

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 009 747**

51 Int. Cl.:

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61K 9/20** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/443** (2006.01)

**A61K 31/47** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2013 E 18192504 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2025 EP 3470063**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades mediadas por CFTR**

30 Prioridad:

**02.11.2012 US 201261721622 P**

**20.11.2012 US 201261728328 P**

**28.02.2013 US 201361770668 P**

**16.05.2013 US 201361824005 P**

**28.06.2013 US 201361840668 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**31.03.2025**

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED**  
**(100.00%)**

**50 Northern Avenue**  
**Boston, MA 02210, US**

72 Inventor/es:

**VERWIJS, MARINUS, JACOBUS;**  
**KARKARE, RADHIKA y**  
**MOORE, MICHAEL, DOUGLAS**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 3 009 747 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades mediadas por CFTR

## 5 CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

10 [0001] La invención se define en las reivindicaciones y se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)ácido benzoico (Compuesto 1) Forma I y una dispersión sólida que comprende N-(5-hidroxi-2,4-dit-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (Compuesto 2) sustancialmente amorfa. Las composiciones farmacéuticas pueden utilizarse en métodos de tratamiento. También se divulgan, pero no se reivindican, métodos de fabricación de las composiciones farmacéuticas. La invención también se refiere a kits que comprenden las composiciones farmacéuticas.

## 15 FONDO

[0002] La fibrosis quística (CF) es una enfermedad genética recesiva que afecta aproximadamente a 30.000 niños y adultos en Estados Unidos y aproximadamente a 30.000 niños y adultos en Europa. A pesar de los avances en el tratamiento de la fibrosis quística, no existe cura.

20 [0003] En pacientes con CF, mutaciones en CFTR expresadas endógenamente en epitelios respiratorios conducen a una secreción apical reducida de aniones, causando un desequilibrio en el transporte de iones y fluidos. La consiguiente disminución del transporte de aniones contribuye a una mayor acumulación de mucosidad en el pulmón y a las infecciones microbianas que la acompañan y que, en última instancia, causan la muerte en los pacientes con CF. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes con CF suelen padecer problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si no se tratan, provocan la muerte. Además, la mayoría de los varones con fibrosis quística son estériles y la fertilidad está disminuida entre las mujeres con fibrosis quística. En contraste con los graves efectos de dos copias del gen asociado a la fibrosis quística, los individuos con una sola copia del gen asociado a la fibrosis quística presentan una mayor resistencia al cólera y a la deshidratación resultante de la diarrea, lo que quizá explique la frecuencia relativamente alta del gen de la fibrosis quística en la población.

30 [0004] El análisis de la secuencia del gen CFTR de los cromosomas de la CF ha revelado una variedad de mutaciones causantes de la enfermedad (Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863:870; and Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451). Hasta la fecha, se han identificado más de 1000 mutaciones causantes de la enfermedad en el gen de la CF (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>). La mutación más frecuente es una delección de fenilalanina en la posición 508 de la secuencia de aminoácidos de CFTR, y se conoce comúnmente como  $\Delta F508$ -CFTR. Esta mutación se produce en aproximadamente el 70% de los casos de fibrosis quística y está asociada a una enfermedad grave.

40 [0005] La delección del residuo 508 en  $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente. El resultado es la incapacidad de la proteína mutante para salir del ER y dirigirse a la membrana plasmática. Como resultado, el número de canales presentes en la membrana es mucho menor que el observado en las células que expresan CFTR de tipo salvaje. Además de un tráfico deficiente, la mutación provoca un *gating* defectuoso del canal. Juntos, el número reducido de canales en la membrana y el *gating* defectuoso conducen a una reducción del transporte de aniones a través de los epitelios, lo que provoca un transporte defectuoso de iones y fluidos. (Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Los estudios han demostrado, sin embargo, que los números reducidos de  $\Delta F508$ -CFTR en la membrana son funcionales, aunque menos que el CFTR de tipo salvaje. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Denning et al., supra; Pasyk and Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). Además de  $\Delta F508$ -CFTR, otras mutaciones causantes de la enfermedad en CFTR que provocan un tráfico, una síntesis y/o un *gating* de puerta del canal defectuosos podrían regularse al alza o a la baja para alterar la secreción de aniones y modificar la progresión y/o la gravedad de la enfermedad.

50 [0006] El Compuesto 1 en forma de sal se divulga en la Publicación PCT Internacional WO2007056341 y en la Patente de los Estados Unidos No. 7,741,321 como un inductor de la actividad CFTR y por lo tanto como un tratamiento útil para las enfermedades mediadas por CFTR tales como la fibrosis quística. El compuesto 1 Forma I, que es una forma sustancialmente cristalina y sin sal, se divulga en la Publicación PCT Internacional WO2009073757 y en la Patente de Estados Unidos N.º 8.507.534. El compuesto 2 se divulga en la Publicación PCT Internacional WO2006002421 y en la Patente de Estados Unidos N.º 7.495.103 como inductor de la actividad CFTR y, por tanto, como tratamiento útil para enfermedades mediadas por CFTR, como la fibrosis quística. Una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo se divulga en la Publicación PCT Internacional WO2010019239 y en la Solicitud de Patente Publicada de los Estados Unidos N.º US20100074949.

60 [0007] Los compuestos que son potenciadores de CFTR, como el Compuesto 2, y los compuestos que son correctores de CFTR, como el Compuesto 1, han demostrado independientemente su utilidad en el tratamiento de enfermedades relacionadas con CFTR, como la fibrosis quística.

[0008] En consecuencia, existe la necesidad de tratamientos novedosos de enfermedades mediadas por CFTR que

incluyan compuestos correctores y potenciadores de CFTR.

[0009] En particular, se necesitan terapias combinadas para tratar enfermedades mediadas por CFTR, como la fibrosis quística, que incluyan compuestos potenciadores y correctores de CFTR.

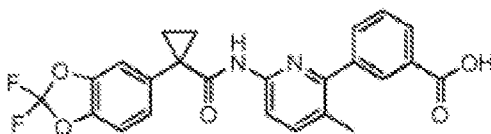
[0010] Más particularmente, existe una necesidad de terapias de combinación para tratar enfermedades mediadas por CFTR, como la fibrosis quística, que incluyen compuestos potenciadores de CFTR, como el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, en combinación con compuestos correctores de CFTR, como la Forma I del Compuesto 1.

[0011] El Organismo para el Control de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA) ha concedido al Compuesto 1, como parte de una combinación con el Compuesto 2, la Designación de Terapia Innovadora para el tratamiento de la fibrosis quística, una de las dos únicas concesiones de este tipo en el momento de la presentación de esta solicitud (la otra es para el Compuesto 2). Esto demuestra una importante necesidad insatisfecha de un tratamiento eficaz de la causa de la fibrosis quística por encima de los tratamientos sintomáticos. Además, un problema habitual de los medicamentos aprobados por el FDA es la falta ocasional de disponibilidad del fármaco para los pacientes que lo necesitan. En consecuencia, existe una importante necesidad insatisfecha de las formulaciones del Compuesto 1 y el Compuesto 2 divulgadas en la actualidad y de los procesos para prepararlas de forma continua y controlada.

[0012] Además, el cumplimiento por parte del paciente de los programas de tratamiento y las cantidades de dosificación depende en gran medida de la facilidad de administración del fármaco. Una composición farmacéutica que comprende cantidades fijas de dosis de un corrector de CFTR y un potenciador de CFTR, en la que las formas sólidas de dicho corrector y potenciador son estables, constituye un avance significativo para el tratamiento de enfermedades mediadas por CFTR, como la fibrosis quística. El documento WO 2010/019239 A2 divulga "composiciones farmacéuticas que comprenden una dispersión sólida de N-[2,4-Bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida", "métodos de fabricación de [estas] composiciones farmacéuticas" y "métodos de administración de [estas] composiciones farmacéuticas". El documento WO 2010/037066 A2 divulga "formulaciones de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico en forma I, envases o kits farmacéuticos de las mismas, y métodos de tratamiento con ellas". El documento US 2011/256220 A1 divulga "una composición farmacéutica que comprende el Compuesto 1, (ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico), y al menos un excipiente seleccionado entre: una carga, un diluyente, un desintegrante, un tensioactivo, un aglutinante, un deslizante y un lubricante, siendo la composición adecuada para su administración oral a un paciente que la necesite para tratar una enfermedad mediada por CFTR como la Fibrosis Quística. Los métodos para tratar a un paciente que lo necesite incluyen administrar al paciente una formulación farmacéutica oral del Compuesto 1".

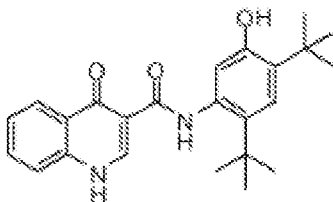
## RESUMEN

[0013] La invención presenta una composición farmacéutica que comprende ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Compuesto 1) Forma I, que tiene la estructura siguiente:



Compuesto 1; y

una dispersión sólida que comprende N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (Compuesto 2) sustancialmente amorfa y un polímero, en el que el Compuesto 2 tiene la estructura siguiente:



Compuesto 2;

donde el Compuesto 2 sustancialmente amorfo tiene menos del 15% de cristalinidad; en la que la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza porque al menos un pico tiene un valor 2θ en un intervalo seleccionado

entre 15,2 y 15,6, 16,1 y 16,5, y 14,3 y 14,7 grados en un patrón de difracción de rayos X obtenido utilizando radiación alfa Cu K, y/o en la que la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza porque la forma cristalina tiene un sistema cristalino monoclinico, un grupo espacial  $P2_1/n$ , y las siguientes dimensiones de celda unitaria

5  
 $A = 4,9626 (7) \text{ \AA}$        $V = 2014,0 \text{ \AA}^3$   
 $B = 12,299 (2) \text{ \AA}$        $\beta = 93,938 (9)^\circ$   
 $C = 33,075 (4) \text{ \AA}$        $Z = 4;$

10 en la que la Forma I del Compuesto 1 está presente en una cantidad de al menos el 20 % en peso de la composición; en la que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo está presente en una cantidad de al menos el 20 % en peso de la composición; y en la que la composición farmacéutica es un gránulo o un comprimido.

15 **[0014]** En un aspecto, la presente invención presenta una composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende:

- 15 a. Forma I del Compuesto 1;  
 b. una dispersión sólida que comprenda el Compuesto 2 sustancialmente amorfo;  
 c. una carga;  
 d. un desintegrante;  
 20 e. un tensioactivo; y  
 f. un aglutinante;

denominada **PC-I**.

25 **[0015]** En una realización, no reivindicada en las reivindicaciones anexas, las composiciones farmacéuticas pueden comprender del 30 al 55 por ciento en peso de la Forma I del Compuesto 1, y del 10 al 45 por ciento en peso de dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

30 **[0016]** En una realización, la carga se selecciona entre celulosa, celulosa modificada, carboximetilcelulosa sódica, hidroximetilcelulosa etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, acetato de celulosa, celulosa microcristalina, fosfato cálcico dibásico, sacarosa, lactosa, almidón de maíz, almidón de patata o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, la carga es celulosa microcristalina, y está presente en una cantidad que oscila entre el 10 y el 20 por ciento en peso.

35 **[0017]** En una realización, el desintegrante se selecciona entre agar-agar, alginas, carbonato cálcico, carboximetilcelulosa, celulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, arcillas, croscarmelosa sódica, crospovidona, gomas, silicato de aluminio y magnesio, metilcelulosa, polacrilina potásica, alginato de sodio, almidón glicolato de sodio, almidón de maíz, almidón de patata, almidón de tapioca, o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el desintegrante es croscarmelosa sódica, y está presente en una cantidad que oscila entre el 1 y el 3  
 40 por ciento en peso.

**[0018]** En una realización, el tensioactivo se selecciona entre lauril sulfato sódico, estearil fumerato sódico, monooleato de sorbitán polioxietilenado 20 o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el tensioactivo es lauril sulfato sódico, y está presente en una cantidad que oscila entre el 0,5 y el 2 por ciento en peso.

45 **[0019]** En una realización, el aglutinante se selecciona entre polivinilpirrolidona, fosfato cálcico dibásico, sacarosa, almidón de maíz, celulosa modificada o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el aglutinante es polivinilpirrolidona, y está presente en una cantidad que oscila entre el 0 y el 5 por ciento en peso.

50 **[0020]** En una realización, la presente invención presenta una composición farmacéutica según la reivindicación 1, que tiene la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	35-50
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	25-40
Celulosa microcristalina	10-20
Croscarmelosa de sodio	1-3
Laurilsulfato sódico	0,5-2
Polivinilpirrolidona	0-5

65 denominada **PC-II**.

**[0021]** En otro aspecto, la presente invención presenta una composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende:

- a. Forma I del Compuesto 1;
- b. una dispersión sólida que comprenda el Compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. una carga;
- d. un desintegrante;
- e. un tensioactivo;
- f. un aglutinante; y
- g. un lubricante;

denominada **PC-III**.

**[0022]** En una realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden aproximadamente 100 a 250 mg de la Forma I del Compuesto 1, y aproximadamente 100 a 150 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden aproximadamente 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y aproximadamente 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden aproximadamente 150 mg de la Forma I del Compuesto 1, y aproximadamente 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

**[0023]** En una realización, no reivindicada en las reivindicaciones anexas, las composiciones farmacéuticas pueden comprender 25 a 50 por ciento en peso de la Forma I del Compuesto 1, y 15 a 35 por ciento en peso de una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

**[0024]** En una realización, la carga se selecciona entre celulosa, celulosa modificada, carboximetilcelulosa sódica, hidroximetilcelulosa etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, acetato de celulosa, celulosa microcristalina, fosfato cálcico dibásico, sacarosa, lactosa, almidón de maíz, almidón de patata o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, la carga es celulosa microcristalina, y está presente en una cantidad que oscila entre el 20 y el 30 por ciento en peso.

**[0025]** En una realización, el desintegrante se selecciona entre agar-agar, alginas, carbonato cálcico, carboximetilcelulosa, celulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilcelulosa de bajo contenido sustituido, arcillas, croscarmelosa sódica, crospovidona, gomas, silicato de aluminio y magnesio, metilcelulosa, polacrilina potásica, alginato de sodio, almidón glicolato de sodio, almidón de maíz, almidón de patata, almidón de tapioca, o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el desintegrante es croscarmelosa sódica, y está presente en una cantidad que oscila entre el 3 y el 10 por ciento en peso.

**[0026]** En una realización, el tensioactivo se selecciona entre lauril sulfato sódico, estearil fumerato sódico, monooleato de polioxietileno 20 sorbitán o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el tensioactivo es lauril sulfato sódico, y está presente en una cantidad que oscila entre el 0,5 y el 2 por ciento en peso.

**[0027]** En una realización, el aglutinante se selecciona entre polivinilpirrolidona, fosfato cálcico dibásico, sacarosa, almidón de maíz, celulosa modificada o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el aglutinante es polivinilpirrolidona, y está presente en una cantidad que oscila entre el 0 y el 5 por ciento en peso.

**[0028]** En una realización, el lubricante se selecciona entre estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, estearato de sodio, ácido esteárico, estearato de aluminio, leucina, behenato de glicerilo, aceite vegetal hidrogenado o cualquier combinación de los mismos. En otra realización, el lubricante es estearato de magnesio, y está presente en una cantidad que oscila entre el 0,5 y el 2 por ciento en peso.

**[0029]** En una realización, no reivindicada en las reivindicaciones anexas, la composición farmacéutica puede tener la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	25-50
Una dispersión sólida que comprende Compuesto 2 sustancialmente amorfo.	15-35
Celulosa microcristalina	20-30
Croscarmelosa de sodio	3-10
Laurilsulfato sódico	0,5-2
Polivinilpirrolidona	0-5
Estearato de magnesio	0,5-2

denominada **PC-IV**.

**[0030]** En una realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden además un colorante y opcionalmente una cera. En otra realización, el colorante está presente en una cantidad que oscila entre el 2 y el 4 por ciento en peso. En otra realización, la cera es cera de carnauba presente en una cantidad que oscila entre 0 y 0,020 por ciento en peso.

**[0031]** Las composiciones farmacéuticas de la presente invención son composiciones farmacéuticas orales sólidas, en las que las composiciones farmacéuticas orales sólidas son una composición farmacéutica granular o un comprimido.

**[0032]** En una realización, las composiciones farmacéuticas granulares de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	43
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	34
Celulosa microcristalina	17
Croscarmelosa de sodio	2
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3

denominada **PC-V**.

**[0033]** En una realización, las composiciones farmacéuticas granulares de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	38
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	40
Celulosa microcristalina	16
Croscarmelosa de sodio	2
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3

denominada **PC-VI**.

**[0034]** En una realización, las composiciones farmacéuticas granulares de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	51
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	27
Celulosa microcristalina	16
Croscarmelosa de sodio	2
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3

denominada **PC-VII**.

**[0035]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	35
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	28
Celulosa microcristalina	26
Croscarmelosa de sodio	6
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnesio	1

denominada **PC-VIII**.

**[0036]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	31
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	32
Celulosa microcristalina	26
Croscarmelosa de sodio	6
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnesio	1

denominada **PC-IX**.

**[0037]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	41
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	22
Celulosa microcristalina	26
Croscarmelosa de sodio	6
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnesio	1

denominada **PC-X**.

**[0038]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	200
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	156
Celulosa microcristalina	150
Croscarmelosa de sodio	34
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	15
Estearato de magnesio	6

denominada **PC-XI**.

**[0039]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	150
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	156
Celulosa microcristalina	129
Croscarmelosa de sodio	30
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnesio	5

denominada **PC-XII**.

**[0040]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:



	mg
Forma I del Compuesto 1	200
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	104
Celulosa microcristalina	128
Croscarmelosa de sodio	29
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnesio	5

denominada **PC-XIII**.

**[0041]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	34
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	27
Celulosa microcristalina	25
Croscarmelosa de sodio	8
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnesio	1
Colorante	3

denominada **PC-XIV**.

**[0042]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	30
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	31
Celulosa microcristalina	25
Croscarmelosa de sodio	6
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnesio	1
Colorante	3

denominada **PC-XV**.

**[0043]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	% en peso
Forma I del Compuesto 1	40
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	21
Celulosa microcristalina	25
Croscarmelosa de sodio	6
Laurilsulfato sódico	1
Polivinilpirrolidona	3
Estearato de magnesio	1
Colorante	3

denominada **PC-XVI**.

**[0044]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	200
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	156
Celulosa microcristalina	150
Croscarmelosa de sodio	34
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	15
Estearato de magnesio	6
Colorante	17

denominada **PC-XVII**.

**[0045]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	200
Compuesto 2 sustancialmente amorfo	125
Celulosa microcristalina	150
Croscarmelosa de sodio	34
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	15
Estearato de magnesio	6
Colorante	17

denominada **PC-XVIII**

**[0046]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	150
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	156
Celulosa microcristalina	129
Croscarmelosa de sodio	29
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnesio	5
Colorante	15

denominada **PC-XIX**.

**[0047]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	200
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	104
Celulosa microcristalina	128
Croscarmelosa de sodio	29
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnesio	5
Colorante	14

denominada **PC-XX**.

**[0048]** En una realización, no reivindicada en las reivindicaciones anexas, los comprimidos pueden tener la siguiente formulación:

	mg
Forma I del Compuesto 1	200
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	83
Celulosa microcristalina	128
Croscarmelosa de sodio	29
Laurilsulfato sódico	4
Polivinilpirrolidona	13
Estearato de magnesio	5
Colorante	14

denominada **PC-XXI**.

**[0049]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

Componente	% en peso
Forma I del Compuesto 1	20-40
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	30-40
Celulosa microcristalina	20-30
Croscarmelosa de sodio	1-10
Polivinilpirrolidona	1-5
Laurilsulfato sódico	0,1-1
Estearato de magnesio	0,5-1,5

denominada **PC-XXII**.

**[0050]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

Compuesto 1/Compuesto 2 100 mg/125 mg			
Componente	% en gránulo	% en comprimido	mg/comprimido
Forma I del Compuesto 1	30	25	100
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	47	38	156
Celulosa microcristalina	17	13	55
Croscarmelosa de sodio	2	2	7
Polivinilpirrolidona	3	3	11
Laurilsulfato sódico	1	1	3
Gránulos Totales	100	82	332
Croscarmelosa de sodio		4	18
Celulosa microcristalina		13	53
Estearato de magnesio		1	4
Comprimidos totales		100	407

denominada **PC-XXIII**.

**[0051]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

Compuesto 1/Compuesto 2 150 mg/125 mg			
Componente	% en gránulo	% en comprimido	mg/comprimido
Forma I del Compuesto 1	38	31	150
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	40	32	156
Celulosa microcristalina	18	13	65
Croscarmelosa de sodio	2	2	8
Polivinilpirrolidona	3	3	13
Laurilsulfato sódico	1	1	4
Gránulos Totales	100	82	396
Croscarmelosa de sodio		4	22
Celulosa microcristalina		13	64
Estearato de magnesio		1	5
Comprimidos totales		100	487

denominada **PC-XXIV**.

**[0052]** En una realización, los comprimidos de la presente invención tienen la siguiente formulación:

Compuesto 1/Compuesto 2 75 mg/125 mg			
Componente	% en gránulo	% en comprimido	mg/comprimido
Forma I del Compuesto 1	25	20	75
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	52	43	156
Celulosa microcristalina	17	13	49
Croscarmelosa de sodio	2	2	6
Polivinilpirrolidona	3	3	10
Laurilsulfato sódico	1	1	3
Gránulos Totales	100	82	299
Croscarmelosa de sodio		4	17
Celulosa microcristalina		13	48
Estearato de magnesio		1	4
Comprimido principal		100	368
Rosa opadry		3	11
Comprimidos recubiertos con película			379

denominada **PC-XXV**.

**[0053]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica como se define en las reivindicaciones anexas.

**[0054]** Las composiciones farmacéuticas recitadas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de cualquiera de las formulaciones **PC-1** a **PC-III**, **PC-IV** en la medida en que caiga dentro del alcance de las reivindicaciones anexas, **PC-V** a **PC-XX** y **PC-XXII** a **PC-XXV**.

**[0055]** En una realización, el paciente tiene una mutación  $\Delta F508$  CFTR. En otra realización, el paciente es homocigoto en  $\Delta F508$ . En otra realización, el paciente es heterocigoto en  $\Delta F508$ . En otra realización, se administran al paciente dos comprimidos al día.

5 **[0056]** En un aspecto, no reivindicado en las reivindicaciones anexas, la divulgación proporciona un método para preparar una composición farmacéutica granular que comprende granular en húmedo los siguientes componentes:

a. Forma I del Compuesto 1;

10 b. una dispersión sólida que comprenda el Compuesto 2 sustancialmente amorfo;

c. una carga;

15 d. un desintegrante;

e. un tensioactivo; y

f. un aglutinante.

20 **[0057]** En un aspecto, no reivindicado en las reivindicaciones anexas, la divulgación proporciona un método de preparación de un comprimido que comprende comprimir:

i) una pluralidad de composiciones farmacéuticas granulares que comprenden los siguientes componentes:

25 a. Forma I del Compuesto 1;

b. una dispersión sólida que comprenda el Compuesto 2 sustancialmente amorfo;

c. una carga;

30 d. un desintegrante;

e. un tensioactivo; y

35 f. un aglutinante;

ii) un desintegrante;

iii) una carga; y

40 iv) un lubricante.

**[0058]** Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden proporcionarse en un kit que comprende composiciones farmacéuticas, tal como se definen en las reivindicaciones anexas, y un agente terapéutico separado o una composición farmacéutica del mismo.

**[0059]** En una realización, las composiciones farmacéuticas, tal como se definen en las reivindicaciones anexas, y el agente terapéutico separado o la composición farmacéutica del mismo se encuentran en envases separados. En otra realización, los recipientes separados son botellas. En otra realización, los recipientes separados son viales. En otra realización, los envases separados son blísteres.

**[0060]** En otro aspecto, no reivindicado en las reivindicaciones anexas, la divulgación proporciona un proceso continuo o semicontinuo para fabricar las composiciones farmacéuticas aquí descritas mediante un proceso de granulación húmeda de doble tornillo que comprende las etapas de tamizar y pesar el Compuesto 1, el Compuesto 2 y los excipientes; mezclar el Compuesto 1, el Compuesto 2, y los excipientes en un mezclador y alimentar la mezcla a un granulador continuo mientras se añade un fluido de granulación que comprende un tensioactivo y un aglutinante a una velocidad adecuada durante un tiempo adecuado y se trocea la mezcla en gránulos; secar los gránulos; mezclar los gránulos con excipientes extragranulares durante un tiempo adecuado; comprimir la mezcla en comprimidos; recubrir los comprimidos; y, opcionalmente, imprimir un monograma en una o ambas caras del comprimido.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

**[0061]**

65 **La Figura 1** es un patrón de difracción de rayos X calculado a partir de una estructura monocristalina de la Forma I del Compuesto 1.

La **Figura 2** es un patrón real de difracción de rayos X de polvo de la Forma I del Compuesto 1.

La **Figura 3** es un gráfico que representa los perfiles de disolución del gradiente de pH del Compuesto 1 para un comprimido fabricado mediante un proceso de granulación de alto cizallamiento (HSG) y un proceso de granulación húmeda de doble tornillo (TSWG) (LOD significa pérdida por desecación, una medida para definir la cantidad de agua en un polvo/granulado).

La **Figura 4** es un gráfico que representa la estabilidad de la forma sustancialmente amorfa del Compuesto 2 en la formulación de comprimidos PC-XVII a 50 °C tras preequilibrarse a una humedad relativa del 60% mostrando sólo una pequeña cantidad de cristalinidad con el tiempo.

La **Figura 5** es un gráfico que representa la estabilidad de la forma sustancialmente amorfa del Compuesto 2 en la formulación de comprimidos PC-XVII a 60 °C tras preequilibrarse a una humedad relativa del 60% mostrando sólo una pequeña cantidad de cristalinidad con el tiempo.

La **Figura 6** es un gráfico que representa la estabilidad de la forma sustancialmente amorfa del Compuesto 2 en la formulación de comprimidos PC-XX a 60 °C después de preequilibrarse a una humedad relativa del 60%, mostrando sólo una pequeña cantidad de cristalinidad a lo largo del tiempo.

La **Figura 7** es un gráfico que representa la estabilidad de la forma sustancialmente amorfa del Compuesto 2 en la formulación de comprimidos PC-XX a 50 °C después de preequilibrarse a una humedad relativa del 60% mostrando sólo una pequeña cantidad de cristalinidad con el tiempo.

La **Figura 8** es un espectro  $^1\text{H}$ NMR del compuesto 1.

La **Figura 9** es un espectro  $^1\text{H}$ NMR de la sal HCl del compuesto 1.

La **Figura 10** es una traza de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma I del Compuesto 1.

La **Figura 11** es una imagen conformacional de la Forma I del Compuesto 1 basada en el análisis de rayos X de un solo cristal.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

### DEFINICIONES

**[0062]** Tal como se utiliza en el presente documento, "CFTR" significa regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística.

**[0063]** Como se usa aquí, una "mutación  $\Delta\text{F508}$ " o "mutación F508-del" es una mutación específica dentro de la proteína CFTR. La mutación es una delección de los tres nucleótidos que comprenden el codón para el aminoácido fenilalanina en la posición 508, lo que da lugar a una proteína CFTR que carece de este residuo de fenilalanina.

**[0064]** Como se usa aquí, un paciente que es "homocigoto" para una mutación particular, por ejemplo,  $\Delta\text{F508}$ , tiene la misma mutación en cada alelo.

**[0065]** Como se usa aquí, un paciente que es "heterocigoto" para una mutación particular, por ejemplo,  $\Delta\text{F508}$ , tiene esta mutación en un alelo, y una mutación diferente en el otro alelo.

**[0066]** Como se usa aquí, el término "corrector CFTR" se refiere a un compuesto que aumenta la cantidad de proteína CFTR funcional a la superficie celular, resultando en un transporte de iones mejorado.

**[0067]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "potenciador de CFTR" se refiere a un compuesto que aumenta la actividad de canal de la proteína CFTR localizada en la superficie celular, lo que da lugar a una mejora del transporte de iones.

**[0068]** Tal como se utiliza aquí, el término "ingrediente farmacéutico activo" o "API" se refiere a un compuesto biológicamente activo.

**[0069]** Los términos "forma sólida", "formas sólidas" y términos relacionados, cuando se usan aquí se refieren al Compuesto 1 o Compuesto 2, en una forma sólida particular, por ejemplo, cristales, y estados amorfos.

**[0070]** Tal como se utiliza aquí, el término "sustancialmente amorfo" se refiere a un material sólido que tiene poco o ningún orden de largo alcance en la posición de sus moléculas. Por ejemplo, los materiales sustancialmente amorfos tienen menos de aproximadamente un 15% de cristalinidad (por ejemplo, menos de aproximadamente un 10% de cristalinidad o

menos de aproximadamente un 5% de cristalinidad). También se observa que el término "sustancialmente amorfo" incluye el descriptor "amorfo", que se refiere a materiales que no tienen (0%) cristalinidad.

**[0071]** Como se usa aquí, el término "sustancialmente cristalino" (como en la frase Compuesto sustancialmente cristalino 1 Forma I se refiere a un material sólido que tiene predominantemente orden de largo alcance en la posición de sus moléculas. Por ejemplo, los materiales sustancialmente cristalinos tienen más de un 85% de cristalinidad (por ejemplo, más de un 90% de cristalinidad o más de un 95% de cristalinidad). También cabe señalar que el término "sustancialmente cristalino" incluye el descriptor "cristalino", que se refiere a materiales con una cristalinidad del 100%.

**[0072]** El término "cristalino" y los términos afines utilizados en el presente documento, cuando se emplean para describir una sustancia, componente, producto o forma, significan que la sustancia, componente o producto es sustancialmente cristalino según se determina por difracción de rayos X. (Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003); The United States Pharmacopeia, 23ª ed., 1843-1844 (1995)).

**[0073]** Como se usa aquí, un "excipiente" incluye ingredientes funcionales y no funcionales en una composición farmacéutica.

**[0074]** Tal como se utiliza aquí, un "desintegrante" es un excipiente que hidrata una composición farmacéutica y ayuda a la dispersión del comprimido. Tal como se utiliza aquí, un "diluyente" o "carga" es un excipiente que añade volumen a una composición farmacéutica.

**[0075]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "tensioactivo" es un excipiente que confiere a las composiciones farmacéuticas una mayor solubilidad y/o humectabilidad.

**[0076]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "aglutinante" es un excipiente que confiere a una composición farmacéutica una mayor cohesión o resistencia a la tracción (por ejemplo, dureza).

**[0077]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "deslizante" es un excipiente que confiere a las composiciones farmacéuticas propiedades de flujo mejoradas.

**[0078]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "colorante" es un excipiente que confiere a una composición farmacéutica, por ejemplo, un comprimido, un color deseado. Entre los ejemplos de colorantes se incluyen pigmentos disponibles en el mercado como el FD&C Blue # 1 Aluminum Lake, FD&C Blue #2, otros colores FD&C Blue, dióxido de titanio, óxido de hierro y/o combinaciones de los mismos. En una realización, el comprimido proporcionado por la invención es de color rosa.

**[0079]** Tal como se utiliza en el presente documento, un "lubricante" es un excipiente que se añade a las composiciones farmacéuticas que se prensan para formar comprimidos. El lubricante ayuda a la compactación de los gránulos en comprimidos y a la expulsión de un comprimido de una composición farmacéutica de una prensa de troquelado.

**[0080]** Tal como se utilizan en el presente documento, "centímetro cúbico" y "cc" se utilizan indistintamente para representar una unidad de volumen. Tenga en cuenta que 1 cc = 1 mL.

**[0081]** Tal y como se utilizan aquí, "kiloPond" y "kP" se utilizan indistintamente y se refieren a la medida de fuerza donde un kP = aproximadamente 9,8 Newtons.

**[0082]** Tal y como se utiliza aquí, "friabilidad" se refiere a la propiedad de un comprimido de permanecer intacto y mantener su forma a pesar de una fuerza externa de presión. La friabilidad puede cuantificarse mediante la expresión matemática presentada en la ecuación 1:

$$\% \text{ friabilidad} = 100 \times \frac{(W_o - W_f)}{W_o} \quad (1)$$

donde  $W_o$  es el peso original de la tableta y  $W_f$  es el peso final de la tableta después de pasarla por el friabilizador. La friabilidad se mide utilizando un aparato de ensayo USP estándar que hace girar las pastillas experimentales durante 100 o 400 revoluciones. Algunos comprimidos de la invención tienen una friabilidad inferior al 5,0%. En otra realización, la friabilidad es inferior al 2,0%. En otra realización, la friabilidad objetivo es inferior al 1,0% después de 400 revoluciones.

**[0083]** Tal como se utiliza en el presente documento, el "diámetro medio de las partículas" es el diámetro medio de las partículas medido mediante técnicas como la dispersión de luz láser, el análisis de imágenes o el análisis granulométrico. En una realización, los gránulos utilizados para preparar las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención tienen un diámetro medio de partícula inferior a 1,0 mm.



**[0084]** Tal como se utiliza aquí, la "densidad aparente" es la masa de partículas de material dividida por el volumen total que ocupan las partículas. El volumen total incluye el volumen de partículas, el volumen de huecos entre partículas y el volumen de poros internos. La densidad aparente no es una propiedad intrínseca de un material; puede cambiar en función de cómo se procese el material. En una realización, los gránulos utilizados para preparar las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención tienen una densidad aparente de aproximadamente 0,5-0,7 g/cc.

**[0085]** Una "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la invención puede variar según factores como el estado de la enfermedad, la edad y el peso del sujeto, y la capacidad del compuesto de la invención para provocar una respuesta deseada en el sujeto. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Una cantidad eficaz es también aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial (por ejemplo, efectos secundarios) del compuesto de la invención es superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

**[0086]** Tal como se utiliza en el presente documento, y a menos que se especifique lo contrario, los términos "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" de un compuesto significan una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno. Por "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" de un compuesto se entiende una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otro u otros agentes, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o control de la enfermedad o trastorno. Los términos "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad efectiva" pueden englobar una cantidad que mejore la terapia global, reduzca o evite los síntomas o las causas de una enfermedad o trastorno, o potencie la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

**[0087]** "Sustancialmente pura", tal como se utiliza en la frase "Forma I del Compuesto 1 sustancialmente pura", significa una pureza superior a aproximadamente el 90%. En otra realización, la pureza sustancial se refiere a una pureza superior al 95% aproximadamente. En otra realización, la pureza sustancial se refiere a una pureza superior al 98%. En otra realización, la pureza sustancial se refiere a una pureza superior al 99%.

**[0088]** Con respecto a la Forma I del Compuesto 1, o una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, los términos "aproximadamente" y "aproximadamente", cuando se usan en relación con dosis, cantidades o porcentaje en peso de ingredientes de una composición o una forma de dosificación, significan una dosis, cantidad o porcentaje en peso que es reconocido por un experto en la materia para proporcionar un efecto farmacológico equivalente al obtenido a partir de la dosis, cantidad o porcentaje en peso especificados. Específicamente, el término "aproximadamente" significa un error aceptable para un valor particular determinado por un experto en la materia, que depende en parte de cómo se mide o determina el valor. En ciertas realizaciones, el término "aproximadamente" significa dentro de 1, 2, 3 o 4 desviaciones estándar. En ciertas realizaciones, el término "aproximadamente" significa dentro del 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, o 0,05% de un valor o rango dado.

## COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

**[0089]** La invención proporciona composiciones farmacéuticas, como se define en las reivindicaciones anexas, que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En algunas realizaciones de este aspecto, la cantidad de la Forma I del Compuesto 1 que está presente en la composición farmacéutica es de 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg o 400 mg. En algunas realizaciones de este aspecto, no reivindicadas en las reivindicaciones anexas, el porcentaje en peso de la Forma I del Compuesto 1 presente en la composición farmacéutica es del 10 al 75 por ciento. En estas y otras realizaciones, la Forma I del Compuesto 1 está presente como Forma I del Compuesto 1 sustancialmente pura. En algunas realizaciones de este aspecto, la cantidad de Compuesto 2 sustancialmente amorfo que está presente en la composición farmacéutica es de 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg o 250 mg. En algunas realizaciones de este aspecto, no reivindicadas en las reivindicaciones anexas, el porcentaje en peso de compuesto 2 sustancialmente amorfo presente en la composición farmacéutica es del 10 al 75 por ciento. En estas y otras realizaciones, el Compuesto 2 sustancialmente amorfo está presente como Compuesto 2 sustancialmente puro y amorfo. "Sustancialmente puro" significa superior al noventa por ciento de pureza; preferiblemente superior al 95 por ciento de pureza; más preferiblemente superior al 99,5 por ciento de pureza.

**[0090]** Así, en un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende:

- a. Forma I del Compuesto 1;
- b. Una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. una carga;
- d. un desintegrante;
- e. un tensioactivo; y
- f. un aglutinante.

**[0091]** En una realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 25 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 50 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 100 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 125 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra

realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 150 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 200 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 150 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 200 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 250 mg de la Forma I del Compuesto 1. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 400 mg de la Forma I del Compuesto 1.

**[0092]** En una realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 25 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 100 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 150 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 200 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otra realización de este aspecto, la composición farmacéutica comprende 250 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

**[0093]** Las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma I del Compuesto 1, donde la Forma I del Compuesto 1 está presente en una cantidad de al menos 20 % en peso de la composición. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden la Forma I del Compuesto 1, en el que la Forma I del Compuesto 1 está presente en una cantidad de al menos el 30 % en peso, al menos el 40 % en peso, al menos el 50 % en peso o al menos el 60 % en peso en peso de la composición.

**[0094]** Las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, en el que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo está presente en una cantidad de al menos el 20 % en peso de la composición. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, en el que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo está presente en una cantidad de al menos el 30 % en peso, al menos el 40 % en peso, al menos el 50 % en peso o al menos el 60 % en peso de la composición.

**[0095]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, una carga, un desintegrante, un tensioactivo y un aglutinante. En esta realización, la composición comprende de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 55 % en peso (por ejemplo, aproximadamente 30-50 % en peso) de la Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición, y más típicamente, de 40 % en peso a aproximadamente 45 % en peso de la Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición. En esta realización, la composición comprende de aproximadamente 20-35 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo por peso de la composición, y más típicamente, de 25 % en peso a aproximadamente 30 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo por peso de la composición.

**[0096]** La concentración de la Forma I del Compuesto 1 y del Compuesto 2 sustancialmente amorfo en la composición depende de varios factores, como la cantidad de composición farmacéutica necesaria para proporcionar una cantidad deseada de la Forma I del Compuesto 1 y del Compuesto 2 sustancialmente amorfo y el perfil de disolución deseado de la composición farmacéutica.

**[0097]** En otra realización, la composición farmacéutica comprende la Forma I del Compuesto 1, en la que la Forma I del Compuesto 1 en su forma sólida tiene un diámetro medio de partícula, medido por dispersión de luz (por ejemplo, usando un Malvern Mastersizer disponible en Malvern Instruments en Inglaterra) de 0,1 micras a 10 micras. En otra realización, el tamaño de partícula de la Forma I del Compuesto 1 es de 1 micra a 5 micras. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 tiene un tamaño de partícula D50 de 2,0 micras.

**[0098]** Como se ha indicado, además de la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfa, en algunas realizaciones de la invención, las composiciones farmacéuticas que son formulaciones orales también comprenden uno o más excipientes tales como cargas, desintegrantes, tensioactivos, diluyentes, aglutinantes, deslizantes, lubricantes, colorantes o fragancias y cualquier combinación de los mismos.

**[0099]** Las cargas adecuadas para la invención son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la solubilidad, la dureza, la estabilidad química, la estabilidad física o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Las cargas ejemplares incluyen: celulosas, celulosas modificadas, (por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, hidroximetilcelulosa etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa), acetato de celulosa, celulosa microcristalina, fosfatos de calcio, fosfato de calcio dibásico, almidones (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata), azúcares (por ejemplo, sorbitol, lactosa, sacarosa), o cualquier combinación de los mismos.

**[0100]** Así, en una realización, la composición farmacéutica comprende al menos una carga en una cantidad de al menos 5 % en peso (por ejemplo, al menos aproximadamente 20 % en peso, al menos aproximadamente 30 % en peso o al menos aproximadamente 40 % en peso) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica comprende desde aproximadamente un 10 % en peso hasta aproximadamente un 60 % en peso (por ejemplo, desde aproximadamente un 20 % en peso hasta aproximadamente un 55 % en peso, desde aproximadamente un 25 % en peso hasta aproximadamente un 50 % en peso, o desde aproximadamente un 27 % en peso hasta aproximadamente un 45 %

en peso) de carga, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente un 20% en peso (por ejemplo, al menos un 30% en peso o al menos un 40% en peso) de celulosa microcristalina, por ejemplo, MCC Avicel PH102, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende desde aproximadamente 10 % en peso hasta aproximadamente 60 % en peso (por ejemplo, desde aproximadamente 20 % en peso hasta aproximadamente 55 % en peso o desde aproximadamente 25 % en peso hasta aproximadamente 45 % en peso) de microcelulosa, en peso de la composición.

**[0101]** Los desintegrantes adecuados para la invención mejoran la dispersión de la composición farmacéutica y son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la estabilidad química, la estabilidad física, la dureza o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Algunos desintegrantes ejemplares son la croscarmelosa sódica, el almidón glicolato sódico o una combinación de los mismos.

**[0102]** Así, en una realización, la composición farmacéutica comprende desintegrante en una cantidad de aproximadamente 10 % en peso o menos (por ejemplo, aproximadamente 7 % en peso o menos, aproximadamente 6 % en peso o menos, o aproximadamente 5 % en peso o menos) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 10 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 1,5 % en peso a aproximadamente 7,5 % en peso o de aproximadamente 2,5 % en peso a aproximadamente 6 % en peso) de desintegrante, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 10 % en peso o menos (por ejemplo, 7 % en peso o menos, 6 % en peso o menos, o 5 % en peso o menos) de croscarmelosa sódica, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 10 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 1,5 % en peso a aproximadamente 7,5 % en peso o de aproximadamente 2,5 % en peso a aproximadamente 6 % en peso) de croscarmelosa sódica, en peso de la composición. En algunos ejemplos, la composición farmacéutica comprende desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 10% en peso (por ejemplo, desde aproximadamente el 0,5% en peso hasta aproximadamente el 7,5% en peso o desde aproximadamente el 1,5% en peso hasta aproximadamente el 6% en peso) de desintegrante, en peso de la composición. En otros ejemplos, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% en peso (por ejemplo, de aproximadamente 1,5% a aproximadamente 7,5% en peso o de aproximadamente 2,5% a aproximadamente 6% en peso) de desintegrante, en peso de la composición.

**[0103]** Los tensioactivos adecuados para la invención mejoran la humectabilidad de la composición farmacéutica y son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la estabilidad química, la estabilidad física, la dureza o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Los tensioactivos ejemplares incluyen lauril sulfato sódico (SLS), estearil fumarato sódico (SSF), monooleato de polioxietileno 20 sorbitán (por ejemplo, Tween™), o cualquier combinación de los mismos.

**[0104]** Así, en una realización, la composición farmacéutica comprende un tensioactivo en una cantidad de aproximadamente 10 % en peso o menos (por ejemplo, aproximadamente 5 % en peso o menos, aproximadamente 2 % en peso o menos, aproximadamente 1 % en peso o menos, aproximadamente 0,8 % en peso o menos, o aproximadamente 0,6 % en peso o menos) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica incluye desde aproximadamente un 10 % en peso hasta aproximadamente un 0,1 % en peso (por ejemplo, desde aproximadamente un 5 % en peso hasta aproximadamente un 0,2 % en peso o desde aproximadamente un 2 % en peso hasta aproximadamente un 0,3 % en peso) de tensioactivo, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende un 10 % en peso o menos (por ejemplo, un 5 % en peso o menos, un 2 % en peso o menos, un 1 % en peso o menos, un 0,8 % en peso o menos, o un 0,6 % en peso o menos) de lauril sulfato sódico, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 0,2 % en peso o de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 0,3 % en peso) de lauril sulfato de sodio, en peso de la composición.

**[0105]** Los aglutinantes adecuados para la invención mejoran la resistencia del comprimido de la composición farmacéutica y son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la estabilidad química, la estabilidad física o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Los aglutinantes ejemplares incluyen polivinilpirrolidona, fosfato cálcico dibásico, sacarosa, almidón de maíz, celulosa modificada (por ejemplo, hidroximetilcelulosa), o cualquier combinación de los mismos.

**[0106]** Así, en una realización, la composición farmacéutica comprende un aglutinante en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 % en peso (por ejemplo, al menos aproximadamente 1 % en peso, al menos aproximadamente 3 % en peso, al menos aproximadamente 4 % en peso o al menos aproximadamente 5 % en peso) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 10 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 10 % en peso o de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 7 % en peso) de aglutinante, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende al menos aproximadamente 0,1 % en peso (por ejemplo, al menos aproximadamente 1 % en peso, al menos aproximadamente 2 % en peso, al menos aproximadamente 3 % en peso o al menos aproximadamente 4 % en peso) de polivinilpirrolidona, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende un deslizante en una cantidad que oscila entre aproximadamente 0,1 % en peso y

aproximadamente 10 % en peso (por ejemplo, entre aproximadamente 1 % en peso y aproximadamente 8 % en peso o entre aproximadamente 2 % en peso y aproximadamente 5 % en peso) de polivinilpirrolidona, en peso de la composición.

**[0107]** Los diluyentes adecuados para la invención pueden añadir el volumen necesario a una formulación para preparar comprimidos del tamaño deseado y son generalmente compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la solubilidad, la dureza, la estabilidad química, la estabilidad física o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Los diluyentes ejemplares incluyen: azúcares, por ejemplo, azúcar de confitería, azúcar comprimible, dextratos, dextrina, dextrosa, lactosa, manitol, sorbitol, celulosa y celulosas modificadas, por ejemplo, celulosa en polvo, talco, fosfato de calcio, almidón o cualquier combinación de los mismos.

**[0108]** Por lo tanto, en una realización, la composición farmacéutica comprende un diluyente en una cantidad de 40 % en peso o menos (por ejemplo, 35 % en peso o menos, 30 % en peso o menos, o 25 % en peso o menos, o 20 % en peso o menos, o 15 % en peso o menos, o 10 % en peso o menos) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 40 % en peso a aproximadamente 1 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 35 % en peso a aproximadamente 5 % en peso o de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 7 % en peso, de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 15 % en peso) de diluyente, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende 40 % en peso o menos (por ejemplo, 35 % en peso o menos, 25 % en peso o menos, o 15 % en peso o menos) de manitol, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 35 % en peso a aproximadamente 1 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 5 % en peso o de aproximadamente 25 % en peso a aproximadamente 10 % en peso) de manitol, en peso de la composición.

**[0109]** Los deslizantes adecuados para la invención mejoran las propiedades de flujo de la composición farmacéutica y son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la solubilidad, la dureza, la estabilidad química, la estabilidad física o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Algunos ejemplos de deslizantes son el dióxido de silicio coloidal, el talco o una combinación de los mismos.

**[0110]** Así, en una realización, la composición farmacéutica comprende un deslizante en una cantidad de 2 % en peso o menos (por ejemplo, 1,75 % en peso, 1,25 % en peso o menos, o 1,00 % en peso o menos) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 0,05 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 1,5 % en peso a aproximadamente 0,07 % en peso o de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 0,09 % en peso) de deslizante, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende 2 % en peso o menos (por ejemplo, 1,75 % en peso, 1,25 % en peso o menos, o 1,00 % en peso o menos) de dióxido de silicio coloidal, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 0,05 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 1,5 % en peso a aproximadamente 0,07 % en peso o de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 0,09 % en peso) de dióxido de silicio coloidal, en peso de la composición.

**[0111]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica puede incluir una forma de dosificación farmacéutica sólida oral que puede comprender un lubricante que puede evitar la adhesión de una mezcla de gránulos a una superficie (por ejemplo, una superficie de un recipiente de mezcla, una matriz de compresión y/o un punzón). Un lubricante también puede reducir la fricción entre partículas dentro del granulado y mejorar la compresión y expulsión de composiciones farmacéuticas comprimidas de una prensa de troquel. El lubricante también es compatible con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la solubilidad, la dureza o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Los lubricantes ejemplares incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, estearato de sodio, ácido esteárico, estearato de aluminio, leucina, behenato de glicerilo, aceite vegetal hidrogenado o cualquier combinación de los mismos. En una realización, la composición farmacéutica comprende un lubricante en una cantidad de 5 % en peso o menos (por ejemplo, 4,75 % en peso, 4,0 % en peso o menos, o 3,00 % en peso o menos, o 2,0 % en peso o menos) en peso de la composición. Por ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 0,10 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 4,5 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso o de aproximadamente 3 % en peso a aproximadamente 1 % en peso) de lubricante, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende 5 % en peso o menos (por ejemplo, 4,0 % en peso o menos, 3,0 % en peso o menos, o 2,0 % en peso o menos, o 1,0 % en peso o menos) de estearato de magnesio, en peso de la composición. En otro ejemplo, la composición farmacéutica comprende de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 0,10 % en peso (por ejemplo, de aproximadamente 4,5 % en peso a aproximadamente 0,15 % en peso o de aproximadamente 3,0 % en peso a aproximadamente 0,50 % en peso) de estearato de magnesio, en peso de la composición.

**[0112]** Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender opcionalmente uno o más colorantes, sabores y/o fragancias para mejorar el atractivo visual, el sabor y/o el aroma de la composición. Los colorantes, sabores o fragancias adecuados son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la solubilidad, la estabilidad química, la estabilidad física, la dureza o la actividad biológica de la composición farmacéutica. En una realización, la composición farmacéutica comprende un colorante, un sabor y/o una fragancia. En una realización, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la invención son de color púrpura.

**[0113]** En algunas realizaciones, la composición farmacéutica incluye o puede fabricarse en comprimidos y los comprimidos pueden recubrirse con un colorante y opcionalmente etiquetarse con un logotipo, otra imagen y/o texto utilizando una tinta adecuada. En otras realizaciones, la composición farmacéutica incluye o puede fabricarse en comprimidos y los comprimidos pueden recubrirse con un colorante, encerarse y, opcionalmente, etiquetarse con un logotipo, otra imagen y/o texto utilizando una tinta adecuada. Los colorantes y tintas adecuados son compatibles con los ingredientes de la composición farmacéutica, es decir, no reducen sustancialmente la solubilidad, la estabilidad química, la estabilidad física, la dureza o la actividad biológica de la composición farmacéutica. Los colorantes y tintas adecuados pueden ser de cualquier color y de base acuosa o disolvente. En una realización, los comprimidos fabricados a partir de la composición farmacéutica se recubren con un colorante y luego se etiquetan con un logotipo, otra imagen y/o texto utilizando una tinta adecuada. Por ejemplo, los comprimidos que comprenden la composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden recubrirse con aproximadamente un 3 % en peso (por ejemplo, menos de aproximadamente un 6 % en peso o menos de aproximadamente un 4 % en peso) de recubrimiento pelicular que comprende un colorante. Los comprimidos coloreados pueden etiquetarse con un logotipo y un texto que indique la concentración del principio activo en el comprimido utilizando una tinta adecuada. En otro ejemplo, los comprimidos que comprenden la composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden recubrirse con aproximadamente un 3 % en peso (por ejemplo, menos de aproximadamente un 6 % en peso o menos de aproximadamente un 4 % en peso) de un recubrimiento pelicular que comprende un colorante.

**[0114]** En otra realización, los comprimidos fabricados a partir de la composición farmacéutica se recubren con un colorante, se enceran y, a continuación, se etiquetan con un logotipo, otra imagen y/o texto utilizando una tinta adecuada. Por ejemplo, los comprimidos que comprenden la composición farmacéutica descrita en el presente documento pueden recubrirse con aproximadamente un 3 % en peso (por ejemplo, menos de aproximadamente un 6 % en peso o menos de aproximadamente un 4 % en peso) de recubrimiento pelicular que comprende un colorante. Los comprimidos coloreados pueden encerarse con cera de carnauba en polvo pesada en una cantidad de aproximadamente el 0,01% p/p del peso del núcleo del comprimido de partida. Los comprimidos encerados pueden etiquetarse con un logotipo y un texto que indique la concentración del principio activo en el comprimido utilizando una tinta adecuada. En otro ejemplo, los comprimidos que comprenden la composición farmacéutica tal como se describe en el presente documento pueden recubrirse con aproximadamente un 3 % en peso (por ejemplo, menos de aproximadamente un 6 % en peso o menos de aproximadamente un 4 % en peso) de un recubrimiento pelicular que comprende un colorante. Los comprimidos coloreados pueden encerarse con cera de Carnauba en polvo pesada en una cantidad de aproximadamente un 0,01 % en peso del peso del núcleo del comprimido de partida. Los comprimidos encerados pueden etiquetarse con un logotipo y un texto que indique la potencia del principio activo en el comprimido utilizando una tinta de calidad farmacéutica, como una tinta negra (por ejemplo, Opacode® S-1-17823, una tinta a base de disolvente, disponible comercialmente en Colorcon, Inc. de West Point, PA.).

**[0115]** Una composición farmacéutica ejemplar comprende de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso de la Forma I del Compuesto 1, en peso de la composición; y de aproximadamente 20 % a 35 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición, y más típicamente, de 25 % en peso a aproximadamente 30 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición. Las composiciones mencionadas también pueden incluir uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, desde aproximadamente 20 % en peso hasta aproximadamente 50 % en peso de una carga; desde aproximadamente 1 % en peso hasta aproximadamente 5 % en peso de un desintegrante; desde aproximadamente 2 % en peso hasta aproximadamente 0,3 % en peso de un tensioactivo; y desde aproximadamente 0,1 % en peso hasta aproximadamente 5 % en peso de un aglutinante.

**[0116]** Otra composición farmacéutica ejemplar comprende de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 40 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 50 % en peso a aproximadamente 70 % en peso de la Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición, de aproximadamente 20-35 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición, y más típicamente, de 25 % en peso a aproximadamente 30 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición, y uno o más excipientes, por ejemplo, de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 50 % en peso de una carga; de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso de un desintegrante; de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 0,3 % en peso de un tensioactivo; 3 % en peso de un tensioactivo; de 0,1 % en peso a 5 % en peso de un aglutinante; y de 2 % en peso a 0,1 % en peso de un lubricante.

**[0117]** Otra composición farmacéutica ejemplar comprende de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 40 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, o de aproximadamente 50 % en peso a aproximadamente 70 % en peso de la Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición, de aproximadamente 20-35 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición, y más típicamente, de 25 % en peso a aproximadamente 30 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición, y uno o más excipientes, por ejemplo, de aproximadamente 20 % en peso a aproximadamente 50 % en peso de una carga; de aproximadamente 1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso de un desintegrante; de aproximadamente 2 % en peso a aproximadamente 0,3 % en peso de un tensioactivo; 3 % en peso de un tensioactivo; de 0,1 % en peso a 5 % en peso de un aglutinante; de 2 % en peso a 0,1 % en peso de un lubricante; de 2 % en peso a 4 % en peso de colorante; y de 0,005 % en peso a 0,015 % en peso de

cera.

**[0118]** En una realización, la invención es una composición farmacéutica granular que comprende:

- 5 a. aproximadamente un 43 % en peso de Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición;
- b. aproximadamente 34 % en peso de una dispersión sólida que comprende el compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición;
- 10 c. aproximadamente un 17 % en peso de celulosa microcristalina en peso de la composición;
- d. aproximadamente un 2 % en peso de croscarmelosa sódica en peso de la composición;
- e. aproximadamente 1 % en peso de lauril sulfato de sodio en peso de la composición; y
- 15 f. aproximadamente un 3 % en peso de polivinilpirrolidona en peso de la composición.

**[0119]** En una realización, la invención es un comprimido que comprende:

- 20 a. aproximadamente un 35 % en peso de Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición;
- b. Aproximadamente un 28 % en peso de una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición;
- 25 c. aproximadamente un 26 % en peso de celulosa microcristalina en peso de la composición;
- d. aproximadamente un 6 % en peso de croscarmelosa sódica en peso de la composición;
- e. aproximadamente un 3 % en peso de polivinilpirrolidona en peso de la composición;
- 30 f. aproximadamente 1 % en peso de lauril sulfato de sodio en peso de la composición; y
- g. aproximadamente 1 % en peso de estearato de magnesio en peso de la composición.

**[0120]** En una realización, la invención es un comprimido que comprende:

- a. aproximadamente 34 % en peso de la Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición;
- b. aproximadamente un 27 % en peso de una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición;
- 40 c. aproximadamente un 26 % en peso de celulosa microcristalina en peso de la composición;
- d. aproximadamente un 6 % en peso de croscarmelosa sódica en peso de la composición;
- 45 e. aproximadamente 2 % en peso de polivinilpirrolidona en peso de la composición
- f. aproximadamente 1 % en peso de lauril sulfato de sodio en peso de la composición;
- 50 g. aproximadamente 1 % en peso de estearato de magnesio en peso de la composición;
- h. aproximadamente un 3 % en peso de un colorante en peso de la composición; y
- i. aproximadamente 0,010 % en peso de una cera en peso de la composición.

**[0121]** Otro comprimido de la invención comprende:

- a. de 150 a 250 mg del compuesto 1, forma I;
- 60 b. de 100 a 150 mg de compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. de 125 a 175 mg de celulosa microcristalina;
- d. de 20 a 40 mg de croscarmelosa sódica;
- 65 e. de 10 a 20 mg de polivinilpirrolidona;

- f. de 2 a 6 mg de lauril sulfato de sodio; y
- g. de 3 a 7 mg de estearato de magnesio.

5 **[0122]** Otro comprimido de la invención comprende:

- a. aproximadamente 200 mg de la Forma I del Compuesto 1;
- 10 b. aproximadamente 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. aproximadamente 150 mg de celulosa microcristalina;
- d. aproximadamente 34 mg de croscarmelosa sódica;
- 15 e. aproximadamente 15 mg de polivinilpirrolidona;
- f. aproximadamente 4 mg de lauril sulfato sódico; y
- 20 g. aproximadamente 6 mg de estearato de magnesio.

**[0123]** Otro comprimido de la invención comprende:

- a. aproximadamente 200 mg de la Forma I del Compuesto 1;
- 25 b. aproximadamente 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. aproximadamente 150 mg de celulosa microcristalina;
- d. aproximadamente 34 mg de croscarmelosa sódica;
- 30 e. aproximadamente 15 mg de polivinilpirrolidona;
- f. aproximadamente 4 mg de lauril sulfato sódico;
- 35 g. aproximadamente 6 mg de estearato de magnesio;
- h. aproximadamente 17 mg de un colorante; y
- 40 i. aproximadamente 0,06 mg de una cera.

**[0124]** En una realización, la invención es una composición farmacéutica granular que comprende:

- a. aproximadamente un 38 % en peso de Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición;
- 45 b. Aproximadamente un 40 % en peso de una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición;
- c. aproximadamente un 16 % en peso de celulosa microcristalina en peso de la composición;
- 50 d. aproximadamente un 2 % en peso de croscarmelosa sódica en peso de la composición;
- e. aproximadamente 1 % en peso de lauril sulfato de sodio en peso de la composición; y
- 55 f. aproximadamente un 3 % en peso de polivinilpirrolidona en peso de la composición.

**[0125]** En una realización, la invención es un comprimido que comprende:

- a. aproximadamente un 31 % en peso de Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición;
- 60 b. Aproximadamente un 32 % en peso de una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición;
- c. aproximadamente un 26 % en peso de celulosa microcristalina en peso de la composición;
- 65 d. aproximadamente un 6 % en peso de croscarmelosa sódica en peso de la composición;

- e. aproximadamente 3 % en peso de polivinilpirrolidona en peso de la composición
- f. aproximadamente 1 % en peso de lauril sulfato de sodio en peso de la composición;
- g. aproximadamente 1 % en peso de estearato de magnesio en peso de la composición; y
- h. aproximadamente un 3 % en peso de un colorante en peso de la composición.

**[0126]** Otro comprimido de la invención comprende:

- a. de 100 a 200 mg del compuesto 1, forma I;
- b. de 100 a 150 mg de compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. de 100 a 150 mg de celulosa microcristalina;
- d. de 20 a 40 mg de croscarmelosa sódica;
- e. de 10 a 20 mg de polivinilpirrolidona;
- f. de 2 a 6 mg de lauril sulfato de sodio; y
- g. de 3 a 7 mg de estearato de magnesio.

**[0127]** Otro comprimido de la invención comprende:

- a. aproximadamente 150 mg de la Forma I del Compuesto 1;
- b. aproximadamente 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo;
- c. aproximadamente 129 mg de celulosa microcristalina;
- d. aproximadamente 29 mg de croscarmelosa sódica;
- e. aproximadamente 13 mg de polivinilpirrolidona;
- f. aproximadamente 4 mg de lauril sulfato sódico;
- g. aproximadamente 5 mg de estearato de magnesio; y
- h. aproximadamente 15 mg de un colorante.

**[0128]** Las composiciones farmacéuticas pueden procesarse en forma de comprimido, cápsula, bolsa o pastilla. Así, en algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se presentan en forma de comprimidos.

**[0129]** Otro aspecto de la invención proporciona una formulación farmacéutica que consiste en un comprimido que incluye la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y excipientes (p. ej., una carga, un desintegrante, un tensioactivo, un aglutinante, un colorante, un lubricante, o cualquier combinación de los mismos), cada uno de los cuales se describe anteriormente y en los Ejemplos siguientes, en los que el comprimido tiene una disolución de al menos aproximadamente el 50% (por ejemplo, al menos aproximadamente el 60%, al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 80%, al menos aproximadamente el 90%, o al menos aproximadamente el 99%) en aproximadamente 30 minutos.

**[0130]** En un ejemplo, la composición farmacéutica consiste en un comprimido que incluye la Forma I del Compuesto 1 en una cantidad que oscila entre 25 mg y 400 mg, por ejemplo, 25 mg, o 50 mg, o 75 mg, o 100 mg, o 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, o 400 mg, Compuesto 2 sustancialmente amorfo en una cantidad que oscila entre 25 mg y 250 mg, por ejemplo, 25 mg, o 50 mg, o 75 mg, o 100 mg, o 150 mg, 200 mg, 250 mg, y uno o más excipientes (por ejemplo, una carga, un desintegrante, un tensioactivo, un aglutinante, un colorante, un lubricante o cualquier combinación de los mismos), cada uno de los cuales se describe anteriormente y en los Ejemplos siguientes, en los que el comprimido tiene una disolución de aproximadamente el 50% a aproximadamente el 100% (por ejemplo, de aproximadamente el 55% a aproximadamente el 95% o de aproximadamente el 60% a aproximadamente el 90%) en aproximadamente 30 minutos.

**[0131]** La disolución puede medirse con un aparato USP Tipo II estándar que emplea un medio de disolución de 0,1% de CTAB disuelto en 900 mL de agua DI, tamponada a pH 6,8 con 50 mM de fosfato potásico monoácido, agitando a unas 50-75 rpm a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En cada recipiente de ensayo del aparato se prueba una única pastilla experimental. La disolución también puede medirse con un aparato USP Tipo II estándar que emplea un medio de disolución de lauril sulfato sódico al 0,7% disuelto en 900 mL de tampón fosfato sódico 50 mM (pH 6,8), agitando a unas 65 rpm a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En cada recipiente de ensayo del aparato se prueba una única pastilla experimental. La disolución también puede medirse con un aparato estándar USP Tipo II que emplea un medio de disolución de lauril sulfato sódico al 0,5% disuelto en 900 mL de tampón fosfato sódico 50 mM (pH 6,8), agitando a unas 65 rpm a una temperatura de aproximadamente 37 °C. En cada recipiente de ensayo del aparato se prueba una única pastilla experimental.

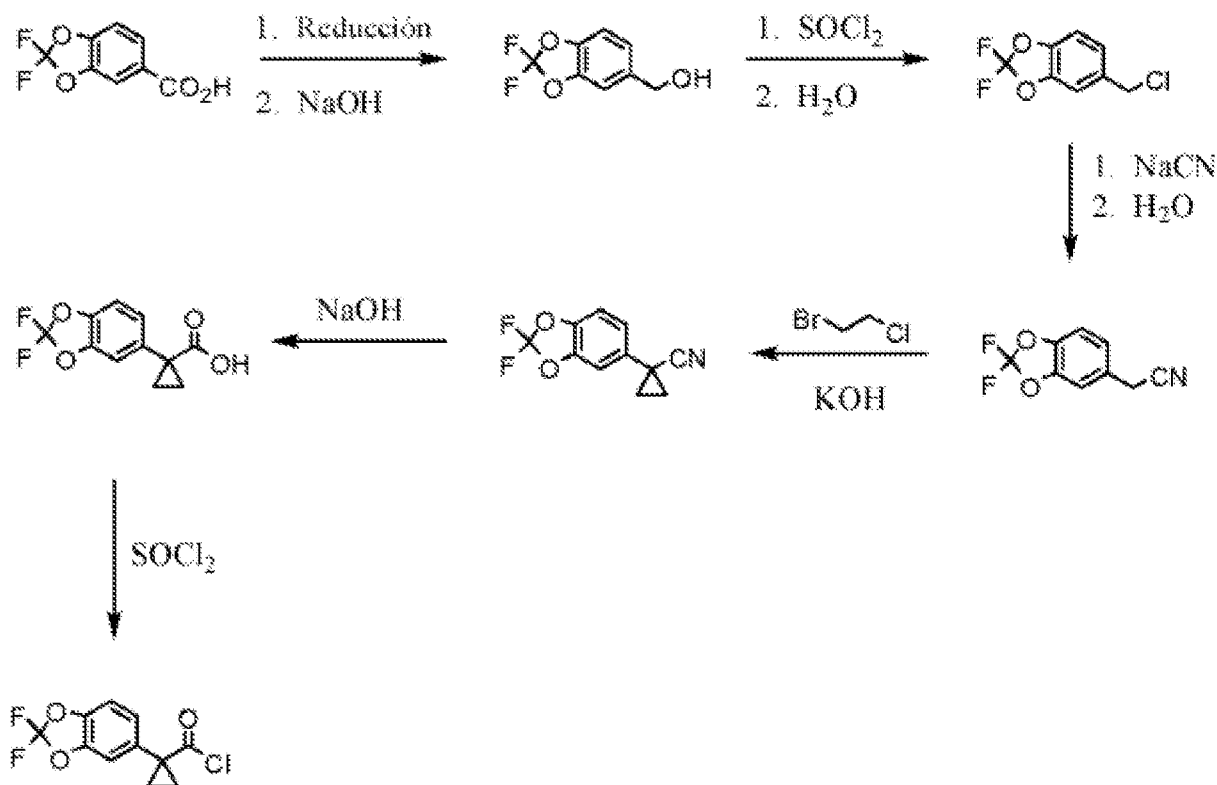


**MÉTODOS DE FABRICACIÓN DE LA FORMA I DEL COMPUESTO 1 Y DE UNA DISPERSIÓN SÓLIDA QUE COMPRENDE EL COMPUESTO 2 SUSTANCIALMENTE AMORFO**

**Compuesto 1**

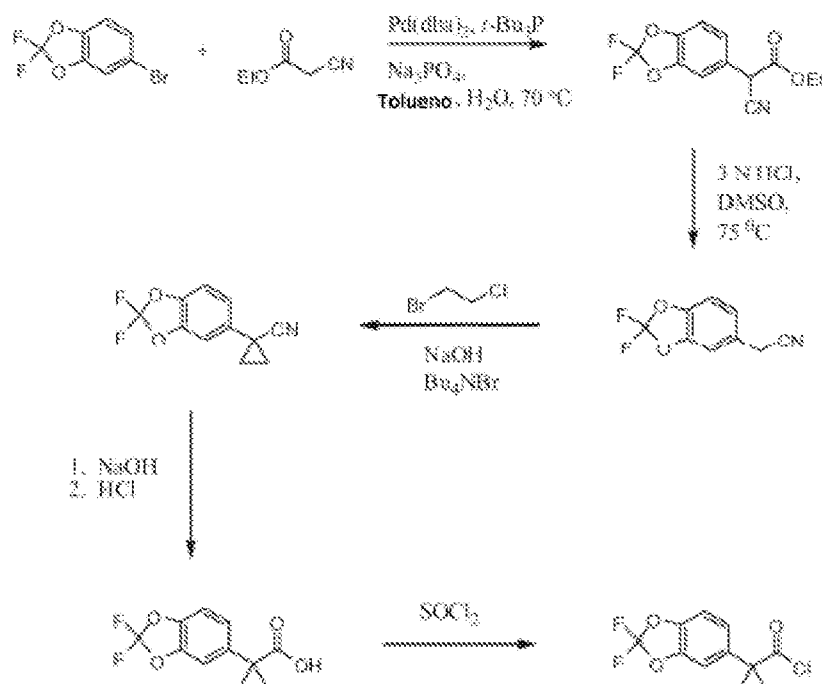
[0132] El Compuesto 1 se utiliza como punto de partida para la Forma I del Compuesto 1 y puede prepararse acoplando una fracción de cloruro de ácido con una fracción de amina según los Esquemas 1-4.

**Esquema 1. Síntesis de la fracción de cloruro de ácido.**

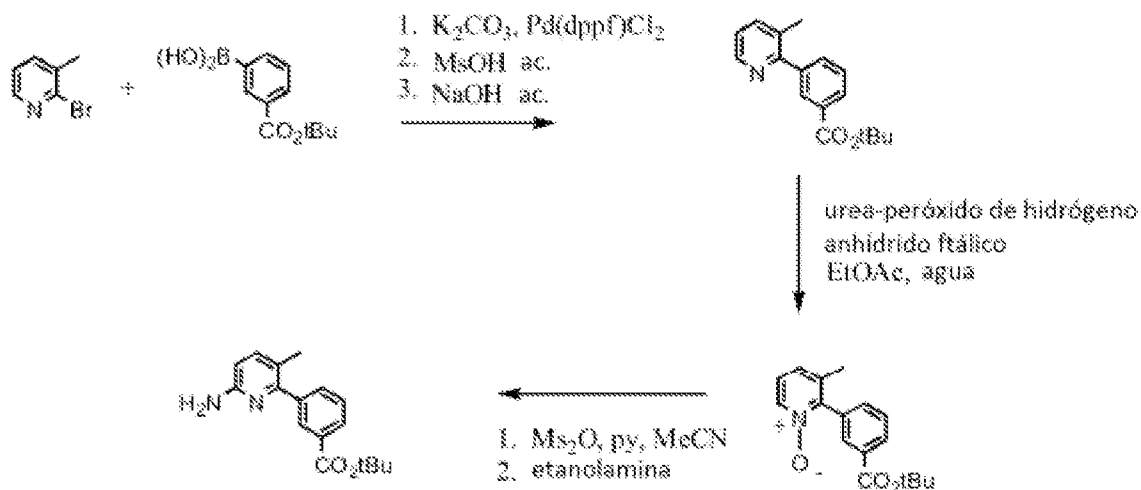


[0133] El Esquema 1 representa la preparación de cloruro de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarbonilo, que se utiliza en el Esquema 3 para realizar el enlace amida del Compuesto 1.

[0134] El material de partida, el ácido 2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxílico, está disponible comercialmente en Saltigo (una filial de Lanxess Corporation). La reducción de la fracción de ácido carboxílico en el ácido 2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboxílico al alcohol primario, seguida de la conversión al cloruro correspondiente utilizando cloruro de tionilo (SOCl<sub>2</sub>), se obtiene 5-(clorometil)-2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol, que posteriormente se convierte en 2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)acetonitrilo utilizando cianuro sódico. El tratamiento de 2-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)acetonitrilo con base y 1-bromo-2-cloroetano proporciona 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarbonitrilo. La fracción de nitrilo del 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarbonitrilo se convierte en un ácido carboxílico utilizando base para dar ácido 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarbónico, que se convierte en el cloruro ácido deseado utilizando cloruro de tionilo.

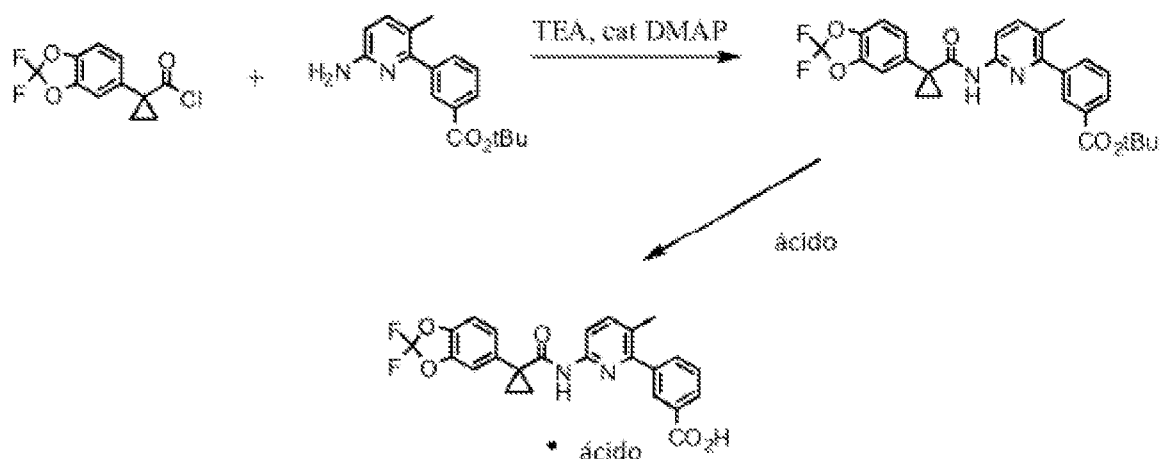
**Esquema 2. Síntesis alternativa del resto cloruro de ácido**

[0135] El esquema 2 muestra una síntesis alternativa del cloruro ácido necesario. El 5-bromometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol se acopla con cianoacetato de etilo en presencia de un catalizador de paladio para formar el éster etílico alfa ciano correspondiente. La saponificación de la fracción éster del ácido carboxílico da lugar al compuesto cianoetilado. La alquilación del compuesto cianoetilo con 1-bromo-2-cloro etano en presencia de base da el compuesto cianociclopropilo. El tratamiento del compuesto cianociclopropílico con base da la sal de carboxilato, que se convierte en el ácido carboxílico por tratamiento con ácido. La conversión del ácido carboxílico en cloruro ácido se realiza entonces utilizando un agente clorante como el cloruro de tionilo.

**Esquema 3. Síntesis del resto amina**

[0136] El Esquema 3 representa la preparación del 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato de terc-butilo requerido, que se acopla con 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)cloruro de ciclopropanocarbonilo en el Esquema 3 para dar el Compuesto 1. El acoplamiento catalizado por paladio de 2-bromo-3-metilpiridina con ácido 3-(terc-butoxicarbonil)fenilborónico da 3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato de terc-butilo, que posteriormente se convierte en el compuesto deseado.

**Esquema 4. Formación de una sal ácida de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico**



**[0137]** El Esquema 4 representa el acoplamiento de cloruro de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarbonilo con 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato de terc-butilo usando trietil amina y 4-dimetilaminopiridina para proporcionar inicialmente el éster terc-butílico del Compuesto 1. El éster terc-butílico del Compuesto 1 se obtiene mediante el acoplamiento de 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) con 3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato de terc-butilo.

#### **Forma I del Compuesto 1**

**[0138]** La Forma I del Compuesto 1 se prepara dispersando o disolviendo una forma salina, tal como la sal HCl, del Compuesto 1 en un disolvente apropiado durante una cantidad efectiva de tiempo. El tratamiento del éster terc-butílico con un ácido como el HCl, da la sal HCl del Compuesto 1, que es típicamente un sólido cristalino. La Forma I del Compuesto 1 también puede prepararse directamente a partir del precursor éster t-butílico mediante tratamiento con un ácido apropiado, como el ácido fórmico.

**[0139]** La sal HCl del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico puede utilizarse para hacer la Forma I dispersando o disolviendo la sal HCl del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico en un disolvente adecuado durante un tiempo efectivo. Pueden utilizarse otras sales del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico, como, por ejemplo, sales derivadas de otros ácidos minerales u orgánicos. Las otras sales resultan de la hidrólisis mediada por ácido de la fracción éster t-butilo. Las sales derivadas de otros ácidos pueden ser, por ejemplo, nítrico, sulfúrico, fosfórico, bórico, acético, benzoico y malónico. Estas formas salinas del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico pueden o no ser solubles, dependiendo del disolvente utilizado, pero la falta de solubilidad no impide la formación de la Forma I del Compuesto 1. Por ejemplo, en una realización, el disolvente apropiado puede ser agua o una mezcla de alcohol/agua tal como una mezcla de metanol/agua al 50%, aunque la forma de sal HCl del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico es sólo escasamente soluble en agua. En una realización, el disolvente apropiado es el agua.

**[0140]** El tiempo efectivo para la formación de la Forma I del Compuesto 1 a partir de la sal del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico puede ser cualquier tiempo entre 2 y 24 horas o mayor. Se reconoce que el tiempo necesario es inversamente proporcional a la temperatura. Es decir, cuanto mayor sea la temperatura, menor será el tiempo necesario para afectar a la disociación del ácido para formar la Forma I del Compuesto 1. Cuando el disolvente es agua, agitando la dispersión durante aproximadamente 24 horas a temperatura ambiente se obtiene la Forma I del Compuesto 1 en un rendimiento aproximado del 98%. Si se desea una solución de la sal del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico para fines de proceso, puede utilizarse una temperatura elevada. Después de agitar la solución durante un tiempo efectivo a temperatura elevada, la recrystalización por enfriamiento proporciona la Forma I del Compuesto 1 sustancialmente puro. En otra realización, la pureza sustancial se refiere a una pureza superior al 95% aproximadamente. En otra realización, la pureza sustancial se refiere a una pureza superior al 98%. En otra realización, la pureza sustancial se refiere a una pureza superior al 99%. La temperatura seleccionada depende en parte del disolvente utilizado y está dentro de las capacidades de determinación de un experto en la materia. En una realización, la temperatura está entre la temperatura

ambiente y aproximadamente 80 °C. En otra realización, la temperatura está comprendida entre la temperatura ambiente y aproximadamente 40 °C. En otra realización, la temperatura oscila entre 40 °C y 60 °C. En otra realización, la temperatura oscila entre 60 °C y 80 °C.

**[0141]** La Forma I del Compuesto 1 también puede formarse directamente a partir del 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (cf. Esquema 3), que es un precursor de la sal del Compuesto 1. Así, se permite que 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato experimente reacción con un ácido apropiado, como, por ejemplo, ácido fórmico en condiciones de reacción apropiadas para dar la Forma I del Compuesto 1.

**[0142]** La Forma I del Compuesto 1 puede purificarse adicionalmente por recristalización a partir de un disolvente orgánico. Algunos ejemplos de disolventes orgánicos son el tolueno, el cumeno, el anisol, el 1-butanol, el acetato de isopropilo, el acetato de butilo, el acetato de isobutilo, el metil t-butil éter, la metil isobutil cetona y las mezclas de 1-propanol y agua. La temperatura puede ser la descrita anteriormente. Por ejemplo, la Forma I del Compuesto 1 se disuelve en 1-butanol a 75 °C hasta su completa disolución. Enfriando la solución a 10 °C a una velocidad de 0,2 °C/min se obtienen cristales de la Forma I del Compuesto 1 que pueden aislarse por filtración.

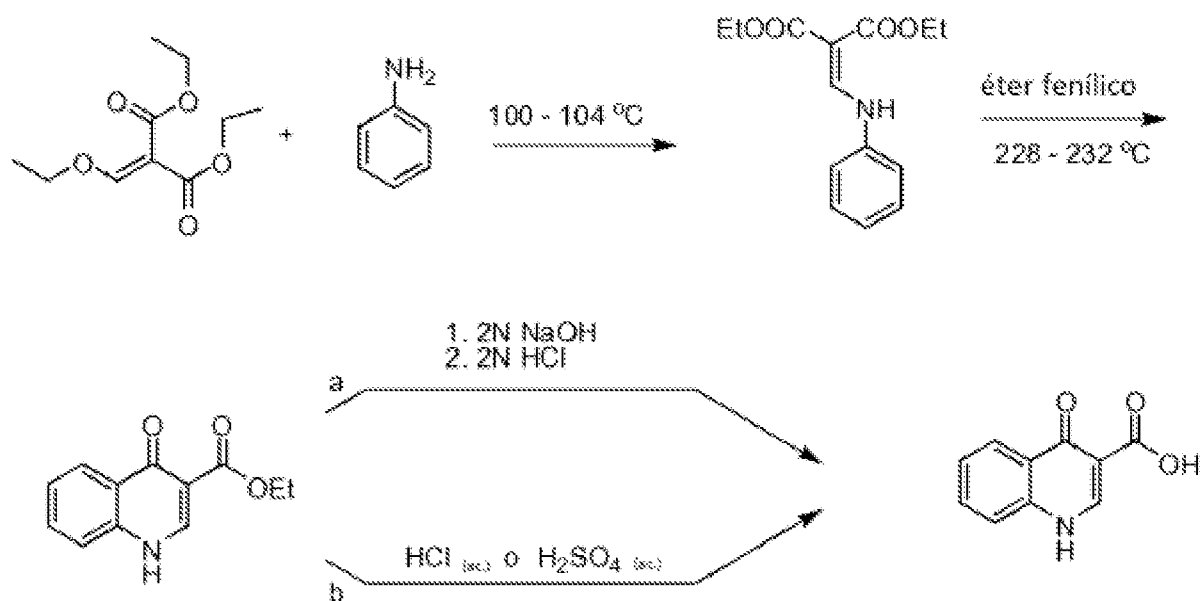
**[0143]** La Forma I del Compuesto 1 se caracteriza por uno o más picos a 15,2 a 15,6 grados, 16,1 a 16,5 grados y 14,3 a 14,7 grados en una difracción de polvo de rayos X obtenida utilizando radiación alfa Cu K. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza por uno o más picos a 15,4, 16,3 y 14,5 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 14,6 a 15,0 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 14,8 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 17,6 a 18,0 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 17,8 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 16,4 a 16,8 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 16,4 a 16,8 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 16,6 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico entre 7,6 y 8,0 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 7,8 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 25,8 a 26,2 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 26,0 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 21,4 a 21,8 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 21,6 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 23,1 a 23,5 grados. En otra realización, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza además por un pico a 23,3 grados. En algunas realizaciones, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza por un patrón de difracción sustancialmente similar al de la Figura 1. En algunas realizaciones, la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza por un patrón de difracción sustancialmente similar al de la Figura 2.

**[0144]** En algunas realizaciones, la distribución del tamaño de partícula de D90 es de aproximadamente 82 µm o menos para la Forma I del Compuesto 1. En algunas realizaciones, la distribución del tamaño de partícula de D50 es de aproximadamente 30 µm o menos para la Forma I del Compuesto 1.

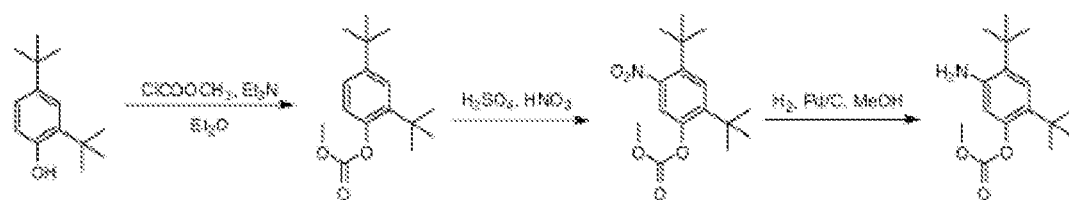
## **Compuesto 2**

**[0145]** El Compuesto 2 es el punto de partida para la dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y puede prepararse acoplando una fracción de ácido carboxílico 4-oxo-dihidroquinolina con una fracción de amina según los Esquemas 5-7.

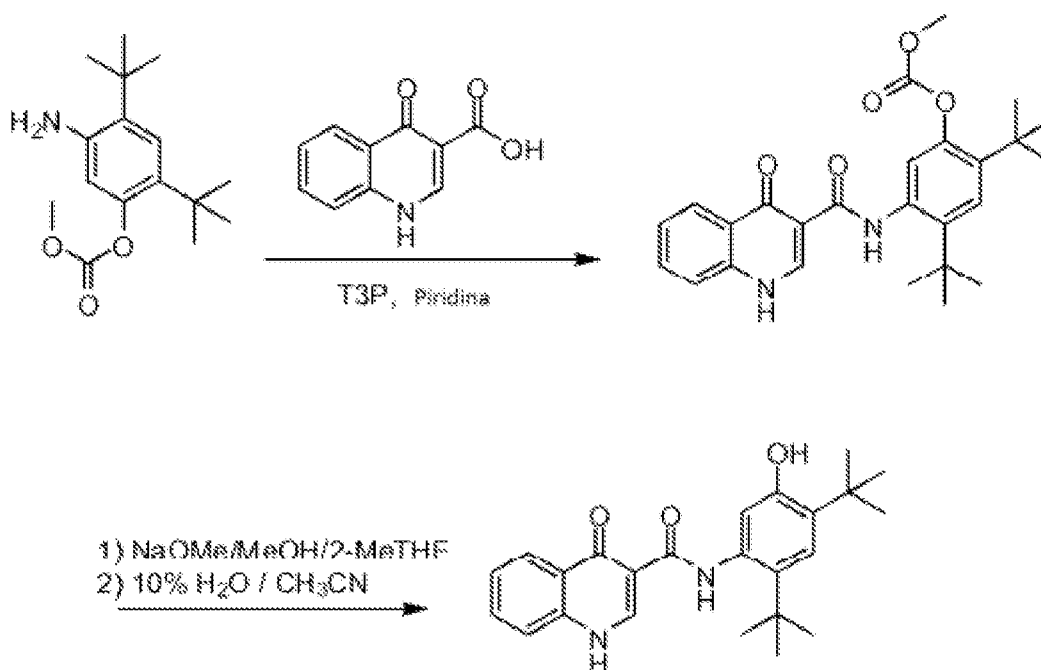
Esquema 5: Síntesis del grupo ácido 4-oxo-dihidroquinolina carboxílico



Esquema 6: Síntesis del resto amina



Esquema 7: Acoplamiento del resto ácido 4-oxo-dihidroquinolina carboxílico con el resto amina.



Compuesto 2

**Dispersión Sólida que Comprende el Compuesto Sustancialmente Amorfo 2**

[0146] A partir del Compuesto 2, la forma amorfa del Compuesto 2 puede prepararse por métodos de secado por atomización. El secado por pulverización es un proceso que convierte un alimento líquido en partículas secas. Opcionalmente, puede utilizarse un proceso de secado secundario, como el secado en lecho fluidizado o el secado al vacío, para reducir los disolventes residuales a niveles farmacéuticamente aceptables. Normalmente, el secado por pulverización implica poner en contacto una suspensión o solución líquida muy dispersa y un volumen suficiente de aire caliente para producir la evaporación y el secado de las gotitas líquidas. El preparado que se va a secar por pulverización puede ser cualquier solución, suspensión gruesa, suspensión, dispersión coloidal o pasta que pueda atomizarse utilizando el aparato de secado por pulverización seleccionado. En un procedimiento estándar, el preparado se pulveriza en una corriente de aire caliente filtrado que evapora el disolvente y transporta el producto seco a un colector (por ejemplo, un ciclón). El aire usado se expulsa con el disolvente o, alternativamente, se envía a un condensador para capturar y reciclar el disolvente. Para llevar a cabo el secado por pulverización pueden utilizarse aparatos de tipo comercial. Por ejemplo, los secadores por pulverización comerciales son fabricados por Buchi Ltd. Y Niro (por ejemplo, la línea PSD de secadores por pulverización fabricados por Niro) (véase, US 2004/0105820; US 2003/0144257).

[0147] El secado por atomización emplea típicamente cargas sólidas de material de aproximadamente del 3% a aproximadamente del 30% en peso, (es decir, fármaco y excipientes), por ejemplo aproximadamente del 4% a aproximadamente del 20% en peso, preferentemente al menos aproximadamente del 10%. En general, el límite superior de las cargas sólidas se rige por la viscosidad de (por ejemplo, la capacidad de bombeo) la solución resultante y la solubilidad de los componentes en la solución. En general, la viscosidad de la solución puede determinar el tamaño de la partícula en el producto en polvo resultante.

[0148] Las técnicas y métodos para el secado por pulverización pueden encontrarse en Perry's Chemical Engineering Handbook, 6th Ed., R. H. Perry, D. W. Green & J. O. Maloney, eds.), McGraw-Hill book co. (1984); y Marshall "Atomization and Spray-Drying" 50, Chem. Eng. Prog. Monogr. Series 2 (1954). En general, el secado por pulverización se lleva a cabo con una temperatura de entrada de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 200 °C, por ejemplo, de aproximadamente 95 °C a aproximadamente 185 °C, de aproximadamente 110 °C a aproximadamente 182 °C, de aproximadamente 96 °C a aproximadamente 180 °C, por ejemplo, aproximadamente 145 °C. El secado por pulverización se lleva a cabo generalmente con una temperatura de salida de aproximadamente 30 °C a aproximadamente 90 °C, por ejemplo, de aproximadamente 40 °C a aproximadamente 80 °C, de aproximadamente 45 °C a aproximadamente 80 °C, por ejemplo, aproximadamente 75 °C. El caudal de atomización es generalmente de aproximadamente 4 kg/h a aproximadamente 12 kg/h, por ejemplo, de aproximadamente 4,3 kg/h a aproximadamente 10,5 kg/h, por ejemplo, aproximadamente 6 kg/h o aproximadamente 10,5 kg/h. El caudal de alimentación suele ser de aproximadamente 3 kg/h a aproximadamente 10 kg/h, por ejemplo, de aproximadamente 3,5 kg/h a aproximadamente 9,0 kg/h, por ejemplo,

aproximadamente 8 kg/h o aproximadamente 7,1 kg/h. La relación de atomización es generalmente de aproximadamente 0,3 a 1,7, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 a 1,5, por ejemplo, aproximadamente 0,8 o aproximadamente 1,5.

**[0149]** La eliminación del disolvente puede requerir una etapa de secado posterior, como el secado en bandeja, el secado en lecho fluido (por ejemplo, desde aproximadamente temperatura ambiente hasta aproximadamente 100 °C), el secado al vacío, el secado por microondas, el secado en tambor rotatorio o el secado al vacío biconico (por ejemplo, desde aproximadamente temperatura ambiente hasta aproximadamente 200 °C).

**[0150]** En una realización, la dispersión secada por pulverización se seca en lecho fluido.

**[0151]** En un proceso, el disolvente incluye un disolvente volátil, por ejemplo, un disolvente que tenga un punto de ebullición inferior a aproximadamente 100 °C. En algunas realizaciones, el disolvente incluye una mezcla de disolventes, por ejemplo, una mezcla de disolventes volátiles o una mezcla de disolventes volátiles y no volátiles. Cuando se utilizan mezclas de disolventes, la mezcla puede incluir uno o más disolventes no volátiles, por ejemplo, cuando el disolvente no volátil está presente en la mezcla a menos de aproximadamente el 15%, por ejemplo, menos de aproximadamente el 12%, menos de aproximadamente el 10%, menos de aproximadamente el 8%, menos de aproximadamente el 5%, menos de aproximadamente el 3% o menos de aproximadamente el 2%.

**[0152]** Los disolventes preferidos son aquellos en los que el Compuesto 2 tiene una solubilidad de al menos aproximadamente 10 mg/ml, (por ejemplo, al menos aproximadamente 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 35 mg/ml, 40 mg/ml, 45 mg/ml, 50 mg/ml, o mayor). Los disolventes más preferidos incluyen aquellos en los que el Compuesto 2 tiene una solubilidad de al menos aproximadamente 20 mg/ml.

**[0153]** Los disolventes ejemplares que podrían probarse incluyen acetona, ciclohexano, diclorometano, N,N-dimetilacetamida (DMA), N,N-dimetilformamida (DMF), 1,3- dimetil-2-imidazolidinona (DMI), dimetilsulfóxido (DMSO), dioxano, acetato de etilo, éter etílico, ácido acético glacial (HAc), metiletilcetona (MEK), N-metil-2-pirrolidinona (NMP), metil terc-butil éter (MTBE), tetrahidrofurano (THF), pentano, acetonitrilo, metanol, etanol, alcohol isopropílico, acetato de isopropilo y tolueno. Algunos ejemplos de co-solventes son acetona/DMSO, acetona/DMF, acetona/agua, MEK/agua, THF/agua, dioxano/agua. En un sistema de dos disolventes, los disolventes pueden estar presentes en una proporción de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 99,9%. En algunas realizaciones preferidas, el agua es un co-disolvente con acetona donde el agua está presente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 15%, por ejemplo, aproximadamente 9% a aproximadamente 11%, por ejemplo, aproximadamente 10%. En algunas realizaciones preferidas, el agua es un co-disolvente con MEK donde el agua está presente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 15%, por ejemplo, aproximadamente 9% a aproximadamente 11%, por ejemplo, aproximadamente 10%. En algunas realizaciones, la solución disolvente incluye tres disolventes. Por ejemplo, la acetona y el agua pueden mezclarse con un tercer disolvente como DMA, DMF, DMI, DMSO o HAc. En los casos en que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo es un componente de una dispersión sólida, los disolventes preferidos disuelven tanto el Compuesto 2 como el polímero. Los disolventes adecuados incluyen los descritos anteriormente, por ejemplo, MEK, acetona, agua, metanol y mezclas de los mismos.

**[0154]** El tamaño de las partículas y el intervalo de secado a temperatura pueden modificarse para preparar una dispersión seca por pulverización óptima. Como pueden apreciar los expertos, un tamaño de partícula pequeño mejoraría la eliminación del disolvente. Sin embargo, los solicitantes han descubierto que las partículas más pequeñas pueden dar lugar a partículas esponjosas que, en algunas circunstancias, no proporcionan dispersiones secas por pulverización óptimas para el procesamiento posterior, como el tableteado. A temperaturas más altas, puede producirse la cristalización o degradación química del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. A temperaturas más bajas, es posible que no se elimine una cantidad suficiente de disolvente. Los métodos aquí descritos proporcionan un tamaño de partícula óptimo y una temperatura de secado óptima.

**[0155]** En general, el tamaño de las partículas es tal que D10 (µm) es inferior a aproximadamente 5, por ejemplo, inferior a aproximadamente 4,5, inferior a aproximadamente 4,0, o inferior a aproximadamente 3,5, D50 (µm) es generalmente inferior a aproximadamente 17, por ejemplo, inferior a aproximadamente 16, inferior a aproximadamente 15, inferior a aproximadamente 14, inferior a aproximadamente 13, y D90 (µm) es generalmente inferior a aproximadamente 175, por ejemplo, menos de aproximadamente 170, menos de aproximadamente 170, menos de aproximadamente 150, menos de aproximadamente 125, menos de aproximadamente 100, menos de aproximadamente 90, menos de aproximadamente 80, menos de aproximadamente 70, menos de aproximadamente 60 o menos de aproximadamente 50. En general, la densidad aparente de las partículas secadas por pulverización es de aproximadamente 0,08 g/cc a aproximadamente 0,20 g/cc, por ejemplo, de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,15 g/cc, por ejemplo, aproximadamente 0,11 g/cc o aproximadamente 0,14 g/cc. La densidad batida de las partículas secadas por atomización oscila generalmente entre 0,08 g/cc a aproximadamente 0,20 g/cc, por ej. de aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,15 g/cc, por ej., aproximadamente 0,11 g/cc o aproximadamente 0,14 g/cc, para 10 batidas; 0,10 g/cc a aproximadamente 0,25 g/cc, por ej., de aproximadamente 0,11 a aproximadamente 0,21 g/cc, por ej., aproximadamente 0,15 g/cc, aproximadamente 0,19 g/cc, o aproximadamente 0,21 g/cc para 500 batidas; 0,15 g/cc a aproximadamente 0,27 g/cc, por ej., de aproximadamente 0,18 a aproximadamente 0,24 g/cc, por ej., aproximadamente 0,18 g/cc, aproximadamente 0,19 g/cc, aproximadamente 0,20 g/cc, o aproximadamente 0,24 g/cc para 1250 batidas; and 0,15 g/cc a aproximadamente 0,27 g/cc, por ej., de aproximadamente 0,18 a aproximadamente 0,24 g/cc, por ej., aproximadamente 0,18 g/cc, aproximadamente 0,21 g/cc,

aproximadamente 0,23 g/cc, o aproximadamente 0,24 g/cc para 2500 batidas.

#### Polímeros

**[0156]** Las dispersiones secadas por pulverización que incluyen el Compuesto 2 amorfo y un polímero (o portador en estado sólido) también se incluyen en el presente documento. Por ejemplo, el Compuesto 2 está presente como un compuesto amorfo como componente de una dispersión amorfa sólida. La dispersión sólida amorfa, generalmente incluye el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y un polímero. Los polímeros ejemplares incluyen polímeros celulósicos como HPMC o HPMCAS y polímeros que contienen pirrolidona como PVP/VA. En algunas realizaciones, la dispersión sólida amorfa incluye uno o más excipientes adicionales, como un tensioactivo.

**[0157]** En una realización, un polímero es capaz de disolverse en medios acuosos. La solubilidad de los polímeros puede ser independiente o dependiente del pH. Estos últimos incluyen uno o más polímeros entéricos. El término "polímero entérico" se refiere a un polímero que es preferentemente soluble en el medio menos ácido del intestino en relación con el medio más ácido del estómago, por ejemplo, un polímero que es insoluble en medios acuosos ácidos pero soluble cuando el pH es superior a 5-6. Un polímero adecuado debe ser química y biológicamente inerte. Para mejorar la estabilidad física de las dispersiones secas por atomización, la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) del polímero debe ser lo más alta posible. Por ejemplo, los polímeros preferidos tienen una temperatura de transición vítrea al menos igual o superior a la temperatura de transición vítrea del fármaco (es decir, el Compuesto 2). Otros polímeros preferidos tienen una temperatura de transición vítrea que está entre aproximadamente 10 y aproximadamente 15 °C del fármaco (es decir, el Compuesto 2). Ejemplos de temperaturas de transición vítrea adecuadas de los polímeros incluyen al menos aproximadamente 90 °C, al menos aproximadamente 95 °C, al menos aproximadamente 100 °C, al menos aproximadamente 105 °C, al menos aproximadamente 110 °C, al menos aproximadamente 115 °C, al menos aproximadamente 120 °C, al menos aproximadamente 125 °C, al menos aproximadamente 130 °C, al menos aproximadamente 135 °C, al menos aproximadamente 140 °C, al menos aproximadamente 145 °C, al menos aproximadamente 150 °C, al menos aproximadamente 155 °C, al menos aproximadamente 160 °C, al menos aproximadamente 165 °C, al menos aproximadamente 170 °C, o al menos aproximadamente 175 °C (medidas en condiciones secas). Sin querer atarse a la teoría, se cree que el mecanismo subyacente es que un polímero con una  $T_g$  más alta tiene generalmente una movilidad molecular más baja a temperatura ambiente, lo que puede ser un factor crucial para estabilizar la estabilidad física de la dispersión seca amorfa por pulverización.

**[0158]** Además, la higroscopicidad de los polímeros debe ser tan baja, por ejemplo, inferior a aproximadamente el 10%. A efectos de comparación en esta aplicación, la higroscopicidad de un polímero o composición se caracteriza a aproximadamente un 60% de humedad relativa. En algunas realizaciones preferidas, el polímero tiene menos del 10% de absorción de agua, por ejemplo, menos del 9%, menos del 8%, menos del 7%, menos del 6%, menos del 5%, menos del 4%, menos del 3%, o menos del 2% de absorción de agua. La higroscopicidad también puede afectar a la estabilidad física de las dispersiones secas por pulverización. Generalmente, la humedad adsorbida en los polímeros puede reducir en gran medida la  $T_g$  de los polímeros, así como las dispersiones secas por atomización resultantes, lo que reducirá aún más la estabilidad física de las dispersiones secas por atomización, como se ha descrito anteriormente.

**[0159]** En una realización, el polímero es uno o más polímero(s) soluble(s) en agua o polímero(s) parcialmente soluble(s) en agua. Los polímeros solubles o parcialmente solubles en agua incluyen derivados de la celulosa (por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC)) o etilcelulosa; polivinilpirrolidonas (PVP); polietilenglicoles (PEG); alcoholes polivinílicos (PVA); acrilatos, como el polimetacrilato (por ejemplo, Eudragit® E); ciclodextrinas (por ejemplo,  $\beta$ -ciclodextrina) y copolímeros y derivados de los mismos, incluido, por ejemplo, PVP-VA (polivinilpirrolidona-acetato de vinilo).

**[0160]** En algunas realizaciones, el polímero es hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), tal como HPMCAS, HPMC E50, HPMCE15, o HPMC60SH50).

**[0161]** Como se discute aquí, el polímero puede ser un polímero entérico dependiente del pH. Tales polímeros entéricos dependientes del pH incluyen derivados de la celulosa (por ejemplo, ftalato de acetato de celulosa (CAP)), ftalatos de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP), succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS), carboximetilcelulosa (CMC) o una sal de la misma (por ejemplo, una sal sódica como (CMC-Na)); acetato trimetilado de celulosa (CAT), acetato ftalato de hidroxipropilcelulosa (HPCAP), acetato ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAP) y acetato ftalato de metilcelulosa (MCAP), o polimetacrilatos (por ejemplo, Eudragit® S). En algunas realizaciones, el polímero es hidroxipropilmetilcelulosa acetato succinato (HPMCAS). En algunas realizaciones, el polímero es hidroxipropilmetilcelulosa acetato succinato grado HG (HPMCAS-HG).

**[0162]** En otra realización, el polímero es un copolímero de polivinilpirrolidona, por ejemplo, un copolímero de avinilpirrolidona/acetato de vinilo (PVP/VA).

**[0163]** En las realizaciones en las que el compuesto 2 forma una dispersión seca por pulverización con un polímero, por ejemplo, con un polímero HPMC, HPMCAS o PVP/VA, la cantidad de polímero en relación con el peso total de la dispersión seca por pulverización oscila entre aproximadamente el 0,1% y el 99% en peso. A menos que se especifique lo contrario, los porcentajes de fármaco, polímero y otros excipientes descritos dentro de una dispersión se dan en



porcentajes en peso. La cantidad de polímero es típicamente de al menos un 20%, y preferiblemente de al menos un 30%, por ejemplo, al menos un 35%, al menos un 40%, al menos un 45%, o aproximadamente del 50% (por ejemplo, 49,5%). La cantidad es típicamente de aproximadamente el 99% o menos, y preferiblemente de aproximadamente el 80% o menos, por ejemplo, aproximadamente del 75% o menos, aproximadamente del 70% o menos, aproximadamente del 65% o menos, aproximadamente del 60% o menos, o aproximadamente del 55% o menos. En una realización, el polímero está en una cantidad de hasta aproximadamente el 50% del peso total de la dispersión (e incluso más específicamente, entre aproximadamente el 40% y el 50%, como aproximadamente el 49%, aproximadamente el 49,5% o aproximadamente el 50%). HPMC y HPMCAS están disponibles en diversos grados de ShinEtsu, por ejemplo, HPMCAS está disponible en diversas variedades, como AS-LF, AS-MF, AS-HF, AS-LG, AS-MG, AS-HG. Cada uno de estos grados varía con el porcentaje de sustitución de acetato y succinato.

**[0164]** En algunas realizaciones, el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y el polímero están presentes en cantidades aproximadamente iguales, por ejemplo, cada uno de los polímeros y el fármaco constituyen aproximadamente la mitad del peso porcentual de la dispersión. Por ejemplo, el polímero está presente en un 49,5% y el fármaco en un 50%.

**[0165]** En algunas realizaciones, el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y el polímero combinados representan del 1% al 20% p/p de contenido sólido total de la dispersión seca no pulverizada antes del secado por pulverización. En algunas realizaciones, el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y el polímero combinados representan del 5% al 15% p/p de contenido sólido total de la dispersión seca no pulverizada antes del secado por pulverización. En algunas realizaciones, el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y el polímero combinados representan alrededor del 11% p/p de contenido sólido total de la dispersión seca no pulverizada antes del secado por pulverización.

**[0166]** En algunas realizaciones, la dispersión incluye además otros ingredientes menores, como un tensioactivo (por ejemplo, SLS). En algunas realizaciones, el tensioactivo está presente en menos de aproximadamente el 10% de la dispersión, por ejemplo, menos de aproximadamente el 9%, menos de aproximadamente el 8%, menos de aproximadamente el 7%, menos de aproximadamente el 6%, menos de aproximadamente el 5%, menos de aproximadamente el 4%, menos de aproximadamente el 3%, menos de aproximadamente el 2%, aproximadamente el 1% o aproximadamente el 0,5%.

**[0167]** En las realizaciones que incluyen un polímero, el polímero debe estar presente en una cantidad eficaz para estabilizar la dispersión seca por pulverización. Estabilizar incluye inhibir o prevenir la cristalización del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. Dicha estabilización inhibiría la conversión del Compuesto 2 de forma amorfa a cristalina. Por ejemplo, el polímero impediría que al menos una parte (por ejemplo, aproximadamente el 5%, aproximadamente el 10%, aproximadamente el 15%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 25%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 35%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 45%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 55%, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 65%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 75%, o más) del Compuesto 2 se convirtiera de una forma amorfa a una forma cristalina. La estabilización puede medirse, por ejemplo, midiendo la temperatura de transición vítrea de la dispersión seca por pulverización, midiendo la velocidad de relajación del material amorfo, o midiendo la solubilidad o biodisponibilidad del Compuesto 2.

**[0168]** Los polímeros adecuados para su uso en combinación con el Compuesto 2, por ejemplo, para formar una dispersión seca por pulverización tal como una dispersión seca amorfa por pulverización, deben tener una o más de las siguientes propiedades: La temperatura de transición vítrea del polímero debe tener una temperatura no inferior a aproximadamente 10-15 °C inferior a la temperatura de transición vítrea del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. Preferiblemente, la temperatura de transición vítrea del polímero es mayor que la temperatura de transición vítrea del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y en general al menos 50°C mayor que la temperatura de almacenamiento deseada del producto farmacológico. Por ejemplo, al menos aproximadamente 100 °C, al menos aproximadamente 105 °C, al menos aproximadamente 110 °C, al menos aproximadamente 120 °C, al menos aproximadamente 130 °C, al menos aproximadamente 140 °C, al menos aproximadamente 150 °C, al menos aproximadamente 160 °C, o superior.

**[0169]** El polímero debe ser relativamente no higroscópico. Por ejemplo, el polímero debe, cuando se almacena en condiciones estándar, absorber menos de un 10% de agua, por ejemplo, menos de un 9%, menos de un 8%, menos de un 7%, menos de un 6%, o menos de un 5%, menos de un 4%, o menos de un 3% de agua. Preferiblemente, el polímero, cuando se almacena en condiciones estándar, estará sustancialmente libre de agua absorbida.

**[0170]** El polímero debe tener una solubilidad similar o mejor en disolventes adecuados para procesos de secado por pulverización en relación con la del Compuesto 2. En realizaciones preferidas, el polímero se disolverá en uno o más de los mismos disolventes o sistemas de disolventes que el Compuesto 2. Se prefiere que el polímero sea soluble en al menos un disolvente que no contenga hidroxilo, como cloruro de metileno, acetona o una combinación de los mismos.

**[0171]** El polímero, cuando se combina con el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, por ejemplo en una dispersión seca por pulverización o en una suspensión líquida, debe aumentar la solubilidad del Compuesto 2 en medios acuosos y fisiológicamente relativos, ya sea en relación con la solubilidad del Compuesto 2 en ausencia del polímero o en relación con la solubilidad del Compuesto 2 cuando se combina con un polímero de referencia. Por ejemplo, el polímero podría aumentar la solubilidad del Compuesto 2 amorfo reduciendo la cantidad de Compuesto 2 amorfo que se convierte en

Compuesto 2 cristalino, ya sea a partir de una dispersión amorfa sólida o de una suspensión líquida.

**[0172]** El polímero debe disminuir la velocidad de relajación de la sustancia amorfa.

5 **[0173]** El polímero debe aumentar la estabilidad física y/o química del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

**[0174]** El polímero debe mejorar la fabricabilidad del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

10 **[0175]** El polímero debe mejorar una o más de las propiedades de manipulación, administración o almacenamiento del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

**[0176]** El polímero no debe interactuar desfavorablemente con otros componentes farmacéuticos, por ejemplo, excipientes.

15 **[0177]** La idoneidad de un polímero candidato (u otro componente) puede probarse utilizando los métodos de secado por pulverización (u otros métodos) aquí descritos para formar una composición amorfa. La composición candidata puede compararse en términos de estabilidad, resistencia a la formación de cristales u otras propiedades, y compararse con una preparación de referencia, por ejemplo, una preparación de Compuesto 2 amorfo puro o de Compuesto 2 cristalino. Por ejemplo, una composición candidata podría ensayarse para determinar si inhibe el tiempo hasta el inicio de la cristalización mediada por disolvente, o el porcentaje de conversión en un momento dado en condiciones controladas, en al menos un 50 %, 75 %, 100 % o 110 %, así como la preparación de referencia, o una composición candidata podría ensayarse para determinar si ha mejorado la biodisponibilidad o solubilidad en relación con el Compuesto 2 cristalino.

#### Tensioactivos

25

**[0178]** La dispersión seca por pulverización puede incluir un tensioactivo. Un tensioactivo o una mezcla de tensioactivos disminuiría generalmente la tensión interfacial entre la dispersión seca por pulverización y un medio acuoso. Un tensioactivo o una mezcla de tensioactivos adecuados también pueden mejorar la solubilidad acuosa y la biodisponibilidad del compuesto 2 a partir de una dispersión seca por pulverización. Los tensioactivos que pueden utilizarse en relación con la presente invención incluyen ésteres de ácidos grasos de sorbitán (por ejemplo, Spans®), ésteres de ácidos grasos de sorbitán polioxietilenados (por ejemplo, Tweens®), lauril sulfato sódico (SLS), dodecilbencenosulfonato sódico (SDBS), dioctil sulfosuccinato sódico (Docusate), sal sódica de ácido dioxicolico (DOSS), monoestearato de sorbitán, tristearato de sorbitán, bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HTAB), N-laurolsarcosina sódica, oleato sódico, miristato sódico, estearato sódico, palmitato sódico, Gelucire 44/14, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), vitamina E d-alfa tocoferil polietilenglicol 1000 succinato (TPGS), lecitina, MW 677-692, ácido glutámico monosódico monohidratado, Labrasol, glicéridos caprílico/cáprico PEG 8, Transcutol, éter monoetilico de dietilenglicol, Solutol HS-15, polietilenglicol/hidroxiestearato, ácido taurocólico, Pluronic F68, Pluronic F108 y Pluronic F127 (o cualquier otro copolímero de polioxietileno-polioxipropileno (Pluronic®) o glicéridos poliglicolizados saturados (Gelucirs®)). Algunos ejemplos específicos de tensioactivos que pueden utilizarse en relación con esta invención son Span 65, Span 25, Tween 20, Capryol 90, Pluronic F108, lauril sulfato sódico (SLS), TPGS de vitamina E, plurónicos y copolímeros. En general, se prefiere el SLS.

40

**[0179]** La cantidad de tensioactivo (por ejemplo, SLS) en relación con el peso total de la dispersión seca por pulverización puede estar comprendida entre el 0,1 y el 15%. Preferiblemente, es de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5%, por ejemplo, de aproximadamente 0,5 a 4%, de aproximadamente 0,5 a 3%, de aproximadamente 0,5 a 2%, de aproximadamente 0,5 a 1%, o de aproximadamente 0,5%.

45

**[0180]** En ciertas realizaciones, la cantidad de tensioactivo en relación con el peso total de la dispersión seca por pulverización es de al menos aproximadamente el 0,1%, preferiblemente aproximadamente el 0,5%. En estas realizaciones, el tensioactivo estaría presente en una cantidad no superior a aproximadamente el 15%, y preferiblemente no superior a aproximadamente el 12%, aproximadamente el 11%, aproximadamente el 10%, aproximadamente el 9%, aproximadamente el 8%, aproximadamente el 7%, aproximadamente el 6%, aproximadamente el 5%, aproximadamente el 4%, aproximadamente el 3%, aproximadamente el 2% o aproximadamente el 1%. Se prefiere una realización en la que el tensioactivo está en una cantidad de aproximadamente 0,5% en peso.

50

**[0181]** Los tensioactivos candidatos (u otros componentes) pueden someterse a pruebas de idoneidad para su uso en la invención de manera similar a la descrita para las pruebas de polímeros.

#### **MÉTODOS DE ELABORACIÓN DE LAS COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS**

60

**[0182]** Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden producirse por, granulación húmeda, compactando o comprimiendo una mezcla o composición, por ejemplo, un polvo o gránulos, bajo presión para formar una forma tridimensional estable (por ejemplo, un comprimido). Tal como se utiliza en el presente documento, el término "comprimido" incluye formas farmacéuticas unitarias de dosificación comprimidas de todas las formas y tamaños, recubiertas o no.

65

**[0183]** El término "comprimido", tal como se utiliza aquí, se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiado para el paciente a tratar. En general, una mezcla compactada tiene una densidad superior a la de la mezcla antes de la compactación. Un comprimido dosificador de la invención puede tener casi cualquier forma, incluyendo caras cóncavas y/o convexas, esquinas redondeadas o en ángulo, y una forma entre redondeada y rectilínea. En algunas realizaciones, las pastillas comprimidas de la invención comprenden una pastilla redondeada con caras planas. Los comprimidos de la invención pueden prepararse mediante cualquier método de compactación y compresión conocido por las personas con conocimientos ordinarios en el arte de formar formas farmacéuticas sólidas comprimidas. En particular, las formulaciones aquí proporcionadas pueden prepararse utilizando métodos convencionales conocidos por los expertos en el campo de la formulación farmacéutica, como se describe, por ejemplo, en los libros de texto pertinentes. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms And Drug Delivery Systems, 7ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, (1999); The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4ª edición, Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003); Gibson, Pharmaceutical Preformulation And Formulation, CRC Press (2001).

#### 15 Granulación y compresión

**[0184]** En algunas realizaciones, los ingredientes se pesan según la fórmula establecida en el presente documento. A continuación, se tamizan todos los ingredientes intragranulares y se mezclan bien. Los ingredientes pueden lubricarse con un lubricante adecuado, por ejemplo, estearato de magnesio. La etapa siguiente puede consistir en la compactación/depuración del aditivo en polvo y de los ingredientes calibrados. A continuación, las mezclas compactadas o babosas se muelen en gránulos y se tamizan para obtener el tamaño deseado. A continuación, los gránulos pueden lubricarse aún más con, por ejemplo, estearato de magnesio. A continuación, la composición granular de la invención puede comprimirse en punzones adecuados en diversas formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse con una película, un colorante u otro recubrimiento.

**[0185]** Otro aspecto, no reivindicado en las reivindicaciones anexas, proporciona un método para producir una composición farmacéutica que comprende proporcionar una mezcla de una composición que comprende la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo y uno o más excipientes seleccionados entre: una carga, un diluyente, un aglutinante, un tensioactivo, un lubricante, un desintegrante, y comprimir la composición en un comprimido que tiene una disolución de al menos aproximadamente el 50% en aproximadamente 30 minutos.

**[0186]** En otra realización, se lleva a cabo un proceso de granulación húmeda para producir la formulación farmacéutica de la invención a partir de una mezcla de ingredientes líquidos y en polvo. Por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende una mezcla de una composición que comprende la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y uno o más excipientes seleccionados entre: una carga, un aglutinante, un tensioactivo o un desintegrante, se pesan según la fórmula establecida en el presente documento. A continuación, se tamizan todos los ingredientes intragranulares y se mezclan en un granulador de alto o bajo cizallamiento utilizando agua o agua con un tensioactivo o agua con un aglutinante o agua con un tensioactivo y un aglutinante para granular la mezcla en polvo. También puede utilizarse un fluido distinto del agua, con o sin tensioactivo y/o aglutinante, para granular la mezcla de polvos. A continuación, los gránulos húmedos pueden molerse opcionalmente utilizando un molino adecuado. A continuación, el agua puede eliminarse opcionalmente de la mezcla secando los ingredientes de cualquier manera adecuada. A continuación, los gránulos secos pueden molerse opcionalmente hasta alcanzar el tamaño deseado. A continuación, pueden añadirse excipientes extragranulares por mezcla (por ejemplo, una carga, un diluyente y un desintegrante). A continuación, los gránulos dimensionados pueden lubricarse aún más con estearato de magnesio y un desintegrante, por ejemplo, croscarmelosa sódica. A continuación, la composición granular de la invención puede tamizarse durante el tiempo suficiente para obtener el tamaño correcto y luego comprimirse en punzones adecuados en diversas formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse con una película, un colorante u otro recubrimiento. Sorprendentemente, la granulación húmeda puede llevarse a cabo sin pérdida sustancial de las formas en estado sólido de la Forma I del Compuesto 1 o del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

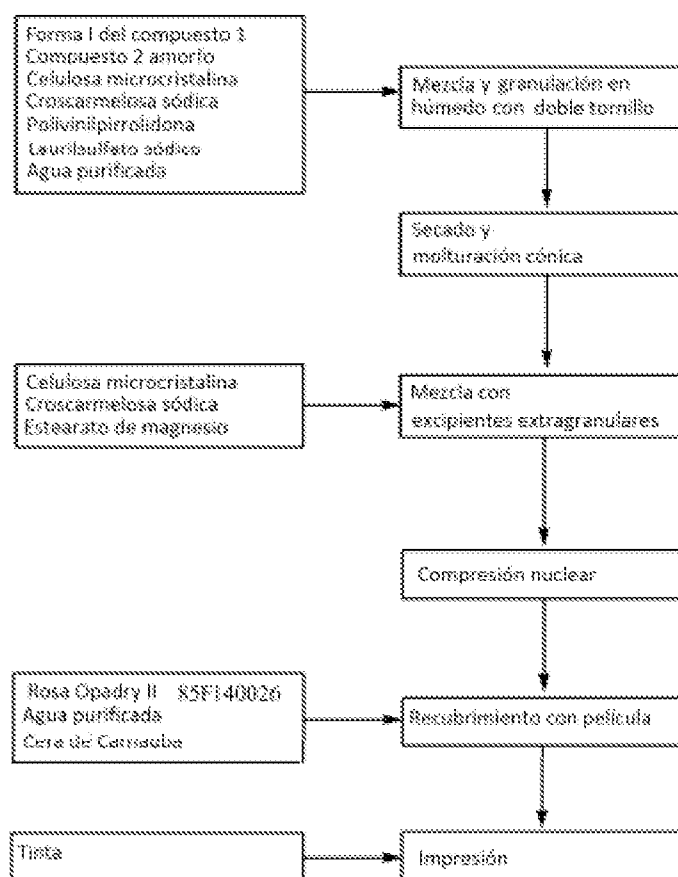
**[0187]** En una realización particularmente favorecida, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan mediante un proceso continuo de granulación húmeda de doble tornillo (TSWG). La fabricación continua proporciona productos de alta calidad y gran uniformidad con supervisión y control en línea. La fabricación continua también facilita la calidad mediante el desarrollo del diseño, con un espacio de diseño "rico en datos" y un impacto más fácil de comprender de las variables anteriores en el proceso posterior y en la calidad del producto final. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden finalizarse pronto en equipos a escala comercial, lo que evita riesgos de ampliación y cambios de formulación en fases tardías del desarrollo. Por último, la fabricación continua tiene ventajas comerciales de fabricación, como la mejora del control de procesos, la reducción de la manipulación de productos y la eficacia de la liberación en tiempo real. El resultado global es un proceso más robusto, controlable y escalable, con menos comprobaciones, lo que se traduce en una mayor calidad del producto y, por tanto, en una mayor seguridad para el paciente. Estas ventajas responden a las preocupaciones de Janet Woodcock (directora del Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos (CDER)) de que la química, la fabricación y los controles (CMC) no podrán seguir el ritmo del rápido desarrollo clínico de terapias altamente eficaces ("Lo que estamos viendo es que a menudo la etapa que limita la velocidad va a ser la fabricación", 24 de julio de 2013 Friends of Cancer organizó la sesión informativa

del Congreso "Answering a Compelling Need: Acelerar los tratamientos que salvan vidas para los pacientes" para debatir la designación de terapia innovadora de la Administración de Alimentos y Medicamentos).

[0188] Por ejemplo, la granulación de alto cizallamiento (HSG), una técnica de granulación común, es bien conocida por el riesgo de sobregranulación y el escaso control del proceso. La ampliación de este proceso es muy difícil y entraña un riesgo considerable. El cambio de un proceso HSG a un proceso TSWG continuo permite escalar utilizando el mismo equipo para producir diferentes tamaños de lote, al funcionar durante más tiempo. De este modo se elimina el riesgo de ampliación que suelen presentar otros procesos de granulación. Además, se comprobó que el proceso TSWG es más robusto y menos sensible a la sobregranulación. Como puede verse en la Figura 3 para un comprimido del Compuesto 1, el proceso HSG mostró una ralentización significativa de la disolución con el aumento del contenido de agua, mientras que el proceso TSWG no mostró ningún cambio para un rango similar de adición de agua. Sorprendentemente, no se encontraron cambios de rendimiento con las formulaciones de comprimidos que comprendían el Compuesto 1 entre 45-55 por ciento en peso y las formulaciones de comprimidos que comprendían el Compuesto 1 entre 60-70 por ciento en peso utilizando el proceso de granulación húmeda de doble tornillo. No fue así en el caso del proceso HSG. Además, este proceso continuo y de mayor calidad del producto responde a una queja habitual del FDA sobre la falta de disponibilidad de medicamentos para los pacientes que los necesitan.

[0189] En una realización, el proceso continuo comienza con la alimentación de excipientes individuales, Compuesto 1 y Compuesto 2 en un mezclador en línea continuo mediante alimentación por pérdida de peso. Desde esta mezcladora, el material se transporta continuamente y se procesa mediante granulación húmeda de doble tornillo, secado, molienda, adición de excipientes extragranulares, mezcla, compresión y recubrimiento de película.

[0190] Por ejemplo, en una realización, un comprimido que comprende el Compuesto 1 y el Compuesto 2 puede prepararse continuamente según el diagrama de flujo siguiente.



[0191] Cada uno de los ingredientes de esta mezcla ejemplar se describe más arriba y en los Ejemplos siguientes. Además, la mezcla puede contener aditivos opcionales, como uno o varios colorantes, uno o varios aromas y/o una o varias fragancias, tal como se ha descrito anteriormente y en los Ejemplos siguientes. En algunas realizaciones, las concentraciones relativas (por ejemplo, % en peso) de cada uno de estos ingredientes (y cualquier aditivo opcional) en la mezcla también se presentan arriba y en los Ejemplos a continuación. Los ingredientes que constituyen la mezcla pueden suministrarse secuencialmente o en cualquier combinación de adiciones; y los ingredientes o la combinación de

ingredientes pueden suministrarse en cualquier orden. En una realización, el lubricante es el último componente añadido a la mezcla.

**[0192]** En otra realización, la mezcla comprende una composición de la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y uno o más de los excipientes; un aglutinante, un tensioactivo, un diluyente, un lubricante, un desintegrante, y una carga, en el que cada uno de estos ingredientes se proporciona en forma de polvo (p. ej., en forma de partículas con un diámetro medio, medido por dispersión de la luz, igual o inferior a 250 µm (por ejemplo, igual o inferior a 150 µm, igual o inferior a 100 µm, igual o inferior a 50 µm, igual o inferior a 45 µm, igual o inferior a 40 µm, igual o inferior a 35 µm).

**[0193]** En otra realización, la compresión de la mezcla en una tableta se logra llenando una forma (por ejemplo, un molde) con la mezcla y aplicando presión a esta. Para ello se puede utilizar una prensa de troquelado u otro aparato similar. En algunas realizaciones, la mezcla de la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y los excipientes pueden procesarse primero en forma granular. A continuación, los gránulos pueden dimensionarse y comprimirse en comprimidos o formularse para su encapsulación según métodos conocidos en el arte farmacéutico. También se observa que la aplicación de presión al aditivo en forma puede repetirse utilizando la misma presión durante cada compresión o utilizando diferentes presiones durante las compresiones. En otro ejemplo, la mezcla de ingredientes en polvo o gránulos puede comprimirse utilizando una prensa que aplique presión suficiente para formar un comprimido con una disolución de aproximadamente el 50% o más en aproximadamente 30 minutos (por ejemplo, aproximadamente el 55% o más en aproximadamente 30 minutos o aproximadamente el 60% o más en aproximadamente 30 minutos). Por ejemplo, el aditivo se comprime utilizando una prensa para producir un comprimido con una dureza de al menos aproximadamente 5 kP (al menos aproximadamente 5,5 kP, al menos aproximadamente 6 kP, al menos aproximadamente 7 kP, al menos aproximadamente 10 kP, o al menos 15 kP). En algunos casos, la mezcla se comprime para producir una dureza del comprimido de entre 5 y 20 kP.

**[0194]** En algunas realizaciones, los comprimidos que comprenden una composición farmacéutica como la descrita en el presente documento pueden recubrirse con aproximadamente un 3,0% en peso de un recubrimiento pelicular que comprende un colorante en peso del comprimido. En ciertos casos, la suspensión o solución colorante utilizada para recubrir los comprimidos comprende aproximadamente un 20% p/p de sólidos en peso de la suspensión o solución colorante. En otros casos, las pastillas recubiertas pueden etiquetarse con un logotipo u otra imagen o texto.

**[0195]** En otra realización, el método para producir una composición farmacéutica comprende proporcionar una mezcla de una forma sólida, por ejemplo una mezcla de ingredientes en polvo y/o líquidos, la mezcla que comprende la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y uno o más excipientes seleccionados entre: un aglutinante, un diluyente, un tensioactivo, un lubricante, un desintegrante, y una carga; mezclar la mezcla hasta que la mezcla sea sustancialmente homogénea, y comprimir o compactar la mezcla en una forma granular. A continuación, la composición granular que comprende la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede comprimirse en comprimidos o formularse en cápsulas como se ha descrito anteriormente o en los Ejemplos siguientes. Alternativamente, los métodos para producir una composición farmacéutica comprenden proporcionar una mezcla de la Forma I del Compuesto 1, una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y uno o más excipientes, por ejemplo, un aglutinante, un diluyente, un tensioactivo, un lubricante, un desintegrante, y una carga; mezclar la mezcla hasta que la mezcla sea sustancialmente homogénea, y comprimir/compactar la mezcla en una forma granular utilizando un proceso de compactación de gránulos húmedos de alto cizallamiento como se establece en los Ejemplos siguientes. Las formulaciones farmacéuticas, por ejemplo, un comprimido como el descrito en el presente documento, pueden elaborarse utilizando los gránulos preparados que incorporan la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, además de los excipientes seleccionados descritos en el presente documento.

**[0196]** En algunas realizaciones, la mezcla se mezcla agitando, mezclando o agitando, utilizando un mezclador manual, un mezclador, una batidora o cualquier combinación de los mismos. Cuando los ingredientes o combinaciones de ingredientes se añaden secuencialmente, la mezcla puede producirse entre adiciones sucesivas, de forma continua durante la adición de ingredientes, tras la adición de todos los ingredientes o combinaciones de ingredientes, o cualquier combinación de los mismos. El aditivo se mezcla hasta obtener una composición sustancialmente homogénea.

**[0197]** En otra realización, no reivindicada en las reivindicaciones anexas, el método comprende la molienda por chorro de una composición farmacéutica que comprende la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo en un aparato de molienda convencional adecuado utilizando una presión de aire adecuada para producir partículas que tienen una fracción de tamaño de partícula significativa entre 0,1 micras y 50 micras. En otra realización, el tamaño de las partículas está comprendido entre 0,1 micras y 20 micras. En otra realización, el tamaño de las partículas está comprendido entre 0,1 micras y 10 micras. En otra realización, el tamaño de las partículas está comprendido entre 1,0 micras y 5 micras. En otra realización, la composición farmacéutica tiene un tamaño de partícula D50 de 2,0 micras.

**[0198]** Las formulaciones de la presente invención proporcionan una dosis fija de dos API para el tratamiento eficaz de la fibrosis quística, una combinación que ha recibido una de las dos únicas Designaciones de Terapia Innovadora del FDA, y lo hace con una estabilidad sorprendente, medida por la pequeña pérdida de la forma sólida amorfa del Compuesto

2. La Figura 4 muestra la pequeña cristalinidad del Compuesto 2 a lo largo del tiempo en PC-XVII a 50 °C tras el preequilibrado a una humedad relativa del 60%. Incluso después de cerca de 1000 horas en estas condiciones, menos del 5% en peso del Compuesto 2 ha cristalizado. La Figura 5 muestra para el PC-XVII que incluso a la temperatura más alta de 60 °C después de preequilibrarse al 60% de humedad relativa, a cerca de 1000 horas en estas condiciones, menos del 10% en peso del Compuesto 2 ha cristalizado. Las figuras 6 y 7 muestran resultados similares para el PC-XIX. Las presentes formulaciones, por lo tanto, proporcionan la comodidad de una dosis fija de dos API rompedores en una composición farmacéutica sorprendentemente estable. Tales formulaciones aumentan el cumplimiento del paciente, lo que está directamente relacionado con el tratamiento eficaz de las enfermedades.

**[0199]** Las formas de dosificación preparadas como se indica anteriormente pueden someterse a evaluaciones de disolución in vitro según la prueba 711 "Disolución" de la Farmacopea de los Estados Unidos 29, Convención Farmacopea de los Estados Unidos, Inc., Rockville, Maryland, 2005 ("USP"), para determinar la velocidad a la que se libera el principio activo de las formas de dosificación. El contenido de principio activo y los niveles de impurezas se miden convenientemente mediante técnicas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

**[0200]** En algunas realizaciones, la invención incluye el uso de materiales de envasado como contenedores y cierres de polietileno de alta densidad (HDPE), polietileno de baja densidad (LDPE) y/o polipropileno y/o vidrio, papel cristal, bolsas de aluminio y blísteres o tiras compuestas de aluminio o cloruro de polivinilo de alta densidad (PVC), que opcionalmente incluyen un desecante, polietileno (PE), dicloruro de polivinilideno (PVDC) y PVC/PE/PVDC. Estos materiales de envasado pueden utilizarse para almacenar las distintas composiciones y formulaciones farmacéuticas de forma estéril tras la esterilización adecuada del envase y su contenido mediante técnicas de esterilización químicas o físicas empleadas habitualmente en las artes farmacéuticas.

## MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN DE LAS COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

**[0201]** En un aspecto, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse a un paciente una vez al día o aproximadamente cada veinticuatro horas. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse a un paciente dos veces al día. Alternativamente, la composición farmacéutica de la invención puede administrarse aproximadamente cada doce horas. Estas composiciones farmacéuticas se administran como formulaciones orales que contienen aproximadamente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg o 400 mg de la Forma I del Compuesto 1; y aproximadamente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg o 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En este aspecto, además de la Forma I del Compuesto 1 y del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, las composiciones farmacéuticas comprenden una carga; un desintegrante; un tensioactivo; un aglutinante; y un lubricante (dependiendo de si la composición farmacéutica es un gránulo o un comprimido). Por ejemplo, una dosis de 400 mg de Forma I del Compuesto 1, puede comprender dos comprimidos de la invención conteniendo cada uno 200 mg de Forma I del Compuesto 1. Una dosis de 250 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo, puede comprender dos comprimidos de la invención conteniendo cada uno 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

**[0202]** También se apreciará que el compuesto y las composiciones y formulaciones farmacéuticamente aceptables de la invención pueden emplearse en terapias de combinación; es decir, la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo y composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden administrarse concurrentemente con, antes de, o después de, una o más de otras terapias o procedimientos médicos deseados.

**[0203]** En una realización, el agente terapéutico adicional se selecciona entre un agente mucolítico, broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfeccioso, un agente antiinflamatorio, un compuesto que induce la actividad CFTR distinto de la Forma I del Compuesto 1 y el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, o un agente nutricional.

**[0204]** En una realización, el agente adicional es (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxiopropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxipropil)-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida. En otra realización, el agente adicional es el ácido 4-(3-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido) isoquinolin-1-il)benzoico. En otra realización, el agente adicional se selecciona de la Tabla 1:

Tabla 1.

1	2	3
4	5	6
7	8	9
10	11	12
13	14	

[0205] En otra realización, el agente adicional es cualquier combinación de los agentes anteriores. Por ejemplo, la combinación puede comprender una composición farmacéutica o comprimido de la presente invención que comprenda la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y el agente terapéutico adicional es (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-N-(1-(2,3-dihidroxipropil)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropanocarboxamida. En otro ejemplo, la combinación puede comprender una composición farmacéutica o comprimido de la presente invención que comprende la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y el agente terapéutico adicional es el ácido 4-(3-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido) isoquinolin-1-il)benzoico. En otro ejemplo, la combinación puede comprender una composición farmacéutica o comprimido de la presente invención que comprende la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y el agente terapéutico adicional es cualquiera de los compuestos de la Tabla 1, es decir, los compuestos 1 a 14 de la Tabla 1, o cualquier combinación de los mismos.

[0206] En otra realización, el agente adicional se selecciona de la Tabla 1:

TABLA 1	
Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos n.º 7.407.976 (Col 13, en 35-- col 66, en 67; compuestos 1-100 en la Tabla 1 en la col. 67, en 1--col 127, en 42)	
Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.645.789 (Col 16, en 52--col 50, en 22; compuestos 1-322 en la Tabla 1 en la col. 50, en 24--col. 167, en 42)	
Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.659.268 (Col. 16, en 20--col 70, en 52; Compuestos 1-528 en la Tabla 1 en la col. 70, en 53--col 331, en 34)	
Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.671.221 (Col. 16, en 12--col 54, en 48; Compuestos 1-1216 en la Tabla 1 en la col. 54, en 49--col 699, en 27)	



(Continuación)

5	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.691.902 (Col. 16, en 11--col 54, en 29; Compuestos 1-959 en la Tabla 1 en la col. 54, en 29--col 683, en 44)
10	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.741.321 (Col. 16, en 25--col 72, en 17; Compuestos 1-422 en la Tabla 1 en la col. 72, en 20--col 279, en 15)
15	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.754.739 (Col. 16, en 1--col 22, en 47; Compuestos 1-2 en la Tabla 1 en la col. 18, en 26--65)
20	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.776.905 (Col. 16, en 23--col 38, en 40; Compuestos 1-306 en la Tabla 1 en la col. 38, en 45--col 96, en 40)
25	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.973.169 (Col. 9, en 16--col 40, en 40; Compuestos 1-289 en la Tabla 1 en la col. 40, en 41--col 289, en 39)
30	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.977.322 (Col. 6, en 26--col 37, en 47; Compuestos 1-498 en la Tabla 1 en la col. 37, en 50--col 141, en 40)
35	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 7.999.113 (Col. 6, en 13--col 10, en 67; Compuestos 1-13 en la Tabla 1 en la col. 11, en 5--col 13, en 65)
40	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 8.227.615 (Col. 6, en 10--col 29, en 66; Compuestos 1-78 en la Tabla 1 en la col. 30, en 1--col 46, en 48)
45	Compuestos desvelados en la patente de Estados Unidos 8.299.099 (Col. 6, en 10--col 34, en 18; Compuestos 1-47 en la Tabla 1 en la col. 34, en 20--col 42, en 35)
50	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2006-0052358 (párrafos {0034}--{0056}; {0077}--{0240}; Compuestos 1-320 en la Tabla 1 en el párrafo {0241})
	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2009-0143381 (párrafos {0102}--{0263}; Compuestos 1-28 en la Tabla 1 en el párrafo {0264})
	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2009-0170905 (párrafos {0012}--{0013}; {0030}--{0051})
	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2009-0253736 (párrafos {0031}--{0162}; Compuestos 1-15 en la Tabla 1 en el párrafo {0163})
	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2011-0263654 (párrafos {0012}--{0013}; {0066}--{0141})
	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2011-0251253 (párrafos {0012}--{0013}; {0054}--{0079})
	Compuestos desvelados en la solicitud PCT WO2008141119 (Párrafos {0100}--{0339}; Compuestos 1-117 en la Tabla 1 en el párrafo {03401})
	Compuestos desvelados en la solicitud de Estados Unidos n.º 11/047.361
	Compuestos desvelados en la solicitud publicada de Estados Unidos n.º 2013-0116238 (Párrafos {0028}--{0044}; {0117}--{0128}), o combinaciones de los mismos.

[0207] En otra realización, el agente adicional se selecciona de la Tabla 2:

**TABLE 2**

5	Compounds disclosed in US Published Application No. 2005-0113423 (Paragraph [00146]; Compounds IA-1-IA-136 and Compounds 1-1-I-21 in Tables 1 and 2 at paragraphs [0391]-[0392])
10	Compounds disclosed in US Published Application No. 2005-0059687 (Paragraphs [00100]-[00101]; Compounds 1-405 in Table 1 at paragraph [0169])
15	Compounds 1-108 disclosed in US Patent No. 7,598,412 (Col 22, in 14-col 79, in 20; Table 1)
20	Compounds 1-485 disclosed in US Patent No. 7,495,103 (Col 51, in 1-col 63, in 43; Table 1)
25	Compounds 1-718 disclosed in US Patent No. 8,354,427 (Col 51, in 3-col 71, in 46; Table 1)
	Compounds 1-233 disclosed in US Published Application No. 2007-0105833 (Paragraph [00145]; Table 1)
	Compounds 1-26 disclosed in US Patent No. 8,242,149 (Col 46, in 47-col 57, in 37; Table 1)
	Compounds 1-18 disclosed in US Patent No. 8,314,256 (Col 21, in 1-col 26, in 19)
	Compounds 1-14 disclosed in US Patent No. 8,399,479 (Col 36, in 20-col 38, in 40; Table 1)
	Compounds 1-18 disclosed in US Patent No. 8,188,283 (Col 38, in 43-col 43, in 36; Table 1)
	Compounds 1-16 disclosed in US Published Application No. 2010-0249180 (Paragraph [0173]; Table 1)
	Compounds 1-19 disclosed in US Published Application No. 2011-0008259 (Paragraph [0172]; Table 1)
	Compounds 1-129 disclosed in US Patent No. 8,367,660 (Col 57, in 31-col 81, in 24; Table 1)

**[0208]** En una realización, el agente terapéutico adicional es un antibiótico. Los antibióticos ejemplares útiles aquí incluyen tobramicina, incluyendo polvo inhalado de tobramicina (TIP), azitromicina, cayston, aztreonam, incluyendo la forma aerosolizada de aztreonam, amikacina, incluyendo formulaciones liposomales de la misma, ciprofloxacina, incluyendo formulaciones de la misma adecuadas para la administración por inhalación, levofloxacina, incluyendo formulaciones aerosolizadas de la misma, y combinaciones de dos antibióticos, por ejemplo, fosfomicina y tobramicina.

**[0209]** En otra realización, el agente adicional es un mucolítico. Algunos ejemplos de mucolíticos útiles incluyen Pulmozyme®.

**[0210]** En otra realización, el agente adicional es un broncodilatador. Algunos broncodilatadores ejemplares son el albuterol, el sulfato de metaprotenerol, el acetato de pirbuterol, el salmeterol o el sulfato de tetrabulina.

**[0211]** En otra realización, el agente adicional es eficaz para restaurar el líquido de la superficie de las vías respiratorias pulmonares. Estos agentes mejoran el movimiento de la sal dentro y fuera de las células, lo que permite que la mucosidad de las vías respiratorias pulmonares esté más hidratada y, por tanto, se elimine más fácilmente. Ejemplos de tales agentes incluyen solución salina hipertónica, denufosal tetrasódico ([[(3S,5R)-5-(4-amino-2-oxopirimidin-1-il)-3-hidroxioxolan-2-il]metoxihidroxifosforil] [(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxopirimidin-1-il)-3, 4-dihidroxioxolan-2-il]metoxihidroxifosforil] hidrogenofosfato), o bronchitol (formulación inhalada de manitol).

**[0212]** En otra realización, el agente adicional es un agente antiinflamatorio, es decir, un agente que puede reducir la inflamación en los pulmones. Ejemplos de tales agentes útiles aquí incluyen ibuprofeno, ácido docosahexanoico (DHA), sildenafil, glutatión inhalado, pioglitazona, hidroxicloroquina o simvastatina.

**[0213]** En otra realización, el agente adicional es un compuesto que aumenta o induce la actividad CFTR distinto de la Forma I del Compuesto 1 o una dispersión sólida que comprende Compuesto 2 sustancialmente amorfo, es decir, un agente que tiene el efecto de inducir o aumentar la actividad CFTR. Algunos ejemplos de estos agentes son el ataluren ("PTC124®"; ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoico), sinapultida, lancovutida, depelestat (un inhibidor recombinante humano de la elastasa de neutrófilos) y cobiprostona (ácido 7-[(2R, 4aR, 5R, 7aR)-2-[(3S)-1,1-difluoro-3-metilpentilo]-2-hidroxi-6-oxooctahidrociclopenta[b]pirano-5-il]heptanoico).

**[0214]** En otra realización, el agente adicional es un agente nutricional. Algunos agentes nutricionales ejemplares son la pancrelipasa (sustitución de enzimas pancreáticas), como Pancrease®, Pancreacarb®, Ultrase®, or Creon®, Liprotomase® (antes Trizyteck®), Aquadeks® o la inhalación de glutatión. En una realización, el agente nutricional adicional es la pancrelipasa.

**[0215]** En otra realización, el agente adicional es un compuesto seleccionado entre gentamicina, curcumina, ciclofosfamida, 4-fenilbutirato, miglustat, felodipino, nimodipino, Philoxin B, geniesteína, Apigenina, Aumentadores o inductores de AMPc/GMPc como rolipram, sildenafil, milrinona, tadalafilo, amrinona, isoproterenol, albuterol y almeterol, deoxispergualina, inhibidores de HSP 90, inhibidores de HSP 70, inhibidores de proteosomas como epoxomicina, lactacistina, etc.

**[0216]** En otra realización, el agente adicional es un compuesto seleccionado entre ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carboxílico (3,3,3-trifluoro-2-hidroxi -2-metil-propil)-amida; ácido 5-amino-6'-metil-3-trifluorometil-[2,3]bipiridinil-6-carboxílico (3,3,3-trifluoro-2-hidroxi -2-metil-propil)-amida; 3-amino-6-ciclopropil-N-(3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-(trifluorometil)picolinamida; 3-amino-6-metoxi-N-(3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-(trifluorometil)propil)-5-(trifluoro metil)picolinamida; ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-metoxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-metoxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((R)-3,3,3-trifluoro -2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-(4-fluorofenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico (2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; (S)-3-amino-6-etoxi-N-(3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metilpropil)-5-(trifluoro metil)picolinamida; ácido 3-amino-6-metoxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((S)-3,3,3-trifluoro -2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-metoxi-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((R)-3,3,3-trifluoro -2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridina-2-carboxílico (3,3,3-trifluoro-2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((S)-3,3,3-trifluoro -2-hidroxi-2-metil-propil)-amida; ácido 3-amino-5,6-bis-trifluorometil-piridina-2-carboxílico ((R)-3,3,3-trifluoro -2-hidroxi-2-metil-propil)-amida, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. En otra realización, el agente adicional es un compuesto divulgado en la Patente de los Estados Unidos No. 8,247,436 y la Publicación Internacional PCT WO 2011113894.

**[0217]** En otra realización, el agente adicional puede ser un modulador del canal de sodio epitelial (ENaC) divulgado en Publicaciones PCT WO2012035158, WO2009074575, WO2011028740, WO2009150137, WO2011079087 o WO2008135557.

**[0218]** En otras realizaciones, el agente adicional es un compuesto descrito en WO 2004028480, WO 2004110352, WO 2005094374, WO 2005120497 o WO 2006101740. En otra realización, el agente adicional es un derivado de benzo[c]quinolizino que presenta actividad inductora o aumentadora de CFTR o un derivado de benzopirano que presenta actividad inductora o aumentadora de CFTR. En otra realización, el agente adicional es un compuesto divulgado en U.S. Pat. de EE. UU. N.º 7.202.262; Pat. de EE. UU. N.º 6.992.096, US20060148864, US20060148863, US20060035943, US20050164973, WO2006110483, WO2006044456, WO2006044682, WO2006044505, WO2006044503, WO2006044502 o WO2004091502. En otra realización, el agente adicional es un compuesto descrito en WO2004080972, WO2004111014, WO2005035514, WO2005049018, WO2006099256, WO2006127588 o WO2007044560.

**[0219]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en los siguientes métodos. En un método, pueden administrarse 400 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de uno o más comprimidos de la invención. Por ejemplo, la administración de 400 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede lograrse administrando dos comprimidos que contengan cada uno 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse al paciente dos comprimidos al día, cada uno de los cuales contiene 200 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otro método, los dos comprimidos pueden administrarse al mismo tiempo o en diferentes momentos del día. En otro método, se administra un comprimido cada 12 horas.

**[0220]** En un método, pueden administrarse 400 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de dos comprimidos que contengan cada uno 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En un método se administra un comprimido una vez cada 12 horas. En otro método, la cantidad de dosificación también puede lograrse administrando dos comprimidos, cada uno de los cuales contiene 100 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, cada 12 horas. En otro método, las cantidades de dosificación también pueden conseguirse administrando la Forma I del Compuesto 1 y el Compuesto 2 sustancialmente amorfo en comprimidos separados. Por ejemplo, las cantidades de dosificación pueden lograrse administrando dos comprimidos que contengan 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y cuatro comprimidos que contengan 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo o dos comprimidos que contengan 150 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo y dos comprimidos que contengan 100 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse al paciente al día dos comprimidos que comprenden 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y cuatro comprimidos que comprenden 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En un método, pueden administrarse al paciente dos comprimidos al día que contengan 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y dos comprimidos que contengan 150 mg y 100 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo dos veces al día. En otro método, los dos comprimidos pueden administrarse al mismo tiempo o en diferentes momentos del día. En otro método, se administra un comprimido que contiene 200 mg del

Compuesto 1 cada 12 horas, y dos comprimidos que contienen 150 mg y 100 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo cada 12 horas.

**[0221]** En un método, pueden administrarse 300 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de uno o más comprimidos de la invención. Por ejemplo, la administración de 300 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede lograrse administrando dos comprimidos que contengan cada uno 150 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse al paciente dos comprimidos al día, cada uno de los cuales contiene 150 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otro método, los dos comprimidos pueden administrarse al mismo tiempo o en diferentes momentos del día. En otro método, se administra un comprimido cada 12 horas.

**[0222]** En un método, pueden administrarse 600 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de uno o más comprimidos de la invención. Por ejemplo, la administración de 600 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede lograrse administrando dos comprimidos, cada uno de los cuales contiene 150 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, cada 12 horas. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse al paciente cuatro comprimidos al día, cada uno de los cuales comprende 150 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otro método, los cuatro comprimidos pueden administrarse al mismo tiempo o a diferentes horas del día. En otro método, se administran dos comprimidos cada 12 horas.

**[0223]** En un método, pueden administrarse 800 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de uno o más comprimidos de la invención. Por ejemplo, la administración de 800 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede lograrse administrando cuatro comprimidos que contengan cada uno 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse al paciente cuatro comprimidos al día, cada uno de los cuales contiene 200 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otro método, los cuatro comprimidos pueden administrarse al mismo tiempo o a diferentes horas del día. En otro método, se administran dos comprimidos por dosificación, y hay dos dosificaciones al día. En otro método, se administran al paciente 800 mg del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 mediante la administración de dos comprimidos cada uno de los cuales comprende 200 mg del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 dos veces al día (BID). En otro método, se administran al paciente 800 mg del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 mediante la administración de dos comprimidos cada uno de los cuales comprende 200 mg del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 cada 12 horas (q12h).

**[0224]** En un método, pueden administrarse 600 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de uno o más comprimidos de la invención. Por ejemplo, la administración de 600 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 250 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede lograrse administrando tres comprimidos que contengan cada uno 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 83,3 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse al paciente tres comprimidos al día, cada uno de los cuales contiene 200 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 83,3 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. En otro método, los tres comprimidos pueden administrarse al mismo tiempo o a diferentes horas del día. En otro método, se administran tres comprimidos al mismo tiempo.

**[0225]** En un método, pueden administrarse 600 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo a un sujeto que lo necesite. En estos métodos, las cantidades de dosificación pueden lograrse mediante la administración de uno o más comprimidos de la invención. Por ejemplo, la administración de 600 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede lograrse administrando tres comprimidos que contengan cada uno 200 mg de la Forma I del Compuesto 1, y 83,3 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo, seguidos de dos comprimidos adicionales que contengan cada uno 125 mg del Compuesto 2. La duración de la administración puede continuar hasta que se consiga la mejoría de la enfermedad o hasta que el médico del sujeto lo aconseje, por ejemplo, la duración de la administración puede ser inferior a una semana, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, cuatro semanas (28 días), o un mes o más. En un método, pueden administrarse 600 mg de Compuesto 1

diariamente (qd) y 250 mg de Compuesto 2 administrados dos veces al día (bid) administrando tres comprimidos cada uno que comprenden 200 mg de Forma I del Compuesto 1, y 83,3 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo diariamente (qd) y dos comprimidos cada uno que comprenden 125 mg de Compuesto 2 cada 12 horas (q12h). En un método, pueden administrarse 600 mg de Compuesto 1 al día (qd) y 250 mg de Compuesto 2 cada 12 horas (q12h) administrando tres comprimidos cada uno de los cuales comprende 200 mg de Forma I del Compuesto 1, y 83,3 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo al día (qd) y dos comprimidos cada uno de los cuales comprende 125 mg de Compuesto 2 cada 12 horas (q12h).

**[0226]** Estas combinaciones son útiles para tratar las enfermedades aquí descritas, incluida la fibrosis quística. Estas combinaciones también son útiles en los kits aquí descritos. En otro aspecto, la presente invención presenta un kit que comprende una composición farmacéutica o comprimido de la presente invención que comprende la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y un agente terapéutico adicional separado o composición farmacéutica del mismo. En otra realización, la composición farmacéutica o comprimido de la presente invención, agente terapéutico adicional separado o composición farmacéutica de la misma están en envases separados. En otra realización, los recipientes separados son botellas. En otra realización, los recipientes separados son viales. En otra realización, los envases separados son blísteres.

**[0227]** La cantidad de agente terapéutico adicional presente en las composiciones de esta invención no será mayor que la cantidad que normalmente se administraría en una composición que comprenda ese agente terapéutico como único agente activo. Preferiblemente, la cantidad de agente terapéutico adicional en las composiciones actualmente divulgadas oscilará entre el 50% y el 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprenda dicho agente como único agente terapéuticamente activo. Las reivindicaciones anexas recitan composiciones farmacéuticas de la invención para su uso en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente, en el que el método comprende administrar 400 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo al paciente, en el que la cantidad de dosificación se consigue administrando dos comprimidos cada 12 horas, y en el que cada comprimido comprende 100 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. Las reivindicaciones anexas recitan además dicha composición farmacéutica para dicho uso, en la que el paciente es homocigoto para la mutación CFTR  $\Delta F508$ . Las reivindicaciones anexas recitan además la composición farmacéutica de la invención para su uso en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente, en el que el método comprende administrar 800 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo al paciente, en el que la cantidad de dosificación se consigue administrando dos comprimidos cada 12 horas, y en el que cada comprimido comprende 200 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo. Las reivindicaciones anexas recitan además dicha composición farmacéutica para dicho uso, en la que el paciente es homocigoto para la mutación CFTR  $\Delta F508$ .

## USOS TERAPÉUTICOS DE LA COMPOSICIÓN

**[0228]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente una enfermedad en un paciente, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que la enfermedad se selecciona entre fibrosis quística, asma, COPD inducida por humo, bronquitis crónica, rinosinusitis, estreñimiento, pancreatitis, insuficiencia pancreática, infertilidad masculina causada por ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), enfermedad hepática, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, Deficiencias de la coagulación-fibrinólisis, como el déficit de proteína C, angioedema hereditario de tipo 1, deficiencias del procesamiento de lípidos, como la hipercolesterolemia familiar, la quilomicronemia de tipo 1, la abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosómico, como la enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, polendocrinopatía/hiperinsulemia, Diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mileoperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosis CDG tipo 1, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurofisiaria, DI neprogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Perlizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, etc. de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la plasia supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, diversos trastornos neurológicos poliglutaminicos como la enfermedad de Huntington, la espinocerebellars, la ataxia espinocerebular de tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la palidoluysia dentatorubal y la distrofia miotónica, así como las encefalopatías espongiiformes, como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob (debida a un defecto en el procesamiento de la proteína priónica), la enfermedad de Fabry, el síndrome de Straussler-Scheinker, la COPD, la enfermedad del ojo seco o la enfermedad de Sjogren/osteoporosis, osteopenia, cicatrización ósea y crecimiento óseo (incluida la reparación ósea, la regeneración ósea, la reducción de la resorción ósea y el aumento de la deposición ósea), síndrome de Gorham, canalopatías de cloruro como la miotonía congénita (formas de Thomson y Becker), síndrome de Bartter de tipo III, enfermedad de Dent's, hiperekplexia, epilepsia, enfermedad por almacenamiento lisosómico, síndrome de Angelman y discinesia ciliar primaria (PCD), un término para los trastornos hereditarios de la estructura y/o función de los cilios, incluida la PCD con situs inversus (también conocida como síndrome de Kartagener), la PCD sin situs inversus y la aplasia ciliar.

**[0229]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para

tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente una enfermedad en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, donde la enfermedad se selecciona de epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus (GEFS+), epilepsia general con convulsiones febriles y afebriles, miotonía, paramiotonía congénita, miotonía agravada por potasio, parálisis periódica hiperpotasémica, LQTS, LQTS/síndrome de Brugada, LQTS autosómico dominante con sordera, LQTS autosómico recesivo, LQTS con rasgos dismórficos, LQTS congénito y adquirido, síndrome de Timothy, hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia, miocardiopatía dilatada, LQTS autosómico dominante, enfermedad de Dent, osteopetrosis, síndrome de Bartter tipo III, enfermedad del núcleo central, hipertermia maligna y taquicardia polimórfica catecolaminérgica.

**[0230]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR N1303K, ΔI507 o R560T.

**[0231]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otras cosas, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR G551D. El paciente puede ser homocigoto en G551D. El paciente puede ser heterocigoto en G551D en el que la otra mutación genética CFTR es cualquiera 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, o 711+1G->T.

**[0232]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR ΔF508. El paciente puede ser homocigoto en ΔF508. El paciente puede ser heterocigoto en ΔF508, en el que la otra mutación genética CFTR es cualquiera de las siguientes: 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, o 711+1G->T.

**[0233]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G.

**[0234]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V y G1069R. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método de tratamiento de CFTR que comprende administrar el Compuesto 1 a un paciente que posea una mutación CFTR humana seleccionada de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R y S1251N. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre E193K, F1052V y G1069R. El método puede producir un aumento superior a 10 veces en el transporte de cloruro en relación con el transporte de cloruro de referencia.

**[0235]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N y D1152H. El método puede producir un aumento del transporte de cloruro mayor o igual al 10% por encima del transporte de cloruro de referencia.

**[0236]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para

tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona 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+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G y 3849+10kbC->T. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre 2789+5G->A y 3272-26A->G.

**[0237]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G, y una mutación CFTR humana seleccionada entre ΔF508, R117H y G551D.

**[0238]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V y G1069R, y una mutación CFTR humana seleccionada entre ΔF508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R y S1251N, y una mutación CFTR humana seleccionada entre ΔF508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre E193K, F1052V y G1069R, y una mutación CFTR humana seleccionada entre ΔF508, R117H y G551D. El método puede producir un aumento superior a 10 veces en el transporte de cloruro en relación con el transporte de cloruro de referencia.

**[0239]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N y D1152H, y una mutación CFTR humana seleccionada entre ΔF508, R117H y G551D. El método puede producir un aumento del transporte de cloruro mayor o igual al 10% por encima del transporte de cloruro de referencia.

**[0240]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferiblemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona 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+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G, y una mutación CFTR humana seleccionada entre ΔF508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G y 3849+10kbC->T, y una mutación CFTR

humana seleccionada entre  $\Delta F508$ , R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre 2789+5G->A y 3272-26A->G, y una mutación CFTR humana seleccionada entre  $\Delta F508$ , R117H.

**[0241]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A, 1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G, y una mutación CFTR humana seleccionada entre  $\Delta F508$ , R117H y G551D.

**[0242]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V y G1069R. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R y S1251N. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre E193K, F1052V y G1069R. El método puede producir un aumento superior a 10 veces en el transporte de cloruro en relación con el transporte de cloruro de referencia.

**[0243]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N y D1152H. El método puede producir un aumento del transporte de cloruro mayor o igual al 10% por encima del transporte de cloruro de referencia.

**[0244]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona 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+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G y 3849+10kbC->T. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre 2789+5G->A y 3272-26A->G.

**[0245]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR se selecciona entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G->A, 621+1G->T, 3120+1G->A, 1898+1G->A, 711+1G->T, 2622+1G->A, 405+1G->A, 406-1G->A, 4005+1G->A, 1812-1G->A,



1525-1G->A, 712-1G->T, 1248+1G->A, 1341+1G->A, 3121-1G->A, 4374+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G, y una mutación CFTR humana seleccionada entre  $\Delta$ F508, R117H y G551D, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas entre  $\Delta$ F508, R117H y G551D.

**[0246]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada de G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V y G1069R, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas de  $\Delta$ F508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R y S1251N, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas entre  $\Delta$ F508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre E193K, F1052V y G1069R, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas entre  $\Delta$ F508, R117H y G551D. El método puede producir un aumento superior a 10 veces en el transporte de cloruro en relación con el transporte de cloruro de referencia.

**[0247]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada entre R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N y D1152H, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas entre  $\Delta$ F508, R117H y G551D. El método puede producir un aumento del transporte de cloruro mayor o igual al 10% por encima del transporte de cloruro de referencia.

**[0248]** Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada 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+1G->T, 3850-1G->A, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, 3272-26A->G, 711+5G->A, 3120G->A, 1811+16kbA->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 y 621+3A->G, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas entre  $\Delta$ F508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otros, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada de 1717-1G->A, 1811+1.6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G y 3849+10kbC->T, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas de  $\Delta$ F508, R117H y G551D. Las composiciones farmacéuticas de las reivindicaciones pueden usarse, entre otras cosas, en un método para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en un paciente que comprende administrar una cantidad eficaz de la composición farmacéutica o comprimido de la invención al paciente, preferentemente un mamífero, en el que el paciente posee la mutación genética CFTR seleccionada de 2789+5G->A y 3272-26A->G, y una o más mutaciones CFTR humanas seleccionadas de  $\Delta$ F508, R117H, y G551D.

**[0249]** En ciertas realizaciones, la composición o comprimido farmacéuticamente aceptable de la presente invención que comprende la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida del Compuesto 2 sustancialmente amorfo son útiles para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en pacientes que presentan actividad CFTR residual en la membrana apical de los epitelios respiratorios y no respiratorios. La presencia de actividad CFTR residual en la superficie epitelial puede detectarse fácilmente utilizando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, técnicas electrofisiológicas, bioquímicas o histoquímicas estándar. Tales métodos identifican la actividad CFTR mediante técnicas electrofisiológicas *in vivo* o *ex vivo*, la medición de las concentraciones de Cl<sup>-</sup> en sudor o saliva, o técnicas bioquímicas o histoquímicas *ex vivo* para controlar la densidad de la superficie celular. Utilizando estos métodos, se puede detectar fácilmente la actividad CFTR residual en pacientes heterocigotos u homocigotos para una variedad de mutaciones diferentes, incluyendo pacientes homocigotos o heterocigotos para la mutación más común,  $\Delta$ F508, así como otras mutaciones como la mutación G551D, o la mutación R117H. En ciertas realizaciones, las composiciones o comprimidos farmacéuticamente aceptables que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo son útiles para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en pacientes que presentan poca o ninguna actividad CFTR residual. En ciertas realizaciones, las composiciones

o comprimidos farmacéuticamente aceptables que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo son útiles para tratar, disminuir la gravedad o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en pacientes que presentan poca o ninguna actividad CFTR residual en la membrana apical de los epitelios respiratorios.

**[0250]** En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que tienen actividad CFTR residual inducida o aumentada mediante métodos farmacológicos. En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que tienen actividad CFTR residual inducida o aumentada mediante terapia génica. Tales métodos aumentan la cantidad de CFTR presente en la superficie celular, induciendo así una actividad CFTR hasta ahora ausente en un paciente o aumentando el nivel existente de actividad CFTR residual en un paciente.

**[0251]** En una realización, las composiciones farmacéuticas y los comprimidos de la presente invención que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, como se describe en el presente documento, son útiles para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes dentro de ciertos genotipos que exhiben actividad CFTR residual, por ejemplo, mutaciones de clase I (no se sintetiza), mutación de clase II (mal plegamiento), mutaciones de clase III (regulación o *gating* alterados), mutaciones de clase IV (conductancia alterada) o mutaciones de clase V (síntesis reducida).

**[0252]** En una realización, las composiciones farmacéuticas y los comprimidos de la presente invención que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, como se describe en el presente documento, son útiles para tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente la fibrosis quística en pacientes dentro de ciertos fenotipos clínicos, por ejemplo, un fenotipo clínico de moderado a leve que típicamente se correlaciona con la cantidad de actividad CFTR residual en la membrana apical de los epitelios. Entre estos fenotipos se incluyen los pacientes que presentan suficiencia pancreática.

**[0253]** En una realización, las composiciones farmacéuticas y los comprimidos de la presente invención que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, como se describe en el presente documento, son útiles para tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente a pacientes diagnosticados con suficiencia pancreática, pancreatitis idiopática y ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes, o enfermedad pulmonar leve en la que el paciente muestra actividad CFTR residual.

**[0254]** En una realización, las composiciones farmacéuticas y los comprimidos de la presente invención que comprenden la Forma I del Compuesto 1 y una dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, como se describe en el presente documento, son útiles para tratar, disminuir la gravedad de, o tratar sintomáticamente a pacientes diagnosticados con suficiencia pancreática, pancreatitis idiopática y ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes, o enfermedad pulmonar leve en la que el paciente tiene CFTR de tipo salvaje.

**[0255]** Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad de CFTR puede ser beneficiosa para otras enfermedades no causadas directamente por mutaciones en CFTR, como enfermedades secretoras y otras enfermedades de plegamiento de proteínas mediadas por CFTR. Entre ellas se incluyen la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la enfermedad del ojo seco y el síndrome de Sjögren. La EPOC se caracteriza por una limitación del flujo aéreo que es progresiva y no totalmente reversible. La limitación del flujo aéreo se debe a la hipersecreción de moco, el enfisema y la bronquiolititis. Los activadores del CFTR mutante o de tipo salvaje ofrecen un tratamiento potencial de la hipersecreción de moco y la alteración de la depuración mucociliar que es frecuente en la EPOC. En concreto, el aumento de la secreción de aniones a través de CFTR puede facilitar el transporte de fluidos al líquido de la superficie de las vías respiratorias para hidratar el moco y optimizar la viscosidad del líquido periciliario. Esto conduciría a un mayor aclaramiento mucociliar y a una reducción de los síntomas asociados a la EPOC. La enfermedad del ojo seco se caracteriza por una disminución de la producción acuosa de lágrimas y perfiles anormales de lípidos, proteínas y mucinas de la película lagrimal. Existen muchas causas del ojo seco, algunas de las cuales son la edad, la cirugía ocular Lasik, la artritis, los medicamentos, las quemaduras químicas/térmicas, las alergias y enfermedades como la fibrosis quística y el síndrome de Sjögrens. El aumento de la secreción de aniones a través de CFTR mejoraría el transporte de fluidos desde las células endoteliales de la córnea y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación de la córnea. Esto ayudaría a aliviar los síntomas asociados a la enfermedad del ojo seco. El síndrome de Sjögrens es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmunitario ataca las glándulas productoras de humedad de todo el cuerpo, incluidos los ojos, la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y el intestino. Los síntomas incluyen sequedad de ojos, boca y vagina, así como enfermedades pulmonares. La enfermedad también está asociada a la artritis reumatoide, el lupus sistémico, la esclerosis sistémica y la polimiositis/dermatomiositis. Se cree que el tráfico defectuoso de proteínas es la causa de la enfermedad, para la que las opciones de tratamiento son limitadas. Los potenciadores o inductores de la actividad CFTR pueden hidratar los distintos órganos afectados por la enfermedad y ayudar a elevar los síntomas asociados.

**[0256]** Las composiciones farmacéuticas específicas de las reivindicaciones pueden utilizarse, entre otras cosas, en un método de aumento o inducción de la actividad del canal aniónico *in vitro* o *in vivo*, que comprende el contacto del canal con cualquiera de las composiciones farmacéuticas **PC-1** a **PC-III**, **PC-IV** en la medida en que entre en el ámbito de las reivindicaciones anexas, **PC-V** a **PC-XX** y **PC-XXII** a **PC-XXV**. El canal aniónico puede ser un canal de cloruro o un canal

de bicarbonato. El canal aniónico puede ser un canal de cloruro.

[0257] La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente en particular y su modo de administración. Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en forma de unidades de dosificación para facilitar la administración y uniformizar la dosificación. La expresión "forma de unidad de dosificación", tal como se utiliza aquí, se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiado para el paciente a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de las composiciones farmacéuticas de la invención será decidido por el médico tratante dentro del ámbito del buen juicio médico. La dosis efectiva específica para cualquier paciente u organismo dependerá de una variedad de factores, incluyendo el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", tal como se utiliza aquí, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y más preferiblemente un ser humano.

[0258] En cualquier parte de la presente solicitud en la que el nombre de un compuesto pueda no describir correctamente la estructura del compuesto, la estructura sustituye al nombre y es la que rige.

## **EJEMPLOS**

### XRPD (difracción de rayos X en polvo)

[0259] Los datos de difracción de rayos X (DRX) de la Forma I del Compuesto 1 se recogieron en un difractómetro de polvo Bruker D8 DISCOVER con detector bidimensional HI-STAR y un monocromador de grafito plano. Se utilizó tubo sellado de Cu con radiación K $\alpha$  a 40 kV, 35mA. Las muestras se colocaron en obleas de silicio sin fondo a 25 °C. Para cada muestra, se recogieron dos tramas de datos a 120 segundos cada una en 2 ángulos  $\theta_2$  diferentes: 8° y 26°. Los datos se integraron con el programa informático GADDS y se fusionaron con el programa DIFFRACT<sup>plus</sup>EVA. Las incertidumbres de las posiciones de los picos comunicadas son de  $\pm 0,2$  grados.

### Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

[0260] Los datos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma I del Compuesto 1 se recogieron utilizando un DSC Q100 V9.6 Build 290 (TA Instruments, New Castle, DE). La temperatura se calibró con indio y la capacidad calorífica con zafiro. Se pesaron muestras de 3-6 mg en cacerolas de aluminio engarzadas con tapas con 1 agujero para alfiler. Las muestras se exploraron de 25°C a 350°C a una velocidad de calentamiento de 1,0°C/min y con una purga de gas nitrógeno de 50 ml/min. Los datos se recogieron con el software Thermal Advantage Q Series<sup>TM</sup> versión 2.2.0.248 y se analizaron con el software Universal Analysis versión 4.1D (TA Instruments, New Castle, DE). Las cifras indicadas representan análisis individuales.

### Determinación de la Estructura Monocristalina de la Forma I del Compuesto 1

[0261] Los datos de difracción se adquirieron en un difractómetro Bruker Apex II equipado con una fuente Cu K-alfa de tubo sellado y un detector CCD Apex II. La estructura se resolvió y refinó utilizando el programa SHELX (Sheldrick, G.M., Acta Cryst., (2008) A64, 112-122). Basándose en las ausencias sistemáticas y las estadísticas de intensidades, la estructura se resolvió y refinó en el grupo espacial P2<sub>1</sub>/n.

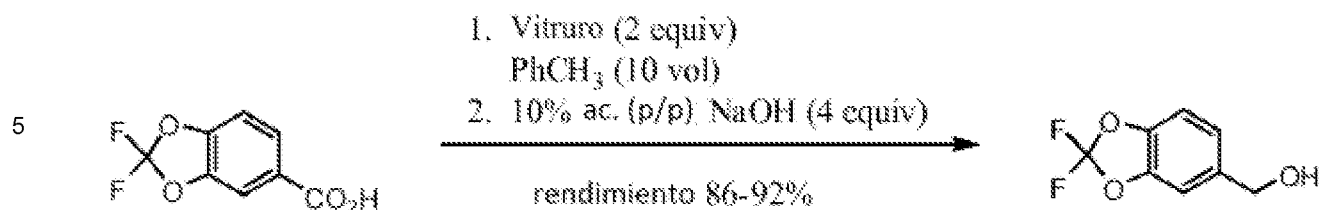
[0262] Vitride® (bis(2-metoxietoxi)hidruro de aluminio sódico [o NaAlH<sub>2</sub>(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], solución al 65% en tolueno) se compró a Aldrich Chemicals.

[0263] El ácido 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxílico se adquirió a Saltigo (filial de Lanxess Corporation).

### **Preparación del Compuesto 1**

#### **Preparación de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol.**

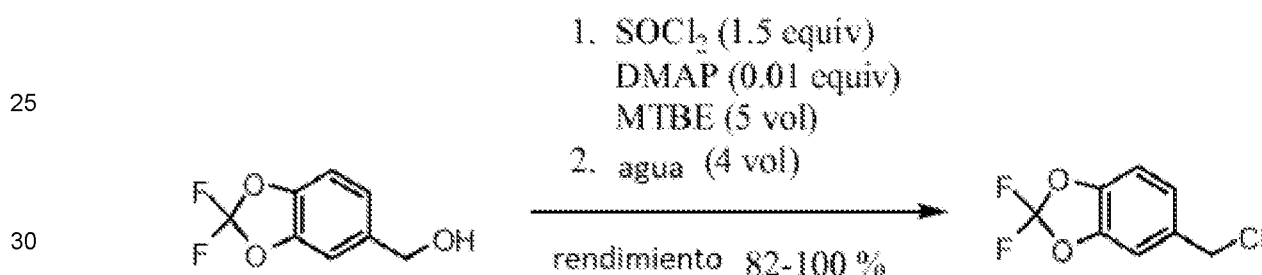
[0264]



10 **[0265]** El ácido 2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-carboxílico disponible comercialmente (1,0 eq) se disolvió en tolueno (10 vol). Se añadió Vitride® (2 eq) a través del embudo de adición a una velocidad para mantener la temperatura a 15-25 °C. Al final de la adición, se aumentó la temperatura a 40 °C durante 2 horas (h) y, a continuación, se añadió cuidadosamente NaOH acuoso (aq) al 10% (p/p) (4,0 eq) a través de un embudo de adición, manteniendo la temperatura a 40-50 °C. Tras agitar durante 30 minutos (min) adicionales, se dejó que las capas se separaran a 40 °C. La fase orgánica se enfrió a 20 °C, se lavó con agua (2 x 1,5 vol), se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró para obtener (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol crudo que se utilizó directamente en la etapa siguiente.

#### Preparación de 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol.

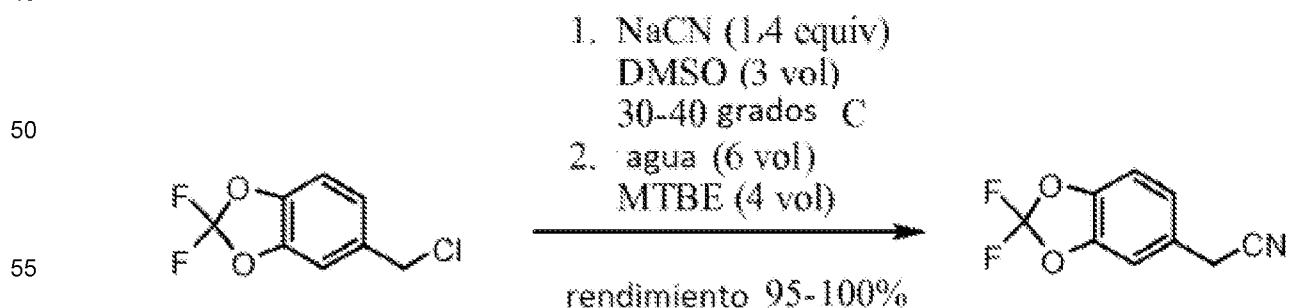
20 **[0266]**



35 **[0267]** Se disolvió (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-metanol (1,0 eq) en MTBE (5 vol). Se añadió una cantidad catalítica de 4-(N,N-dimetil)aminopiridina (DMAP) (1 mol %) y se añadió SOCl<sub>2</sub> (1,2 eq) a través de un embudo de adición. El SOCl<sub>2</sub> se añadió a una velocidad que permitiera mantener la temperatura del reactor entre 15 y 25 °C. La temperatura se aumentó a 30 °C durante 1 h y, a continuación, se enfrió a 20 °C. Se añadió agua (4 vol) mediante un embudo de adición mientras se mantenía la temperatura a menos de 30 °C. Tras agitar durante 30 minutos más, se dejó que las capas se separaran. Se agitó la capa orgánica y se añadió NaOH al 10% (p/v) acuoso (4,4 vol). Tras agitar de 15 a 20 minutos, se dejó que las capas se separaran. La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró para obtener 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol crudo que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

#### Preparación de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo.

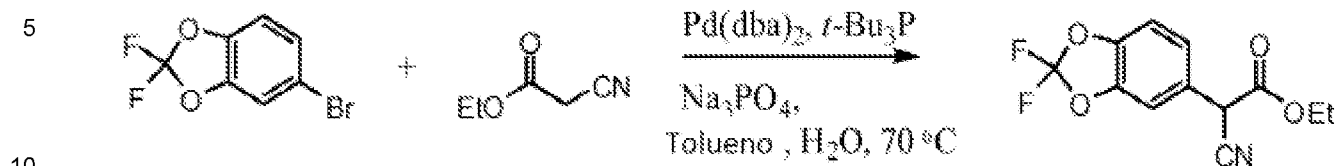
45 **[0268]**



60 **[0269]** Se añadió una solución de 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (1 eq) en DMSO (1,25 vol) a una suspensión de NaCN (1,4 eq) en DMSO (3 vol), mientras se mantenía la temperatura entre 30-40 °C. La mezcla se agitó durante 1 h y, a continuación, se añadió agua (6 vol), seguida de metil terc-butil éter (MTBE) (4 vol). Tras agitar durante 30 minutos, se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con MTBE (1,8 vol). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1,8 vol), se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron para obtener (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo crudo (95%) que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

#### Síntesis de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrilo

[0270]

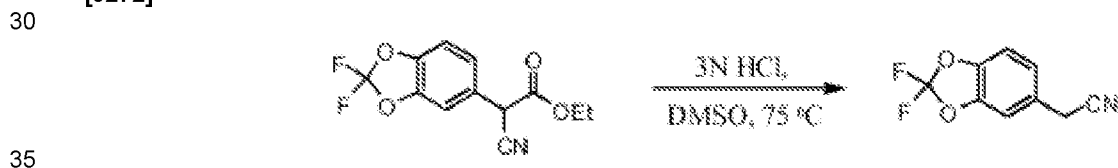


[0271] Se purgó un reactor con nitrógeno y se cargó con 900 mL de tolueno. El disolvente se desgasificó mediante chorro de nitrógeno durante no menos de 16 h. A continuación, se cargó en el reactor  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  (155,7 g, 949,5 mmol), seguido de bis(dibencilideneacetona) paladio (0) (7,28 g, 12,66 mmol). Se cargó una solución al 10% p/p de terc-butilfosfina en hexanos (51,23 g, 25,32 mmol) durante 10 min a 23 °C desde un embudo de adición purgado con nitrógeno. La mezcla se dejó agitar durante 50 min, momento en el que se añadió 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (75 g, 316,5 mmol) durante 1 min. Después de agitar otros 50 min, la mezcla se cargó con cianoacetato de etilo (71,6 g, 633,0 mmol) durante 5 min seguido de agua (4,5 mL) en una porción. La mezcla se calentó a 70 °C durante 40 min y se analizó por HPLC cada 1 - 2 h para determinar el porcentaje de conversión del reactivo en el producto. Una vez observada la conversión completa (normalmente el 100% de conversión tras 5 - 8 h), la mezcla se enfrió a 20 - 25 °C y se filtró a través de una almohadilla de celita. La almohadilla de celita se enjuagó con tolueno (2 X 450 mL) y los orgánicos combinados se concentraron a 300 mL al vacío a 60 - 65 °C. El concentrado se cargó con 225 mL de DMSO y se concentró al vacío a 70 - 80 °C hasta que cesó la destilación activa del disolvente. La solución se enfrió a 20 - 25 °C y se diluyó a 900 mL con DMSO para preparar la etapa 2.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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).

25

#### Síntesis de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo.

[0272]

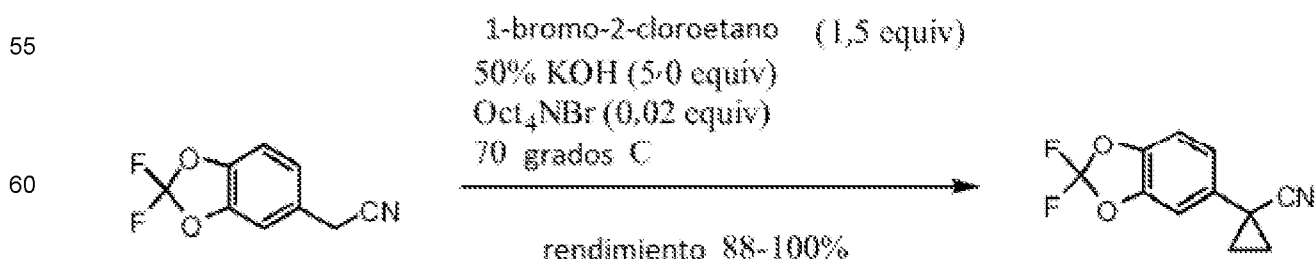


[0273] La solución DMSO de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrilo de arriba se cargó con HCl 3 N (617,3 mL, 1,85 mol) durante 20 min mientras se mantenía una temperatura interna < 40 °C. A continuación, la mezcla se calentó a 75 °C durante 1 h y se analizó por HPLC cada 1 - 2 h para determinar el % de conversión. Cuando se observó una conversión > 99% (normalmente después de 5 - 6 h), la reacción se enfrió a 20 - 25 °C y se extrajo con MTBE (2 X 525 mL), con tiempo suficiente para permitir la separación completa de fases durante las extracciones. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl al 5% (2 X 375 mL). A continuación, la solución se transfirió a un equipo apropiado para una destilación al vacío de 1,5 - 2,5 Torr que estaba equipado con un matraz receptor refrigerado. La solución se concentró al vacío a < 60 °C para eliminar los disolventes. A continuación, se destiló (2,2-Difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo del aceite resultante a 125 - 130 °C (temperatura del horno) y 1,5 - 2,0 Torr. El (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo se aisló como un aceite claro en un 66% de rendimiento a partir de 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodioxol (2 etapas) y con una pureza HPLC del 91,5% AUC (corresponde a un ensayo p/p del 95%).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  7.44 (br s, 1H), 7.43 (d,  $J$  = 8.4 Hz, 1H), 7.22 (dd,  $J$  = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 4.07 (s, 2H).

45

#### Preparación de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo.

[0274]



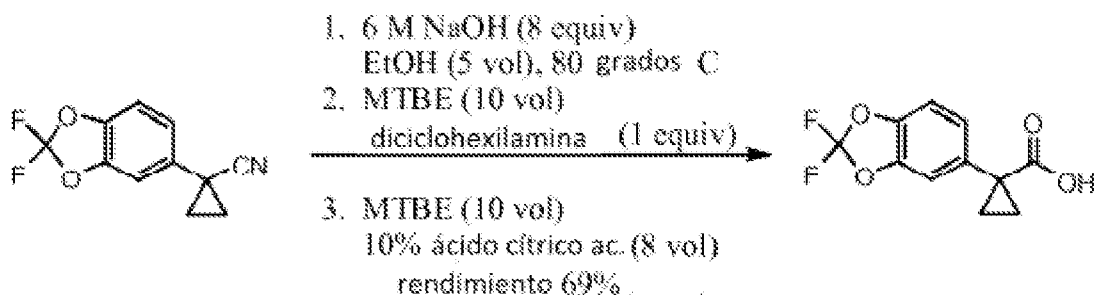
[0275] Se calentó a 70 °C durante 1 h una mezcla de (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-acetonitrilo (1,0 eq), KOH acuoso al 50 % en peso (5,0 eq) 1-bromo-2-cloroetano (1,5 eq) y  $\text{Oct}_4\text{NBr}$  (0,02 eq). La mezcla de reacción se enfrió y se elaboró

65

con MTBE y agua. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera. Se eliminó el disolvente para obtener (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo.

#### Preparación del ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico.

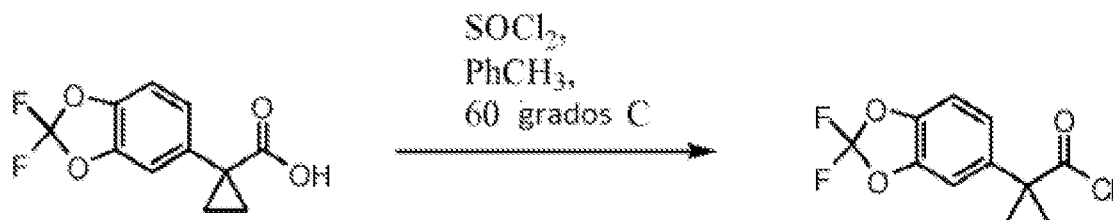
[0276]



[0277] El (2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonitrilo se hidrolizó utilizando NaOH 6 M (8 equiv) en etanol (5 vol) a 80 °C durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el etanol se evaporó al vacío. El residuo se pasó por agua y MTBE, se añadió HCl 1 M y se separaron las capas. A continuación, la capa de MTBE se trató con dicyclohexilamina (DCHA) (0,97 equiv). La suspensión se enfrió a 0 °C, se filtró y se lavó con heptano para dar la sal DCHA correspondiente. La sal se introdujo en MTBE y ácido cítrico al 10% y se agitó hasta que se disolvieron todos los sólidos. Las capas se separaron y la capa de MTBE se lavó con agua y salmuera. Un cambio de disolvente a heptano seguido de filtración dio ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico tras secarse en estufa de vacío a 50 °C durante la noche.

#### Preparación de cloruro de 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarbonilo.

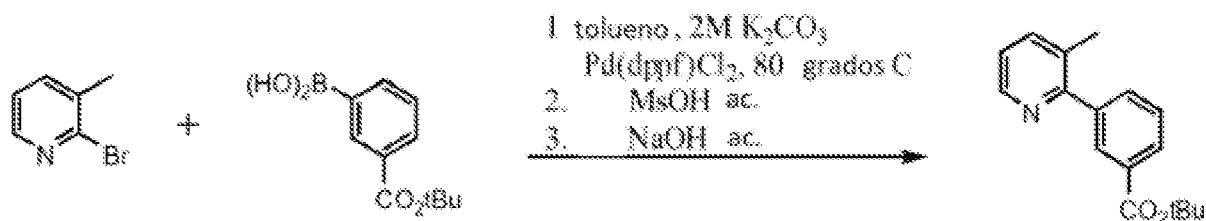
[0278]



[0279] El ácido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodioxol-5-il)-ciclopropanocarboxílico (1,2 eq) se disuelve en tolueno (2,5 vol) y la mezcla se calienta a 60 °C. Se añadió SOCl<sub>2</sub> (1,4 eq) a través del embudo de adición. El tolueno y el SOCl<sub>2</sub> se destilaron de la mezcla de reacción al cabo de 30 minutos. Se añadió tolueno adicional (2,5 vol) y la mezcla resultante se destiló de nuevo, dejando el cloruro ácido del producto como un aceite, que se utilizó sin más purificación.

#### Preparación de *terc*-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato.

[0280]

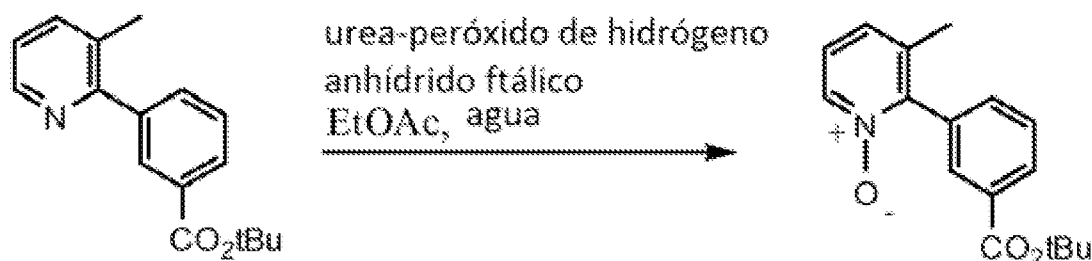


[0281] Se disolvió 2-bromo-3-metilpiridina (1,0 eq) en tolueno (12 vol). Se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,8 eq), seguido de agua (3,5 vol). La mezcla resultante se calentó a 65 °C bajo una corriente de N<sub>2</sub> durante 1 hora. A continuación se añadieron ácido 3-(*t*-butoxicarbonil)fenilborónico (1,05 eq) y Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,015 eq) y la mezcla se calentó a 80 °C. Tras 2 horas, se apagó el fuego, se añadió agua (3,5 vol) y se dejó que las capas se separaran. A continuación, la fase orgánica se lavó con agua (3,5 vol) y se extrajo con ácido metanosulfónico acuoso al 10% (2 eq MsOH, 7,7 vol). La fase acuosa se hizo

básica con NaOH acuoso al 50% (2 eq) y se extrajo con EtOAc (8 vol). La capa orgánica se concentró para obtener benzoato de *tert*-butilo-3-(3-metilpiridin-2-il)crudo (82%) que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

#### Preparación de 2-(3-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido.

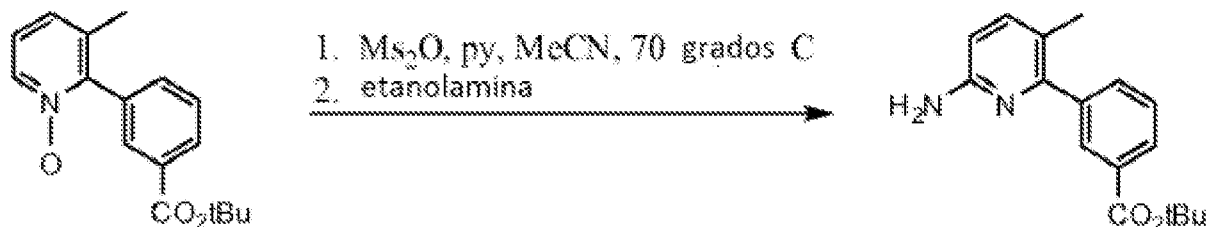
[0282]



[0283] Se disolvió *tert*-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato (1,0 eq) en EtOAc (6 vol). Se añadió agua (0,3 vol), seguida de peróxido de hidrógeno ureico (3 eq). A continuación, se añadió porciones de anhídrido ftálico (3 eq) a la mezcla como sólido a una velocidad que permitiera mantener la temperatura en el reactor por debajo de 45 °C. Una vez completada la adición de anhídrido ftálico, la mezcla se calentó a 45 °C. Tras agitar durante 4 horas más, se apagó el fuego. Se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> acuoso al 10% p/p (1,5 eq) a través de un embudo de adición. Una vez completada la adición de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, la mezcla se agitó durante 30 minutos más y las capas se separaron. La capa orgánica se agitó y se añadió un 10% en peso acuoso. Se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (2 eq). Tras agitar durante 30 minutos, se dejó que las capas se separaran. La fase orgánica se lavó con NaCl al 13% p/v aq. La fase orgánica se filtró y se concentró para obtener 2-(3-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido crudo (95%) que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

#### Preparación de *tert*-butil-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato.

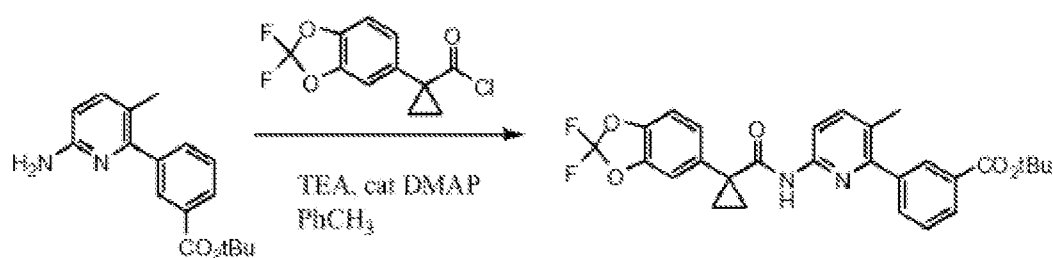
[0284]



[0285] Se calentó a 70 °C una solución de 2-(3-(*tert*-butoxicarbonil)fenil)-3-metilpiridina-1-óxido (1 eq) y piridina (4 eq) en acetonitrilo (8 vol). Se añadió una solución de anhídrido metanosulfónico (1,5 eq) en MeCN (2 vol) a lo largo de 50 min mediante embudo de adición mientras se mantenía la temperatura a menos de 75 °C. La mezcla se agitó durante 0,5 horas más tras la adición completa. A continuación, se dejó enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente. Se añadió etanolamina (10 eq) a través del embudo de adición. Tras agitar durante 2 horas, se añadió agua (6 vol) y la mezcla se enfrió a 10 °C. Tras agitar durante 3 horas, el sólido se recogió por filtración y se lavó con agua (3 vol), acetonitrilo/agua 2:1 (3 vol) y acetonitrilo (2 x 1,5 vol). El sólido se secó hasta peso constante (<1% de diferencia) en una estufa de vacío a 50 °C con una ligera purga de N<sub>2</sub> para obtener benzoato de *tert*-butilo-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)como sólido rojo-amarillento (53% de rendimiento).

#### Preparación de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)-ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato.

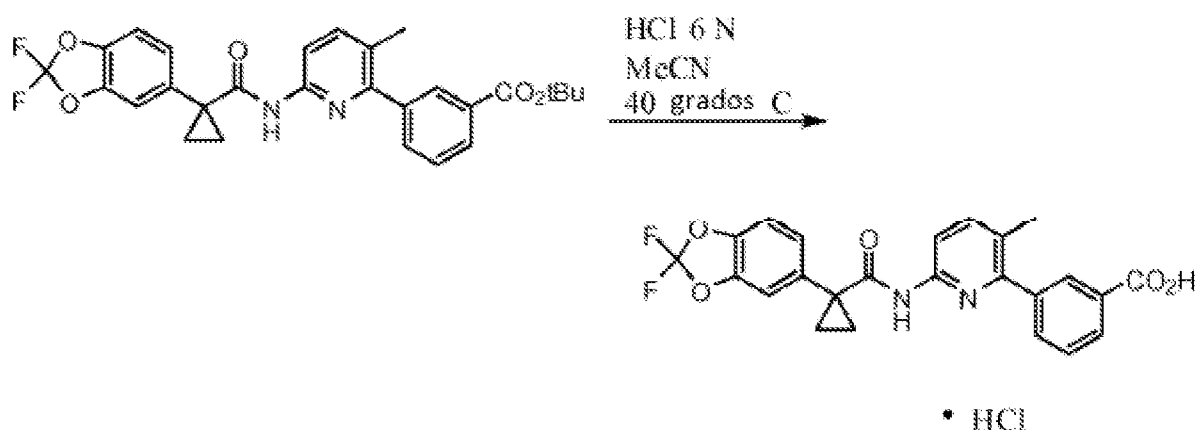
[0286]



[0287] El cloruro ácido crudo descrito anteriormente se disolvió en tolueno (2,5 vol basado en cloruro ácido) y se añadió mediante un embudo de adición a una mezcla de benzoato de terc-butilo-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato (1 eq), DMAP, (0,02 eq) y trietilamina (3,0 eq) en tolueno (4 vol basado en benzoato de terc-butilo-3-(6-amino-3-metilpiridin-2-il)benzoato) a la mezcla de reacción. Tras agitar durante 30 minutos, se separaron las capas. A continuación, la fase orgánica se filtró y se concentró para obtener un aceite espeso de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (rendimiento bruto cuantitativo). Se añadió acetonitrilo (3 vol en base al producto bruto) y se destiló hasta que se produjo la cristalización. Se añadió agua (2 vol sobre el producto bruto) y la mezcla se agitó durante 2 h. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo/agua 1:1 (en volumen) (2 x 1 volúmenes en base al producto bruto) y se secó parcialmente en el filtro al vacío. El sólido se secó hasta peso constante (<1% de diferencia) en un horno de vacío a 60 °C con una ligera purga de N<sub>2</sub> para obtener 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato como sólido marrón.

**Preparación del ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico - sal HCl.**

[0288]



[0289] A una suspensión de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) en MeCN (3,0 vol) se añadió agua (0,83 vol) seguida de HCl acuoso concentrado (0,83 vol). La mezcla se calentó a 45 ± 5 °C. Tras agitar entre 24 y 48 h, la reacción se completó y la mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se añadió agua (1,33 vol) y se agitó la mezcla. El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua (2 x 0,3 vol) y se secó parcialmente en el filtro al vacío. El sólido se secó hasta peso constante (<1% de diferencia) en estufa de vacío a 60 °C con una ligera purga de N<sub>2</sub> para obtener ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico - HCl como sólido blanquecino.

[0290] Un espectro <sup>1</sup>HNMNR del Compuesto 1 se muestra en la Figura 8 y la Figura 9 representa un espectro <sup>1</sup>HNMNR del Compuesto 1 como una sal HCl.

[0291] La Tabla 2 a continuación recita los datos de <sup>1</sup>HNMNR para el Compuesto I.

Tabla 2.

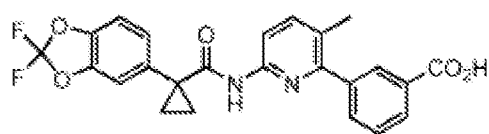
N.º de compuesto	LC/MC M + 1	LC/RT minutos	RMN
1	453,3	1,93	RMN 1H (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) 9,14 (s, 1H), 7,99–7,93 (m, 3H), 7,80–7,78 (m, 1H), 7,74–7,72 (m, 1H), 7,60–7,55 (m, 2H), 7,41–7,33 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 1,53–1,51 (m, 2H), 1,19–1,17 (m, 2H).

#### Preparación de la Forma I del Compuesto 1

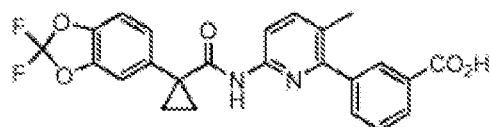
#### Preparación de la Forma I del Compuesto 1, Método A.

[0292]





• HCl

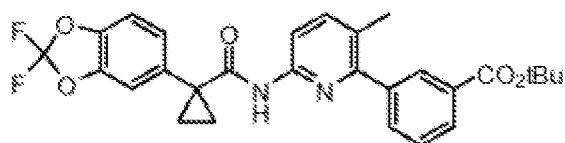


Forma I

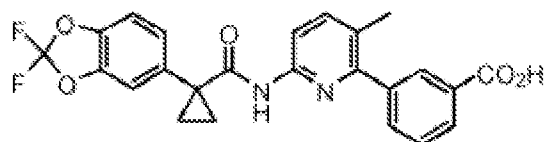
[0293] Se agitó a temperatura ambiente una suspensión de ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico - HCl (1 eq) en agua (10 vol). Se tomó una muestra después de agitar durante 24 h. La muestra se filtró y el sólido se lavó con agua (2 veces). La muestra sólida se sometió al análisis DSC. Cuando el análisis DSC indicó la conversión completa a la Forma I, el sólido se recogió por filtración, se lavó con agua (2 x 1,0 vol) y se secó parcialmente en un filtro al vacío. A continuación, el sólido se secó hasta peso constante (<1% de diferencia) en una estufa de vacío a 60 °C con una ligera purga de N<sub>2</sub> para obtener la Forma I del Compuesto 1 como sólido blanquecino (98% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 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).

#### Preparación de la Forma I del Compuesto 1, Método B.

[0294]



1. ácido fórmico  
70 °C  
2. agua



Forma I

[0295] Una solución de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) en ácido fórmico (3,0 vol) se calentó con agitación a 70 ± 10 °C, durante 8 h. La reacción se consideró completa cuando no quedaba más del 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. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La solución se añadió a agua (6 vol), se calentó a 50 °C y se agitó la mezcla. A continuación, la mezcla se calentó a 70 ± 10 °C hasta que el nivel de 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato no superó el 0,8% (AUC). El sólido se recogió por filtración, se lavó con agua (2 x 3 vol) y se secó parcialmente en el filtro al vacío. El sólido se secó hasta peso constante (<1% de diferencia) en estufa de vacío a 60 °C con una ligera purga de N<sub>2</sub> para obtener la Forma I del Compuesto 1 como sólido blanquecino.

[0296] La traza DSC de la Forma I del Compuesto 1 se muestra en la Figura 10. La fusión para la Forma I del Compuesto 1 se produce a aproximadamente 204 °C.

[0297] Se calculó un patrón de difracción de rayos X a partir de una estructura monocristalina de la Forma I del Compuesto 1 y se muestra en la Figura 1.

Tabla 3

Rango del pico	Ángulo 2 $\theta$ [grados]	Intensidad 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
9	23,99	50,8
6	26,10	67,4
10	28,54	50,1

[0298] En la Figura 2 se muestra un patrón de difracción de polvo de rayos X real de la Forma I del Compuesto 1. En la Tabla 4 se enumeran los picos reales de la Figura 2.

Tabla 4

Rango del pico	Ángulo 2 $\theta$ [grados]	Intensidad 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

[0299] Se obtuvieron cristales incoloros de la Forma I del Compuesto 1 enfriando una solución concentrada de 1-butanol de 75°C a 10 °C a una velocidad de 0,2 °C/min. Se seleccionó un cristal con dimensiones de 0,50 x 0,08 x 0,03 mm, se limpió con aceite mineral, se montó en un MicroMount y se centró en un sistema Bruker APEX II. Se obtuvieron tres lotes de 40 fotogramas separados en el espacio recíproco para obtener una matriz de orientación y los parámetros iniciales de la célula. Los parámetros finales de la célula se obtuvieron y refinaron a partir del conjunto completo de datos.

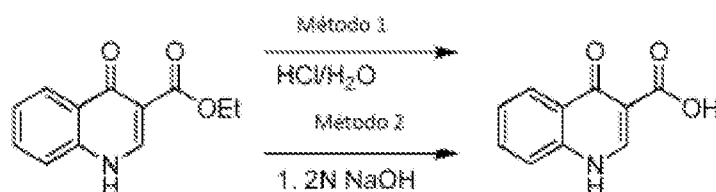
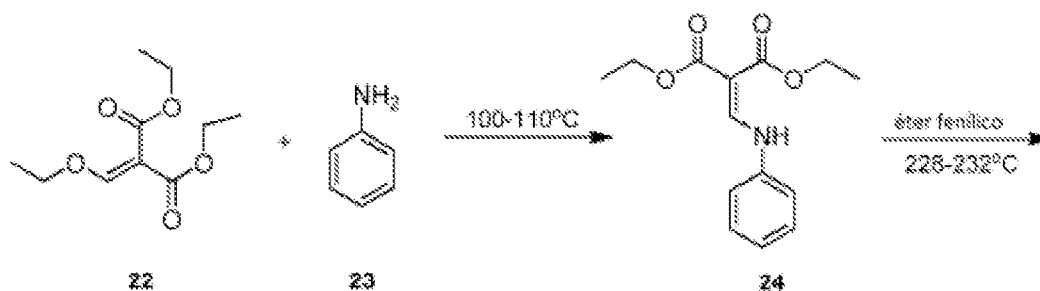
[0300] Se obtuvo un conjunto de datos de difracción del espacio recíproco con una resolución de 0,82 Å utilizando pasos de 0,5° con una exposición de 30 s para cada fotograma. Los datos se recogieron a 100 (2) K. La integración de las intensidades y el refinamiento de los parámetros de la célula se realizaron con el software APEXII. La observación del cristal tras la recogida de datos no mostró signos de descomposición.

[0301] En la Figura 11 se muestra una imagen conformacional de la Forma I del Compuesto 1 basada en el análisis de rayos X de cristal único. La Forma I del Compuesto 1 es monoclinica,  $P_21/n$ , con las siguientes dimensiones de celda unitaria:  $a=4,9626(7)$  Å,  $b=12,299(2)$  Å,  $c=33,075(4)$  Å,  $\beta=93,938(9)^\circ$ ,  $V=2014,0$  Å<sup>3</sup>,  $Z=4$ . La densidad de la Forma I del Compuesto 1 calculada a partir de los datos estructurales es de 1,492 g/cm<sup>3</sup> a 100 K.

## Preparación del Compuesto 2

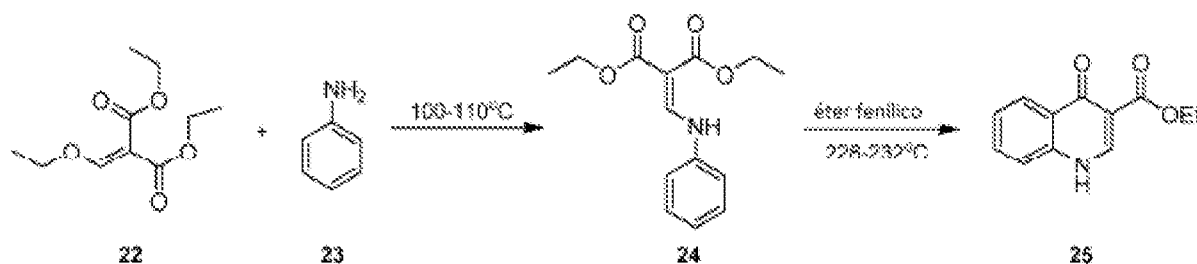
### Síntesis del ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (26)

**[0302]**



#### Procedimiento para la preparación de 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxilato de etilo (25)

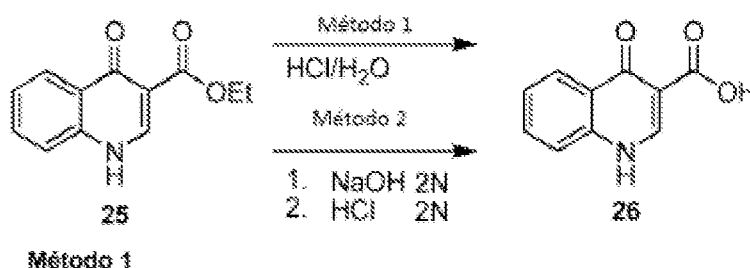
[0303]



**[0304]** El compuesto 23 (4,77 g, 47,7 mmol) se añadió gota a gota al compuesto 22 (10 g, 46,3 mmol) con flujo subsuperficial de N<sub>2</sub> para expulsar el etanol por debajo de 30 °C durante 0,5 horas. A continuación, la solución se calentó a 100-110 °C y se agitó durante 2,5 horas. Tras enfriar la mezcla por debajo de 60 °C, se añadió difenil éter. La solución resultante se añadió gota a gota a éter difenílico que se había calentado a 228-232 °C durante 1,5 horas con flujo subsuperficial de N<sub>2</sub> para expulsar el etanol. La mezcla se agitó a 228-232 °C durante otras 2 horas, se enfrió por debajo de 100 °C y después se añadió heptano para precipitar el producto. La suspensión resultante se agitó a 30 °C durante 0,5 horas. Los sólidos se filtraron, y la torta se lavó con heptano y se secó *al vacío* para dar el compuesto **25** como sólido marrón. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz) δ 12.25 (s), δ 8.49 (d), δ 8.10 (m), δ 7.64 (m), δ 7.55 (m), δ 7.34 (m), δ 4.16 (q), δ 1.23 (t).

### Procedimiento para la preparación del ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (26)

**[0305]**



**[0306]** El compuesto **25** (1,0 eq) se suspendió en una solución de HCl (10,0 eq) y H<sub>2</sub>O (11,6 vol). La suspensión se calentó

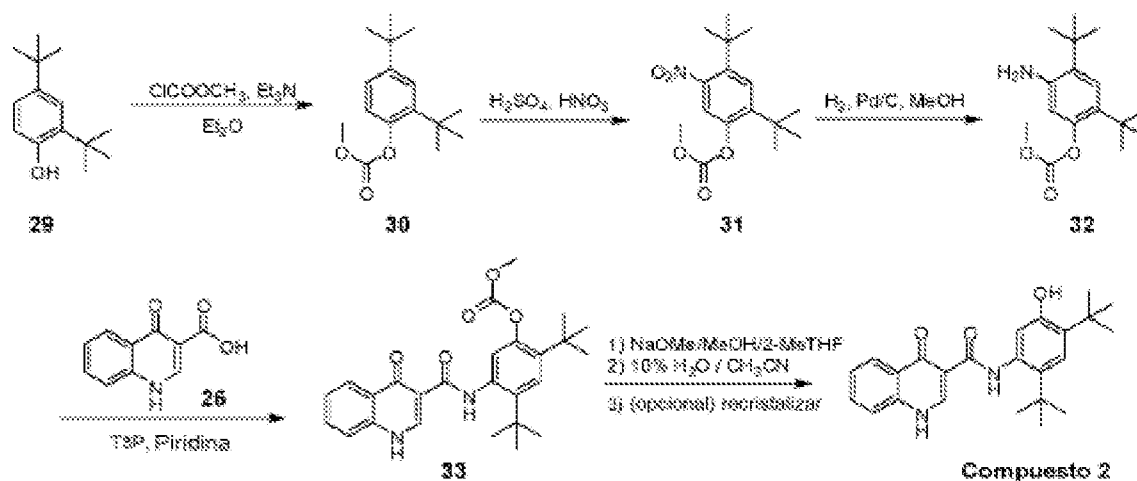
a 85 - 90 °C, aunque otras temperaturas también son adecuadas para esta etapa de hidrólisis. Por ejemplo, la hidrólisis puede realizarse alternativamente a una temperatura de entre 75 y 100 °C aproximadamente. En algunos casos, la hidrólisis se realiza a una temperatura de 80 a 95 °C aproximadamente. En otros, la etapa de hidrólisis se realiza a una temperatura de 82 °C a 93 °C aproximadamente (por ejemplo, de 82,5 °C a 92,5 °C aproximadamente o de 86 °C a 89 °C aproximadamente). Tras agitar a 85 - 90 °C durante aproximadamente 6,5 horas, se tomaron muestras de la reacción para comprobar si se había completado. La agitación puede realizarse a cualquiera de las temperaturas adecuadas para la hidrólisis. A continuación, la solución se enfrió a 20 - 25 °C y se filtró. El reactor/torta se enjuagó con H<sub>2</sub>O (2 vol x 2). A continuación, la torta se lavó con 2 vol de H<sub>2</sub>O hasta que el pH  $\geq$  3,0. A continuación, la torta se secó al vacío a 60 °C para dar el compuesto **26**.

## Método 2

[0307] El compuesto **25** (11,3 g, 52 mmol) se añadió a una mezcla de NaOH (aq) al 10% (10 mL) y etanol (100 mL). La solución se calentó a reflujo durante 16 horas, se enfrió a 20-25 °C y después se ajustó el pH a 2-3 con HCl al 8%. La mezcla se agitó durante 0,5 horas y se filtró. La torta se lavó con agua (50 mL) y después se secó *al vacío* para dar el compuesto **26** como sólido marrón. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$  15.33 (s),  $\delta$  13.39 (s),  $\delta$  8.87 (s),  $\delta$  8.26 (m),  $\delta$  7.87 (m),  $\delta$  7.80 (m),  $\delta$  7.56 (m).

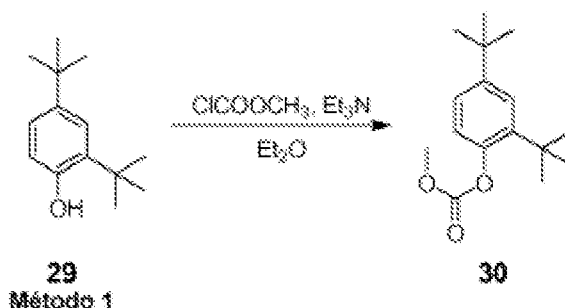
## Síntesis total de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto 2)

[0308]



## Procedimiento para la preparación de 2,4-di-terc-butilfenil metil carbonato (30)

[0309]



[0310] A una disolución de 2,4-di-terc-butil fenol, **29**, (10 g, 48,5 mmol) en éter dietílico (100 mL) y trietilamina (10,1 mL, 72,8 mmol), se añadió clorocarbonato de metilo (7,46 mL, 97 mmol) gota a gota a 0 °C. A continuación, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas más. Se añadieron otros 5 mL de trietilamina y 3,7 mL de clorocarbonato de metilo y la reacción se agitó durante toda la noche. A continuación, se filtró la reacción, se enfrió el filtrado a 0 °C y se añadieron 5 mL de trietilamina y 3,7 mL de clorocarbonato de metilo y se dejó que la reacción se calentara a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora más. En esta fase, la reacción era casi completa y se elaboró filtrando, lavando a continuación con agua (2x), seguida de salmuera. La solución se concentró para producir un aceite amarillo y se purificó mediante cromatografía en columna para obtener el compuesto **30**. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  7.35 (d, *J* =

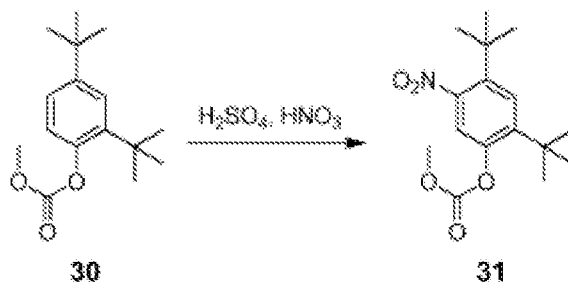
2.4 Hz, 1H), 7.29 (dd,  $J = 8.4$ , 2.4 Hz, 1H), 7.06 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 1.30 (s, 9H), 1.29 (s, 9H).

## Método 2

[0311] A un recipiente reactor cargado con 4-dimetilaminopiridina (DMAP, 3,16 g, 25,7 mmol) y 2,4-*diterc*-butil fenol (compuesto **29**, 103,5 g, 501,6 mmol) se añadió cloruro de metileno (415 g, 313 mL) y la solución se agitó hasta que se disolvieron todos los sólidos. A continuación, se añadió trietilamina (76 g, 751 mmol) y la solución se enfrió a 0 - 5 °C. A continuación, se añadió cloroformato de metilo (52 g, 550,3 mmol) gota a gota a lo largo de 2,5 - 4 horas, mientras se mantenía la temperatura de la solución entre 0 - 5 °C. A continuación, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta 23 - 28 °C y se agitó durante 20 horas. A continuación, la reacción se enfrió a 10 - 15 °C y se cargó con 150 mL de agua. La mezcla se agitó a 15 - 20 °C durante 35 - 45 minutos y a continuación se separó la capa acuosa y se extrajo con 150 mL de cloruro de metileno. Las capas orgánicas se combinaron y neutralizaron con HCl (aq) al 2,5% a una temperatura de 5 - 20 °C para obtener un pH final de 5 - 6. A continuación, la capa orgánica se lavó con agua y se concentró *al vacío* a una temperatura inferior a 20 °C hasta 150 mL para dar el compuesto **30** en cloruro de metileno.

## Procedimiento para la preparación de 5-nitro-2,4-di-*terc*-butilfenil metil carbonato (**31**)

[0312]



## Método 1

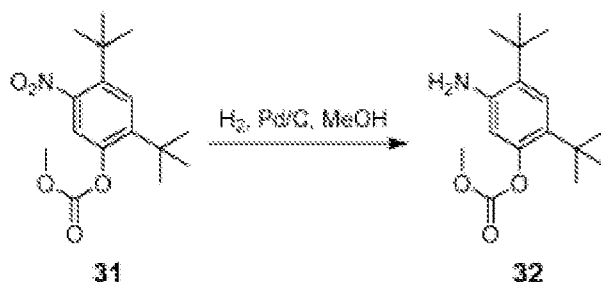
[0313] A una solución agitada del compuesto **30** (6,77 g, 25,6 mmol) se añadieron 6 mL de una mezcla 1:1 de ácido sulfúrico y ácido nítrico a 0 °C gota a gota. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. El producto se purificó mediante cromatografía líquida (ISCO, 120 g, 0-7% EtOAc/Hexanos, 38 min) produciendo aproximadamente una mezcla 8:1 - 10:1 de regioisómeros del compuesto **31** como sólido blanco.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.63 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.32 (s, 9H). Tiempo ret. HPLC 3,92 min 10-99% CH<sub>3</sub>CN, 5 min run; ESI-MS 310 m/z (MH)<sup>+</sup>.

## Método 2

[0314] Al compuesto **30** (100 g, 378 mmol) se añadió DCM (540 g, 408 mL). La mezcla se agitó hasta que se disolvieron todos los sólidos y, a continuación, se enfrió a -5 - 0 °C. A continuación, se añadió ácido sulfúrico concentrado (163 g) gota a gota, manteniendo la temperatura inicial de la reacción, y se agitó la mezcla durante 4,5 horas. A continuación, se añadió ácido nítrico (62 g) gota a gota durante 2-4 horas mientras se mantenía la temperatura inicial de la reacción, y se agitó a esta temperatura durante 4,5 horas más. A continuación, la mezcla de reacción se añadió lentamente a agua fría, manteniendo una temperatura inferior a 5 °C. La reacción enfriada se calentó a 25 °C y la capa acuosa se eliminó y se extrajo con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron a 124 - 155 mL. Se añadió hexano (48 g) y la mezcla resultante se concentró de nuevo hasta 124 - 155 mL. Posteriormente se añadió más hexano (160 g) a la mezcla. A continuación, la mezcla se agitó a 23 - 27 °C durante 15,5 horas y se filtró. A la torta de filtración se añadió hexano (115 g), la mezcla resultante se calentó a reflujo y se agitó durante 2 - 2,5 horas. A continuación, la mezcla se enfrió a 3 - 7 °C, se agitó durante 1 - 1,5 horas más y se filtró para dar el compuesto **31** como un sólido amarillo pálido.

## Procedimiento para la preparación de 5-amino-2,4-di-*terc*-butilfenil metil carbonato (**32**)

[0315]

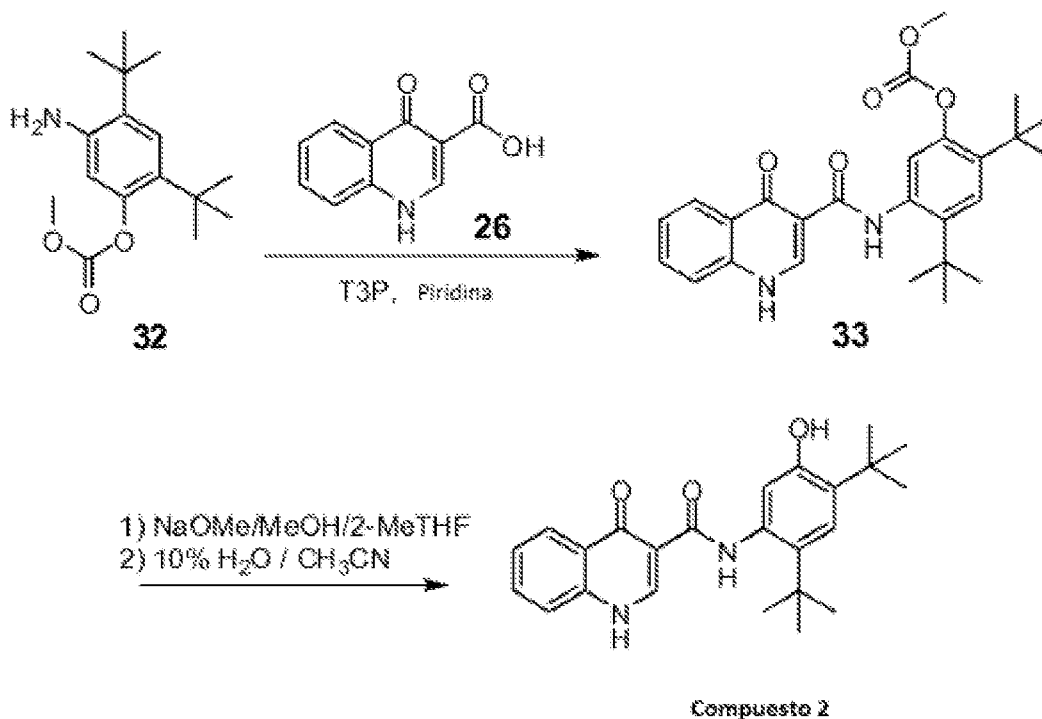


[0316] Se cargó 2,4-Di-terc-butil-5-nitrofenil metil carbonato (1,00 eq) en un reactor de hidrogenación adecuado, seguido de 5% Pd/C (2,50 % en peso de base seca, Johnson-Matthey Tipo 37). Se cargó MeOH (15,0 vol) en el reactor y se cerró el sistema. El sistema se purgó con N<sub>2</sub> (g), y luego se presurizó a 2,0 Bar con H<sub>2</sub> (g). La reacción se llevó a cabo a una temperatura de reacción de 25 °C +/- 5 °C. Cuando se completó, la reacción se filtró y el reactor/torta se lavó con MeOH (4,00 vol). El filtrado resultante se destiló al vacío a no más de 50 °C hasta 8,00 vol. Se añadió agua (2,00 vol) a 45 °C +/- 5 °C. La suspensión resultante se enfrió a 0 °C +/- 5. La suspensión se mantuvo a 0 °C +/- 5 °C durante no menos de 1 hora y se filtró. La torta se lavó una vez con MeOH/H<sub>2</sub>O (8:2) a 0 °C +/- 5 °C (2,00 vol). La torta se secó al vacío (-0,90 bar y -0,86 bar) a 35 °C - 40 °C para dar el compuesto **32**. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 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).

[0317] Una vez completada la reacción, la mezcla resultante se diluyó con aproximadamente 5 a 10 volúmenes de MeOH (por ejemplo, aproximadamente 6 a aproximadamente 9 volúmenes de MeOH, aproximadamente 7 a aproximadamente 8,5 volúmenes de MeOH, aproximadamente 7,5 a aproximadamente 8 volúmenes de MeOH, o aproximadamente 7,7 volúmenes de MeOH), se calentó a una temperatura de aproximadamente 35 ± 5 °C, se filtró, se lavó y se secó, como se ha descrito anteriormente.

#### Preparación de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto 2).

[0318]

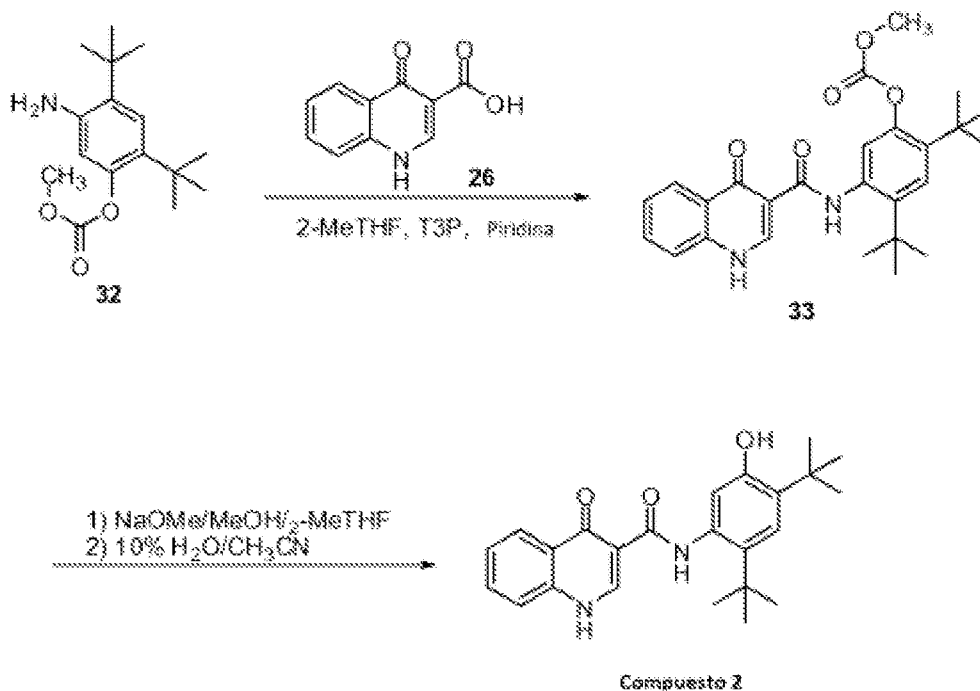


[0319] El ácido 4-Oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico, 26, (1,0 eq) y el 5-amino-2,4-di-terc-butilfenil metil carbonato, **32**, (1,1 eq) se cargaron en un reactor. Se añadió 2-MeTHF (4,0 vol, en relación con el ácido) seguido de T3P® solución al 50% en 2-MeTHF (1,7 eq). El recipiente cargado con T3P se lavó con 2-MeTHF (0,6 vol). A continuación, se añadió piridina (2,0 eq) y la suspensión resultante se calentó a 47,5 +/- 5,0 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 8 horas. Se tomó una muestra y se comprobó su finalización mediante HPLC. Una vez completada, la mezcla resultante se enfrió a 25,0 °C +/- 2,5 °C. Se añadió 2-MeTHF (12,5 vol) para diluir la mezcla. La mezcla de reacción se lavó con agua (10,0

vol) 2 veces. Se añadió 2-MeTHF para llevar el volumen total de reacción a 40,0 vol (-16,5 vol cargado). A esta solución se añadió NaOMe/MeOH (1,7 equiv) para realizar la metanolisis. La reacción se agitó durante no menos de 1,0 hora y se comprobó su finalización por HPLC. Una vez completada, la reacción se apagó con HCl 1 N (10,0 vol) y se lavó con HCl 0,1 N (10,0 vol). La solución orgánica se pulió, se filtró para eliminar cualquier partícula y se colocó en un segundo reactor. La solución filtrada se concentró a no más de 35 °C (temperatura de la camisa) y no menos de 8,0 °C (temperatura de reacción interna) a presión reducida hasta 20 vol. Se añadió CH<sub>3</sub>CN hasta 40 vol y la solución se concentró a no más de 35 °C (temperatura de la camisa) y no menos de 8,0 °C (temperatura de reacción interna) hasta 20 vol. La adición de CH<sub>3</sub>CN y el ciclo de concentración se repitieron 2 veces más para un total de 3 adiciones de CH<sub>3</sub>CN y 4 concentraciones hasta 20 vol. La adición de CH<sub>3</sub>CN el ciclo de concentración se repitieron 2 veces más para un total de 3 adiciones de CH<sub>3</sub>CN y 4 concentraciones a 20 vol. Tras la concentración final a 20 vol, se añadieron 16,0 vol de CH<sub>3</sub>CN seguidos de 4,0 vol de H<sub>2</sub>O para hacer una concentración final de 40 vol de 10% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN en relación con el ácido de partida. Esta suspensión se calentó a 78,0 °C +/- 5,0 °C (reflujo). A continuación, la suspensión se agitó durante al menos 5 horas. La suspensión se enfrió a 0,0 °C +/- 5,0 °C durante 5 horas y se filtró. La torta se lavó con CH<sub>3</sub>CN a 0,0 °C +/- 5,0 °C (5 vol) 4 veces. El sólido resultante (Compuesto 2) se secó en estufa de vacío a 50,0 °C +/- 5,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 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).

### Preparación alternativa de N-(2,4-di-terc-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto 2).

[0320]



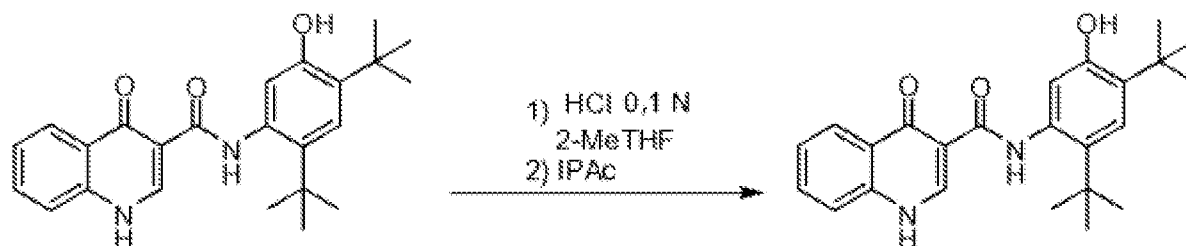
[0321] El ácido 4-Oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico, **26**, (1,0 eq) y el 5-amino-2,4-di-terc-butilfenil metil carbonato, **32**, (1,1 eq) se cargaron en un reactor. Se añadió 2-MeTHF (4,0 vol, en relación con el ácido) seguido de T3P® solución al 50% en 2-MeTHF (1,7 eq). El recipiente cargado con T3P se lavó con 2-MeTHF (0,6 vol). A continuación, se añadió piridina (2,0 eq) y la suspensión resultante se calentó a 47,5 +/- 5,0 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 8 horas. Se tomó una muestra y se comprobó su finalización mediante HPLC. Una vez completada, la mezcla resultante se enfrió a 20 °C +/- 5 °C. Se añadió 2-MeTHF (12,5 vol) para diluir la mezcla. La mezcla de reacción se lavó con agua (10,0 vol) 2 veces y se cargó 2-MeTHF (16,5 vol) en el reactor. Esta solución se cargó con NaOMe/MeOH al 30% p/p (1,7 equiv) para realizar la metanolisis. La reacción se agitó a 25,0 °C +/- 5,0 °C durante no menos de 1,0 hora, y se comprobó su finalización por HPLC. Una vez completada, la reacción se apagó con HCl/H<sub>2</sub>O 1,2 N (10,0 vol) y se lavó con HCl/H<sub>2</sub>O 0,1 N (10,0 vol). La solución orgánica se pulió, se filtró para eliminar cualquier partícula y se colocó en un segundo reactor.

[0322] La solución filtrada se concentró a no más de 35 °C (temperatura de la camisa) y no menos de 8,0 °C (temperatura de reacción interna) a presión reducida hasta 20 vol. Se añadió CH<sub>3</sub>CN hasta 40 vol y la solución se concentró a no más de 35 °C (temperatura de la camisa) y no menos de 8,0 °C (temperatura de reacción interna) hasta 20 vol. La adición de CH<sub>3</sub>CN y el ciclo de concentración se repitieron 2 veces más para un total de 3 adiciones de CH<sub>3</sub>CN y 4 concentraciones hasta 20 vol. La adición de CH<sub>3</sub>CN y el ciclo de concentración se repitieron 2 veces más para un total de 3 adiciones de CH<sub>3</sub>CN y 4 concentraciones a 20 vol. Tras la concentración final a 20 vol, se cargaron 16,0 vol de CH<sub>3</sub>CN seguidos de 4,0 vol de H<sub>2</sub>O para hacer una concentración final de 40 vol de 10% H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN en relación con el ácido de partida. Esta

suspensión se calentó a 78,0 °C +/- 5,0 °C (reflujo). A continuación, la suspensión se agitó durante al menos 5 horas. La suspensión se enfrió a 20-25 °C durante 5 horas y se filtró. La torta se lavó con CH<sub>3</sub>CN (5 vol) calentado a 20-25 °C 4 veces. El sólido resultante (Compuesto 2) se secó en estufa de vacío a 50,0 °C +/- 5,0 °C. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 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).

**Procedimiento para la recrystalización de N-(2,4-di-*tert*-butil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxamida (Compuesto 2)**

[0323]



[0324] El compuesto 2 (1,0 eq) se cargó en un reactor. Se añadió 2-MeTHF (20,0 vol) seguido de HCl 0,1N (5,0 vol). La solución bifásica se agitó y separó y la fase orgánica superior se lavó dos veces más con HCl 0,1N (5,0 vol). La solución orgánica se pulió, se filtró para eliminar cualquier partícula y se colocó en un segundo reactor. La solución filtrada se concentró a no más de 35 °C (temperatura de la cubierta) y no más de 8,0 °C (temperatura de reacción interna) a presión reducida hasta 10 vol. Se añadió acetato de isopropilo (IPAc) (10 vol) y la solución se concentró a no más de 35 °C (temperatura de la cubierta) y no más de 8,0 °C (temperatura de reacción interna) hasta 10 vol. La adición de IPAc y la concentración se repitieron 2 veces más para un total de 3 adiciones de IPAc y 4 concentraciones a 10 vol. 0 °C (temperatura interna de reacción) hasta 10 vol. La adición de IPAc y la concentración se repitieron 2 veces más para un total de 3 adiciones de IPAc y 4 concentraciones hasta 10 vol. Tras la concentración final, se cargaron 10 vol de IPAc y la suspensión se calentó a reflujo y se mantuvo a esta temperatura durante 5 horas. La suspensión se enfrió a 0,0 °C +/- 5 °C durante 5 horas y se filtró. La torta se lavó una vez con IPAc (5 vol). El sólido resultante se secó en estufa de vacío a 50,0 °C +/- 5,0 °C.

**Preparación de una dispersión sólida que comprende el compuesto 2 sustancialmente amorfo**

[0325] Un sistema disolvente de MEK y agua desionizada, formulado según la relación 90 % en peso de MEK / 10 % en peso de agua desionizada, se calentó a una temperatura de 20 - 30 °C en un reactor, equipado con un agitador magnético y un circuito térmico. En este sistema disolvente, se añadieron el polímero de succinato de acetato de hipromelosa (HPMCAS) (grado HG), el SLS y el Compuesto 2 según la proporción 19,5 % en peso de succinato de acetato de hipromelosa / 0,5 % en peso de SLS / 80 % en peso de Compuesto 2. La mezcla resultante contenía un 10,5% en peso de sólidos. Las cantidades reales de ingredientes y disolventes utilizados para generar esta mezcla se indican en la Tabla 5, a continuación:

**Tabla 5: Componentes de la dispersión de pulverización sólida para el intermedio F.**

	Unidades	Lote
Compuesto 2	Kg	70,0
HPMCAS	Kg	17,1
SLS	Kg	0.438
<b>Sólidos totales</b>	<b>Kg</b>	<b>87,5</b>
MEK	Kg	671
Agua	Kg	74,6
<b>Disolventes totales</b>	<b>Kg</b>	<b>746</b>
<b>Peso total de la solución de pulverización</b>	<b>Kg</b>	<b>833</b>

[0326] La temperatura de la mezcla se ajustó a un rango de 20 - 45 °C y se mezcló hasta que fue sustancialmente homogénea y todos los componentes se disolvieron sustancialmente.

[0327] Un secador por pulverización, Niro PSD4 Commercial Spray Dryer, equipado con una boquilla de presión (Spray Systems Maximum Passage serie SK-MFP con orificio/tamaño de núcleo 54/21) equipado con tapa antibarba, se utilizó en modo de secado por pulverización normal, siguiendo los parámetros del proceso de pulverización seca recitados en la



Tabla 6, a continuación.

**Tabla 6:** Parámetros del proceso de secado por pulverización utilizados para generar el intermedio F.

Parámetro	Valor
Presión de alimentación	20 bar
Caudal de la alimentación	92-100 Kg/h
Temperatura de entrada	93 – 99 °C
Temperatura de salida	53 – 57 °C
Temperatura del secador de vacío	80 °C durante 2 horas, después 110 °C (+/- 5 °C)
Tiempo de secado al vacío	20-24 horas

[0328] Un ciclón de alta eficiencia separó el producto húmedo del gas de pulverización y de los vapores de disolvente. El producto húmedo contenía 8,5 - 9,7% de MEK y 0,56 - 0,83% de agua y tenía un tamaño medio de partícula de 17 - 19µm y una densidad aparente de 0,27 - 0,33g/cc. El producto húmedo se transfirió a un secador de vacío de doble cono de acero inoxidable de 4000 L para su secado con el fin de reducir los disolventes residuales a un nivel inferior a unas 5000 ppm y generar una dispersión seca por pulverización del Compuesto 2 amorfo, que contenía <0,03% de MEK y 0,3% de Agua.

#### **Formación de comprimidos a partir de un proceso de granulación húmeda totalmente continuo**

##### Equipos/Procesos

##### Equipamiento

[0329] Aparejo de Desarrollo y Lanzamiento Totalmente Continuo (DLR) o equipo de tipo similar.

##### Rastreo

[0330] La Forma I del Compuesto 1, la dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y los excipientes pueden dispensarse en recipientes intermedios (IBC) separados. Estos materiales se pueden cribar mediante una operación de cribado "ubicación a ubicación". Los tamaños de criba adecuados son malla 20, malla 40 o malla 60.

##### Mezcla

[0331] Los IBC que contienen la Forma I del Compuesto 1 tamizado, la dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y los excipientes pueden acoplarse a un sistema alimentador, que puede alimentar los materiales de manera controlada, por ejemplo, utilizando alimentadores volumétricos o gravimétricos de pérdida de peso, a un mezclador continuo. La velocidad de alimentación de cada uno de los componentes viene definida por la composición de la formulación y la velocidad global de la línea. El caudal de la línea puede ser de 8 kg/h a 30 kg/h. El mezclador continuo puede tener diferentes configuraciones de cuchillas para permitir una mezcla adecuada y la velocidad de rotación de estas cuchillas puede estar entre 80 RPM y 300 RPM.

##### Granulación Húmeda

[0332] Se puede preparar una solución de granulación disolviendo 48 g de lauril sulfato de sodio y 159 g de polivinilpirrolidona en 1.626 g de agua en un recipiente de acero inoxidable, utilizando un agitador de hélice con una velocidad de agitación de 700 RPM. La solución de granulación puede colocarse en un recipiente desde el que la solución puede bombearse al granulador de doble tornillo mediante una bomba peristáltica con un caudalímetro de masa y control, utilizando un caudal adecuado para el proceso. La mezcla puede granularse utilizando un granulador de doble tornillo como el granulador que forma parte del DLR. La mezcla puede añadirse al granulador de doble tornillo utilizando un alimentador de pérdida de peso, como el alimentador K-Tron del DLR, con una velocidad de alimentación de 8 kg/h a 24 kg/h. El granulador de doble tornillo puede funcionar con una temperatura del barril de 25 grados centígrados y una velocidad del tornillo de 200 a 950 RPM. El proceso de granulación puede durar tres minutos para lotes pequeños o varias horas para lotes grandes.

##### Secado

[0333] Los gránulos húmedos pueden introducirse directamente en un secador de lecho fluido, como el secador de lecho fluido segmentado del DLR. El punto final de secado puede elegirse a una temperatura del producto durante la descarga que oscile entre 40 y 55 grados Celsius, momento en el que el contenido de agua de los gránulos puede ser del 2,1% p/p ("Pérdida por secado, LOD") o inferior. El tiempo de secado puede ser de 12 minutos, o más corto o más largo, para

alcanzar el punto final de secado deseado.

#### Fresado

- 5 **[0334]** Los gránulos secos pueden molerse para reducir su tamaño. Para ello puede utilizarse un molino de conos como el Quadro U10 CoMil integrado.

#### Mezcla

- 10 **[0335]** Los gránulos pueden mezclarse con excipientes extragranulares, como cargas y lubricante, utilizando alimentadores de pérdida de peso y un mezclador continuo. La velocidad de mezcla puede ser de 80 - 300 RPM.

#### Compresión

- 15 **[0336]** La mezcla de compresión puede comprimirse en tabletas utilizando una prensa de tabletas de estación única o rotativa, como la prensa Courtoy Modul P, que forma parte del sistema DLR, utilizando utillaje del tamaño adecuado. El peso de los comprimidos para una dosis de 200 mg de Forma I del Compuesto 1 y 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede ser de aproximadamente 500 o 600 mg.

#### Revestimiento

**[0337]** Los comprimidos pueden recubrirse con película utilizando el innovador recubridor de película Omega, que forma parte del sistema DLR. Esta barnizadora permite el barnizado rápido de sublotos de 1 a 4 kg para permitir la fabricación continua.

#### Impresión

**[0338]** Los comprimidos recubiertos con película pueden imprimirse con un monograma en una o ambas caras del comprimido con, por ejemplo, una impresora de rampa Ackley.

### **Formación de comprimidos a partir del proceso de granulación húmeda de doble tornillo**

#### Equipos/Procesos

#### Equipamiento

Granuladores húmedos de doble tornillo: ConsiGma-1, ConsiGma-25 o Leistritz nano.

#### Proyección/Pesaje

**[0339]** La Forma I del Compuesto 1, la dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y los excipientes pueden tamizarse antes o después del pesaje. Los tamaños de criba adecuados son malla 20, malla 40 o malla 60. La Forma I del Compuesto 1 y/o la dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo pueden mezclarse previamente con uno o más de los excipientes para simplificar el cribado.

#### Mezcla

**[0340]** La Forma I del Compuesto 1, la dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo, y los excipientes pueden añadirse a la mezcladora en diferente orden. La mezcla puede realizarse en una mezcladora de turbulencia, una mezcladora en V o una mezcladora de recipientes. Los componentes pueden mezclarse durante 10 minutos.

#### Granulación Húmeda

**[0341]** Se puede preparar una solución de granulación disolviendo 48 g de lauril sulfato de sodio y 159 g de polivinilpirrolidona en 1.626 g de agua en un recipiente de acero inoxidable, utilizando un agitador de hélice con una velocidad de agitación de 700 RPM. La mezcla puede granularse utilizando un granulador de doble tornillo como el ConsiGma-1. La solución de granulación puede añadirse al granulador de doble tornillo utilizando una bomba peristáltica, como la bomba del ConsiGma-1, con una velocidad de alimentación de 67 g/min. La mezcla puede añadirse al granulador de doble tornillo utilizando un alimentador de pérdida de peso, como el alimentador Brabender del ConsiGma-1, con una velocidad de alimentación de 10 kg/h. El granulador de doble tornillo puede funcionar con una temperatura del barril de 25 grados centígrados y una velocidad del tornillo de 400 RPM. El proceso de granulación puede realizarse durante cuatro minutos. El proceso de granulación puede realizarse durante un período de tiempo más corto o más largo para producir una cantidad menor o mayor de gránulos húmedos.

#### Secado

**[0342]** Los gránulos húmedos pueden introducirse directamente en un secador de lecho fluido, como la cámara de secado del ConsiGma-1 o el secador de lecho fluido segmentado del CTL-25. El punto final de secado puede elegirse a una temperatura del producto de 43 grados Celsius, momento en el que el contenido de agua de los gránulos puede ser del 1,6% p/p ("Pérdida por secado, LOD"). El tiempo de secado puede ser de 12 minutos, o más corto o más largo, para alcanzar el punto final de secado deseado. El secado puede realizarse con un caudal de aire de 59<sup>m3/min</sup> y una temperatura de entrada de 60 grados centígrados. Alternativamente, los gránulos húmedos procedentes del granulador de doble tornillo pueden recogerse en un recipiente o contenedor durante un cierto periodo de tiempo, tras el cual los gránulos húmedos se transfieren a un secador de lecho fluido independiente, como el Vector Multi 15.

#### Fresado

**[0343]** Los gránulos secos pueden molerse para reducir su tamaño. Para ello puede utilizarse un molino de conos como el Quadro 194 CoMil.

#### Mezcla

**[0344]** Los gránulos pueden mezclarse con excipientes extragranulares, como cargas y lubricantes, utilizando una mezcladora en V o una mezcladora de tolva. El tiempo de mezcla puede ser de 5, 3 o 1 minuto(s).

#### Compresión

**[0345]** La mezcla de compresión puede comprimirse en tabletas utilizando una prensa de tabletas de estación única o rotativa, como la prensa Courtoy Modul P, utilizando herramental de forma ovalada de 0.55' x 0.33'. El peso de los comprimidos para una dosis de 200 mg de Forma I del Compuesto 1 y 125 mg de Compuesto 2 sustancialmente amorfo puede ser de aproximadamente 500 o 600 mg.

#### Revestimiento

**[0346]** Los comprimidos pueden recubrirse con una película utilizando un recubridor de bandeja, como por ejemplo un recubridor Compu-Lab de Thomas Engineering. Puede añadirse una pequeña cantidad de cera de carnauba para mejorar el aspecto de la pastilla y su procesabilidad.

#### Impresión

**[0347]** Los comprimidos recubiertos con película pueden imprimirse con un monograma en una o ambas caras del comprimido con, por ejemplo, una impresora Hartnett Delta.

### **Formación de comprimidos a partir de un proceso continuo de granulación húmeda de doble tornillo**

#### Equipos/Procesos

##### Equipamiento

**[0348]** Granulador: Granulador de doble tornillo ConsiGma o Leistritz o Thermo Fisher.

##### Proyección/Pesaje

**[0349]** El compuesto 1 y los excipientes pueden examinarse antes o después del pesaje. Los tamaños de criba posibles son malla 20, malla 40 o malla 60. El compuesto 1 puede mezclarse previamente con uno o más de los excipientes para simplificar el cribado.

##### Mezcla

**[0350]** El compuesto 1 y los excipientes pueden añadirse al mezclador en distinto orden. La mezcla puede realizarse en un mezclador de turbulencia, un mezclador en V, un mezclador de recipientes o un mezclador continuo. Los componentes pueden mezclarse durante 10 minutos en el caso de las mezcladoras por lotes o de forma continua en el caso de las mezcladoras continuas.

##### Operación de granulación

**[0351]** Fluido de Granulación - El SLS y el aglutinante se añaden al agua purificada y se mezclan hasta que se disuelven. Una proporción adecuada es 2,5% p/p de SLS y 10,0% p/p de PVP K30 en agua.

**[0352]** Granulación - La mezcla que contiene el Compuesto 1 y los excipientes puede ser dosificada en el granulador de doble tornillo usando un alimentador de Pérdida en Peso a una tasa de 10 kg/hr. El fluido de granulación puede añadirse utilizando una bomba peristáltica a un ritmo de 3,5 kg/h. El granulador puede funcionar a una velocidad de 400 RPM. Una

ventaja notable del presente proceso de granulación húmeda de doble tornillo es el uso de un fluido de granulación que comprende tanto un tensioactivo como el aglutinante para una mejor granulación a través de una mayor humectabilidad. En una realización, el tensioactivo es SLS. Otra ventaja notable es que, como el proceso es continuo y en cualquier momento sólo se procesa una cantidad limitada de material, el proceso puede controlarse bien y da lugar a un producto de alta calidad.

#### Fresado

[0353] Los gránulos pueden reducirse de tamaño utilizando un molino de criba o un molino de cono, ya sea antes del secado o después del secado, o ambos.

#### Secado

[0354] Los gránulos pueden secarse utilizando un horno de vacío, un secador de bandejas, un secador bicónico o un secador de lecho fluido.

#### Mezcla

[0355] Los gránulos pueden mezclarse con excipientes extragranulares. Los gránulos se han mezclado con una mezcladora de tolva de 300 litros a 60 revoluciones.

#### Compresión

[0356] La mezcla de compresión se ha comprimido en comprimidos utilizando una prensa rotativa Courtoy Modul P.

#### Revestimiento

[0357] Los comprimidos pueden ser recubiertos con una película usando un recubridor de bandeja, tal como, por ejemplo, un O'Hara Labcoat.

#### Impresión

[0358] Los comprimidos recubiertos con película pueden imprimirse con un monograma en una o ambas caras del comprimido con, por ejemplo, una impresora Hartnett Delta.

### ENSAYOS

#### PROTOCOLO 1

#### **Ensayos para detectar y medir las propiedades potenciadoras de $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos**

##### Métodos ópticos de potencial de membrana para evaluar las propiedades de modulación $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos

[0359] El ensayo utiliza colorantes fluorescentes de detección de voltaje para medir los cambios en el potencial de membrana utilizando un lector de placas fluorescentes (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como lectura para el aumento de  $\Delta F508$ -CFTR funcional en células NIH 3T3. La fuerza impulsora de la respuesta es la creación de un gradiente de iones cloruro junto con la activación del canal mediante una única etapa de adición de líquido después de que las células hayan sido tratadas previamente con compuestos y cargadas posteriormente con un colorante detector de voltaje.

##### Identificación de Compuestos Potenciadores

[0360] Para identificar potenciadores de  $\Delta F508$ -CFTR, se desarrolló un formato de ensayo HTS de doble adición. Este ensayo HTS utiliza colorantes fluorescentes de detección de voltaje para medir los cambios en el potencial de membrana en la FLIPR III como una medida para el aumento del *gating* (conductancia) de  $\Delta F508$  CFTR en células  $\Delta F508$  CFTR NIH 3T3 con corrección de temperatura. La fuerza impulsora de la respuesta es un gradiente de iones  $Cl^-$  junto con la activación del canal con forskolina en una única etapa de adición de líquido utilizando un lector de placas fluorescentes como FLIPR III después de que las células hayan sido tratadas previamente con compuestos potenciadores (o control vehículo DMSO) y cargadas posteriormente con un colorante de redistribución.

#### Soluciones

[0361] Solución de Baño #1: (en mM) NaCl 160, KCl 4.5,  $CaCl_2$  2,  $MgCl_2$  1, HEPES 10, pH 7.4 con NaOH.

[0362] Solución de baño sin cloruro: Las sales de cloruro de la solución de baño nº 1 (arriba) se sustituyen por sales de gluconato.

Cultura Celular

[0363] Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR se utilizan para mediciones ópticas del potencial de membrana. Las células se mantienen a 37 °C con un 5 % de CO<sub>2</sub> y un 90 % de humedad en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 2 mM de glutamina, 10 % de suero bovino fetal, 1 X de NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X de pen/strep y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a ~20.000/pocillo en placas de 384 pocillos recubiertas de matrigel y se cultivaron durante 2 h a 37 °C antes de cultivarlas a 27 °C durante 24 h para el ensayo potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27 °C o 37 °C con y sin compuestos durante 16 - 24 horas.

[0364] Ensayos electrofisiológicos para ensayar las propiedades de modulación de  $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos.

Ensayo de Cámara Ussing

[0365] Se realizaron experimentos de cámara de Ussing en células epiteliales polarizadas de las vías respiratorias que expresaban  $\Delta F508$ -CFTR para caracterizar aún más los aumentadores o inductores de  $\Delta F508$ -CFTR identificados en los ensayos ópticos. Los epitelios de las vías respiratorias con y sin fibrosis quística se aislaron de tejido bronquial y se cultivaron según lo descrito anteriormente (Galletta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G.A. y Zegarra-Moran, O.). (1998) *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 34, 478-481) y se sembraron en filtros Costar® Snapwell™ recubiertos previamente con medios acondicionados NIH3T3. Tras cuatro días, se retiró el medio apical y las células se cultivaron en una interfaz aire-líquido durante >14 días antes de su uso. El resultado fue una monocapa de células columnares completamente diferenciadas y ciliadas, rasgos característicos de los epitelios de las vías respiratorias. Los HBE no CF se aislaron de no fumadores que no padecían ninguna enfermedad pulmonar conocida. Los CF-HBE se aislaron de pacientes homocigotos para  $\Delta F508$ .

[0366] Los HBE cultivados en insertos de cultivo celular Costar® Snapwell™ se montaron en una cámara de uso (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), y la resistencia transepitelial y la corriente de cortocircuito en presencia de un gradiente de Cl<sup>-</sup> de basolateral a apical (Isc) se midieron utilizando un sistema de pinza de voltaje (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). Brevemente, se examinaron los HBE en condiciones de registro de pinzamiento de voltaje ( $V_{hold} = 0$  mV) a 37 °C. La solución basolateral contenía (en mM) 145 NaCl, 0,83 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3,3 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH) y la solución apical contenía (en mM) 145 NaGluconato, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH).

Identificación de Compuestos Potenciadores

[0367] El protocolo típico utiliza un gradiente de concentración de Cl<sup>-</sup> de la membrana basolateral a la apical. Para establecer este gradiente, se utilizaron ringers normales en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se sustituyó por gluconato sódico equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración de Cl<sup>-</sup> a través del epitelio. La forskolina (10  $\mu$ M) y todos los compuestos de ensayo se añadieron a la cara apical de los insertos de cultivo celular. La eficacia de los potenciadores putativos de  $\Delta F508$ -CFTR se comparó con la del potenciador conocido, la genisteína.

Grabaciones de patch-clamp

[0368] La corriente total de Cl<sup>-</sup> en células  $\Delta F508$ -NIH3T3 se monitorizó utilizando la configuración de registro de parche perforado como se ha descrito previamente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) *J. Neurosci. Methods* 37, 15-26). Los registros de pinzamiento de voltaje se realizaron a 22 °C utilizando un amplificador de patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La solución de pipeta contenía (en mM) 150 N-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 EGTA, 10 HEPES y 240  $\mu$ g/mL de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con HCl). El medio extracelular contenía (en mM) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con HCl). La generación de pulsos, la adquisición de datos y el análisis se realizaron utilizando un PC equipado con una interfaz A/D Digidata 1320 junto con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar el  $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron 10  $\mu$ M de forskolina y 20  $\mu$ M de genisteína al baño y se monitorizó la relación corriente-voltaje cada 30 segundos.

Identificación de Compuestos Potenciadores

[0369] También se investigó la capacidad de los potenciadores de  $\Delta F508$ -CFTR para aumentar la corriente de Cl<sup>-</sup>  $\Delta F508$ -CFTR macroscópica ( $I_{\Delta F508}$ ) en células NIH3T3 que expresan  $\Delta F508$ -CFTR de forma estable utilizando técnicas de registro de parche perforado. Los potenciadores identificados a partir de los ensayos ópticos evocaron un aumento dependiente de la dosis de  $I_{\Delta F508}$  con una potencia y eficacia similares a las observadas en los ensayos ópticos. En todas las células examinadas, el potencial de inversión antes y durante la aplicación del potenciador fue de alrededor de -30 mV, que es el  $E_{Cl}$  calculado (-28 mV).

Cultura Celular

[0370] Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR se utilizan para registros de células enteras. Las células se mantienen a 37 °C con un 5 % de CO<sub>2</sub> y un 90 % de humedad en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 2 mM de glutamina, 10 % de suero bovino fetal, 1 X de NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X de pen/strep y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para los registros de células enteras, se sembraron 2.500 - 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos de poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 h a 27 °C antes de su uso para probar la actividad de los potenciadores; y se incubaron con o sin el compuesto corrector a 37 °C para medir la actividad de los correctores.

#### Grabaciones monocanal

[0371] La actividad de *gating* de wt-CFTR y  $\Delta F508$ -CFTR corregida por temperatura expresada en células NIH3T3 se observó utilizando registros de parche de membrana interior-exterior extirpado como se ha descrito previamente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526 - 528) utilizando un amplificador de patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM): 150 NMDG, 150 ácido aspártico, 5 CaCl<sub>2</sub>, 2 MgCl<sub>2</sub> y 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con Tris base). El baño contenía (en mM): 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 5 EGTA, 10 TES y 14 Tris base (pH ajustado a 7,35 con HCl). Tras la escisión, se activaron tanto wt- como  $\Delta F508$ -CFTR añadiendo 1 mM de Mg-ATP, 75 nM de la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA; Promega Corp. Madison, WI), y 10 mM NaF para inhibir las proteínas fosfatasas, lo que impidió la disminución de la corriente. El potencial de la pipeta se mantuvo a 80 mV. La actividad de los canales se analizó a partir de parches de membrana que contenían  $\leq 2$  canales activos. El número máximo de aperturas simultáneas determinaba el número de canales activos durante el transcurso de un experimento. Para determinar la amplitud de la corriente monocanal, los datos registrados durante 120 segundos de actividad de  $\Delta F508$ -CFTR se filtraron "fuera de línea" a 100 Hz y luego se utilizaron para construir histogramas de amplitud de todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas utilizando el software Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad de apertura ( $P_o$ ) se determinaron a partir de 120 segundos de actividad del canal. La  $P_o$  se determinó utilizando el software Bio-Patch o a partir de la relación  $P_o = I/i(N)$ , donde  $I$  = corriente media,  $i$  = amplitud de corriente de un solo canal y  $N$  = número de canales activos en el parche.

#### Cultura Celular

[0372] Fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR se utilizan para registros de patch-clamp de membrana extirpada. Las células se mantienen a 37 °C con un 5 % de CO<sub>2</sub> y un 90 % de humedad en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 2 mM de glutamina, 10 % de suero bovino fetal, 1 X de NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X de pen/strep y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para el registro de un solo canal, se sembraron de 2.500 a 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos de poli-L-lisina y se cultivaron durante 24-48 horas a 27 °C antes de su uso.

### **PROTOCOLO 2**

#### **Ensayos para detectar y medir las propiedades de corrección de $\Delta F508$ -CFTR de los compuestos**

[0373] Métodos ópticos de potencial de membrana para ensayar propiedades de modulación  $\Delta F508$ -CFTR de compuestos.

[0374] El ensayo de potencial óptico de membrana utilizó sensores FRET sensibles al voltaje descritos por González y Tsien (Ver González, J. E. y R. Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" Biophys J 69(4): 1272-80, and Gonzalez, J. E. y R. Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" Chem Biol 4(4): 269-77) en combinación con instrumentación para medir los cambios de fluorescencia como el Voltage/Ion Probe Reader (VIPR) (Ver, Gonzalez, J. E., K. Oades, et al. (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" Drug Discov Today 4(9): 431-439).

[0375] Estos ensayos sensibles al voltaje se basan en el cambio en la transferencia de energía resonante de fluorescencia (FRET) entre el colorante soluble en membrana y sensible al voltaje, DiSBAC<sub>2</sub>(3), y un fosfolípido fluorescente, CC2-DMPE, que está unido a la lámina externa de la membrana plasmática y actúa como donante de FRET. Los cambios en el potencial de membrana ( $V_m$ ) hacen que el DiSBAC<sub>2</sub>(3) cargado negativamente se redistribuya a través de la membrana plasmática y la cantidad de transferencia de energía del CC2-DMPE cambia en consecuencia. Los cambios en la emisión de fluorescencia se monitorizaron utilizando VIPR™ II, que es un manipulador de líquidos integrado y un detector fluorescente diseñado para realizar cribas celulares en placas de microtitulación de 96 o 384 pocillos.

#### Identificación de Compuestos Correctores

[0376] Para identificar moléculas pequeñas que corrijan el defecto de tráfico asociado con  $\Delta F508$ -CFTR; se desarrolló un formato de ensayo HTS de adición única. Las células se incubaron en medio libre de suero durante 16 h a 37 °C en presencia o ausencia (control negativo) del compuesto de ensayo. Como control positivo, se incubaron células en placas de 384 pocillos durante 16 horas a 27 °C para "corregir la temperatura" de  $\Delta F508$ -CFTR. Posteriormente, las células se lavaron 3 veces con solución de Krebs Ringers y se cargaron con los colorantes sensibles al voltaje. Para activar el  $\Delta F508$ -

CFTR, se añadieron a cada pocillo 10  $\mu\text{M}$  de forskolina y el potenciador del CFTR, genisteína (20  $\mu\text{M}$ ), junto con medio libre de  $\text{Cl}^-$ . La adición de medio libre de  $\text{Cl}^-$  promovió el eflujo de  $\text{Cl}^-$  en respuesta a la activación de  $\Delta\text{F508-CFTR}$  y la despolarización de membrana resultante se monitorizó ópticamente utilizando los colorantes sensores de voltaje basados en FRET.

#### Identificación de Compuestos Potenciadores

**[0377]** Para identificar potenciadores de  $\Delta\text{F508-CFTR}$ , se desarrolló un formato de ensayo HTS de doble adición. Durante la primera adición, se añadió a cada pocillo un medio libre de  $\text{Cl}^-$  con o sin compuesto de ensayo. Tras 22 segundos, se añadió una segunda adición de medio libre de  $\text{Cl}^-$  que contenía 2-10  $\mu\text{M}$  de forskolina para activar la  $\Delta\text{F508-CFTR}$ . La concentración extracelular de  $\text{Cl}^-$  tras ambas adiciones fue de 28 mM, lo que promovió el eflujo de  $\text{Cl}^-$  en respuesta a la activación de  $\Delta\text{F508-CFTR}$  y la despolarización de membrana resultante se monitorizó ópticamente utilizando los colorantes sensores de voltaje basados en FRET.

#### Soluciones

##### [0378]

Solución del baño N.º 1: (en mM) NaCl 160, KCl 4,5,  $\text{CaCl}_2$  2,  $\text{MgCl}_2$  1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

Solución del baño sin cloruro: Las sales de cloruro en la Solución de baño n.º 1 (anteriormente) están sustituidas con sales de gluconato.

CC2-DMPE: Preparado como una solución madre 10 mM en DMSO y almacenado a  $-20^\circ\text{C}$ .

DiSBAC<sub>2</sub>(3): Preparado como una reserva de 10 mM en DMSO y almacenado a  $-20^\circ\text{C}$ .

#### Cultura Celular

**[0379]** Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta\text{F508-CFTR}$  se utilizan para mediciones ópticas del potencial de membrana. Las células se mantienen a  $37^\circ\text{C}$  con un 5 % de  $\text{CO}_2$  y un 90 % de humedad en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 2 mM de glutamina, 10 % de suero bovino fetal, 1 X de NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X de pen/strep y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175  $\text{cm}^2$ . Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a 30.000/pocillo en placas de 384 pocillos recubiertas de matrigel y se cultivaron durante 2 h a  $37^\circ\text{C}$  antes de cultivarlas a  $27^\circ\text{C}$  durante 24 h para el ensayo potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a  $27^\circ\text{C}$  o  $37^\circ\text{C}$  con y sin compuestos durante 16 - 24 horas.

Ensayos electrofisiológicos para evaluar las propiedades de modulación de  $\Delta\text{F508-CFTR}$  de los compuestos.

#### Ensayo de Cámara Ussing

**[0380]** Utilizando experimentos de cámara se realizaron en células epiteliales polarizadas que expresan  $\Delta\text{F508-CFTR}$  para caracterizar aún más los aumentadores o inductores de  $\Delta\text{F508-CFTR}$  identificados en los ensayos ópticos. Las células epiteliales FRT $\Delta\text{F508-CFTR}$  cultivadas en insertos de cultivo celular Costar Snapwell se montaron en una cámara Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), y las monocapas se cortocircuitaron continuamente utilizando un sistema de pinza de tensión (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA, y, Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA). La resistencia transepitelial se midió aplicando un impulso de 2 mV. En estas condiciones, los epitelios FRT demostraron resistencias de 4  $\text{K}\Omega/\text{cm}^2$  o más. Las soluciones se mantuvieron a  $27^\circ\text{C}$  y se burbujearon con aire. El potencial de offset del electrodo y la resistencia del fluido se corrigieron utilizando un inserto sin células. En estas condiciones, la corriente refleja el flujo de  $\text{Cl}^-$  a través de  $\Delta\text{F508-CFTR}$  expresado en la membrana apical. El  $I_{\text{sc}}$  se adquirió digitalmente utilizando una interfaz MP100A-CE y el software AcqKnowledge (v3.2.6; BIOPAC Systems, Santa Barbara, CA).

#### Identificación de Compuestos Correctores

**[0381]** El protocolo típico utiliza un gradiente de concentración de  $\text{Cl}^-$  de la membrana basolateral a la apical. Para establecer este gradiente, se utilizó ringer normal en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se sustituyó por gluconato sódico equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración de  $\text{Cl}^-$  a través del epitelio. Todos los experimentos se realizaron con monocapas intactas. Para activar completamente el  $\Delta\text{F508-CFTR}$ , se aplicaron forskolina (10  $\mu\text{M}$ ) y el inhibidor de la PDE, IBMX (100  $\mu\text{M}$ ), seguidos de la adición del potenciador del CFTR, genisteína (50  $\mu\text{M}$ ).

[0382] Como se ha observado en otros tipos celulares, la incubación a bajas temperaturas de células FRT que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR aumenta la densidad funcional de CFTR en la membrana plasmática. Para determinar la actividad de los compuestos correctores, las células se incubaron con 10  $\mu M$  del compuesto de prueba durante 24 horas a 37°C y posteriormente se lavaron 3 veces antes de registrarlas. El Isc mediado por AMPc y genisteína en las células tratadas con compuestos se normalizó con respecto a los controles de 27°C y 37°C y se expresó como porcentaje de actividad. La preincubación de las células con el compuesto corrector aumentó significativamente el Isc mediado por AMPc y genisteína en comparación con los Controles a 37°C.

#### Identificación de Compuestos Potenciadores

[0383] El protocolo típico utiliza un gradiente de concentración de  $Cl^-$  de la membrana basolateral a la apical. Para establecer este gradiente, se utilizó ringers normales en la membrana basolateral y se permeabilizó con nistatina (360  $\mu g/ml$ ), mientras que el NaCl apical se sustituyó por gluconato sódico equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración de  $Cl^-$  a través del epitelio. Todos los experimentos se realizaron 30 min después de la permeabilización con nistatina. La forskolina (10  $\mu M$ ) y todos los compuestos de ensayo se añadieron a ambos lados de los insertos de cultivo celular. La eficacia de los potenciadores putativos de  $\Delta F508$ -CFTR se comparó con la del potenciador conocido, la genisteína.

#### Soluciones

##### [0384]

Solución basolateral (en mM):	NaCl (135), $CaCl_2$ (1,2), $MgCl_2$ (1,2), $K_2HPO_4$ (2,4), $KH_2PO_4$ (0,8), ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etanosulfónico (HEPES) (10) y dextrosa (10). La solución se valoró a pH 7,4 con NaOH.
Solución apical (en mM):	Igual que la solución basolateral con NaCl reemplazado con Na Gluconato (135).

#### Cultura Celular

[0385] Las células epiteliales de rata Fisher (FRT) que expresan  $\Delta F508$ -CFTR (FRT $^{\Delta F508}$ -CFTR) se utilizaron para experimentos de cámara de Ussing para los aumentadores o inductores putativos de  $\Delta F508$ -CFTR identificados a partir de nuestros ensayos ópticos. Las células se cultivaron en insertos de cultivo celular Costar Snapwell y se cultivaron durante cinco días a 37 °C y 5% de  $CO_2$  en medio Ham F-12 modificado por Coon, suplementado con 5% de suero fetal de ternera, 100 U/ml de penicilina y 100  $\mu g/ml$  de estreptomycin. Antes de utilizarlas para caracterizar la actividad potenciadora de los compuestos, las células se incubaron a 27 °C durante 16 - 48 h para corregir la  $\Delta F508$ -CFTR. Para determinar la actividad de los compuestos correctores, las células se incubaron a 27 °C o 37 °C con y sin los compuestos durante 24 horas.

#### Grabaciones de células enteras

[0386] La corriente macroscópica  $\Delta F508$ -CFTR ( $I_{\Delta F508}$ ) en células NIH3T3 corregidas por temperatura y compuesto de prueba que expresan  $\Delta F508$ -CFTR de forma estable se monitorizó utilizando el registro de células enteras con parche perforado. Brevemente, las grabaciones de pinzamiento de voltaje de  $I_{\Delta F508}$  se realizaron a temperatura ambiente utilizando un amplificador de patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). Todas las grabaciones se adquirieron con una frecuencia de muestreo de 10 kHz y un filtro de paso bajo de 1 kHz. Las pipetas tenían una resistencia de 5 - 6 M $\Omega$  cuando se llenaban con la solución intracelular. En estas condiciones de registro, el potencial de inversión calculado para el  $Cl^-$  ( $E_{Cl}$ ) a temperatura ambiente fue de -28 mV. Todas las grabaciones tenían una resistencia de sellado > 20 G $\Omega$  y una resistencia en serie < 15 M $\Omega$ . La generación de pulsos, la adquisición de datos y el análisis se realizaron utilizando un PC equipado con una interfaz A/D Digidata 1320 junto con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). El baño contenía < 250  $\mu l$  de solución salina y se perfundía continuamente a una velocidad de 2 ml/min mediante un sistema de perfusión por gravedad.

#### Identificación de Compuestos Correctores

[0387] Para determinar la actividad de los compuestos correctores para aumentar la densidad de  $\Delta F508$ -CFTR funcional en la membrana plasmática, utilizamos las técnicas de registro de parche perforado descritas anteriormente para medir la densidad de corriente después de un tratamiento de 24 horas con los compuestos correctores. Para activar completamente la  $\Delta F508$ -CFTR, se añadieron a las células 10  $\mu M$  de forskolina y 20  $\mu M$  de genisteína. En nuestras condiciones de registro, la densidad de corriente tras 24 h de incubación a 27 °C fue superior a la observada tras 24 h de incubación a 37 °C. Estos resultados concuerdan con los efectos conocidos de la incubación a baja temperatura sobre la densidad de  $\Delta F508$ -CFTR en la membrana plasmática. Para determinar los efectos de los compuestos correctores sobre la densidad de corriente CFTR, se incubaron las células con 10  $\mu M$  del compuesto de prueba durante 24 horas a 37°C y



se comparó la densidad de corriente con los controles a 27°C y 37°C (% de actividad). Antes del registro, las células se lavaron 3 veces con medio de registro extracelular para eliminar cualquier resto de compuesto de ensayo. La preincubación con 10 µM de compuestos correctores aumentó significativamente la corriente dependiente de AMPc y genisteína en comparación con los controles a 37°C.

#### Identificación de Compuestos Potenciadores

**[0388]** También se investigó la capacidad de los potenciadores de  $\Delta F508$ -CFTR para aumentar la corriente de Cl<sup>-</sup>  $\Delta F508$ -CFTR macroscópica ( $I_{\Delta F508}$ ) en células NIH3T3 que expresan  $\Delta F508$ -CFTR de forma estable utilizando técnicas de registro de parche perforado. Los potenciadores identificados a partir de los ensayos ópticos evocaron un aumento dependiente de la dosis de  $I_{\Delta F508}$  con una potencia y eficacia similares a las observadas en los ensayos ópticos. En todas las células examinadas, el potencial de inversión antes y durante la aplicación del potenciador fue de alrededor de -30 mV, que es el  $E_{Cl}$  calculado (-28 mV).

#### Soluciones

##### [0389]

Solución intracelular (en mM): Cs-aspartato (90), CsCl (50), MgCl<sub>2</sub> (1), HEPES (10) y 240 µg/ml de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con CsOH).

Solución extracelular (en mM): N-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl (150), MgCl<sub>2</sub> (2), CaCl<sub>2</sub> (2), HEPES (10) (pH ajustado a 7,35 con HCl).

#### Cultura Celular

**[0390]** Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR se utilizan para registros de células enteras. Las células se mantienen a 37 °C con un 5 % de CO<sub>2</sub> y un 90 % de humedad en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 2 mM de glutamina, 10 % de suero bovino fetal, 1 X de NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X de pen/strep y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para los registros de células enteras, se sembraron 2.500 - 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos de poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 h a 27 °C antes de su uso para probar la actividad de los potenciadores; y se incubaron con o sin el compuesto corrector a 37 °C para medir la actividad de los correctores.

#### Grabaciones monocanal

**[0391]** Las actividades de canal único del  $\Delta F508$ -CFTR corregido por temperatura expresado establemente en células NIH3T3 y las actividades de los compuestos potenciadores se observaron utilizando un parche de membrana interior-exterior extirpado. Brevemente, los registros de pinzamiento de voltaje de la actividad monocanal se realizaron a temperatura ambiente con un amplificador de patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). Todas las grabaciones se adquirieron a una frecuencia de muestreo de 10 kHz y se filtraron a 400 Hz. Las pipetas de parche se fabricaron con vidrio Corning Kovar Sealing #7052 (World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) y tenían una resistencia de 5 - 8 MΩ cuando se llenaron con la solución extracelular. El  $\Delta F508$ -CFTR se activó tras la escisión, añadiendo 1 mM de Mg-ATP, y 75 nM de la proteína cinasa dependiente de AMPc, subunidad catalítica (PKA; Promega Corp. Madison, WI). Una vez estabilizada la actividad del canal, se perfundió el parche utilizando un sistema de microperfusión por gravedad. El flujo de entrada se colocó adyacente al parche, lo que produjo un intercambio completo de solución en 1-2 segundos. Para mantener la actividad del  $\Delta F508$ -CFTR durante la perfusión rápida, se añadió a la solución del baño el inhibidor inespecífico de la fosfatasa F<sup>-</sup> (10 mM NaF). En estas condiciones de grabación, la actividad del canal se mantuvo constante durante toda la grabación del parche (hasta 60 minutos). Las corrientes producidas por cargas positivas que se desplazan de las soluciones intracelulares a las extracelulares (aniones que se desplazan en sentido contrario) se muestran como corrientes positivas. El potencial de pipeta ( $V_p$ ) se mantuvo a 80 mV.

**[0392]** La actividad de los canales se analizó a partir de parches de membrana que contenían  $\leq 2$  canales activos. El número máximo de aperturas simultáneas determinaba el número de canales activos durante el transcurso de un experimento. Para determinar la amplitud de la corriente monocanal, los datos registrados durante 120 segundos de actividad de  $\Delta F508$ -CFTR se filtraron "fuera de línea" a 100 Hz y luego se utilizaron para construir histogramas de amplitud de todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas utilizando el software Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad de apertura ( $P_o$ ) se determinaron a partir de 120 segundos de actividad del canal. La  $P_o$  se determinó utilizando el software Bio-Patch o a partir de la relación  $P_o = I/i(N)$ , donde  $I$  = corriente media,  $i$  = amplitud de corriente de un solo canal y  $N$  = número de canales activos en el parche.

#### Soluciones

##### [0393]

Solución extracelular (en mM): NMDG (150), ácido aspártico (150), CaCl<sub>2</sub> (5), MgCl<sub>2</sub> (2) y HEPES (10) (pH ajustado a 7,35 con base Tris).

Solución intracelular (en mM): NMDG-Cl (150), MgCl<sub>2</sub> (2), EGTA (5), TES (10) y base Tris (14) (pH ajustado a 7,35 con HCl).

#### Cultura Celular

**[0394]** Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -CFTR se utilizan para registros de patch-clamp de membrana extirpada. Las células se mantienen a 37 °C con un 5 % de CO<sub>2</sub> y un 90 % de humedad en medio Eagle modificado de Dulbecco suplementado con 2 mM de glutamina, 10 % de suero bovino fetal, 1 X de NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X de pen/strep y 25 mM de HEPES en frascos de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para el registro de un solo canal, se sembraron de 2.500 a 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos de poli-L-lisina y se cultivaron durante 24-48 horas a 27 °C antes de su uso.

**[0395]** El Compuesto 1 y el Compuesto 2 de la invención son útiles como aumentadores o inductores de la actividad CFTR. La Tabla 5 ilustra la EC<sub>50</sub> y la eficacia relativa del Compuesto 1 y el Compuesto 2. En la Tabla 5, se aplican los siguientes significados. EC<sub>50</sub>: "+++" significa <10 uM; "++" significa entre 10uM y 25 uM; "+" significa entre 25 uM y 60uM. % Eficacia: "+" significa < 25%; "++" significa entre 25% y 100%; "+++" significa > 100%..

Tabla 5.

N.º de comp.	EC <sub>50</sub> (uM)	% de actividad
1	+++	+++
2	+++	++

#### OTRAS REALIZACIONES

**[0396]** La discusión anterior divulga y describe realizaciones meramente ejemplares de la invención, que se define en las reivindicaciones adjuntas.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende:

ácido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Compuesto 1) Forma I; y  
una dispersión sólida que comprende N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (Compuesto 2) sustancialmente amorfa y un polímero, en el que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo tiene menos del 15% de cristalinidad;  
en la que la Forma I del Compuesto 1 **se caracteriza por** al menos un pico tiene un valor  $2\theta$  en un intervalo seleccionado entre 15,2 y 15,6, 16,1 y 16,5, y 14,3 y 14,7 grados en un patrón de difracción de polvo de rayos X obtenido utilizando radiación alfa Cu K, y/o  
donde la Forma I del Compuesto 1 se caracteriza como una forma cristalina que tiene un sistema cristalino monoclinico, un grupo espacial P2<sub>1</sub>/n, y las siguientes dimensiones de celda unitaria

$$\begin{array}{ll} A = 4,9626 \text{ (7) } \text{\AA} & V = 2014,0 \text{ \AA}^3 \\ B = 12,299 \text{ (2) } \text{\AA} & \beta = 93,938 \text{ (9)}^\circ \\ C = 33,075 \text{ (4) } \text{\AA} & Z = 4; \end{array}$$

donde la Forma I del Compuesto 1 está presente en una cantidad de al menos 20 % en peso de la composición; en el que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo está presente en una cantidad de al menos el 20 % en peso de la composición; y  
en la que la composición farmacéutica es un gránulo o un comprimido.

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la Forma I del Compuesto 1 está presente en una cantidad de al menos el 30 % en peso de la composición, y en la que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo está presente en una cantidad de al menos el 30 % en peso de la composición.

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que comprende además una carga, un desintegrante, un tensioactivo y un aglutinante, en la que la composición comprende 30-50 % en peso de Forma I del Compuesto 1 en peso de la composición y 20-35 % en peso de Compuesto 2 sustancialmente amorfo en peso de la composición.

4. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica es un comprimido y tiene la siguiente formulación:

Componente	% en peso
Forma I del Compuesto 1	20-40
Dispersión sólida que comprende el Compuesto 2 sustancialmente amorfo	30-40
Celulosa microcristalina	20-30
Croscarmelosa de sodio	1-10
Polivinilpirrolidona	1-5
Laurilsulfato sódico	0,1-1
Estearato de magnesio	0,5-1,5

opcionalmente, el comprimido está recubierto por una película.

5. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo tiene menos del 10% de cristalinidad, opcionalmente en la que el Compuesto 2 sustancialmente amorfo tiene menos del 5% de cristalinidad.

6. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método de tratamiento, disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente,

donde el método comprende administrar al paciente 400 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo,  
en la que la dosis se obtiene administrando dos comprimidos cada 12 horas, y  
donde cada comprimido comprende 100 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en un método de tratamiento,

disminución de la gravedad o tratamiento sintomático de la fibrosis quística en un paciente,

en el que el método comprende administrar al paciente 800 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 500 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo,

en la que la dosis se obtiene administrando dos comprimidos cada 12 horas, y  
donde cada comprimido comprende 200 mg de la Forma I del Compuesto 1 y 125 mg del Compuesto 2 sustancialmente amorfo.

8. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en la que el paciente es homocigoto para la mutación CFTR  $\Delta F508$ .

Figura 1

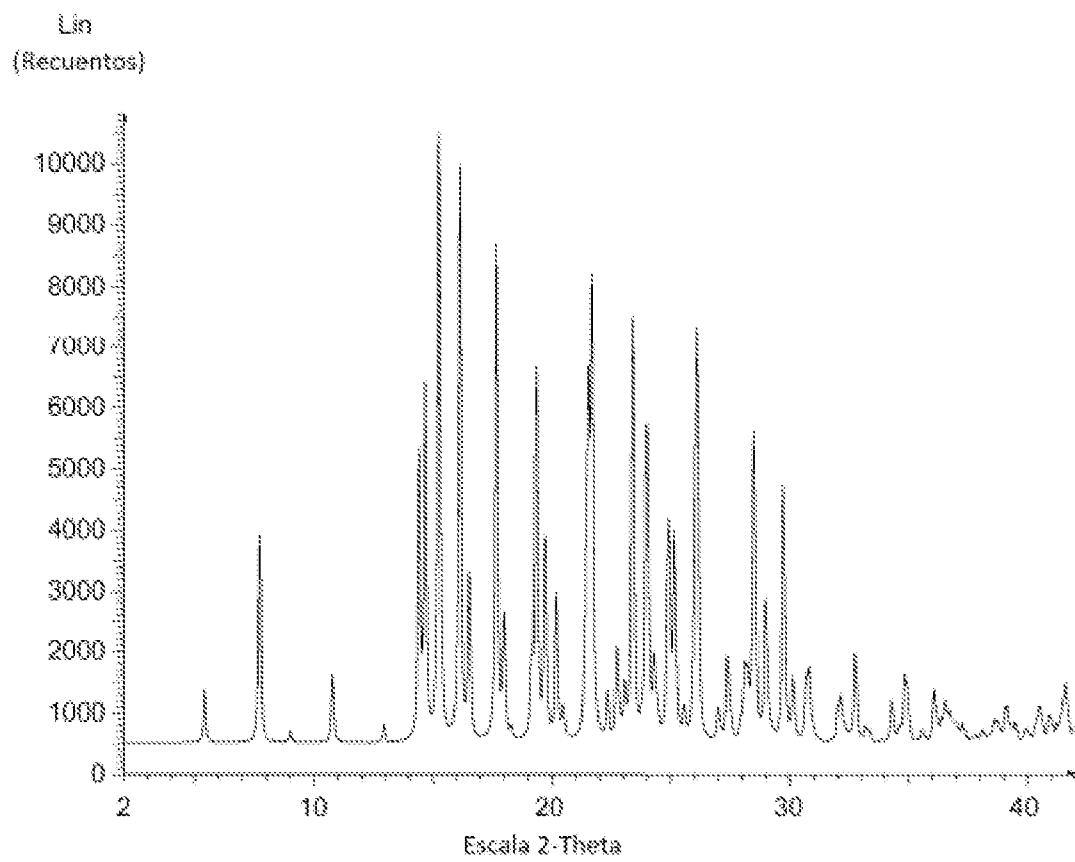


Figura 2

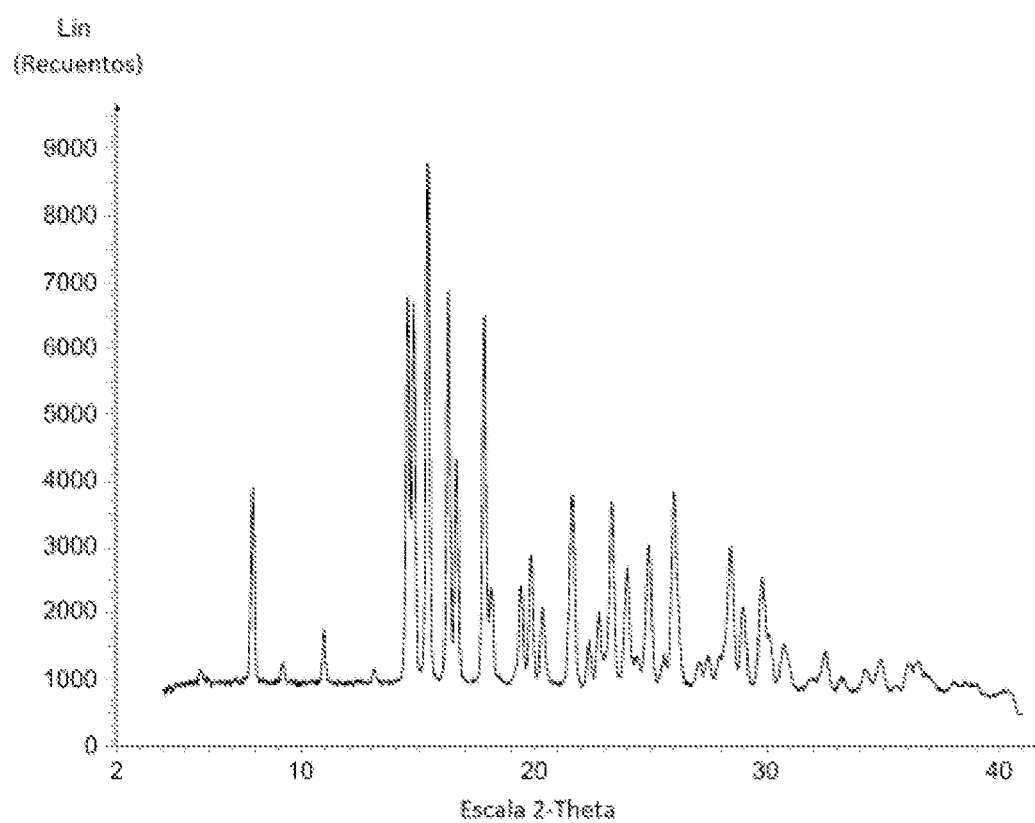


Figura 3

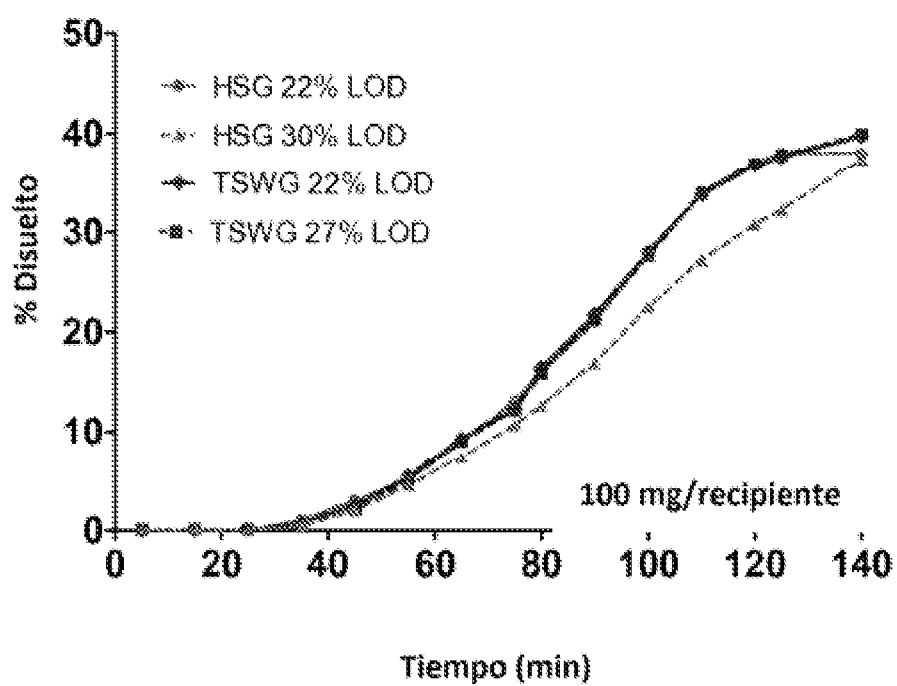


Figura 4

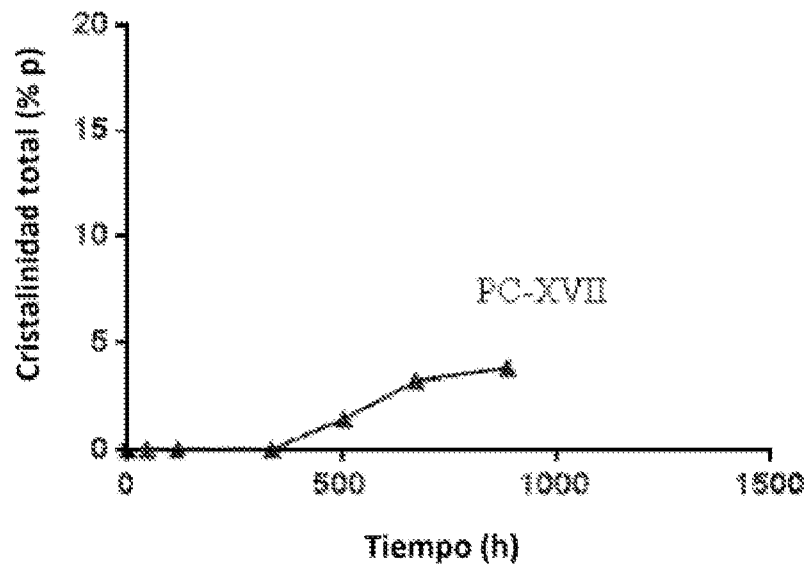




Figura 5

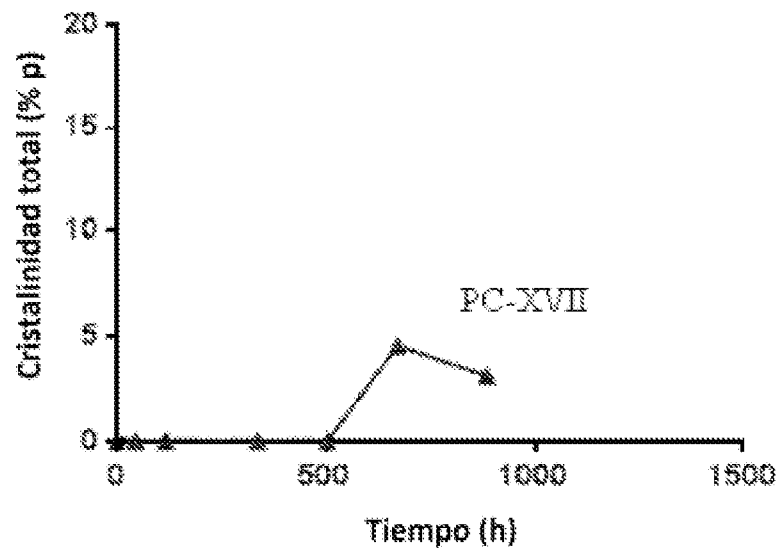


Figura 6

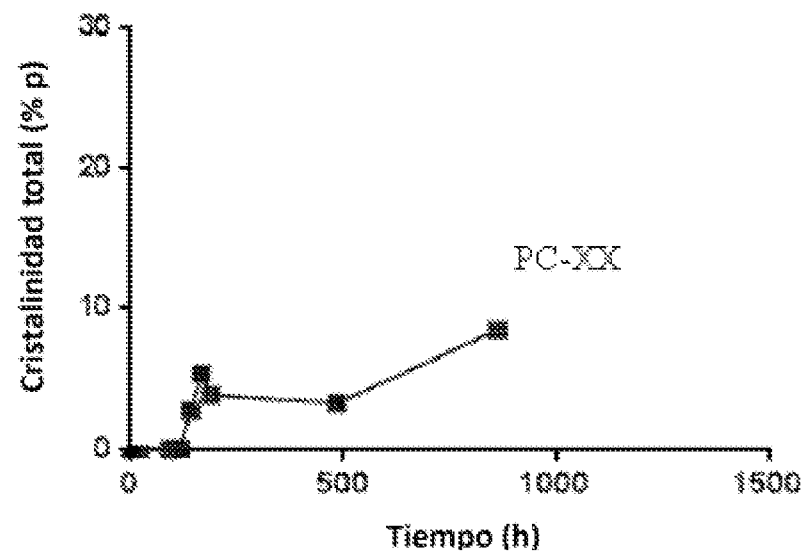


Figura 7

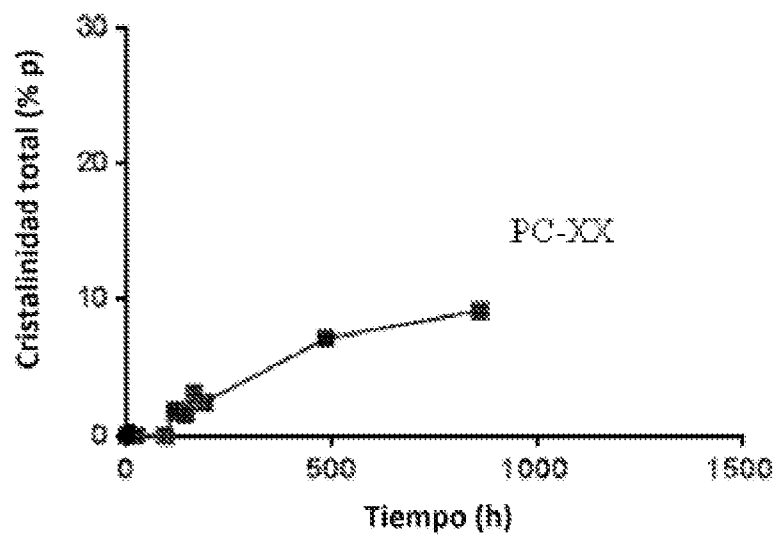


Figura 8

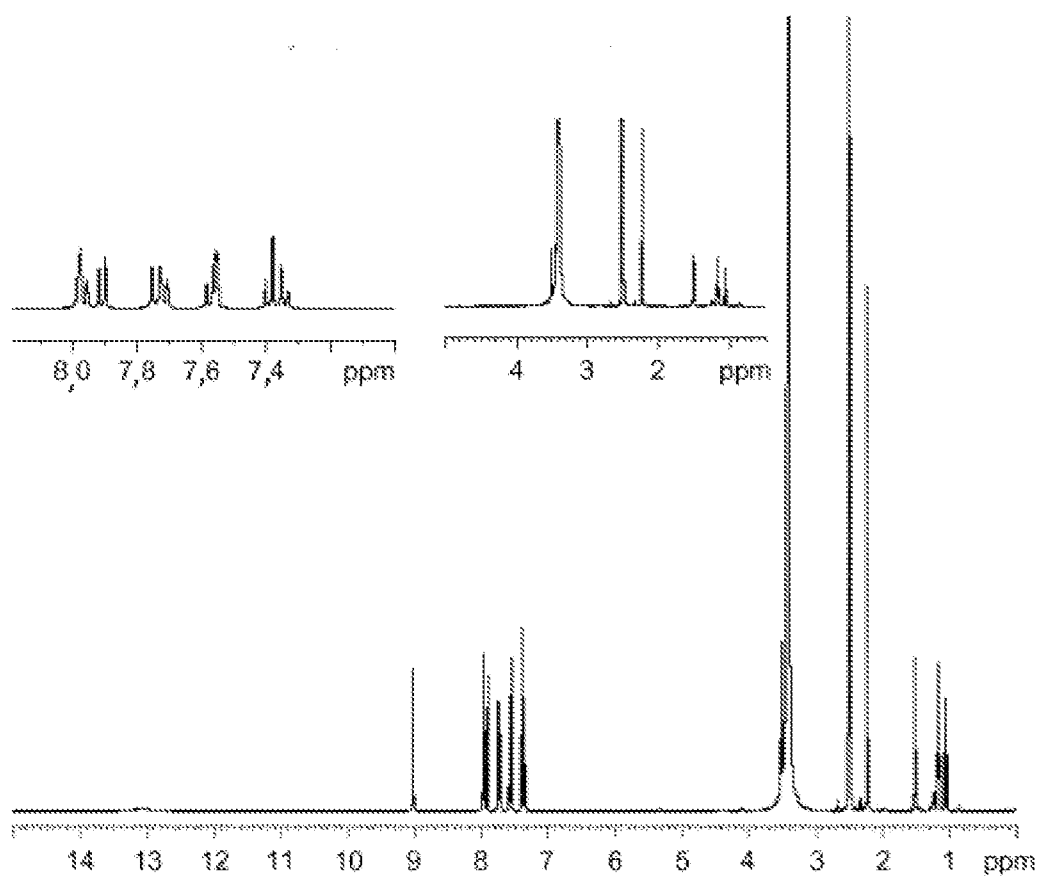


Figura 9

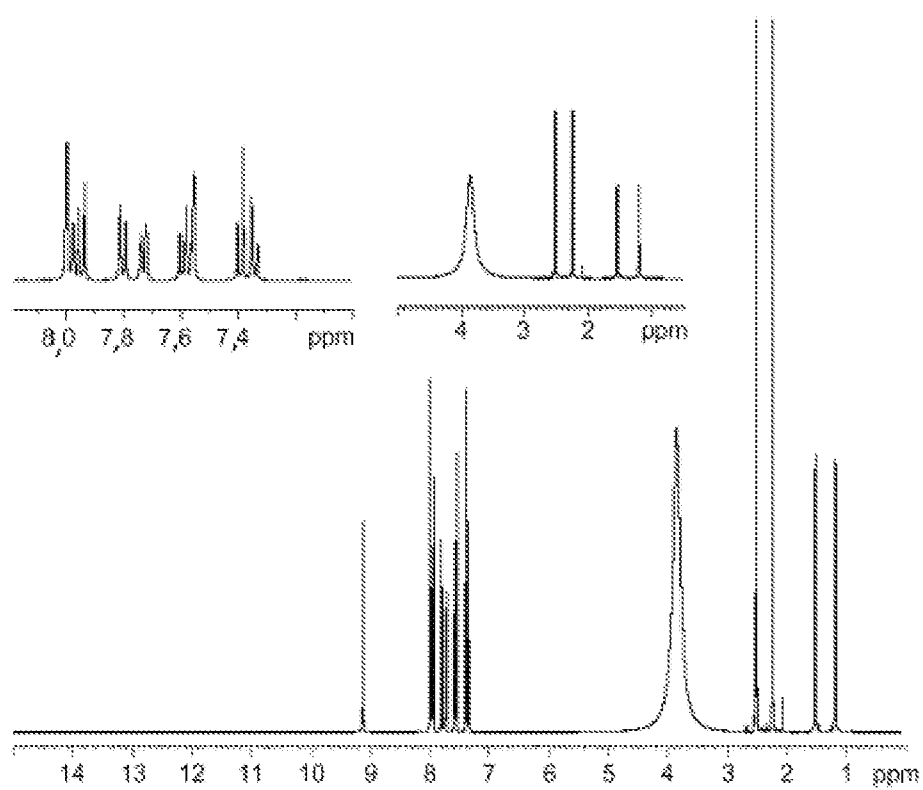


Figura 10

Flujo térmico (W/g)

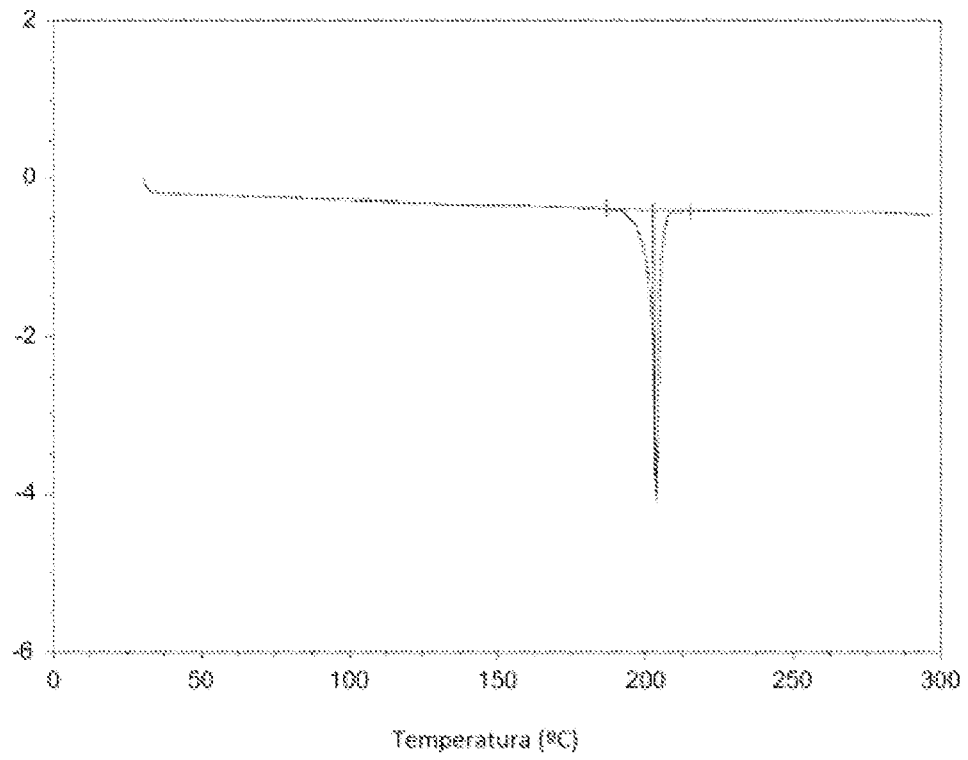


Figura 11

