por cAMP e genisteína em comparação com os controles de 37 °C.

Identificação de Compostos Potenciadores

[00381] Protocolo típico utilizado um gradiente de concentração de Cl⁻ de membrana basolateral para apical. Para configurar este gradiente, campainhas normais foram utilizadas na membrana basolateral e foi permeabilizada com nistatina (360 μg/ml), ao passo que NaCl apical foi substituído por gluconato de sódio equimolar (titulado para pH 7,4 com NaOH) para dar grande gradiente de concentração de Cl⁻ através do epitélio. Todas as experiências foram realizadas 30 minutos após a permeabilização com nistatina. Forscolina (10 μM) e todos os compostos de teste foram adicionados a ambos os lados das inserções de cultura celular. A eficácia dos

potenciadores $\Delta F508$ -CFTR putativos foi comparada com a do potenciador conhecido, genisteína.

Soluções

[00382] Solução basolateral (em mM): NaCl (135), CaCl₂ (1,2), MgCl₂ (1,2), K₂HPO₄ (2,4), KHPO₄ (0,6), ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanossulfônico (HEPES) (10) e dextrose (10). A solução foi titulada até pH 7,4 com NaOH.

[00383] Solução apical (em mM): O mesmo que para solução basolateral com NaCl substituído por gluconato de Na (135).

Culturas Celulares

[00384] Células epiteliais de rato Fisher (DRF) expressando $\Delta F508$ -CFTR (FRT $^{\Delta F508\text{-}CFTR}$) foram usadas para experimentos em câmaras Ussing para os intensificadores putativos de $\Delta F508$ -CFTR ou indutores identificados a partir de nossos ensaios ópticos. As células foram cultivadas em inserções de cultura celular Costar Snapwell e cultivadas durante cinco dias a 37 °C e 5% de CO₂ em meio F-12 de Ham modificado de Coon suplementado com 5% de soro fetal de vitelo, 100 U/ml de penicilina, e 100 µg/ml de estreptomicina. Antes de serem utilizadas para caracterizar a atividade dos compostos potenciadores, as células foram incubadas a 27 °C durante 16 - 48 horas para corrigir o $\Delta F508$ -CFTR. Para determinar a atividade dos compostos de correção, as células foram incubadas a 27 °C ou 37 °C com e sem os compostos durante 24 horas.

Registros de célula inteira

[00385] A corrente de $\Delta F508$ -CFTR macroscópica ($I_{\Delta F508}$) em células NIH3T3 corrigidas em temperatura e compostos de teste expressando estavelmente $\Delta F508$ -CFTR foi monitorada usando o registro de célula inteira, perfurado-patch. Resumidamente, os registros de tensão-clamp de $I_{\Delta F508}$ foram realizados à temperatura ambiente, utilizando um amplificador de patch-clamp Axopatch 200B

(Axon Instruments Inc., Foster City, CA). Todos os registros foram adquiridos a uma frequência de amostragem de 10 kHz e com filtro passa baixa a 1 kHz. Pipetas tinham uma resistência de 5-6 MΩ quando cheias com a solução intracelular. Sob estas condições de registro, o potencial reverso calculado para Cl⁻ (ICE) à temperatura ambiente foi -28 mV. Todos os registros tinham uma resistência de vedação > 20 GΩ e uma resistência em série <15 MΩ. Geração de pulso, aquisição de dados e análise foram realizados utilizando um computador equipado com um interface Digidata 1320 A/D em conjunto com Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). O banho continha <250 µL de solução salina e foi continuamente perfundido a uma taxa de 2 mL/min, utilizando um sistema de perfusão conduzido por gravidade.

Identificação de Compostos de Correção

[00386] Para determinar a atividade dos compostos de correção para aumentar a densidade de ΔF508-CFTR funcional na membrana plasmática, foram utilizadas as técnicas perfurada-patch-registro anteriormente descritas para medir a densidade de corrente após o tratamento de 24 horas com os compostos de correção. Para ativar completamente ΔF508-CFTR, 10 µM de forskolina e 20 µM de genisteína foram adicionados às células. Sob as condições de registro, a densidade de corrente após a incubação de 24 h a 27 °C foi mais elevada do que a observada após incubação de 24 horas a 37 °C. Estes resultados são consistentes com os efeitos conhecidos de incubação de baixa temperatura sobre a densidade de ΔF508-CFTR na membrana plasmática. Para determinar os efeitos dos compostos de correção de densidade de corrente de CFTR, as células foram incubadas com 10 µM do composto de teste durante 24 horas a 37 °C e a densidade de corrente foi comparada com os controles de 27 °C e 37 °C (% de atividade). Antes de gravar, as células foram lavadas 3x

com meio de registo extracelular para remover qualquer composto de teste restante. A pré-incubação com 10 µM de compostos de correção aumentou significativamente a corrente dependente de cAMP e de genisteína em comparação com os controles de 37 °C.

Identificação de Compostos Potenciadores

[00387] A capacidade de potenciadores ΔF508-CFTR para aumentar a corrente de Cl⁻ de ΔF508-CFTR macroscópica ($I_{\Delta F508}$) em células NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR também foi investigada usando técnicas perfurada-patch-registro. Os potenciadores identificados a partir dos ensaios ópticos evocaram um aumento dependente da dose em $I_{\Delta F508}$ com potência e eficácia similar observada nos ensaios ópticos. Em todas as células examinadas, o potencial reverso antes e durante a aplicação do potenciador era de cerca de -30 mV, que é a E_{Cl^-} calculada (-28 mV).

Soluções

[00388] Solução intracelular (em mM): Cs-aspartato (90), CsCl (50), MgCl₂ (1), HEPES (10), e 240 µg/mL de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 com CsOH).

[00389] Solução extracelular (em mM): N-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl (150), MgCl₂ (2), CaCl₂ (2), HEPES (10) (pH ajustado para 7,35 com HCl).

Cultura Celular

[00390] Fibroblastos de camundongo NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR são utilizados para registros de células inteiras. As células são mantidas a 37 °C em 5% de CO₂ e 90% de umidade no meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 2 mM de glutamina, 10% de soro fetal bovino, 1 X NEAA, β-ME, 1 X Pen / Strep, e 25 mM de HEPES em frascos de cultura de 175 cm². Para os registros de células inteiras, 2500 - 5000 células foram semeadas em lamelas de vidro revestidas com poli-L-lisina e cultivadas durante 24 -

48 horas a 27 °C antes da sua utilização para testar a atividade de potenciadores; e incubadas com ou sem o composto de correção a 37 °C para a medição da atividade de corretores.

Registros de Canal Único

[00391] As atividades de canal único de ΔF508-CFTR corrigido em temperatura estavelmente expresso em células NIH3T3 e atividades de compostos potenciadores foram observadas utilizando pedaço de membrana dentro – fora excisada. Resumidamente, os registros de tensão-clamp de atividade de canal único foram realizados à temperatura ambiente com um amplificador de patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). Todos os registros foram adquiridos a uma frequência de amostragem de 10 kHz e filtro passa baixa em 400 Hz. Pipetas de patch foram fabricadas a partir de vidro Corning Kovar Scaling # 7052 (Instrumentos de Precisão Mundial, Inc., Sarasota, FL) e tinha uma resistência de 5-8 MΩ quando preenchidas com a solução extracelular. O ΔF508-CFTR foi ativado após a excisão, por adição de 1 mM de Mg-ATP, e 75 nM de subunidade catalítica de proteína quinase dependente de cAMP (PKA; Promega Corp. Madison, WI). Após a atividade de canal estabilizada, o patch foi perfundido usando um sistema de microperfusão orientado por gravidade. O fluxo de entrada foi colocado adjacente ao pedaço, resultando em troca de solução completa dentro de 1 - 2 segundos. Para manter a atividade ΔF508-CFTR durante a rápida perfusão, o inibidor de fosfatase inespecífica F- (10 mM de NaF) foi adicionado à solução do banho. Sob estas condições de registro, a atividade de canal permaneceu constante durante toda a duração do registro do pedaço (até 60 min). As correntes produzidas por carga positiva se deslocando das soluções intracelulares para extracelulares (ânions se deslocam no sentido oposto) são mostradas como correntes positivas. O potencial da pipeta (V_p) foi mantido a 80 mV.

[00392] Atividade de canal foi analisada a partir de pedaços de membrana contendo ≤ 2 canais ativos. O número máximo de aberturas simultâneas determinou o número de canais ativos durante o decurso de uma experiência. Para determinar a amplitude da corrente de canal único, os dados gravados a partir de 120 segundos de atividade de ΔF508-CFTR foram filtrados "off-line" em 100 Hz e, em seguida, utilizados para construir os histogramas de amplitude de todos os pontos que foram equipados com funções multigaussiana utilizando software de análise Bio-Patch (Bio-Logic Comp. França). A probabilidade microscópica e de corrente total (P_o) foi determinada a partir de 120 segundos de atividade do canal. A P_o foi determinada utilizando o software de Bio-patch ou a partir da relação $P_o = I/i(N)$, em que I = corrente média, i = amplitude de corrente de canal único, e N = número de canais ativos em remendo.

Soluções

[00393] Solução extracelular (em mM) NMDG (150), ácido aspártico (150), CaCl_2 (5), MgCl_2 (2), e HEPES (10) (pH ajustado a 7,35 com base Tris).

[00394] Solução intracelular (em mM): NMDG-C1 (150), MgCl_2 (2), EGTA (5), TES (10), e Tris base (14) (pH ajustado para 7,35 com HCl).

Cultura Celular

[00395] Fibroblastos de camundongo NIH3T3 estavelmente expressando ΔF508-CFTR são utilizados para registros de patch-clamp de membrana excisada. As células são mantidas a 37 °C em 5% de CO_2 e 90% de umidade no meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 2 mM de glutamina, 10% de soro fetal bovino, 1 X NEAA, β-ME, 1 X Pen / Strep, e 25 mM de HEPES em frascos de cultura de 175 cm². Para os registros de canal único, 2500 - 5000 células foram cultivadas em lamelas de vidro revestidas com poli-L-lisina e cultivadas durante 24 - 48 horas a 27 °C antes da utilização.

[00396] Composto 1 e do Composto 2 da presente invenção são úteis como aumentadores ou indutores de atividade de CFTR. A Tabela 5 abaixo mostra o valor de EC50 e a eficácia relativa do Composto 1 e Composto 2. Na Tabela 5 abaixo, aplicam-se os seguintes significados. EC50: "+++" significa < 10 uM; "++" significa entre 10 uM a 25 uM; "+" significa entre 25 uM a 60 uM. % Eficácia: "+" significa < 25%; "++" significa entre 25% a 100%; "+++" significa > 100%.

TABELA 5.

Comp. No.	EC50 (μ M)	% de Atividade
1	+++	+++
2	+++	++

OUTRAS MODALIDADES

[00397] Todas as publicações e patentes referidas nesta descrição são aqui incorporadas por referência na mesma extensão como se cada publicação ou pedido de patente individual fosse especificamente e individualmente indicado para ser incorporado por referência. No caso de o significado dos termos em qualquer das patentes ou publicações incorporadas por referência conflitar com significado dos termos utilizados nesta divulgação, o significado dos termos nesta divulgação destina-se a ser aquele que controlará. Além disso, a discussão antecedente divulga e descreve modalidades meramente exemplares da invenção. Um especialista na técnica reconhecerá prontamente a partir de tal discussão e a partir dos desenhos anexos e reivindicações, que várias alterações, modificações e variações podem ser feitas aqui sem se afastar do espírito e âmbito da invenção como definido nas seguintes reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. Comprimido, caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) 30 a 50 porcento em peso de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1) de Forma I, definido por um ou mais picos dentro de uma ou mais faixas 2 θ selecionadas de 15,2 a 15,6, 16,1 a 16,5 e 14,3 e 14,7 graus em um padrão de difração de pó de raios-X obtido usando radiação alfa Cu K a 40 kV, 35 mA e/ou por um sistema de cristal monoclínico no grupo espacial P2₁/n com as seguintes dimensões celulares unitárias: $a = 4,9626 (7)$ Å, $b = 12,299 (2)$ Å, $c = 33,075 (4)$ Å, $\beta = 93,938 (9)$ °, e

(b) 10 a 45 porcento em peso de uma dispersão sólida compreendendo N-(5-hidróxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida substancialmente amorfa (Composto 2) e um polímero, em que o Composto 2 substancialmente amorfado é definido por menos do que 15% de cristalinidade.

2. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende ainda:

- a) um preenchedor;
 - b) um desintegrante;
 - c) um tensoativo; e
 - d) um aglutinante;
- referidos como PC-I.

3. Comprimido, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que compreende ainda e) um lubrificante.

4. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender ainda:

uma carga, a qual é celulose microcristalina em uma quantidade de 20 a 30 porcento em peso,

um desintegrante, o qual é croscarmelose sódica em uma

quantidade de 3 a 10 porcento em peso,

um surfactante, o qual é lauril sulfato de sódio em uma quantidade de 0,5 a 2 porcento em peso,

um ligante, o qual é polivinilpirrolidona em uma quantidade de 0 a 5 porcento em peso, e

um lubrificante, o qual é esterato de magnésio, em uma quantidade de 0,5 a 2 porcento em peso.

5. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende de 100 a 250 mg do Composto 1 cristalino de Forma I, e de 80 a 150 mg do Composto 2 substancialmente amorfo.

6. Comprimido, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que compreende de 200 mg do Composto 1 cristalino de Forma I, e de 125 mg do Composto 2 substancialmente amorfo.

7. Comprimido, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que compreende ainda um corante e uma cera.

8. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tem a seguinte formulação:

	% em peso
Composto 1 cristalino de Forma I	35
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfo, definido por menos do que 15% de cristalinidade	28
Celulose microcristalina	26
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnésio	1.

9. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tem a seguinte formulação:

	mg
Composto 1 cristalino de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, definido por menos do que 15% de cristalinidade	156
Celulose microcristalina	150
Croscarmelose de sódio	34
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	15
Esterato de magnésio	6.

10. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tem a seguinte formulação:

	% em peso
Composto 1 cristalino de Forma I	34
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, definido por menos do que 15% de cristalinidade	27
Celulose microcristalina	25
Croscarmelose de sódio	6
Lauril sulfato de sódio	1
Polivinilpirrolidona	3
Esterato de magnésio	1
Corante	3.

11. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tem a seguinte formulação:

	mg
Composto 1 cristalino de Forma I	200
Dispersão sólida compreendendo Composto 2	156

	mg
substancialmente amorfó, definido por menos do que 15% de cristalinidade	
Celulose microcristalina	150
Croscarmelose de sódio	34
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	15
Esterato de magnésio	6
Corante	17.

12. Comprimido, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tem a seguinte formulação:

	mg
Composto 1 cristalino de Forma I	200
Composto 2 Substancialmente amorfó, definido por menos do que 15% de cristalinidade	125
Celulose microcristalina	150
Croscarmelose de sódio	34
Lauril sulfato de sódio	4
Polivinilpirrolidona	15
Esterato de magnésio	6
Corante	17.

13. Comprimido, caracterizado pelo fato de que tem a seguinte formulação:

Componente	mg/Comprimido
Composto 1 cristalino de Forma I	100
Dispersão sólida compreendendo Composto 2 substancialmente amorfó, definido por menos do que 15% de cristalinidade	156
Celulose microcristalina	55
Croscarmelose de sódio	7

Componente	mg/Comprimido
Polivinilpirrolidona	11
Lauril sulfato de sódio	3
Grânulos totais	332
Croscarmelose de sódio	18
Celulose microcristalina	53
Estearato de magnésio	4
Comprimido Total	407.

14. Comprimido, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 de Forma I, tem um tamanho de partícula de 1,0 a 5,0 microns.

15. Comprimido, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 de Forma I, tem um diâmetro de partícula D50 de 2,0 microns.

16. Comprimido de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico na faixa de 15,2 a 15,6 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 15,4 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

17. Comprimido de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido adicionalmente por um pico na faixa de 16,1 a 16,5 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 16,3 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

18. Comprimido de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o Composto 1

cristalino de Forma 1 é definido adicionalmente por um pico na faixa de 14,3 a 14,7 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 14,5 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

19. Comprimido de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma 1 é definido adicionalmente por um pico na faixa de:

- (i) 17,6 a 18,0 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K; ou
- (ii) 7,6 a 8,0 graus em uma difração de pó de raios-X obtida usando radiação alfa de Cu K.

20. Comprimido, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 Forma I é definido adicionalmente por um ou mais picos selecionados de:

- (i) 14,41 graus, 14,64 graus, 15,23 graus, 16,11 graus, 17,67 graus, 19,32 graus, 21,67 graus, 23,40 graus, 23,99 graus, 26,10 graus e 28,54 graus, todos \pm 0,2 graus, em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa Cu K; ou
- (ii) 7,83 graus, 14,51 graus, 14,78 graus, 15,39 graus, 16,26 graus, 16,62 graus, 17,81 graus, 21,59 graus, 23,32 graus, 24,93 graus e 25,99 graus, todos \pm 0,2 graus, em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa Cu K.

21. Kit, caracterizado pelo fato de que compreende o comprimido como definido na reivindicação 1 e um agente terapêutico separado.

22. Kit, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o comprimido e o agente terapêutico estão em

recipientes separados.

23. Kit, de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que os recipientes são garrafas, frascos, ou embalagens de blister, ou uma combinação dos mesmos.

24. Método de preparar um grânulo, caracterizado pelo fato de que compreende granulagem úmida dos seguintes componentes:

a) Composto 1 cristalino de Forma I, definido por um ou mais picos dentro de uma ou mais faixas 2 θ selecionadas de 15,2 a 15,6, 16,1 a 16,5 e 14,3 e 14,7 graus em um padrão de difração de pó de raios-X obtido usando radiação alfa Cu K a 40 kV, 35 mA;

b) uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfado definido por menos do que 15% de cristalinidade;

c) um preenchedor;

d) um desintegrante;

e) um tensoativo; e

f) um aglutinante.

25. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico na faixa de 15,2 a 15,6 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 15,4 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

26. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido adicionalmente por um pico na faixa de 16,1 a 16,5 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 16,3 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

27. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma 1 é definido adicionalmente por um pico na faixa de 14,3 a 14,7 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 14,5 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

28. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma 1 é definido adicionalmente por um pico na faixa de:

- (i) 17,6 a 18,0 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K; ou
- (ii) 7,6 a 8,0 graus em uma difração de pó de raios-X obtida usando radiação alfa de Cu K.

29. Método de acordo com a reivindicação 24, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 Forma I é definido adicionalmente por um ou mais picos selecionados de:

- (i) 14,41 graus, 14,64 graus, 15,23 graus, 16,11 graus, 17,67 graus, 19,32 graus, 21,67 graus, 23,40 graus, 23,99 graus, 26,10 graus e 28,54 graus, todos \pm 0,2 graus, em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa Cu K; ou
- (ii) 7,83 graus, 14,51 graus, 14,78 graus, 15,39 graus, 16,26 graus, 16,62 graus, 17,81 graus, 21,59 graus, 23,32 graus, 24,93 graus e 25,99 graus, todos \pm 0,2 graus, em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa Cu K.

30. Processo contínuo para preparar um comprimido compreendendo o Composto 1 cristalino de Forma I definido por um ou mais picos dentro de uma ou mais faixas 2 θ selecionadas de 15,2 a 15,6, 16,1 a 16,5 e 14,3 e 14,7 graus em um padrão de difração de pó de raios-X obtido usando radiação alfa Cu K a 40 kV, 35 mA, e uma

dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, definido por menos do que 15% de cristalinidade, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

- a) misturar o Composto 1 de Forma I, uma dispersão sólida compreendendo o Composto 2 substancialmente amorfo, um preenchedor, e um desintegrante em um misturador para formar uma mistura;
- b) preparar uma solução de granulação com água, um aglutinante, e um tensoativo;
- c) alimentar a mistura a partir da etapa a) em um granulador de dois parafusos contínuo enquanto adiciona a solução de granulação a partir da etapa b) para produzir grânulos;
- d) secar os grânulos a partir da etapa c) e moê-los;
- e) misturar os grânulos moídos a partir da etapa d) com um preenchedor, desintegrante, e lubrificante para formar uma mistura; e
- f) comprimir a mistura a partir da etapa e) em um comprimido.

31. Processo contínuo de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico na faixa de 15,2 a 15,6 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 15,4 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

32. Processo contínuo de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido adicionalmente por um pico na faixa de 16,1 a 16,5 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 16,3 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

33. Processo contínuo de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma I é

definido adicionalmente por um pico na faixa de 14,3 a 14,7 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K, ou em que o Composto 1 cristalino de Forma I é definido por um pico a 14,5 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K.

34. Processo contínuo de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 cristalino de Forma 1 é definido adicionalmente por um pico na faixa de:

- (i) 17,6 a 18,0 graus em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa de Cu K; ou
- (ii) 7,6 a 8,0 graus em uma difração de pó de raios-X obtida usando radiação alfa de Cu K.

35. Processo contínuo de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o Composto 1 Forma I é definido adicionalmente por um ou mais picos selecionados de:

- (i) 14,41 graus, 14,64 graus, 15,23 graus, 16,11 graus, 17,67 graus, 19,32 graus, 21,67 graus, 23,40 graus, 23,99 graus, 26,10 graus e 28,54 graus, todos \pm 0,2 graus, em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa Cu K; ou
- (ii) 7,83 graus, 14,51 graus, 14,78 graus, 15,39 graus, 16,26 graus, 16,62 graus, 17,81 graus, 21,59 graus, 23,32 graus, 24,93 graus e 25,99 graus, todos \pm 0,2 graus, em uma difração de pó de raios X obtida usando radiação alfa Cu K.

FIG. 1

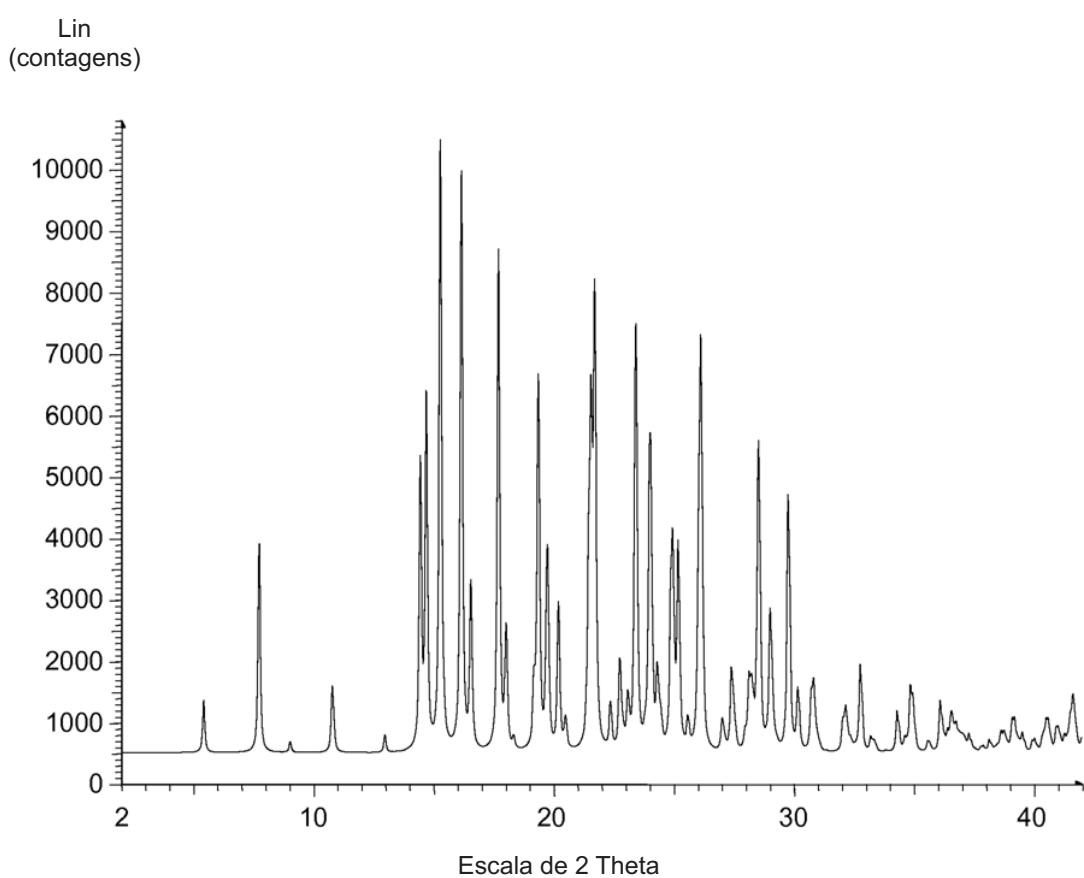


FIG. 2

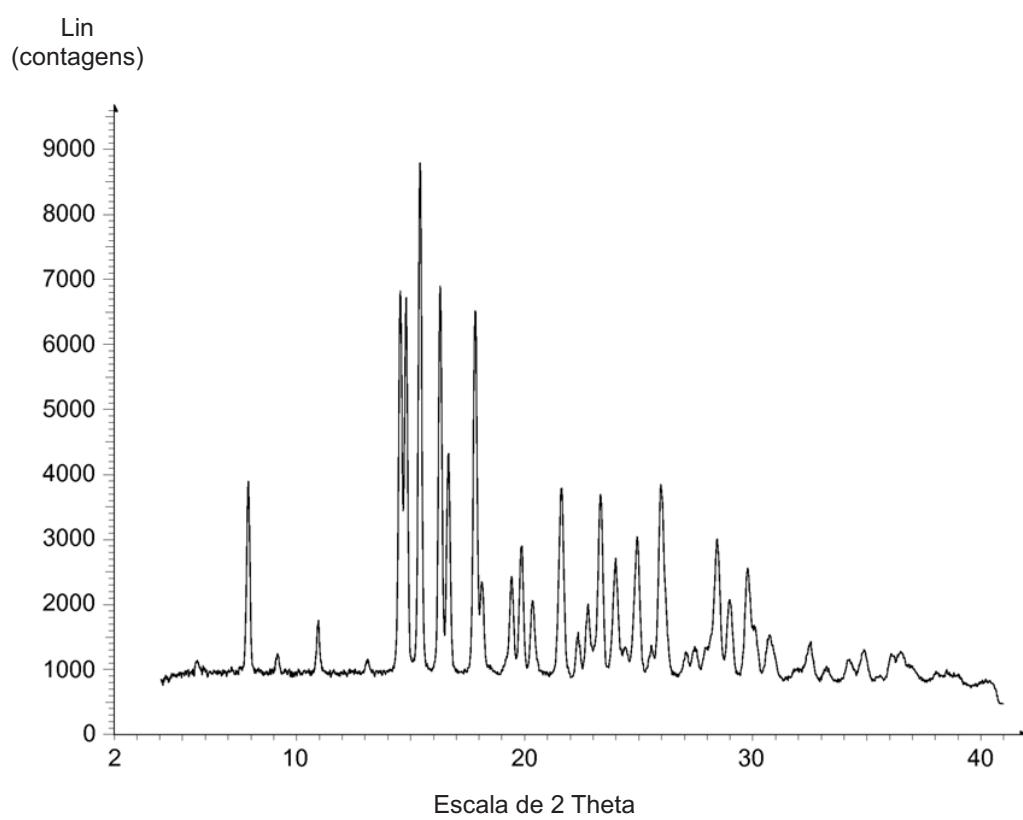


FIG. 3

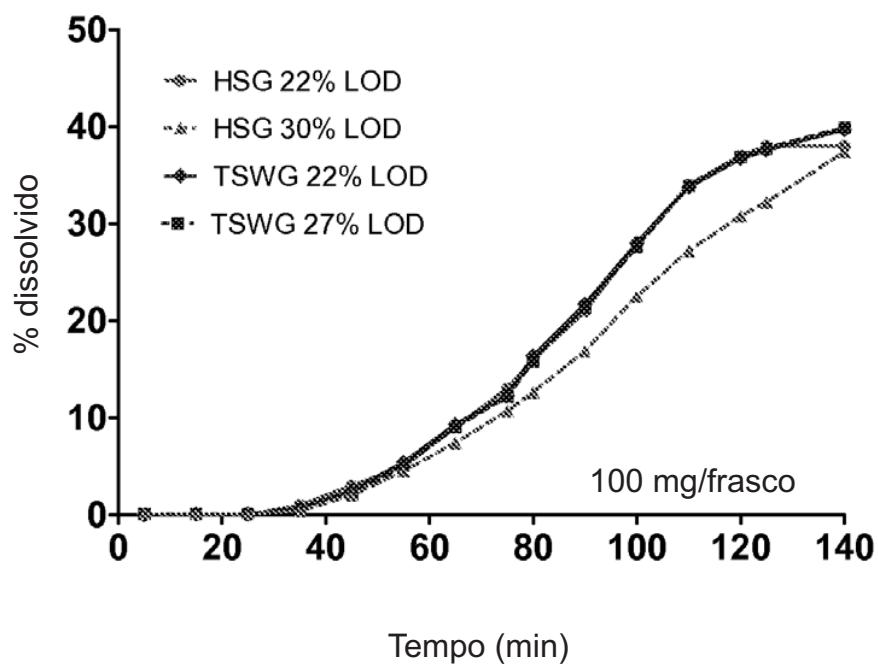


FIG. 4

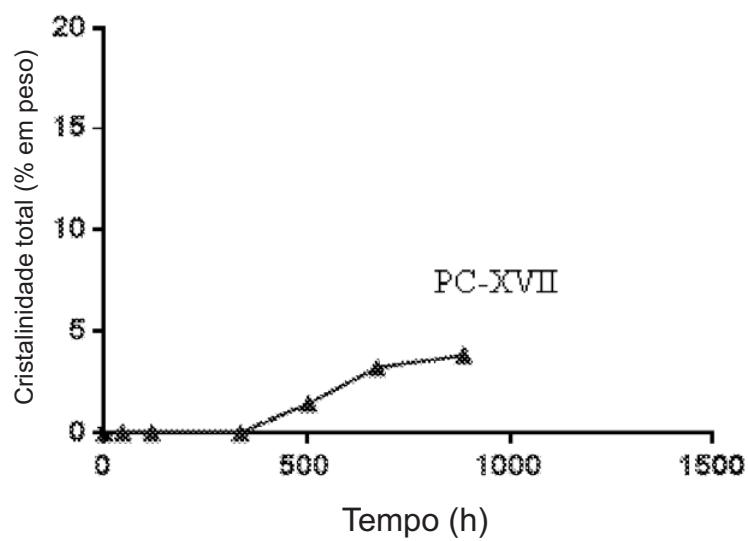


FIG. 5

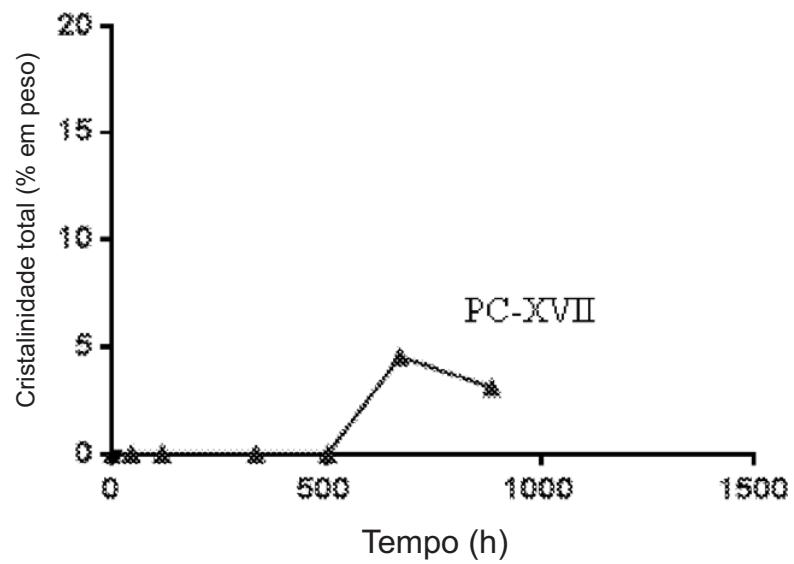


FIG. 6

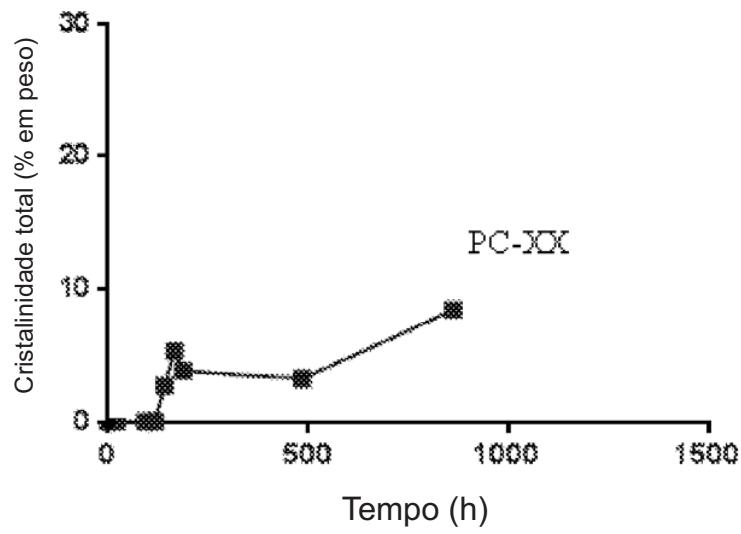


FIG. 7

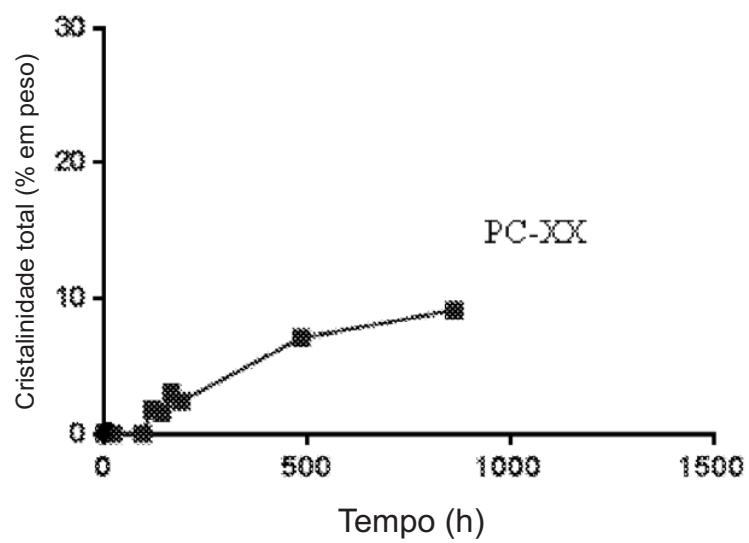


FIG. 8

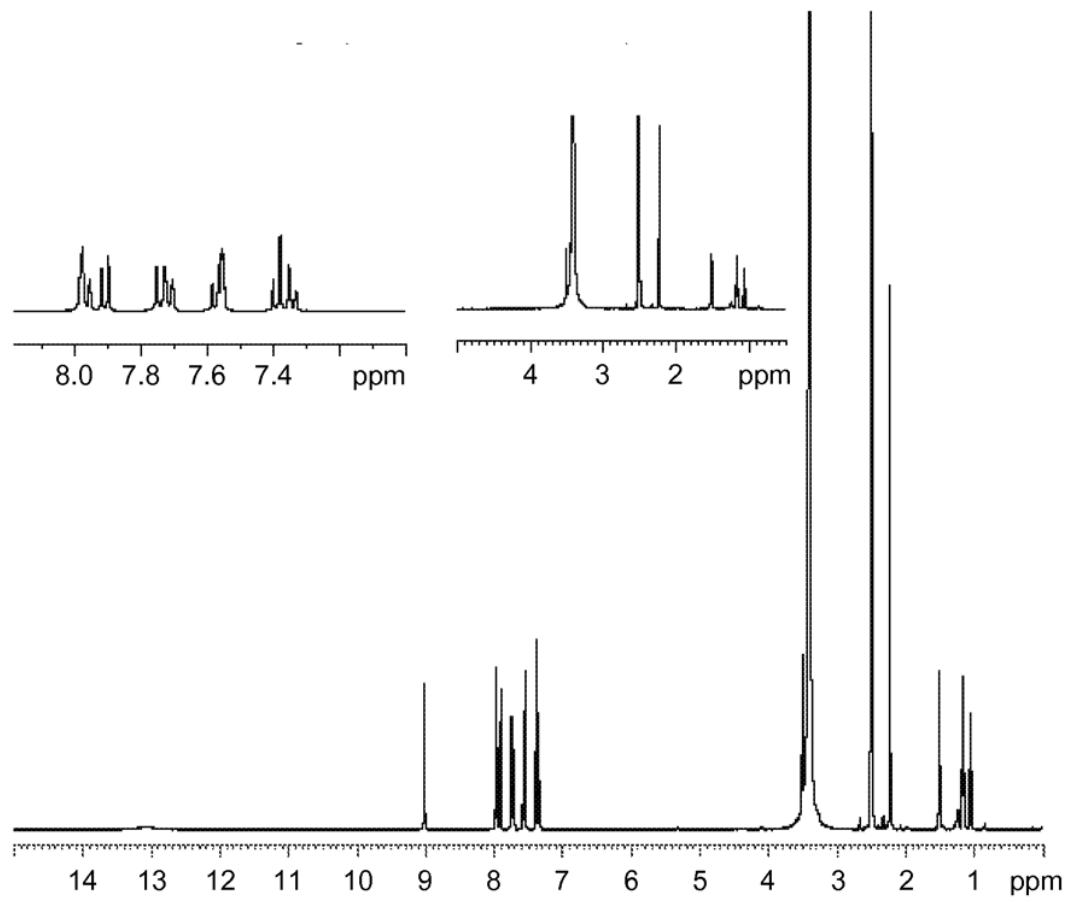


FIG. 9

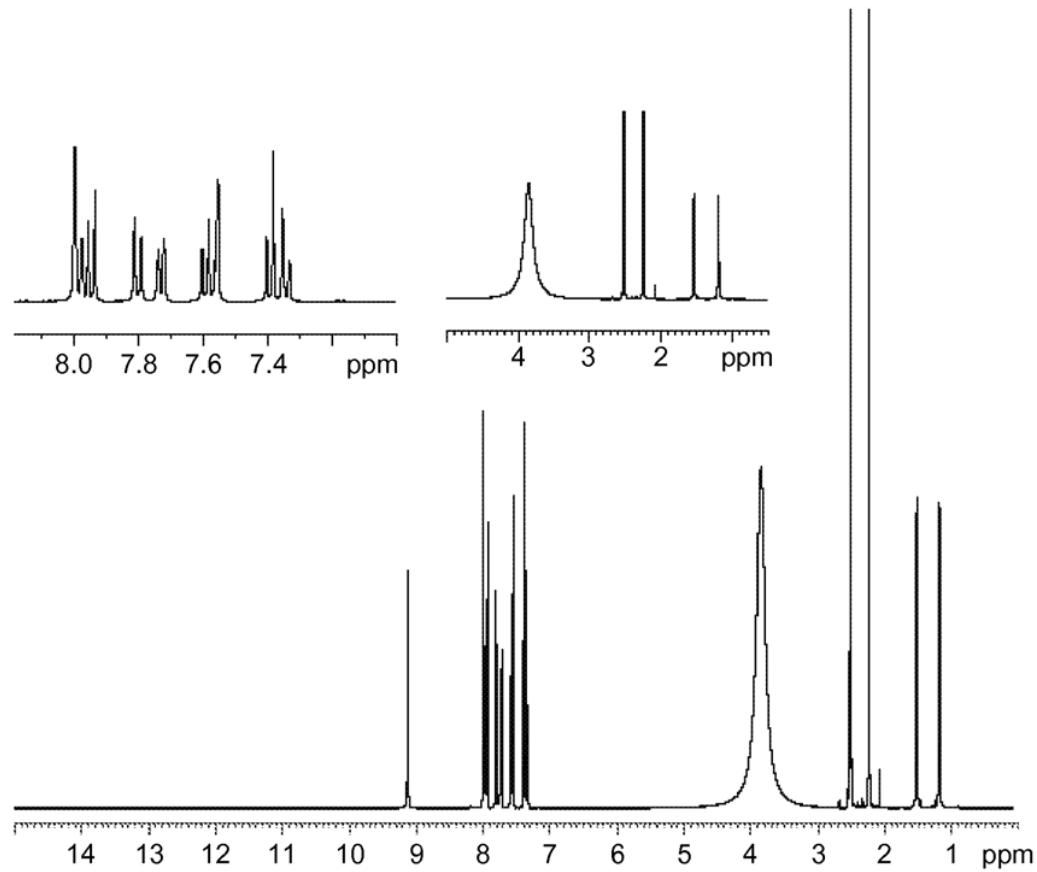


FIG. 10

Fluxo de aquecimento (p/g)

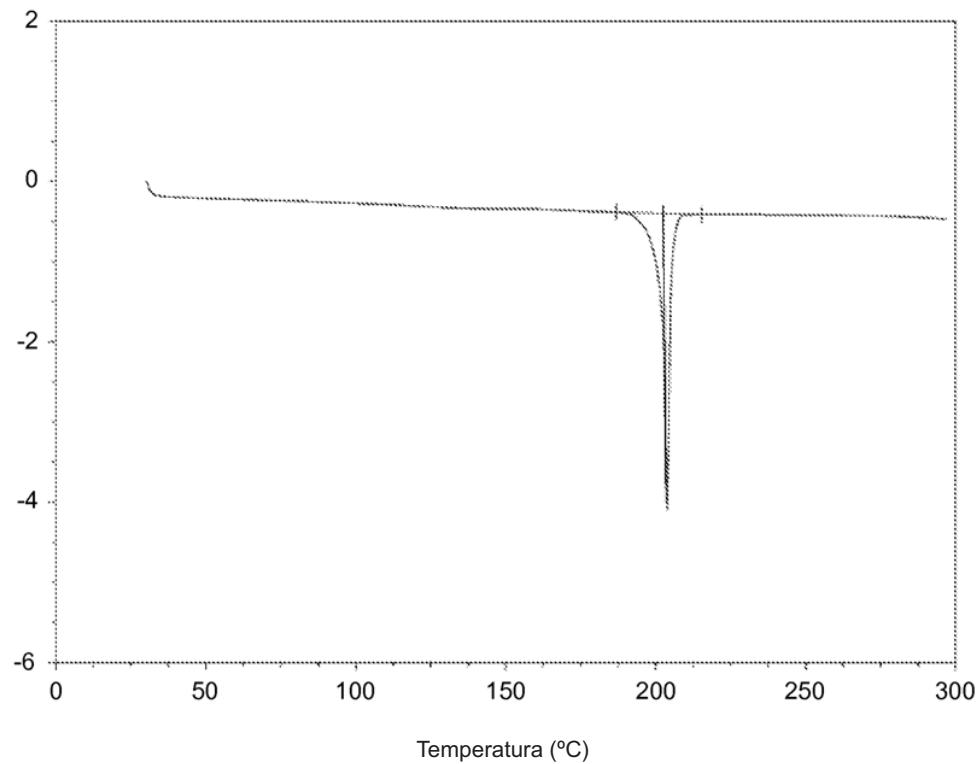


FIG. 11

