

SIB EX4585R

P064439SM:ECO/REC

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo

domanda n° 13792149.0, pubblicazione n° 2914248

a nome di **Vertex Pharmaceuticals Incorporated**

di **50 Northern Avenue, Boston, Massachusetts 02210, U.S.A.**

* * * * *

"COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE PER IL TRATTAMENTO DI MALATTIE MEDIATE DA CFTR"

DESCRIZIONE

CAMPO TECNICO DELL'INVENZIONE

L'invenzione è definita nelle rivendicazioni e si riferisce a composizioni farmaceutiche comprendenti acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1) Forma I e una dispersione solida comprendente N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolina-3-carbossamide (Composto 2) sostanzialmente amorfa. Le composizioni farmaceutiche possono essere usate in metodi di trattamento. L'invenzione riguarda anche metodi di produzione di compresse, e kit comprendenti le composizioni farmaceutiche.

FONDAMENTO

La fibrosi cistica (CF) è una malattia genetica recessiva che colpisce circa 30.000 bambini e adulti negli U.S.A. e circa 30.000 bambini ed adulti in Europa. Nonostante i progressi nel trattamento della fibrosi cistica, non vi è alcuna cura.

Nei pazienti con CF, le mutazioni di CFTR espresso a livello endogeno in epitelii delle vie respiratorie portano ad una ridotta secrezione di anioni apicale che provoca uno squilibrio nel trasporto di ioni e fluidi. La conseguente diminuzione del trasporto di anioni contribuisce ad un aumento dell'accumulo di muco nel polmone e in infezioni microbiche risultanti che alla fine causano la morte nei pazienti con CF. Oltre alle malattie respiratorie, pazienti di CF in genere soffrono di problemi gastrointestinali e insufficienza pancreatica che, se non trattati, provocano la morte. Inoltre, la maggior parte dei maschi affetti da fibrosi cistica sono sterili e la fertilità è ridotta tra le donne con fibrosi cistica. In contrasto con i gravi effetti di due copie del gene associato a CF, gli individui con una sola copia del gene associato a CF mostrano maggiore resistenza al colera e alla disidratazione causata da diarrea - forse a spiegare la frequenza relativamente elevata del gene di CF nella popolazione.

Analisi di sequenza del gene CFTR dei cromosomi CF ha rivelato una varietà di malattie che causano mutazioni (Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863-870; e Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451). Ad oggi, sono state identificate più di 1000 mutazioni che provocano malattie nel gene di CF

(<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>). La mutazione più diffusa è una delezione della fenilalanina in posizione 508 della sequenza amminoacidica di CFTR, e viene comunemente indicata come $\Delta F508$ -CFTR. Questa mutazione si verifica in circa il 70% dei casi di fibrosi cistica ed è associata con una malattia grave.

La delezione di residuo 508 in $\Delta F508$ -CFTR impedisce il corretto ripiegamento della proteina nascente. Ciò comporta l'impossibilità della proteina mutante di uscire dal reticolo endoplasmatico, e di dirigersi alla membrana plasmatica. Come risultato, il numero dei canali presenti nella membrana è molto inferiore rispetto a quello osservato in cellule esprimenti CFTR di tipo selvatico. Oltre ad un traffico indebolito, la mutazione risulta in un azionamento difettoso dei canali. Insieme, il numero ridotto di canali nella membrana e l'azionamento difettoso portano ad un ridotto trasporto di anioni attraverso gli epitelii portando a trasporto di ioni e fluidi difettoso. (Quinton, P.M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Alcuni studi hanno dimostrato, tuttavia, che i numeri ridotti di $\Delta F508$ -CFTR nella membrana sono funzionali, sebbene meno del CFTR di tipo selvatico (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Denning et al, *supra*; Pasyk e Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). Oltre a $\Delta F508$ -CFTR, altre mutazioni che causano malattie in CFTR che risultano in traffico, sintesi, e/o azionamento dei canali difettosi potrebbero essere sovra- o sotto-regolate per alterare la secrezione di anioni e modificare la progressione e/o gravità della malattia.

Il composto 1 in forma di sale è descritto in Pubblicazione PCT internazionale WO2007056341 e nel brevetto U.S.A. n. 7.741.321 come induttore dell'attività di CFTR e quindi come trattamento utile per malattie mediate da CFTR come la fibrosi cistica. Il composto 1 Forma I, che è una forma sostanzialmente cristallina e senza sale, è descritto in Pubblicazione PCT internazionale WO2009073757 e brevetto U.S.A. n. 8.507.534. Il composto 2 è descritto in Pubblicazione PCT internazionale WO2006002421 e brevetto U.S.A. n. 7.495.103 come induttore dell'attività di CFTR e quindi come trattamento utile per malattie mediate da CFTR come fibrosi cistica. Una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo è descritta in pubblicazione internazionale PCT WO2010019239 e domanda di brevetto U.S.A. pubblicata n. US20100074949.

Composti che sono potenziatori di CFTR, come il Composto 2, e composti che sono correttori di CFTR, come il Composto 1, hanno mostrato indipendentemente di avere utilità nel trattamento di malattie correlate a CFTR,

come la fibrosi cistica.

Di conseguenza, vi è la necessità di nuovi trattamenti di malattie mediate da CFTR che coinvolgono composti correttori e potenziatori di CFTR.

In particolare, vi è la necessità di terapie combinate per il trattamento di malattie mediate da CFTR, come la fibrosi cistica, che includono composti potenziatori e correttori di CFTR.

Più in particolare, vi è la necessità di terapie combinate per trattare malattie mediate da CFTR, come la fibrosi cistica, che includono composti di potenziamento di CFTR, come il Composto 2 sostanzialmente amorfo, in combinazione con composti correttori di CFTR, come Composto 1 Forma I.

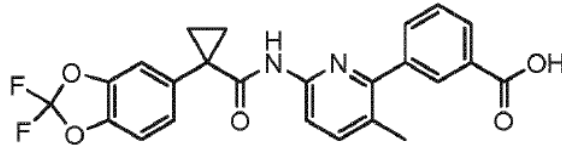
A composto 1 come parte di una combinazione con Composto 2 è stata concessa una Breakthrough Therapy Designation dalla Food and Drug Administration (FDA) per il trattamento della fibrosi cistica, una delle due sole concessioni al momento del deposito di questa domanda (l'altra essendo per il Composto 2). Ciò dimostra un significativo bisogno insoddisfatto di un trattamento efficace della causa della fibrosi cistica rispetto ai trattamenti sintomatici. Inoltre, una sfida comune per i farmaci approvati dalla FDA è l'occasionale mancanza di disponibilità di farmaci per i pazienti che ne hanno bisogno. Di conseguenza, esiste una significativa esigenza non soddisfatta per formulazioni di Composto 1 e Composto 2 descritti nella presente e procedimenti per prepararli in modo continuo e regolato.

Inoltre, l'adeguamento dei pazienti con i programmi di trattamento e le quantità di dosaggio dipende in gran parte dalla facilità di somministrazione del farmaco. Una composizione farmaceutica comprendente quantità fisse di dosaggio di un correttore di CFTR e di un potenziatore di CFTR, in cui le forme solide di detto correttore e potenziatore sono stabili, è una svolta significativa per il trattamento di malattie mediate da CFTR come la fibrosi cistica. WO 2010/019239 A2 descrive composizioni farmaceutiche comprendenti una dispersione solida di N-[2,4-Bis (1,1-dimetiletil)-5-idrossifenil]-1,4-diidro-4-ossochinolina-3-carbossammide, metodi di produzione di tali composizioni farmaceutiche, e metodi di somministrazione di queste composizioni farmaceutiche. WO 2009/073757 A1 descrive una forma allo stato solido sostanzialmente cristallina e libera di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[D][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico

(Forma I), sue composizioni farmaceutiche e metodi di trattamento con esse.

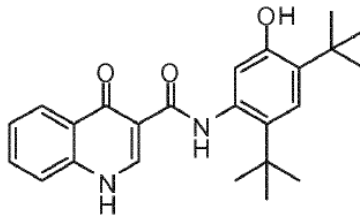
SOMMARIO

L'invenzione presenta composizioni farmaceutiche comprendenti 100 mg o 200 mg di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1) Forma I, che ha la struttura seguente:



Composto 1; e

una dispersione solida di N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide sostanzialmente amorfa (Composto 2), che ha la seguente struttura:



Composto 2;

in cui il Composto 2 sostanzialmente amorfo è presente nella composizione farmaceutica in una quantità di 125 mg,

in cui Composto 1 Forma I è caratterizzato da uno o più picchi a 15,4, 16,3, e 14,5 gradi in un modello di diffrazione di raggi X da polvere, e

in cui Composto 2 sostanzialmente amorfo ha una cristallinità inferiore al 15%.

In una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. un riempitivo;

d. un disintegrante;

e. un tensioattivo; e

f. un legante;

riferita come **PC-I**.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendono 30 fino a 55 percento in peso di Composto 1 Forma I, e 10 fino a 45 percento in di peso dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo.

In una realizzazione, il riempitivo è scelto tra cellulosa, cellulosa modificata, sodio carbossimetilcellulosa, etil cellulosa idrossimetilcellulosa, idrossipropilcellulosa, acetato di cellulosa, cellulosa microcristallina, fosfato di calcio bibasico, saccarosio, lattosio, amido di mais, amido di patata o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il riempitivo è cellulosa microcristallina ed è presente in una quantità che va dal 10 al 20 percento in peso.

In una realizzazione, il disintegrante è scelto tra agar-agar, alginati, carbonato di calcio, carbossimetilcellulosa, cellulosa, idrossipropilcellulosa, idrossipropilcellulosa a bassa sostituzione, argille, sodio croscarmellosa, crospovidone, gomme, silicato di magnesio alluminio, metilcellulosa, polacrilin potassio, sodio alginato, sodio amido glicolato, amido di mais, amido di patata, amido di tapioca o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il disintegrante è sodio croscarmellosa ed è presente in una quantità compresa tra 1 e 3% in peso.

In una realizzazione, il tensioattivo è scelto tra sodio lauril solfato, sodio stearyl fumarato, poliossietilene 20 sorbitano mono-oleato o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il tensioattivo è sodio lauril solfato ed è presente in una quantità compresa tra 0,5 e 2 percento in peso.

In una realizzazione, il legante è scelto tra polivinilpirrolidone, fosfato di calcio bibasico, saccarosio, amido di mais, cellulosa modificata, o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il legante è polivinilpirrolidone ed è presente in una quantità compresa tra 0 e 5 percento in peso.

Nella presente è descritta una composizione farmaceutica avente la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	35-50
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	25-40
Cellulosa microcristallina	10-20
Sodio croscarmellosa	1-3
Sodio lauril solfato	0,5-2
Polivinilpirrolidone	0-5

riferita come **PC-II**.

In un'altra realizzazione, la composizione farmaceutica comprende:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. un riempitivo;
- d. un disintegrante;
- e. un tensioattivo;
- f. un legante; e
- g. un lubrificante;

riferita come **PC-III**.

In un'altra realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendono circa 200 mg di Composto 1 Forma I, e circa 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendono 25 fino a 50 percento in peso di Composto 1 Forma I, e 15 fino a 35 percento in peso una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo.

In una realizzazione, il riempitivo è scelto tra cellulosa, cellulosa modificata, sodio carbossimetil cellulosa, etil cellulosa idrossimetil cellulosa, idrossipropilcellulosa, acetato di cellulosa, cellulosa microcristallina, fosfato di

calcio dibasico, saccarosio, lattosio, amido di mais, amido di patata, o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il riempitivo è cellulosa microcristallina, ed è presente in una quantità variabile da 20 fino a 30 percento in peso.

In una realizzazione, il disintegrante è scelto tra agar-agar, alginati, carbonato di calcio, carbossimetilcellulosa, cellulosa, idrossipropilcellulosa, idrossipropilcellulosa a bassa sostituzione, argille, sodio croscarmellosa, crospovidone, gomme, magnesio alluminio silicato, metilcellulosa, polacrilin potassio, sodio alginato, sodio amido glicolato, amido di mais, amido di patata, amido di tapioca, o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il disintegrante è sodio croscarmellosa, ed è presente in una quantità variabile da 3 a 10 percento in peso.

In una realizzazione, il tensioattivo è scelto tra sodio lauril solfato, sodio stearyl fumarato, poliossietilene 20 sorbitano mono-oleato, o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il tensioattivo è sodio lauril solfato, ed è presente in una quantità variabile da 0,5 fino a 2 percento in peso.

In una realizzazione, il legante è scelto tra polivinilpirrolidone, fosfato di calcio dibasico, saccarosio, amido di mais, cellulosa modificata, o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il legante è polivinilpirrolidone, ed è presente in una quantità variabile da 0 fino a 5 percento in peso.

In una realizzazione, il lubrificante è scelto tra magnesio stearato, calcio stearato, zinco stearato, sodio stearato, acido stearico, alluminio stearato, leucina, gliceril behenato, olio vegetale idrogenato o qualsiasi loro combinazione. In un'altra realizzazione, il lubrificante è magnesio stearato, ed è presente in una quantità variabile da 0,5 fino a 2 percento in peso.

In una realizzazione, la presente invenzione presenta una composizione farmaceutica avente la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	25-50
Una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	15-35

Cellulosa microcristallina	20-30
Sodio croscarmellosa	3-10
Sodio lauril solfato	0,5-2
Polivinilpirrolidone	0-5
Magnesio stearato	0,5-2

riferita come **PC-IV**.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendono inoltre un colorante e opzionalmente una cera. In un'altra realizzazione, il colorante è presente in una quantità variabile da 2 a 4 percento in peso. In un'altra realizzazione, la cera è cera carnauba presente in una quantità variabile da 0 fino a 0,020 percento in peso.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione sono composizioni farmaceutiche orali solide. In un'altra realizzazione, le composizioni farmaceutiche orali solide sono una composizione farmaceutica granulata o compressa.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche granulari della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	43
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	34
Cellulosa microcristallina	17
Sodio croscarmellosa	2
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3

riferita come **PC-V**.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche granulari della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	38
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	40
Cellulosa microcristallina	16
Sodio croscarmellosa	2
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3

riferita come **PC-VI**.

Composizioni farmaceutiche granulari aventi la seguente formulazione sono descritte nella presente:

	% in peso
Composto 1 Forma I	51
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	27
Cellulosa microcristallina	16
Sodio croscarmellosa	2
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3

riferita come **PC-VII**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	35
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	28
Composto 2	
Cellulosa microcristallina	26
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1

riferita come **PC-VIII**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	31
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	32
Cellulosa microcristallina	26
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1

riferita come **PC-IX**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	41
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	22
Cellulosa microcristallina	26
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1

riferita come **PC-X**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	150
Sodio croscarmellosa	34
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	15
Magnesio stearato	6

riferita come **PC-XI**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	150
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	129
Sodio croscarmellosa	30
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	13
Magnesio stearato	5

riferita come **PC-XII**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	104
Cellulosa microcristallina	128
Sodio croscarmellosa	29
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	13
Magnesio stearato	5

riferita come **PC-XIII**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	34
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	27
Cellulosa microcristallina	25
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1
Colorante	3

riferita come **PC-XIV**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	30
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	31
Cellulosa microcristallina	25
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1
Colorante	3

riferita come **PC-XV**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	40
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	21
Cellulosa microcristallina	25
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1
Colorante	3

riferita come **PC-XVI**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	150
Sodio croscarmellosa	34
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	15
Magnesio stearato	6

	mg
Colorante	17

riferita come **PC-XVII**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Composto 2 sostanzialmente amorfo	125
Cellulosa microcristallina	150
Sodio croscarmellosa	34
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	15
Magnesio stearato	6
Colorante	17

riferita come **PC-XVIII**

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	150
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	129
Sodio croscarmellosa	29
Sodio lauril solfato	4

Polivinilpirrolidone	13
Magnesio stearato	5
Colorante	15

riferita come **PC-XIX**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	104
Cellulosa microcristallina	128
Sodio croscarmellosa	29
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	13
Magnesio stearato	5
Colorante	14

riferita come **PC-XX**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	83
Cellulosa microcristallina	128
Sodio croscarmellosa	29

Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	13
Magnesio stearato	5
Colorante	14

riferita come **PC-XXI**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

Componente	% in peso
Composto 1 Forma I	20-40
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	30-40
Cellulosa microcristallina	20-30
Sodio croscarmellosa	1-10
Polivinilpirrolidone	1-5
Sodio lauril solfato	0,1-1
Magnesio stearato	0,5-1,5

riferita come **PC-XXII**.

In una realizzazione, le compresse della presente invenzione hanno la seguente formulazione:

Composto 1/Composto 2 100 mg/125 mg			
Componente	% in Granulo	% in Compresa	mg/Compresa
Composto 1 Forma I	30	25	100
Dispersione solida comprendente Composto 2	47	38	156

Composto 1/Composto 2 100 mg/125 mg			
Componente	% in Granulo	% in Compressa	mg/Compressa
sostanzialmente amorfo			
Cellulosa microcristallina	17	13	55
Sodio croscarmellosa	2	2	7
Polivinilpirrolidone	3	3	11
Sodio lauril solfato	1	1	3
Totale Granuli	100	82	332
Sodio croscarmellosa		4	18
Cellulosa microcristallina		13	53
Magnesio stearato		1	4
Totale Compressa		100	407

riferita come **PC-XXIII**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

Composto 1/Composto 2 150 mg/125 mg			
Componente	% in Granulo	% in Compressa	mg/Compressa
Composto 1 Forma I	38	31	150
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	40	32	156

Cellulosa microcristallina	16	13	65
Sodio croscarmellosa	2	2	8
Polivinilpirrolidone	3	3	13
Sodio lauril solfato	1	1	4
Totale Granuli	100	82	396
Sodio croscarmellosa		4	22
Cellulosa microcristallina		13	64
Magnesio stearato		1	5
Totale Compresse		100	487

riferita come **PC-XXIV**.

Nella presente sono descritte compresse avente la seguente formulazione:

Composto 1/Composto 2 75 mg/125 mg			
Componente	% in Granulo	% in Compresse	mg/Compresse
Composto 1 Forma I	25	20	75
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	52	43	156
Cellulosa microcristallina	17	13	49
Sodio croscarmellosa	2	2	6
Polivinilpirrolidone	3	3	10
Sodio lauril solfato	1	1	3

Totale Granuli	100	82	299
Sodio croscarmellosa		4	17
Cellulosa microcristallina		13	48
Magnesio stearato		1	4
Nucleo Compresa		100	368
Opadry rosa		3	11
Compresa rivestita con pellicola			379

riferita come **PC-XXV**.

In un aspetto, la presente invenzione presenta una composizione farmaceutica, composizione farmaceutica granulare, o compresa come definite nelle rivendicazioni per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare al paziente una quantità efficace della composizione farmaceutica, composizione farmaceutica granulare, o compresa.

In una realizzazione, la presente invenzione presenta una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 9, 13, o 15 per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare al paziente una quantità efficace della composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 9, 13, o 15.

In una realizzazione, il paziente ha una mutazione $\Delta F508$ CFTR. In un'altra realizzazione, il paziente è omozigote in $\Delta F508$. In un'altra realizzazione, il paziente è eterozigote in $\Delta F508$. In un'altra realizzazione, al paziente vengono somministrate due compresse al giorno.

In un aspetto, la presente invenzione presenta un metodo per preparare una compresa secondo la rivendicazione 14, in cui il metodo comprende

a) granulazione a umido dei seguenti componenti per produrre un granulo:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. un riempitivo;
- d. un disintegrante;
- e. un tensioattivo; e
- f. un legante;

e

b) compressione dei seguenti componenti per produrre una compressa:

- i) una pluralità di granuli da passaggio a)
- ii) un disintegrante;
- iii) un riempitivo; e
- iv) un lubrificante;

in cui Composto 1 Forma I è caratterizzato da uno o più picchi a 15,4, 16,3, e 14,5 gradi in un modello di diffrazione di raggi X da polvere, e

in cui Composto 2 sostanzialmente amorfo ha una cristallinità inferiore al 15%.

In un aspetto, la presente invenzione presenta un kit comprendente composizioni farmaceutiche, composizioni farmaceutiche granulari, o compresse della presente invenzione, e un agente terapeutico separato o sua composizione farmaceutica.

In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche, composizioni farmaceutiche granulari, o compresse della presente invenzione, e l'agente terapeutico separato o sua composizione farmaceutica sono in contenitori separati. In un'altra realizzazione, i contenitori separati sono bottiglie. In un'altra realizzazione, i contenitori separati sono fiale. In un'altra realizzazione, i contenitori separati sono confezioni a *blister*.

Nella presente è descritto un procedimento continuo o semicontinuo per preparare le composizioni farmaceutiche qui descritte mediante un procedimento di granulazione a umido a doppia vite comprendente le fasi di setacciatura e pesatura di Composto 1, Composto 2 e eccipienti; miscelazione di Composto 1, Composto 2 ed

eccipienti in un miscelatore e alimentazione della miscela in un granulatore continuo mentre si aggiunge un fluido di granulazione comprendente un tensioattivo e un legante ad un regime adatto per un adeguato periodo di tempo e taglio della miscela in granuli; essiccazione dei granuli; miscelazione dei granuli con eccipienti extragranulari per un tempo adeguato; compressione della miscela in compresse; rivestimento delle compresse; e, opzionalmente, stampaggio di un monogramma su una o entrambe le facce della compressa.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

Figura 1 è un modello di diffrazione di raggi X calcolato da una struttura monocristallina di Composto 1 Forma I.

Figura 2 è un modello di diffrazione di raggi X da polvere reale di Composto 1 Forma I.

Figura 3 è un grafico che mostra i profili di dissoluzione a gradiente di pH del Composto 1 per una compressa formata da un procedimento di granulazione ad alto fattore di taglio (HSG) e un procedimento di granulazione a doppia vite (TSWG) (LOD significa perdita per essiccazione, una misura per definire la quantità di acqua in una polvere/granulo).

Figura 4 è un grafico che mostra la stabilità della forma sostanzialmente amorfa del Composto 2 nella formulazione di compressa PC-XVII a 50°C dopo pre-equilibrazione al 60% di umidità relativa mostrando solo una piccola quantità di cristallinità nel tempo.

Figura 5 è un grafico che mostra la stabilità della forma sostanzialmente amorfa del Composto 2 nella formulazione di compressa PC-XVII a 60°C dopo pre-equilibrazione con un'umidità relativa del 60% mostrando solo una piccola quantità di cristallinità nel tempo.

Figura 6 è un grafico che mostra la stabilità della forma sostanzialmente amorfa del Composto 2 nella formulazione di compresse PC-XX a 60°C dopo pre-equilibrazione con un'umidità relativa del 60% mostrando solo una piccola quantità di cristallinità nel tempo.

Figura 7 è un grafico che mostra la stabilità della forma sostanzialmente amorfa del Composto 2 nella formulazione di compresse PC-XX a 50°C dopo pre-equilibrazione al 60% di umidità relativa mostrando solo una piccola quantità di cristallinità nel tempo.

Figura 8 è uno spettro $^1\text{HNMR}$ del composto 1.

Figura 9 è uno spettro $^1\text{HNMR}$ del sale HCl del composto 1.

Figura 10 è una traccia di calorimetria a scansione differenziale (DSC) di Composto 1 forma I.

Figura 11 è una immagine conformazionale di Composto 1 Forma I basata su analisi a raggi X a cristallo singolo.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

DEFINIZIONI

Come usato nella presente, "CFTR" sta per regolatore di conduttanza transmembrana della fibrosi cistica.

Come qui usato, una "mutazione ΔF508 " o "mutazione F508-del" è una mutazione specifica all'interno della proteina CFTR. La mutazione è una delezione dei tre nucleotidi che comprendono il codone per l'amminoacido fenilalanina in posizione 508, risultante in una proteina CFTR che non contiene questo residuo di fenilalanina.

Come usato nella presente, un paziente che è "omozigote" per una particolare mutazione, ad es. ΔF508 , ha la stessa mutazione su ciascun allele.

Come usato nella presente, un paziente che è "eterozigote" per una particolare mutazione, ad es. ΔF508 , ha questa mutazione su un allele e una diversa mutazione sull'allele altro.

Come usato nella presente, il termine "correttore di CFTR" si riferisce ad un composto che aumenta la quantità di proteina CFTR funzionale alla superficie della cellula, con conseguente aumento del trasporto di ioni.

Come qui usato, il termine "potenziatore di CFTR" si riferisce a un composto che aumenta l'attività del canale della proteina CFTR situata sulla superficie della cellula, con conseguente aumento del trasporto di ioni.

Come usato nella presente, il termine "ingrediente farmaceutico attivo" o "API" si riferisce ad un composto biologicamente attivo.

I termini "forma solida", "forme solide" e termini correlati, quando usati nella presente si riferiscono al Composto 1 o Composto 2, in una particolare forma solida ad es. cristalli e stati amorfi.

Come qui usato, il termine "sostanzialmente amorfo" si riferisce a un materiale solido avente poco o nessun ordine a lungo raggio nella posizione delle sue molecole. Per esempio, materiali sostanzialmente amorfi hanno

meno di circa 15% di cristallinità (ad esempio, meno di circa 10% di cristallinità o meno di circa 5% di cristallinità). Si noti inoltre che il termine "sostanzialmente amorfo" include il descrittore, "amorfo", che si riferisce a materiali che non hanno alcuna (0%) cristallinità.

Come usato nella presente, il termine "sostanzialmente cristallino" (come nella frase Composto 1 Forma I sostanzialmente cristallino si riferisce a un materiale solido avente ordine prevalentemente a lungo raggio nella posizione delle sue molecole. Ad esempio, materiali sostanzialmente cristallini hanno più dell'85% circa di cristallinità (ad esempio, più del 90% circa di cristallinità o più del 95% circa di cristallinità). Si fa inoltre notare che il termine "sostanzialmente cristallino" include il descrittore, "cristallino", che si riferisce a materiali con cristallinità al 100%.

Il termine "cristallino" e i termini correlati qui usati, quando usati per descrivere una sostanza, un componente, un prodotto o una forma, indicano che la sostanza, il componente o il prodotto sono sostanzialmente cristallini come determinato dalla diffrazione dei raggi X. (Vedi, ad esempio, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21° ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland (2003)); The United States Pharmacopeia, 23 ed., 1843-1844 (1995)).

Come usato nella presente, un "eccipiente" include ingredienti funzionali e non funzionali in una composizione farmaceutica.

Come usato nella presente, un "disintegrante" è un eccipiente che idrata una composizione farmaceutica e aiuta nella dispersione della compressa. Come usato nella presente, un "diluente" o "riempitivo" è un eccipiente che aggiunge volume a una composizione farmaceutica.

Come usato nella presente, un "tensioattivo" è un eccipiente che conferisce a composizioni farmaceutiche una maggiore solubilità e/o bagnabilità.

Come usato nella presente, un "legante" è un eccipiente che conferisce ad una composizione farmaceutica maggiore coesione o resistenza a trazione (ad es. durezza).

Come usato nella presente, un "agente di scorrevolezza" è un eccipiente che conferisce a una composizione farmaceutica proprietà di scorrimento migliorate.

Come usato nella presente, un "colorante" è un eccipiente che conferisce ad una composizione farmaceutica, ad es. una compressa, un colore desiderato. Esempi di coloranti includono pigmenti disponibili in commercio come FD&C Blue #1 Aluminum Lake, FD & C Blue # 2, altri colori FD&C Blue, biossido di titanio, ossido di ferro e/o loro combinazioni. In una realizzazione, la compressa fornita dall'invenzione è rosa.

Come usato nella presente, un "lubrificante" è un eccipiente che viene aggiunto a composizioni farmaceutiche che vengono pressate in compresse. Il lubrificante aiuta a compattare i granuli in compresse ed espellere una compressa di una composizione farmaceutica da uno stampo.

Come qui usato, "centimetro cubico" e "cc" sono usati in modo equivalente per rappresentare un'unità di volume. Notare che 1 cc = 1 ml.

Come qui usato, "kiloPond" e "kP" sono usati in modo equivalente e si riferiscono alla misura di forza dove un kP = circa 9,8 Newton.

Come qui usato, "friabilità" si riferisce alla proprietà di una compressa di rimanere intatta e mantenere la sua forma nonostante una forza di pressione esterna. La friabilità può essere quantificata usando l'espressione matematica presentata nell'equazione 1:

$$\% \text{ friabilità} = 100 \times \frac{(W_0 - W_f)}{W_0} \quad (1)$$

dove W_0 è il peso originale della compressa e W_f è il peso finale della compressa dopo che è passata attraverso il dispositivo per prova di friabilità. La friabilità è misurata usando un apparato di prova standard USP che fa rotolare le compresse sperimentali per 100 o 400 giri. Alcune compresse dell'invenzione hanno una friabilità inferiore al 5,0%. In un'altra realizzazione, la friabilità è inferiore al 2,0%. In un'altra realizzazione, la friabilità del bersaglio è inferiore all'1,0% dopo 400 giri.

Come qui usato, "diametro medio delle particelle" è il diametro medio delle particelle misurato usando tecniche come la diffusione della luce laser, analisi delle immagini, o analisi su setaccio. In una realizzazione, i granuli usati per preparare le composizioni farmaceutiche fornite dall'invenzione hanno un diametro medio delle

particelle inferiore a 1,0 mm.

Come qui usato, "densità apparente" è la massa di particelle di materiale divisa per il volume totale occupato dalle particelle. Il volume totale include il volume delle particelle, il volume del vuoto interparticellare e il volume interno dei pori. La densità apparente non è una proprietà intrinseca di un materiale; essa può cambiare a seconda di come viene elaborato il materiale. In una realizzazione, i granuli usati per preparare le composizioni farmaceutiche fornite dall'invenzione hanno una densità apparente di circa 0,5-0,7 g/cc.

Una "quantità efficace" o "quantità terapeuticamente efficace" di un composto dell'invenzione può variare secondo fattori come lo stato della malattia, l'età e il peso del soggetto, e la capacità del composto dell'invenzione di suscitare una risposta desiderata nel soggetto. I regimi di dosaggio possono essere regolati per fornire la risposta terapeutica ottimale. Una quantità efficace è anche quella in cui qualsiasi effetto tossico o dannoso (ad esempio, effetti collaterali) del composto dell'invenzione è superato dagli effetti terapeuticamente benefici.

Come qui usato, e se non diversamente specificato, i termini "quantità terapeuticamente efficace" e "quantità efficace" di un composto indicano una quantità sufficiente a fornire un beneficio terapeutico nel trattamento o nella gestione di una malattia o disturbo, o ritardare o minimizzare uno o più sintomi associati alla malattia o disturbo. Una "quantità terapeuticamente efficace" e "quantità efficace" di un composto indicano una quantità di agente terapeutico, da solo o in combinazione con uno o più altri agenti, che fornisce un beneficio terapeutico nel trattamento o nella gestione della malattia o disturbo. I termini "quantità terapeuticamente efficace" e "quantità efficace" possono comprendere una quantità che migliora la terapia generale, riduce o evita sintomi o cause di malattia o disturbo o migliora l'efficacia terapeutica di un altro agente terapeutico.

"Sostanzialmente puro" come usato nella frase "Composto 1 forma I sostanzialmente puro" significa maggiore di circa 90% di purezza. In un'altra realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa il 95%. In un'altra realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa il 98%. In un'altra realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa il 99%.

Per quanto riguarda il Composto 1 Forma I, o una dispersione solida comprendente il Composto 2

sostanzialmente amorfo, i termini "circa" e "approssimativamente", quando usati in relazione a dosi, quantità o percentuale in peso di ingredienti di una composizione o di una forma di dosaggio, significa una dose, una quantità o una percentuale in peso riconosciuta da un esperto nella tecnica come adatta a fornire un effetto farmacologico equivalente a quello ottenuto dalla dose, quantità o percentuale in peso specificate. Specificamente, il termine "circa" o "approssimativamente" indica un errore accettabile per un particolare valore come determinato da un normale esperto nella tecnica, che dipende in parte da come il valore è misurato o determinato. In alcune realizzazioni, il termine "circa" o "approssimativamente" significa entro 1, 2, 3 o 4 deviazioni standard. In alcune realizzazioni, il termine "circa" o "approssimativamente" significa all'interno del 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1% o 0,05% di un dato valore o intervallo.

COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE

L'invenzione fornisce composizioni farmaceutiche comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente composto 2 sostanzialmente amorfo. La quantità di Composto 1 Forma I che è presente nella composizione farmaceutica è di 100 mg o 200 mg. In alcune realizzazioni di questo aspetto, la percentuale in peso del composto 1 modulo I presente nella composizione farmaceutica è dal 10 al 75%. In queste ed altre realizzazioni, il Composto 1 Forma I è presente come Composto 1 Forma I sostanzialmente puro. La quantità di Composto 2 sostanzialmente amorfo che è presente nella composizione farmaceutica è di 125 mg. In alcune realizzazioni di questo aspetto, la percentuale in peso di Composto 2 sostanzialmente amorfo che è presente nella composizione farmaceutica varia dal 10 al 75%. In queste ed altre realizzazioni, il Composto 2 sostanzialmente amorfo è presente come composto 2 sostanzialmente puro e amorfo. "Sostanzialmente puro" significa superiore al 90% di purezza; preferibilmente superiore al 95% di purezza; più preferibilmente superiore al 99,5% di purezza.

In una realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente:

- a. Composto 1 Forma I;
- b. una dispersione solida di Composto 2 sostanzialmente amorfo;

- c. un riempitivo;
- d. un disintegrante;
- e. un tensioattivo; e
- f. un legante.

In un'altra realizzazione di questo aspetto, la composizione farmaceutica comprende 100 mg di Composto 1 Forma I. In un'altra realizzazione di questo aspetto, la composizione farmaceutica comprende 200 mg di Composto 1 Forma I.

In un'altra realizzazione di questo aspetto, la composizione farmaceutica comprende 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo.

In alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche comprendono Composto 1 Forma I, in cui Composto 1 Forma I è presente in una quantità di almeno 15% in peso (ad es., almeno 20% in peso, almeno 30% in peso, almeno 40% in peso, almeno 50% in peso, o almeno 60% in peso) per peso della composizione.

In alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche comprendono Composto 2 sostanzialmente amorfo, in cui il Composto 2 sostanzialmente amorfo è presente in una quantità di almeno 15% in peso (ad es., almeno 20% in peso, almeno 30% in peso, almeno 40% in peso, almeno 50% in peso, o almeno 60% in peso) per peso della composizione.

In alcune realizzazioni, la composizione farmaceutica comprende Composto 1 Forma I, una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo, un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, e un legante.

La concentrazione di Composto 1 Forma I e Composto 2 sostanzialmente amorfo nella composizione dipende da diversi fattori come la quantità di composizione farmaceutica necessaria per fornire una quantità desiderata di Composto 1 Forma I e composto amorfo sostanzialmente 2 e il profilo di dissoluzione desiderato della composizione farmaceutica .

In un'altra realizzazione, la composizione farmaceutica comprende il Composto 1 Forma I, in cui il Composto 1 Forma I nella sua forma solida ha un diametro medio delle particelle, misurato mediante dispersione di luce (ad

esempio, usando un Mastersizer Malvern disponibile da Malvern Instruments in Inghilterra) di 0,1 micron fino a 10 micron. In un'altra realizzazione, la dimensione delle particelle di Composto 1 Forma I è compresa tra 1 micron e 5 micron. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I ha una dimensione di particelle D50 di 2,0 micron.

Come indicato, oltre al Composto 1 Forma I e una dispersione solida di Composto 2 sostanzialmente amorfo, in alcune realizzazioni dell'invenzione, le composizioni farmaceutiche che sono formulazioni orali comprendono anche uno o più eccipienti come riempitivi, disintegranti, tensioattivi, diluenti, leganti, agenti di scorrevolezza, lubrificanti, coloranti o profumi e qualsiasi loro combinazione.

I riempitivi adatti per l'invenzione sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza, la stabilità chimica, la stabilità fisica o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Riempitivi illustrativi includono: cellulose, cellulose modificate (ad esempio sodio carbossimetilcellulosa, etilcellulosa idrossimetilcellulosa, idrossipropilcellulosa), acetato di cellulosa, cellulosa microcristallina, fosfati di calcio, calcio fosfato bibasico, amidi (ad es. amido di mais, amido di patata), zuccheri (ad es. sorbitolo, lattosio, saccarosio) o qualsiasi loro combinazione.

Pertanto, in una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende almeno un riempitivo in una quantità di almeno il 5% in peso (ad esempio almeno circa il 20% in peso, almeno circa il 30% in peso, o almeno circa il 40% in peso) in peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa il 10% in peso a circa il 60% in peso (ad esempio da circa il 20% in peso a circa il 55% in peso, da circa il 25% in peso a circa il 50% in peso, o da circa il 27% in peso a circa 45% in peso) di riempitivo, in peso della composizione.

In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende almeno circa il 20% in peso (ad esempio almeno il 30% in peso o almeno il 40% in peso) di cellulosa microcristallina, ad esempio MCC Avicel PH102, in peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa il 10% in peso a circa il 60% in peso (ad esempio da circa il 20% in peso a circa il 55% in peso o da circa il 25% in peso a circa il 45% in peso) di microcellulosa, in peso della composizione.

Disintegranti adatti per l'invenzione migliorano la dispersione della composizione farmaceutica e sono

compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè non riducono sostanzialmente la stabilità chimica, la stabilità fisica, la durezza o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Disintegranti illustrativi includono sodio croscarmellosa, sodio amido glicolato, o una loro combinazione.

Pertanto, in una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende disintegrante in una quantità di circa 10% in peso o meno (ad es., circa 7% in peso o meno, circa 6% in peso o meno, o circa 5% in peso o meno) per peso della composizione, per esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 1% in peso fino a circa 10% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso fino a circa 7,5% in peso o da circa 2,5% in peso fino a circa 6% in peso) di disintegrante, per peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende circa 10% in peso o meno (ad es., 7% in peso o meno, 6% in peso o meno, o 5% in peso o meno) di sodio croscarmellosa, per peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 1% in peso fino a circa 10% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso fino a circa 7,5% in peso o da circa 2,5% in peso fino a circa 6% in peso) di sodio croscarmellosa, per peso della composizione. In alcuni esempi, la composizione farmaceutica comprende da circa 0,1% fino a circa 10% in peso (ad es., da circa 0,5% in peso fino a circa 7,5% in peso o da circa 1,5% in peso fino a circa 6% in peso) di disintegrante, per peso della composizione. In ancora altri esempi, la composizione farmaceutica comprende da circa 0,5% fino a circa 10% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso fino a circa 7,5% in peso o da circa 2,5% in peso fino a circa 6% in peso) di disintegrante, per peso della composizione.

Tensioattivi adatti per l'invenzione potenziano la bagnabilità della composizione farmaceutica e sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè, essi non riducono sostanzialmente la stabilità chimica, la stabilità fisica, la durezza, o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Tensioattivi illustrativi includono sodio lauril solfato (SLS), sodio stearil fumarato (SSF), poliossietilene 20 sorbitano mono-oleato (ad es., Tween™), o qualsiasi loro combinazione.

Pertanto, in una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un tensioattivo in una quantità di circa 10% in peso o meno (ad es., circa 5% in peso o meno, circa 2% in peso o meno, circa 1% in peso o meno, circa 0,8% in peso o meno, o circa 0,6% in peso o meno) per peso della composizione, per esempio, la composizione

farmaceutica include da circa 10% in peso fino a circa 0,1% in peso (ad es., da circa 5% in peso fino a circa 0,2% in peso o da circa 2% in peso fino a circa 0,3% in peso) di tensioattivo, per peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende 10% in peso o meno (ad es., circa 5% in peso o meno, circa 2% in peso o meno, circa 1% in peso o meno, circa 0,8% in peso o meno, o circa 0,6% in peso o meno) di sodio lauril solfato, per peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 10% in peso fino a circa 0,1% in peso (ad es., da circa 5% in peso fino a circa 0,2% in peso o da circa 2% in peso fino a circa 0,3% in peso) di sodio lauril solfato, per peso della composizione.

Leganti adatti per l'invenzione potenziano la resistenza della compressa della composizione farmaceutica e sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè, essi non riducono sostanzialmente la stabilità chimica, la stabilità fisica, o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Leganti illustrativi includono polivinilpirrolidone, fosfato di calcio dibasico, saccarosio, amido di granturco (mais), cellulosa modificata (ad es., idrossimetil cellulosa), o qualsiasi loro combinazione.

Pertanto, in una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un legante in una quantità di almeno circa 0,1% in peso (ad es., almeno circa 1% in peso, almeno circa 3% in peso, almeno circa 4% in peso, o almeno circa 5% in peso) per peso della composizione, per esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 0,1% in peso fino a circa 10% in peso (ad es., da circa 1% in peso fino a circa 10% in peso o da circa 2% in peso fino a circa 7% in peso) di legante, per peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende almeno circa 0,1% in peso (ad es., almeno circa 1% in peso, almeno circa 2% in peso, almeno circa 3% in peso, o almeno circa 4% in peso) di polivinilpirrolidone, per peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende un agente di scorrevolezza in una quantità variabile da circa 0,1% in peso fino a circa 10% in peso (ad es., da circa 1% in peso fino a circa 8% in peso o da circa 2% in peso fino a circa 5% in peso) di polivinilpirrolidone, per peso della composizione.

Diluenti adatti per l'invenzione possono aggiungere la massa necessaria a una formulazione per preparare compresse della dimensione desiderata e sono generalmente compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza, la stabilità chimica, la stabilità, o

l'attività biologica della composizione farmaceutica. Diluenti illustrativi includono: zuccheri, per esempio, zucchero a velo, zucchero comprimibile, destrati, destrina, destrosio, lattosio, mannitolo, sorbitolo, cellulosa e cellulose modificate, per esempio, cellulosa in polvere, talco, fosfato di calcio, amido o qualsiasi loro combinazione.

Pertanto, in una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un diluente in una quantità di 40% in peso o meno (ad es., 35% in peso o meno, 30% in peso o meno, o 25% in peso o meno, o 20% in peso o meno, o 15% in peso o meno, o 10% in peso o meno) per peso della composizione, per esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 40% in peso fino a circa 1% in peso (ad es., da circa 35% in peso fino a circa 5% in peso o da circa 30% in peso fino a circa 7% in peso, da circa 25% in peso fino a circa 10% in peso, da circa 20% in peso fino a circa 15% in peso) di diluente, per peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende 40% in peso o meno (ad es., 35% in peso o meno, 25% in peso o meno, o 15% in peso o meno) di mannitolo, per peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 35% in peso fino a circa 1% in peso (ad es., da circa 30% in peso fino a circa 5% in peso o da circa 25% in peso fino a circa 10% in peso) di mannitolo, per peso della composizione.

Agenti di scorrevolezza adatti per l'invenzione migliorano le proprietà di scorrimento della composizione farmaceutica e sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè, essi non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza, la stabilità chimica, la stabilità fisica, o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Agenti di scorrevolezza illustrativi includono biossido di silicio colloidale, talco, o una loro combinazione.

Pertanto, in una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un agente di scorrevolezza in una quantità di 2% in peso o meno (ad es., 1,75% in peso, 1,25% in peso o meno, o 1,00% in peso o meno) per peso della composizione, per esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 2% in peso fino a circa 0,05% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso fino a circa 0,07% in peso o da circa 1,0% in peso fino a circa 0,09% in peso) di agente di scorrevolezza, per peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende 2% in peso o meno (ad es., 1,75% in peso, 1,25% in peso o meno, o 1,00% in peso o

meno) di biossido di silicio colloidale, per peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 2% in peso fino a circa 0,05% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso fino a circa 0,07% in peso o da circa 1,0% in peso fino a circa 0,09% in peso) di biossido di silicio colloidale, per peso della composizione.

In alcune realizzazioni, la composizione farmaceutica può includere una forma di dosaggio farmaceutico solido orale che può comprendere un lubrificante che può impedire l'adesione di un additivo a granuli su una superficie (ad esempio, una superficie di una ciotola di miscelazione, uno stampo di compressione e/o un punzone). Un lubrificante può anche ridurre l'attrito interparticellare all'interno del granulato e migliorare la compressione e l'espulsione di composizioni farmaceutiche compresse da una pressa per stampi. Il lubrificante è anche compatibile con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè non riduce sostanzialmente la solubilità, la durezza o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Lubrificanti illustrativi includono stearato di magnesio, stearato di calcio, stearato di zinco, stearato di sodio, acido stearico, alluminio stearato, leucina, gliceril-behenato, olio vegetale idrogenato o qualsiasi loro combinazione. In una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un lubrificante in una quantità di 5% in peso o meno (ad es., 4,75% in peso, 4,0% in peso o meno, o 3,00% in peso o meno, o 2,0% in peso o meno) per peso della composizione, per esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 5% in peso fino a circa 0,10% in peso (ad es., da circa 4,5% in peso fino a circa 0,5% in peso o da circa 3% in peso fino a circa 1% in peso) di lubrificante, per peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende 5% in peso o meno (ad es., 4,0% in peso o meno, 3,0% in peso o meno, o 2,0% in peso o meno, o 1,0% in peso o meno) di magnesio stearato, per peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 5% in peso fino a circa 0,10% in peso (ad es., da circa 4,5% in peso fino a circa 0,15% in peso o da circa 3,0% in peso fino a circa 0,50% in peso) di magnesio stearato, per peso della composizione.

Composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono opzionalmente comprendere uno o più coloranti, aromi e/o fragranze per migliorare l'aspetto visivo, il gusto e/o il profumo della composizione. Coloranti, aromi o fragranze adatti sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè non riducono sostanzialmente

la solubilità, la stabilità chimica, la stabilità fisica, la durezza o l'attività biologica della composizione farmaceutica. In una realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un colorante, un aroma e/o una fragranza. In una realizzazione, le composizioni farmaceutiche fornite dall'invenzione sono porpora.

In alcune realizzazioni, la composizione farmaceutica include o può essere formata in compresse e le compresse possono essere rivestite con un colorante e opzionalmente etichettate con un logo, altra immagine e/o testo usando un inchiostro adatto. In ancora altre realizzazioni, la composizione farmaceutica include o può essere formata in compresse e le compresse possono essere rivestite con un colorante, cerate e opzionalmente etichettate con un logo, altra immagine e/o testo usando un inchiostro adatto. Coloranti e inchiostri adatti sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, cioè non riducono sostanzialmente la solubilità, la stabilità chimica, la stabilità fisica, la durezza o l'attività biologica della composizione farmaceutica. I coloranti e gli inchiostri adatti possono essere di qualsiasi colore e sono a base di acqua o solvente. In una realizzazione, le compresse prodotte dalla composizione farmaceutica sono rivestite con un colorante e poi etichettate con un logo, altra immagine e/o testo usando un inchiostro adatto. Ad esempio, le compresse comprendenti una composizione farmaceutica come descritta nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad esempio, meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di rivestimento di pellicola comprendente un colorante. Le compresse colorate possono essere etichettate con un logo e un testo che indica la concentrazione del principio attivo nella compressa usando un inchiostro adatto. In un altro esempio, le compresse comprendenti una composizione farmaceutica come descritta nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad esempio, meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di un rivestimento di pellicola comprendente un colorante.

In un'altra realizzazione, le compresse prodotte dalla composizione farmaceutica sono rivestite con un colorante, cerate, e poi etichettate con un logo, altra immagine e/o testo usando un inchiostro adatto. Ad esempio, le compresse comprendenti una composizione farmaceutica come descritta nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad esempio, meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di rivestimento di pellicola comprendente un colorante. Le compresse colorate possono essere cerate con polvere di cera Carnauba

pesata in quantità di circa 0,01% p/p del peso del nucleo della compressa di partenza. Le compresse cerate possono essere etichettate con un logo e un testo che indica la concentrazione del principio attivo nella compressa usando un inchiostro adatto. In un altro esempio, le compresse comprendenti una composizione farmaceutica come descritta nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad esempio, meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di un rivestimento di pellicola comprendente un colorante. Le compresse colorate possono essere cerate con polvere di cera carnauba del peso di circa 0,01% p/p del peso del nucleo della compressa di partenza. Le compresse cerate possono essere etichettate con un logo e un testo che indica la concentrazione del principio attivo nella compressa usando un inchiostro di grado farmaceutico come un inchiostro nero (ad esempio, Opacode® S-1-17823, un inchiostro a base di solvente, disponibile in commercio da Colorcon, Inc. di West Point, PA.).

Una composizione farmaceutica illustrativa qui descritta comprende da circa 15% in peso fino a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso fino a circa 60% in peso, da circa 15% in peso fino a circa 50% in peso, o da circa 20% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso fino a circa 70% in peso) di Composto 1 Forma I, per peso della composizione; e da circa 15% in peso fino a circa 40% in peso (ad es., circa 20-35% in peso) di Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione, e più tipicamente, da 25% in peso fino a circa 30% in peso di Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione. Le summenzionate composizioni possono anche includere uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente, per esempio, da circa 20% in peso fino a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso fino a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso fino a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; e da circa 0,1% in peso fino a circa 5% in peso di un legante.

Un'altra composizione farmaceutica illustrativa descritta nella presente comprende da circa 15% in peso fino a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso fino a circa 60% in peso, da circa 15% in peso fino a circa 50% in peso, o da circa 15% in peso fino a circa 40% in peso o da circa 20% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 40% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 50% in peso fino a circa 70% in peso) di Composto 1 Forma I per peso della composizione, da circa 15% in peso fino a

circa 40% in peso (ad es., circa 20-35% in peso) di Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione, e più tipicamente, da 25% in peso fino a circa 30% in peso di Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione, e uno o più eccipienti, per esempio, da circa 20% in peso fino a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso fino a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso fino a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso fino a circa 5% in peso di un legante; e da circa 2% in peso fino a circa 0,1% in peso di un lubrificante.

Un'altra composizione farmaceutica illustrativa descritta nella presente comprende da circa 15% in peso fino a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso fino a circa 60% in peso, da circa 15% in peso fino a circa 50% in peso, o da circa 15% in peso fino a circa 40% in peso o da circa 20% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 40% in peso fino a circa 70% in peso, o da circa 50% in peso fino a circa 70% in peso) di Composto 1 Forma I per peso della composizione, da circa 15% in peso fino a circa 40% in peso (ad es., circa 20-35% in peso) di Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione, e più tipicamente, da 25% in peso fino a circa 30% in peso di Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione, e uno o più eccipienti, per esempio, da circa 20% in peso fino a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso fino a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso fino a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso fino a circa 5% in peso di un legante; da circa 2% in peso fino a circa 0,1% in peso di un lubrificante; da circa 2% in peso fino a circa 4% in peso di colorante; e circa 0,005% in peso fino a circa 0,015% in peso di cera.

In una realizzazione, l'invenzione è una composizione farmaceutica granulare comprendente:

- a. circa 43% in peso di Composto 1 Forma I per peso della composizione;
- b. circa 34% in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione;
- c. circa 17% in peso di cellulosa microcristallina per peso della composizione;
- d. circa 2% in peso di sodio croscarmellosa per peso della composizione;
- e. circa 1% in peso di sodio lauril solfato per peso della composizione; e

f. circa 3% in peso di polivinilpirrolidone per peso della composizione.

In una realizzazione, l'invenzione è una compressa comprendente:

- a. circa 35% in peso di Composto 1 Forma I per peso della composizione;
- b. circa 28% in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione;
- c. circa 26% in peso di cellulosa microcristallina per peso della composizione;
- d. circa 6% in peso di sodio croscarmellosa per peso della composizione;
- e. circa 3% in peso di polivinilpirrolidone per peso della composizione;
- f. circa 1% in peso di sodio lauril solfato per peso della composizione; e
- g. circa 1% in peso di magnesio stearato per peso della composizione.

In una realizzazione, l'invenzione è una compressa comprendente:

- a. circa 34% in peso di Composto 1 Forma I per peso della composizione;
- b. circa 27% in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione;
- c. circa 26% in peso di cellulosa microcristallina per peso della composizione;
- d. circa 6% in peso di sodio croscarmellosa per peso della composizione;
- e. circa 2% in peso di polivinilpirrolidone per peso della composizione
- f. circa 1% in peso di sodio lauril solfato per peso della composizione;
- g. circa 1% in peso di magnesio stearato per peso della composizione;
- h. circa 3% in peso di un colorante per peso della composizione; e
- i. circa 0,010% in peso di una cera per peso della composizione.

Un'altra compressa descritta nella presente comprende:

- a. circa 150 fino a 250 mg di Composto 1 Forma I;
- b. circa 100 fino a 150 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. circa 125 fino a 175 mg di cellulosa microcristallina;

- d. circa 20 fino a 40 mg di sodio croscarmellosa;
- e. circa 10 fino a 20 mg di polivinilpirrolidone;
- f. circa 2 fino a 6 mg di sodio lauril solfato; e
- g. circa 3 fino a 7 mg di magnesio stearato.

Un'altra compressa dell'invenzione comprende:

- a. 200 mg di Composto 1 Forma I;
- b. 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. circa 150 mg di cellulosa microcristallina;
- d. circa 34 mg di sodio croscarmellosa;
- e. circa 15 mg di polivinilpirrolidone;
- f. circa 4 mg di sodio lauril solfato; e
- g. circa 6 mg di magnesio stearato.

Un'altra compressa dell'invenzione comprende:

- a. 200 mg di Composto 1 Forma I;
- b. 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. circa 150 mg di cellulosa microcristallina;
- d. circa 34 mg di sodio croscarmellosa;
- e. circa 15 mg di polivinilpirrolidone;
- f. circa 4 mg di sodio lauril solfato;
- g. circa 6 mg di magnesio stearato;
- h. circa 17 mg di un colorante; e
- i. circa 0,06 mg di una cera.

In una realizzazione, l'invenzione è una composizione farmaceutica granulare comprendente:

- a. circa 38% in peso di Composto 1 Forma I per peso della composizione;
- b. circa 40% in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della

composizione;

c. circa 16% in peso di cellulosa microcristallina per peso della composizione;

d. circa 2% in peso di sodio croscarmellosa per peso della composizione;

e. circa 1% in peso di sodio lauril solfato per peso della composizione; e

f. circa 3% in peso di polivinilpirrolidone per peso della composizione.

In una realizzazione, l'invenzione è una compressa comprendente:

a. circa 31% in peso di Composto 1 Forma I per peso della composizione;

b. circa 32% in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo per peso della composizione;

c. circa 26% in peso di cellulosa microcristallina per peso della composizione;

d. circa 6% in peso di sodio croscarmellosa per peso della composizione;

e. circa 3% in peso di polivinilpirrolidone per peso della composizione

f. circa 1% in peso di sodio lauril solfato per peso della composizione;

g. circa 1% in peso di magnesio stearato per peso della composizione; e

h. circa 3% in peso di un colorante per peso della composizione.

Un'altra compressa descritta nella presente comprende:

a. circa 100 fino a 200 mg di Composto 1 Forma I;

b. circa 100 fino a 150 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo;

c. circa 100 fino a 150 mg di cellulosa microcristallina;

d. circa 20 fino a 40 mg di sodio croscarmellosa;

e. circa 10 fino a 20 mg di polivinilpirrolidone;

f. circa 2 fino a 6 mg di sodio lauril solfato; e

g. circa 3 fino a 7 mg di magnesio stearato.

Un'altra compressa descritta nella presente comprende:

a. circa 150 mg di Composto 1 Forma I;

- b. circa 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo;
- c. circa 129 mg di cellulosa microcristallina;
- d. circa 29 mg di sodio croscarmellosa;
- e. circa 13 mg di polivinilpirrolidone;
- f. circa 4 mg di sodio lauril solfato;
- g. circa 5 mg di magnesio stearato; e
- h. circa 15 mg di un colorante.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere elaborate in forma di compresse, forma di capsula, forma di sacchetto, forma di pastiglia, o altra forma solida adatta per la somministrazione orale. Pertanto, in alcune realizzazioni, le composizioni farmaceutiche sono in forma di compresse.

Un altro aspetto dell'invenzione fornisce una formulazione farmaceutica costituita da una compressa che include il Composto 1 Forma I, una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, e eccipienti (per esempio un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un colorante, un lubrificante, o qualsiasi loro combinazione), ciascuno dei quali è descritto sopra e negli esempi seguenti, in cui la compressa ha una dissoluzione di almeno circa 50% (ad esempio, almeno circa 60%, almeno circa 70%, almeno circa 80%, almeno circa 90%, o almeno circa 99%) in circa 30 minuti.

In un esempio, la composizione farmaceutica consiste in una compressa che include il Composto 1 Forma I in una quantità di 100 mg, o 200 mg, composto 2 sostanzialmente amorfo in una quantità di 125 mg e uno o più eccipienti (ad esempio, un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un colorante, un lubrificante o una loro combinazione) ciascuno dei quali è descritto sopra e negli esempi seguenti, in cui la compressa ha una dissoluzione dal 50% circa al 100% circa (es. da circa 55% a circa 95% o da circa 60% a circa 90%) in circa 30 minuti.

La dissoluzione può essere misurata con un apparecchio standard USP di tipo II che impiega un mezzo di dissoluzione di 0,1% CTAB disciolto in 900 ml di acqua DI, tamponata a pH 6,8 con fosfato di potassio monobasico 50 mM, agitando a circa 50-75 giri/min a una temperatura di circa 37°C. Una singola compressa

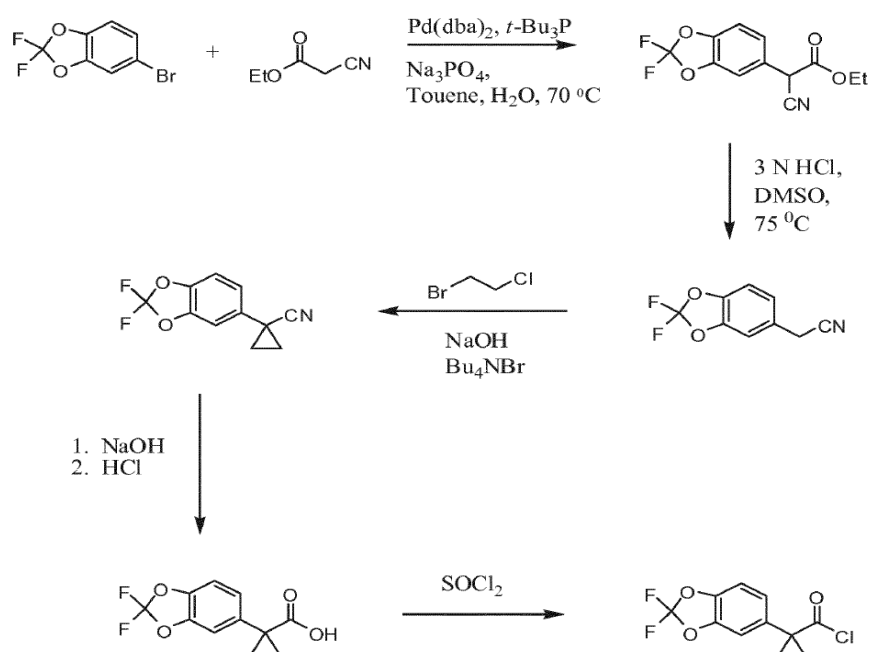
sperimentale viene provata in ciascun recipiente di prova dell'apparato. La dissoluzione può anche essere misurata con un apparecchio standard USP di tipo II che impiega un mezzo di dissoluzione di sodio lauril solfato allo 0,7% sciolto in 900 ml di tampone fosfato di sodio 50 mM (pH 6,8), agitando a circa 65 giri al minuto a una temperatura di circa 37°C. Una singola compressa sperimentale viene provata in ciascun recipiente di prova dell'apparato. La dissoluzione può anche essere misurata con un apparecchio standard USP di tipo II che impiega un mezzo di dissoluzione di sodio lauril solfato allo 0,5% sciolto in 900 mL di tampone di sodio fosfato 50 mM (pH 6,8), agitando a circa 65 giri al minuto a una temperatura di circa 37°C. Una singola compressa sperimentale viene provata in ciascun recipiente di prova dell'apparato.

METODI PER PREPARARE COMPOSTO 1 FORMA I E UNA DISPERSIONE SOLIDA COMPREDENTE COMPOSTO 2 SOSTANZIALMENTE AMORFO

Composto 1

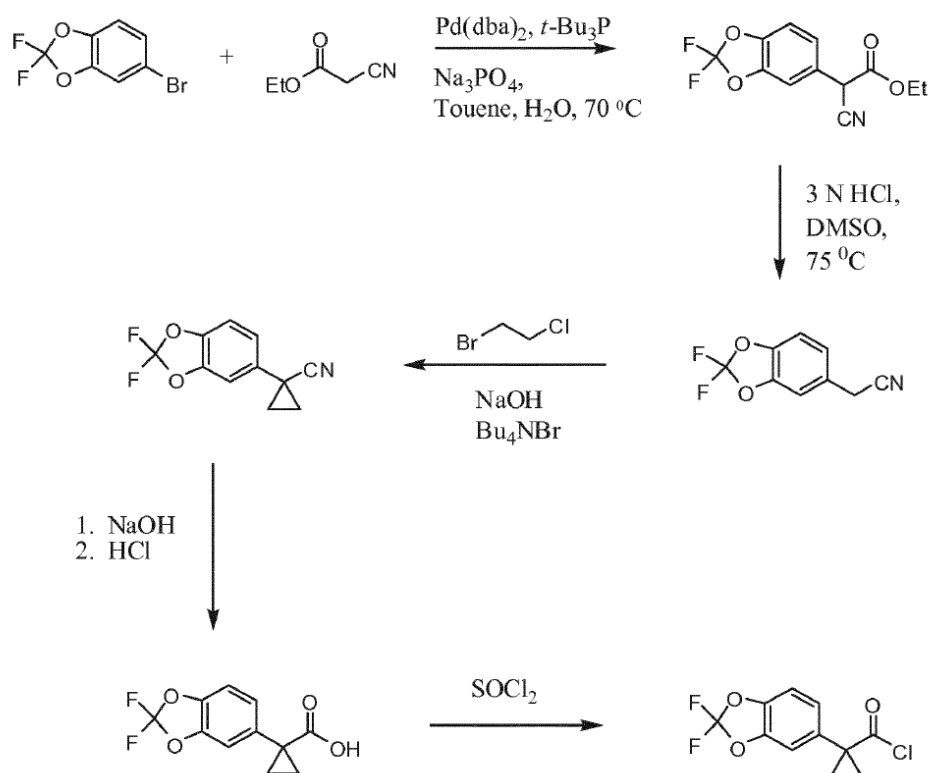
Composto 1 viene usato come punto di partenza per Composto 1 Forma I e può essere preparato accoppiando un gruppo di cloruro acilico con una porzione di ammina secondo gli schemi 1-4.

Schema 2. Sintesi alternativa della porzione di cloruro acilico



Schema 2 descrive una sintesi alternativa del cloruro acilico richiesto. Il 5-bromometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo è accoppiato con etil cianoacetato in presenza di un catalizzatore di palladio per formare il corrispondente alfa ciano etil estere. La saponificazione della porzione di estere all'acido carbossilico fornisce il composto cianoetilico. L'alchilazione del composto cianoetilico con 1-bromo-2-cloroetano in presenza di basi fornisce il composto cianociclopropilico. Il trattamento del composto cianociclopropilico con base fornisce il sale carbossilato, che viene convertito all'acido carbossilico mediante trattamento con acido. La conversione dell'acido carbossilico al cloruro acilico viene quindi eseguita usando un agente clorurante come cloruro di tionile.

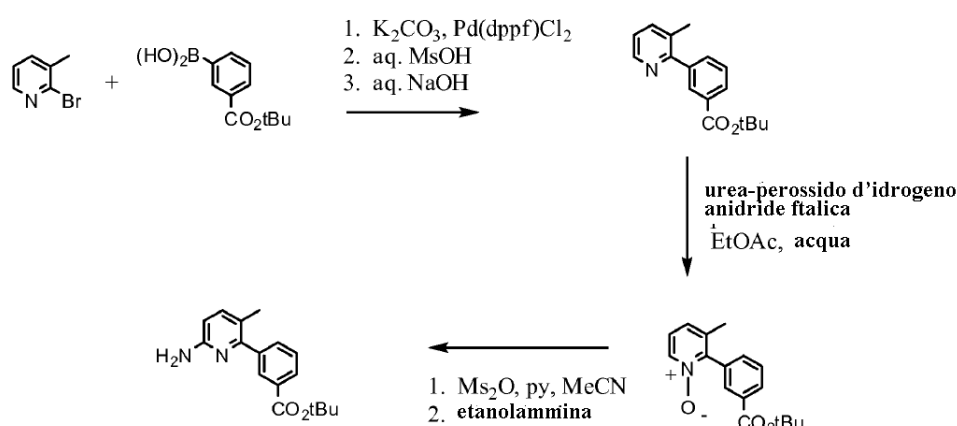
Schema 2. Sintesi alternativa della porzione di cloruro acilico



Schema 2 descrive una sintesi alternativa del cloruro acilico richiesto. Il 5-bromometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo è accoppiato con etil cianoacetato in presenza di un catalizzatore di palladio per formare il corrispondente alfa ciano etil estere. La saponificazione della porzione di estere all'acido carbossilico fornisce il

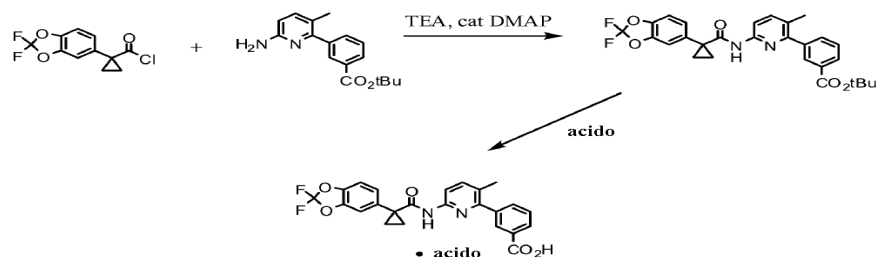
composto cianoetilico. L'alchilazione del composto cianoetilico con 1-bromo-2-cloroetano in presenza di basi fornisce il composto cianociclopropilico. Il trattamento del composto cianociclopropilico con base fornisce il sale carbossilato, che viene convertito all'acido carbossilico mediante trattamento con acido. La conversione dell'acido carbossilico al cloruro acilico viene quindi eseguita usando un agente clorurante come cloruro di tionile o simile.

Schema 3. Sintesi della porzione amminica



Schema 3 illustra la preparazione del *tert*-butil 3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato richiesto, che è accoppiato con 1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbonyl cloruro nello Schema 4 per dare il Composto 1. L'accoppiamento catalizzato dal palladio di 2-bromo-3-metilpiridina con acido 3-(*tert*-butossicarbonil) fenilboronico fornisce *tert*-butil 3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato, che viene successivamente convertito nel composto desiderato.

Schema 4. Formazione di un sale acido di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbonylamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico



Schema 4 illustra l'accoppiamento di 1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbonil cloruro con *tert*-butil 3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il) benzoato usando trietilammina e 4-dimetilamminopiridina per fornire inizialmente l'estere *tert*-butilico del Composto 1.

Composto 1 forma I

Il composto 1 forma I viene preparato disperdendo o sciogliendo una forma di sale, come il sale di HCl, del composto 1 in un solvente appropriato per un periodo di tempo efficace. Il trattamento dell'estere *tert*-butilico con un acido come HCl fornisce il sale HCl del Composto 1, che è tipicamente un solido cristallino. Il composto 1 forma I può anche essere preparato direttamente dal precursore dell'estere *t*-butilico mediante trattamento con un acido appropriato, come acido formico.

Il sale HCl di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico può essere usato per Forma I disperdendo o sciogliendo il sale di HCl di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico in un solvente appropriato per un periodo di tempo efficace. Altri sali di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico possono essere usati, come per esempio, sali derivati da altri acidi minerali o organici. Gli altri sali derivano dall'idrolisi mediata da acido della porzione di *t*-butil estere. I sali derivati da altri acidi possono includere, per esempio, acido nitrico, solforico, fosforico, borico, acetico, benzoico e malonico. Queste forme saline di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico possono essere solubili o meno, a seconda del solvente usato, ma la mancanza di solubilità non ostacola la formazione di Composto 1 Forma I. Ad esempio, in una realizzazione, il solvente appropriato può essere acqua o una miscela di alcol/acqua come miscela di metanolo/acqua al 50%, anche se la forma di sale HCl di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico è solo scarsamente solubile in acqua. In una realizzazione, il solvente appropriato è acqua.

La quantità di tempo effettiva per la formazione del Composto 1 Forma I dal sale di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico può essere qualsiasi

tempo tra 2 e 24 ore o superiore. Si riconosce che la quantità di tempo necessaria è inversamente proporzionale alla temperatura. Cioè, maggiore è la temperatura minore è il tempo necessario per influenzare la dissociazione dell'acido per formare il Composto 1 Forma I. Quando il solvente è acqua, l'agitazione della dispersione per circa 24 ore a temperatura ambiente fornisce Composto 1 Forma I in una resa di circa 98%. Se si desidera una soluzione del sale di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il) benzoico per scopi di procedimento, può essere usata una temperatura elevata. Dopo aver agitato la soluzione per un periodo di tempo efficace a temperatura elevata, la ricristallizzazione dopo raffreddamento fornisce sostanzialmente il composto 1 forma I. In una realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 90%. In un'altra realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 95%. In un'altra realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 98%. In un'altra realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 99%. La temperatura scelta dipende in parte dal solvente usato ed è ben compresa nelle capacità di determinazione di una persona di normale esperienza nella tecnica. In una realizzazione, la temperatura è compresa tra temperatura ambiente e circa 80°C. In un'altra realizzazione, la temperatura è compresa tra temperatura ambiente e circa 40°C. In un'altra realizzazione, la temperatura è compresa tra circa 40°C e circa 60°C. In un'altra realizzazione, la temperatura è compresa tra circa 60°C e circa 80°C.

Composto 1 Forma I può anche essere formato direttamente da 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato (cfr Schema 3), che è un precursore del sale del Composto 1. Quindi, 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato viene lasciato subire una reazione con un acido appropriato, come, ad esempio, acido formico in condizioni di reazione appropriate per dare il composto 1 forma I.

Composto 1 forma I può essere inoltre purificato mediante ricristallizzazione da un solvente organico. Esempi di solventi organici comprendono toluene, cumene, anisolo, 1-butanolo, isopropil acetato, butilacetato, isobutilacetato, metil *t*-butil etere, metil isobutilchetone e miscele di 1-propanolo-acqua. La temperatura può essere come descritta sopra. Ad esempio, Composto 1 Forma I viene disciolto in 1-butanolo a 75°C fino a

completa dissoluzione. Raffreddando la soluzione a 10°C ad un tasso di 0,2°C/min si ottengono cristalli di Composto 1 Forma I che possono essere isolati per filtrazione.

Composto 1 Forma I è caratterizzato da uno o più picchi a 15,4, 16,3, e 14,5 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 14,6 fino a 15,0 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 14,8 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 17,6 fino a 18,0 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 17,8 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 16,4 fino a 16,8 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 16,4 fino a 16,8 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 16,6 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 7,6 fino a 8,0 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 7,8 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 25,8 fino a 26,2 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 26,0 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 21,4 fino a 21,8 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 21,6 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 23,1 fino a 23,5 gradi. In un'altra realizzazione, Composto 1 Forma I è inoltre caratterizzato da un picco a 23,3 gradi. In alcune realizzazioni, Composto 1 Forma I è caratterizzato da un modello di diffrazione sostanzialmente simile a quello di Figura 1. In alcune realizzazioni, Composto 1 Forma I è caratterizzato da un modello di diffrazione sostanzialmente simile a quello di Figura 2.

In alcune realizzazioni, la distribuzione granulometrica di D90 è circa 82 µm o meno per Composto 1 Forma I.

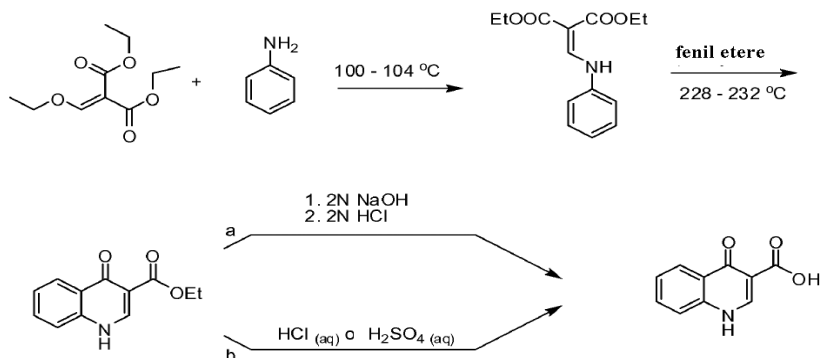
In alcune realizzazioni, la distribuzione granulometrica di D50 è circa 30 µm o meno per Composto 1 Forma I.

Composto 2

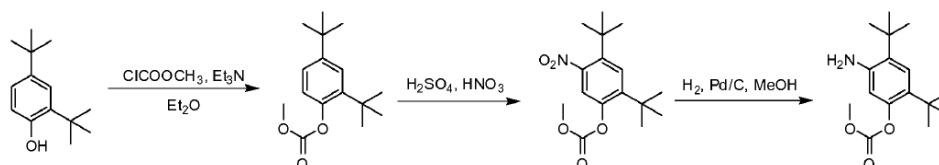
Il Composto 2 è il punto di partenza per la dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo e può essere preparato accoppiando un gruppo di acido carbossilico di 4-osso-diidrochinolina con una

porzione di ammina secondo gli Schemi 5-7.

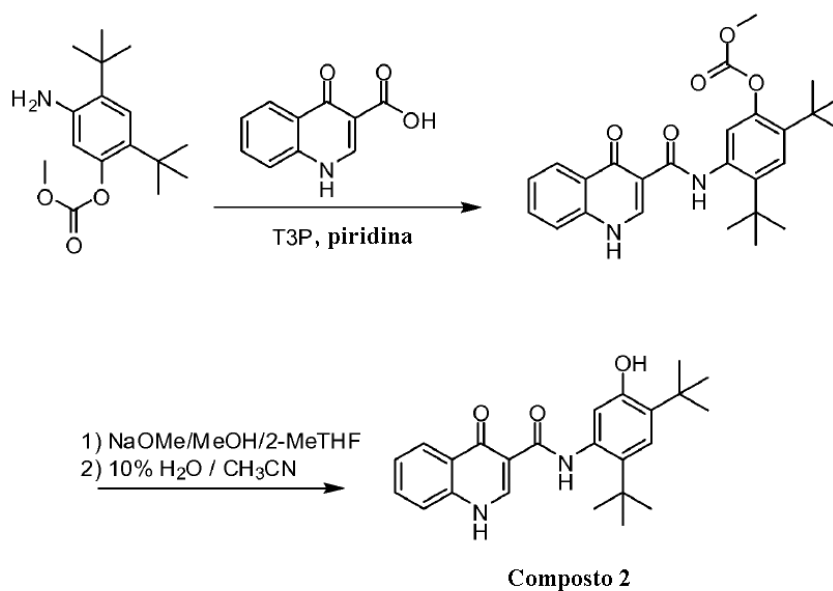
Schema 5: Sintesi della porzione di acido 4-osso-diidrochinolin carbossilico.



Schema 6: Sintesi della porzione amminica



Schema 7: Accoppiamento della porzione di acido 4-osso-diidrochinolin carbossilico con la porzione amminica.



Dispersione solida comprendente un composto 2 sostanzialmente amorfo

A partire dal Composto 2 la forma amorfa del Composto 2 può essere preparata con metodi di essiccazione a spruzzo. L'essiccazione a spruzzo è un procedimento che trasforma un alimento liquido in una forma particellare essiccata. Opzionalmente, un procedimento di essiccazione secondario come essiccazione a letto fluidizzato o essiccazione sotto vuoto, può essere usato per ridurre i solventi residui a livelli accettabili farmaceuticamente. Tipicamente, l'essiccazione a spruzzo comporta il contatto con una sospensione o soluzione liquida altamente dispersa e un volume sufficiente di aria calda per produrre l'evaporazione e l'essiccazione delle goccioline liquide. La preparazione da essiccare a spruzzo può essere una qualsiasi soluzione, sospensione grossolana, sospensione, dispersione colloidale o pasta che può essere nebulizzata usando l'apparecchio di essiccazione a spruzzo selezionato. In una procedura standard, la preparazione viene spruzzata in una corrente di aria calda filtrata che fa evaporare il solvente e convoglia il prodotto essiccato ad un collettore (ad esempio un ciclone). L'aria esausta viene quindi scaricata con il solvente o, in alternativa, l'aria esausta viene inviata a un condensatore per catturare e potenzialmente riciclare il solvente. Possono essere usati tipi di apparecchi disponibili in commercio per condurre l'essiccazione a spruzzo. Ad esempio, gli essiccatori commerciali a spruzzo sono fabbricati da Buchi Ltd. e Niro (ad esempio, la linea PSD di essiccatori a spruzzo fabbricati da Niro) (vedere, US 2004/0105820; US 2003/0144257).

L'essiccazione a spruzzo impiega tipicamente carichi solidi di materiale da circa 3% a circa 30% in peso, (cioè, farmaco ed eccipienti), per esempio circa dal 4% a circa 20% in peso, preferibilmente almeno circa 10%. In generale, il limite superiore dei carichi solidi è governato dalla viscosità di (per esempio, la capacità di pompaggio) la soluzione risultante e la solubilità dei componenti nella soluzione. In generale, la viscosità della soluzione può determinare la dimensione della particella nel prodotto in polvere risultante.

Tecniche e metodi per l'essiccazione a spruzzo possono essere trovati in Perry's Chemical Engineering Handbook, 6th Ed., R. H. Perry, D. W. Green & J. O. Maloney, eds.), McGraw-Hill book co. (1984); e Marshall "Atomization and Spray-Drying" 50, Chem. Eng. Prog. Monogr. Series 2 (1954). In generale, l'essiccazione a spruzzo viene condotta con una temperatura di ingresso da circa 60°C a circa 200°C, ad esempio da circa 95°C a

circa 185°C, da circa 110°C a circa 182°C, da circa 96°C a circa 180°C, ad es. circa 145°C. L'essiccazione a spruzzo viene generalmente condotta con una temperatura di uscita da circa 30°C a circa 90°C, ad esempio da circa 40°C a circa 80°C, da circa 45°C a circa 80°C, ad esempio circa 75°C. La portata di atomizzazione è generalmente da circa 4 kg/h a circa 12 kg/h, ad esempio da circa 4,3 kg/h a circa 10,5 kg/h, ad esempio circa 6 kg/h a circa 10,5 kg/h. La portata di alimentazione è generalmente da circa 3 kg/h a circa 10 kg/h, ad esempio da circa 3,5 kg/h a circa 9,0 kg/h, ad esempio circa 8 kg/h fino a circa 7,1 kg/h. Il rapporto di atomizzazione è generalmente da circa 0,3 a 1,7, ad esempio da circa 0,5 a 1,5, ad esempio circa 0,8 o circa 1,5.

La rimozione del solvente può richiedere una successiva fase di essiccazione, ad esempio essiccazione a vassoio, essiccazione in letto fluido (ad es. dalla temperatura ambiente a circa 100°C), essiccazione sotto vuoto, essiccazione a microonde, essiccazione con tamburo rotante o essiccazione sotto vuoto biconica (ad es. da circa temperatura ambiente a circa 200°C).

In una realizzazione, la dispersione essiccata a spruzzo è essiccata a letto fluido.

In un procedimento, il solvente include un solvente volatile, ad esempio un solvente avente un punto di ebollizione inferiore a circa 100°C. In alcune realizzazioni, il solvente include una miscela di solventi, ad esempio una miscela di solventi volatili o una miscela di solventi volatili e non volatili. Quando vengono usate miscele di solventi, la miscela può includere uno o più solventi non volatili, ad esempio, se il solvente non volatile è presente nella miscela a meno di circa 15%, ad esempio, meno di circa 12%, meno di circa 10%, meno dell'8% circa, meno del 5% circa, meno del 3% circa o meno del 2% circa.

Solventi preferiti sono quei solventi in cui il Composto 2 ha una solubilità di almeno circa 10 mg/ml (ad es. Almeno circa 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 più).

Solventi maggiormente preferiti includono quelli in cui il Composto 2 ha una solubilità di almeno circa 20 mg/ml.

Solventi illustrativi che possono essere provati includono acetone, cicloesano, diclorometano, N,N-dimetilacetammide (DMA), N,N-dimetilformammide (DMF), 1,3-dimetil-2-imidazolidinone (DMI), dimetilsolfossido (DMSO), diossano, etil acetato, etere etilico, acido acetico glaciale (HAc), metil etil chetone

(MEK), N-metil-2-pirrolidinone (NMP), metil terz-butil etere (MTBE), tetraidrofurano (THF), pentano, acetonitrile, metanolo, etanolo, alcol isopropilico, isopropil acetato e toluene. Co-solventi illustrativi includono acetone/DMSO, acetone/DMF, acetone/acqua, MEK/acqua, THF/acqua, diossano/acqua. In un sistema a due solventi, i solventi possono essere presenti in circa 0,1% fino a circa 99,9%. In alcune realizzazioni preferite, l'acqua è un co-solvente con acetone in cui l'acqua è presente da circa 0,1% a circa 15%, per esempio da circa 9% a circa 11%, ad esempio circa 10%. In alcune realizzazioni preferite, l'acqua è un co-solvente con MEK in cui l'acqua è presente da circa 0,1% a circa 15%, ad esempio da circa 9% a circa 11%, ad esempio circa 10%. In alcune realizzazioni la soluzione di solvente include tre solventi. Ad esempio, acetone e acqua possono essere miscelati con un terzo solvente come DMA, DMF, DMI, DMSO o HAc. Nei casi in cui il Composto 2 sostanzialmente amorfo è un componente di una dispersione solida, i solventi preferiti sciolgono sia il Composto 2 che il polimero. Solventi adatti includono quelli descritti sopra, ad esempio, MEK, acetone, acqua, metanolo e loro miscele.

La dimensione delle particelle e l'intervallo di temperatura di essiccazione possono essere modificati per preparare una dispersione per essiccazione a spruzzo ottimale. Come sarebbe compreso dai tecnici esperti, una piccola dimensione delle particelle porterebbe a una migliore rimozione del solvente. I richiedenti hanno tuttavia riscontrato che particelle più piccole possono portare a particelle lanuginose che, in alcune circostanze, non forniscono dispersioni per essiccazione a spruzzo ottimali per la lavorazione a valle come la pastigliatura. A temperature più elevate possono verificarsi cristallizzazione o degradazione chimica del Composto 2 sostanzialmente amorfo. A temperature più basse, non può essere rimossa una quantità sufficiente di solvente. I metodi qui forniti forniscono una dimensione ottimale delle particelle e una temperatura di essiccazione ottimale. In generale, la dimensione delle particelle è tale che D10 (μm) è inferiore a circa 5, ad esempio inferiore a circa 4,5, inferiore a circa 4,0 o inferiore a circa 3,5, D50 (μm) è generalmente inferiore a circa 17, ad esempio meno di circa 16, meno di circa 15, meno di circa 14, meno di circa 13, e D90 (μm) è generalmente inferiore a circa 175, ad esempio, inferiore a circa 170, inferiore a circa 170, inferiore a circa 150, inferiore a circa 125, inferiore a circa 100, inferiore a circa 90, inferiore a circa 80, inferiore a circa 70, inferiore a circa 60, o inferiore a 50. In

generale la densità apparente delle particelle essiccate a spruzzo è da circa 0,08 g/cc a circa 0,20 g/cc, ad esempio da circa 0,10 a circa 0,15 g/cc, ad esempio circa 0,11 g/cc o circa 0,14 g/cc. La densità dopo percussione delle particelle essiccate a spruzzo varia generalmente da circa 0,08 g/cc a circa 0,20 g/cc, ad esempio da circa 0,10 a circa 0,15 g/cc, ad esempio circa 0,11 g/cc o circa 0,14 g/cc, per 10 rubinetti; Da 0,10 g/cc a circa 0,25 g/cc, ad esempio da circa 0,11 a circa 0,21 g/cc, ad esempio circa 0,15 g/cc, circa 0,19 g/cc, o circa 0,21 g/cc per 500 percussioni; da 0,15 g/cc a circa 0,27 g/cc, ad esempio da circa 0,18 a circa 0,24 g/cc, ad esempio circa 0,18 g/cc, circa 0,19 g/cc, circa 0,20 g/cc, o circa 0,24 g/cc per 1250 percussioni; e da 0,15 g/cc a circa 0,27 g/cc, ad esempio da circa 0,18 a circa 0,24 g/cc, ad esempio circa 0,18 g/cc, circa 0,21 g/cc, circa 0,23 g/cc, o circa 0,24 g/cc per 2500 percussioni.

Polimeri

Dispersioni essiccate a spruzzo comprendenti Composto amorfo 2 e un polimero (o veicolo allo stato solido) sono anche incluse nella presente. Ad esempio, il Composto 2 è presente come un composto amorfo come componente di una dispersione amorfa solida. La dispersione amorfa solida comprende generalmente un Composto 2 sostanzialmente amorfo e un polimero. Polimeri illustrativi includono polimeri cellulosici come HPMC o HPMCAS e polimeri contenenti pirrolidone come PVP/VA. In alcune realizzazioni, la dispersione amorfa solida include uno o più eccipienti aggiuntivi, come un tensioattivo.

In una realizzazione, un polimero è in grado di sciogliersi in mezzi acquosi. La solubilità dei polimeri può essere indipendente dal pH o dipendente dal pH. Questi ultimi includono uno o più polimeri enterici. Il termine "polimero enterico" si riferisce a un polimero che è preferibilmente solubile nell'ambiente meno acido dell'intestino rispetto all'ambiente più acido dello stomaco, per esempio un polimero che è insolubile in mezzi acquosi acidi ma solubile quando il pH è superiore a 5-6. Un polimero appropriato deve essere chimicamente e biologicamente inerte. Al fine di migliorare la stabilità fisica delle dispersioni da essiccazione a spruzzo, la temperatura di transizione vetrosa (T_g) del polimero dovrebbe essere la più alta possibile. Per esempio, i polimeri preferiti hanno una temperatura di transizione vetrosa almeno uguale o maggiore della temperatura di transizione vetrosa del farmaco (cioè, Composto 2). Altri polimeri preferiti hanno una temperatura di transizione vetrosa che

è compresa tra circa 10 e circa 15°C del farmaco (cioè, Composto 2). Esempi di temperature di transizione vetrosa appropriate dei polimeri includono almeno circa 90°C, almeno circa 95°C, almeno circa 100°C, almeno circa 105°C, almeno circa 110°C, almeno circa 115°C C, almeno circa 120°C, almeno circa 125°C, almeno circa 130°C, almeno circa 135°C, almeno circa 140°C, almeno circa 145°C, almeno circa 150°C, almeno circa 155°C, almeno circa 160°C, almeno circa 165°C, almeno circa 170°C, o almeno circa 175°C (come misurato in condizioni asciutte). Senza voler essere vincolati da una teoria, si ritiene che il meccanismo sottostante sia che un polimero con una T_g più elevata generalmente ha una mobilità molecolare inferiore a temperatura ambiente, che può essere un fattore cruciale per stabilizzare la stabilità fisica della dispersione per essiccazione a secco dell'amorfo.

Inoltre, l'igroscopicità dei polimeri dovrebbe essere bassa, ad esempio inferiore a circa 10%. Ai fini del confronto in questa domanda, l'igroscopicità di un polimero o composizione è caratterizzata per circa 60% di umidità relativa. In alcune realizzazioni preferite, il polimero ha meno di circa 10% di assorbimento di acqua, per esempio meno di circa 9%, meno di circa 8%, meno di circa 7%, meno di circa 6%, meno di circa 5%, meno di circa 4%, meno di circa 3% o meno di circa 2% di assorbimento d'acqua. L'igroscopicità può anche influire sulla stabilità fisica delle dispersioni da essiccazione a spruzzo. Generalmente, l'umidità assorbita nei polimeri può ridurre notevolmente la T_g dei polimeri nonché delle conseguenti dispersioni di essiccazione a spruzzo, che ridurranno ulteriormente la stabilità fisica delle dispersioni di essiccazione a spruzzo come descritto sopra.

In una realizzazione, il polimero è uno o più polimeri idrosolubili o polimeri parzialmente idrosolubili. I polimeri idrosolubili o parzialmente solubili in acqua comprendono derivati di cellulosa (per esempio idrossipropilmetilcellulosa (HPMC), idrossipropilcellulosa (HPC)) o etilcellulosa; polivinilpirrolidoni (PVP); polietilenglicoli (PEG); alcoli polivinilici (PVA); acrilati, come polimetacrilato (ad es. Eudragit® E); ciclodestrine (per esempio, β -ciclodestrina) e loro copolimeri e derivati, incluso per esempio PVP-VA (polivinilpirollidone-vinil acetato).

In alcune realizzazioni, il polimero è idrossipropilmetilcellulosa (HPMC), come HPMCAS, HPMC E50, HPMCE15 o HPMC60SH50).

Come discusso qui, il polimero può essere un polimero enterico dipendente dal pH. Tali polimeri enterici dipendenti dal pH comprendono derivati di cellulosa (ad esempio cellulosa acetato ftalato (CAP)), idrossipropil metilcellulosa ftalati (HPMCP), idrossipropil metilcellulosa acetato succinato (HPMCAS), carbossimetilcellulosa (CMC) o un suo sale (ad esempio un sale di sodio come (CMC-Na)); acetato di cellulosa trimellitato (CAT), idrossipropilcellulosa acetato ftalato (HPCAP), idrossipropilmetil-cellulosa acetato ftalato (HPMCAP) e metilcellulosa acetato ftalato (MCAP) o polimetacrilati (ad esempio Eudragit® S). In alcune realizzazioni, il polimero è idrossipropil metilcellulosa acetato succinato (HPMCAS). In alcune realizzazioni, il polimero è idrossipropilmetilcellulosa acetato succinato di grado HG (HPMCAS-HG).

In ancora un'altra realizzazione, il polimero è un copolimero di polivinilpirrolidone, ad esempio un copolimero di vinilpirrolidone/vinil acetato (PVP/VA).

In realizzazioni in cui il Composto 2 forma una dispersione di essiccazione a spruzzo con un polimero, ad esempio con un polimero HPMC, HPMCAS o PVP/VA, la quantità di polimero rispetto al peso totale della dispersione di essiccazione a spruzzo varia da circa 0,1% a 99% a peso. Se non diversamente specificato, le percentuali di farmaco, polimero e altri eccipienti descritti in una dispersione sono espresse in percentuali in peso. La quantità di polimero è tipicamente almeno del 20% circa, e preferibilmente almeno 30% circa, per esempio almeno 35% circa, almeno 40% circa, almeno 45% circa, o circa 50% (ad esempio 49,5%). La quantità è in genere circa 99% o meno, e preferibilmente circa l'80% o meno, ad esempio circa 75% o meno, circa 70% o meno, circa 65% o meno, circa 60% o meno, o circa 55% o meno. In una realizzazione, il polimero è in una quantità fino a circa 50% del peso totale della dispersione (e ancora più specificatamente, tra circa 40% e il 50%, come circa 49%, circa 49,5%, o circa 50%). HPMC e HPMCAS sono disponibili in vari gradi da ShinEtsu, ad esempio, HPMCAS è disponibile in diverse varietà, tra cui AS-LF, AS-MF, AS-HF, AS-LG, AS-MG, AS-HG. Ciascuno di questi gradi varia con la sostituzione percentuale di acetato e succinato.

In alcune realizzazioni, il Composto 2 sostanzialmente amorfo e il polimero sono presenti in quantità all'incirca uguali, per esempio ciascuno del polimero e del farmaco costituiscono circa la metà del peso percentuale della dispersione. Ad esempio, il polimero è presente in circa 49,5% e il farmaco è presente in circa 50%.

In alcune realizzazioni, il Composto 2 sostanzialmente amorfo e il polimero combinato rappresentano da 1% a 20% in peso di contenuto di solido totale della dispersione non da essiccazione a spruzzo prima dell'essiccazione a spruzzo. In alcune realizzazioni, il composto 2 sostanzialmente amorfo e il polimero combinato rappresentano dal 5% al 15% in peso di contenuto solido totale della dispersione non di essiccazione a spruzzo prima dell'essiccazione a spruzzo. In alcune realizzazioni, il Composto 2 sostanzialmente amorfo e il polimero combinato rappresentano circa l'11% p/p di contenuto totale solido della dispersione non di essiccazione a spruzzo prima dell'essiccazione a spruzzo.

In alcune realizzazioni, la dispersione include inoltre altri ingredienti secondari, come un tensioattivo (ad esempio, SLS). In alcune realizzazioni, il tensioattivo è presente in meno di 10% circa della dispersione, per esempio meno di circa 9%, meno di circa 8%, meno di circa 7%, meno di circa 6%, meno di circa 5%, meno di circa 4%, meno di circa 3%, meno di circa 2%, circa l'1%, o circa lo 0,5%.

In realizzazioni comprendenti un polimero, il polimero dovrebbe essere presente in una quantità efficace per stabilizzare la dispersione di essiccazione a spruzzo. La stabilizzazione include l'inibizione o la prevenzione della cristallizzazione del composto 2 sostanzialmente amorfo. Tale stabilizzazione inibirebbe la conversione di composto 2 dalla forma amorfa a quella cristallina. Ad esempio, il polimero impedirebbe che almeno una porzione (ad es. circa 5%, circa 10%, circa 15%, circa 20%, circa 25%, circa 30%, circa 35%, circa 40%, circa 45%, circa 50%, circa 55%, circa 60%, circa 65%, circa 70%, circa 75% o più) del Composto 2 possa convertirsi da una forma amorfa a una cristallina. La stabilizzazione può essere misurata, ad esempio, misurando la temperatura di transizione vetrosa della dispersione di essiccazione a spruzzo, misurando la velocità di rilassamento del materiale amorfo o misurando la solubilità o biodisponibilità del Composto 2.

Polimeri adatti per l'uso in combinazione con il Composto 2, ad esempio per formare una dispersione di essiccazione a spruzzo come una dispersione di essiccazione a spruzzo amorfa, dovrebbero avere una o più delle seguenti proprietà:

La temperatura di transizione vetrosa del polimero dovrebbe avere una temperatura di non meno di circa 10-15°C inferiore alla temperatura di transizione vetrosa del Composto 2 sostanzialmente amorfo. Preferibilmente,

la temperatura di transizione vetrosa del polimero è maggiore della temperatura di transizione vetrosa di composto 2 sostanzialmente amorfo, e in generale di almeno 50°C superiore alla temperatura di conservazione desiderata del prodotto farmaceutico. Ad esempio, almeno circa 100°C, almeno circa 105°C, almeno circa 105°C, almeno circa 110°C, almeno circa 120°C, almeno circa 130°C, almeno circa 140°C C, almeno circa 150°C, almeno circa 160°C, almeno circa 160°C o più.

Il polimero dovrebbe essere relativamente non igroscopico. Ad esempio, il polimero dovrebbe, se conservato in condizioni standard, assorbire meno del 10% circa di acqua, ad esempio, meno del 9% circa, meno dell'8% circa, meno del 7% circa, meno del 6% circa o meno di circa 5%, meno di circa 4% o meno di circa 3% di acqua. Preferibilmente il polimero, se conservato in condizioni standard, sarà sostanzialmente privo di acqua assorbita.

Il polimero dovrebbe avere una solubilità simile o migliore in solventi adatti per i procedimenti di essiccazione a spruzzo rispetto a quello del Composto 2. In realizzazioni preferite, il polimero si scioglierà in uno o più degli stessi solventi o sistemi di solvente del Composto 2. Si preferisce che il polimero sia solubile in almeno un solvente non contenente ossidrilici come cloruro di metilene, acetone o una loro combinazione.

Il polimero, quando combinato con il Composto 2 sostanzialmente amorfo, per esempio in una dispersione di essiccazione a spruzzo o in una sospensione liquida, dovrebbe aumentare la solubilità del Composto 2 in mezzi acquosi e fisiologicamente relativi rispetto alla solubilità del Composto 2 in assenza di polimero o rispetto alla solubilità del Composto 2 quando combinato con un polimero di riferimento. Ad esempio, il polimero potrebbe aumentare la solubilità del Composto 2 amorfo riducendo la quantità di Composto 2 amorfo che si converte in Composto 2 cristallino, da una dispersione amorfa solida o da una sospensione liquida.

Il polimero dovrebbe ridurre il tasso di rilassamento della sostanza amorfa.

Il polimero dovrebbe aumentare la stabilità fisica e/o chimica del Composto 2 sostanzialmente amorfo.

Il polimero dovrebbe migliorare la fabbricabilità del Composto 2 sostanzialmente amorfo.

Il polimero dovrebbe migliorare una o più delle proprietà di manipolazione, somministrazione o conservazione del Composto 2 sostanzialmente amorfo.

Il polimero non deve interagire sfavorevolmente con altri componenti farmaceutici, ad esempio eccipienti.

L'idoneità di un polimero candidato (o altro componente) può essere provata usando i metodi di essiccazione a spruzzo (o altri metodi) descritti nella presente per formare una composizione amorfa. La composizione candidata può essere confrontata in termini di stabilità, resistenza alla formazione di cristalli o altre proprietà e confrontata con una preparazione di riferimento, ad esempio una preparazione di composto 2 amorfo pulito o composto cristallino 2. Ad esempio, una composizione candidata potrebbe essere provata per determinare se inibisce il tempo di insorgenza della cristallizzazione mediata da solvente, o la conversione percentuale in un dato momento in condizioni regolate, di almeno il 50%, 75%, 100% o 110% come pure la preparazione di riferimento, o una composizione candidata potrebbe essere provata per determinare se ha migliorato la biodisponibilità o la solubilità rispetto al Composto cristallino 2.

Tensioattivi

La dispersione di essiccazione a spruzzo può includere un tensioattivo. Un tensioattivo o miscela di tensioattivi generalmente ridurrebbe la tensione interfacciale tra la dispersione di essiccazione a spruzzo e un mezzo acquoso. Un tensioattivo o miscela di tensioattivi appropriata può anche migliorare la solubilità e la biodisponibilità acquose del composto 2 da una dispersione di essiccazione a spruzzo. I tensioattivi da usare in relazione alla presente invenzione includono esteri di acido grasso di sorbitano (ad esempio, Spans®), esteri di acidi grassi di poliossietilene sorbitano (ad esempio, Tweens®), sodio lauril solfato (SLS), sodio dodecilbenzene solfonato (SDBS) diottil sodio sulfosuccinato (Docusato), sale di sodio dell'acido diossicolico (DOSS), sorbitano monostearato, sorbitano tristearato, esadeciltrimetil ammonio bromuro (HTAB), sodio N-lauroilsarcosina, sodio oleato, sodio miristato, sodio stearato, sodio palmitato, Gelucire 44/14, acido etilendiammino-tetraacetico (EDTA), vitamina E d-alfa tocoferile polietilenglicole 1000 succinato (TPGS), lecitina, MW 677-692, acido glutammico monosodio monoidrato, Labrasol, PEG 8 gliceridi caprilico/caprico, Transcutol, dietilenglicole monoetero, Solutol HS-15, polietilenglicole/idrossistearato, acido taurocolico, Pluronic F68, Pluronic F108 e Pluronic F127 (o qualsiasi altro copolimero di poliossietilene-poliossipropilene (Pluronic®) o gliceridi poliglicolizzati saturi (Gelucirs®)). Esempi specifici di tali tensioattivi che possono essere usati in relazione con questa invenzione includono Span 65, Span 25, Tween 20, Capryol 90, Pluronic F108, sodio lauril solfato (SLS),

vitamina E TPGS, pluronics e copolimeri. SLS è generalmente preferito.

La quantità del tensioattivo (ad es., SLS) rispetto al peso totale della dispersione di essiccazione a spruzzo può essere compresa tra 0,1-15%. Preferibilmente, varia da circa 0,5% a circa 10%, più preferibilmente da circa 0,5 a circa 5%, ad esempio da circa 0,5 a 4%, da circa 0,5 a 3%, da circa 0,5 a 2%, da circa 0,5 a 1%, oppure circa lo 0,5%.

In certe realizzazioni, la quantità del tensioattivo rispetto al peso totale della dispersione di essiccazione a spruzzo è di almeno circa 0,1%, preferibilmente circa 0,5%. In queste realizzazioni, il tensioattivo sarebbe presente in una quantità non superiore a circa 15% e preferibilmente non più di circa 12%, circa 11%, circa 10%, circa 9%, circa 8%, circa 7%, circa 6%, circa 5%, circa 4%, circa 3%, circa 2% o circa 1%. È preferita una realizzazione in cui il tensioattivo è in una quantità di circa 0,5% in peso.

Tensioattivi candidati (o altri componenti) possono essere provati per l'idoneità all'uso nell'invenzione in un modo simile a quello descritto per provare i polimeri.

METODI PER PREPARARE LE COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere prodotte mediante granulazione umida, compattando o comprimendo un additivo o composizione, ad esempio una polvere o granuli, sotto pressione per formare una forma tridimensionale stabile (ad esempio una compressa). Come usata nella presente, "compressa" comprende forme di unità di dosaggio farmaceutico compresse di tutte le forme e dimensioni, sia rivestite che non rivestite.

Il termine "compressa" come qui usato si riferisce ad un'unità di agente fisicamente distinta appropriata per il paziente da trattare. In generale, una miscela compattata ha una densità superiore a quella della miscela prima della compattazione. Una compressa di dosaggio dell'invenzione può avere quasi qualsiasi forma comprendente facce concave e/o convesse, angoli arrotondati o angolati, e una forma arrotondata a rettilinea. In alcune realizzazioni, le compresse pressate dell'invenzione comprendono una compressa arrotondata avente facce piatte. Le compresse dell'invenzione possono essere preparate mediante qualsiasi metodo di compattazione e compressione noto da persone di ordinaria esperienza nella tecnica per formare forme di dosaggio farmaceutico

solide compresse. In particolari realizzazioni, le formulazioni qui fornite possono essere preparate usando metodi convenzionali noti agli esperti nel campo della formulazione farmaceutica, come descritto, ad esempio, in libri di testo pertinenti. Vedi, ad es. Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21° ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland (2003)); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms And Drug Delivery Systems, 7a edizione, Lippincott Williams & Wilkins, (1999); The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4a edizione, Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003); Gibson, Pharmaceutical Preformulation And Formulation, CRC Press (2001).

Granulazione e compressione

In alcune realizzazioni, gli ingredienti vengono pesati secondo la formula qui riportata. Successivamente, tutti gli ingredienti intragranulari vengono setacciati e miscelati bene. Gli ingredienti possono essere lubrificati con un lubrificante adatto, ad esempio, stearato di magnesio. Il passo successivo può comprendere la compattazione/pastigliatura della miscela di polvere e degli ingredienti dimensionati. Successivamente, le miscele compattate o pressate vengono macinate in granuli e setacciate per ottenere la dimensione desiderata. Successivamente, i granuli possono essere ulteriormente lubrificati con, ad esempio, stearato di magnesio. Successivamente la composizione granulare dell'invenzione può essere compressa su adatti punzoni in varie formulazioni farmaceutiche secondo l'invenzione. Opzionalmente le compresse possono essere rivestite con una pellicola, un colorante o altro rivestimento.

Un altro aspetto dell'invenzione fornisce un metodo per produrre una composizione farmaceutica comprendente il fornire una miscela di una composizione comprendente il Composto 1 Forma I, una dispersione solida comprendente composto 2 sostanzialmente amorfo e uno o più eccipienti scelti tra: un riempitivo, un diluente, un legante, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante e comprimendo la composizione in una compressa avente una dissoluzione di almeno circa 50% in circa 30 minuti.

In un'altra realizzazione, un procedimento di granulazione a umido viene eseguito per fornire la formulazione farmaceutica dell'invenzione da una miscela di ingredienti in polvere e liquidi. Ad esempio, una composizione farmaceutica comprendente una miscela di una composizione comprendente il Composto 1 Forma I, una

dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, e uno o più eccipienti scelti tra: un riempitivo, un legante, un tensioattivo o un disintegrante, vengono pesati secondo la formula qui descritta. Successivamente, tutti gli ingredienti intragranulari vengono setacciati e miscelati in un granulatore ad alto taglio o basso taglio usando acqua oppure acqua con un tensioattivo o acqua con un legante o acqua con un tensioattivo e un legante per granulare la miscela di polvere. Un fluido diverso dall'acqua può anche essere usato con o senza tensioattivo e/o legante per granulare la miscela di polveri. Successivamente, i granuli umidi possono opzionalmente essere macinati usando un mulino adatto. Successivamente, l'acqua può opzionalmente essere rimossa dalla miscela essiccando gli ingredienti in qualsiasi modo adatto. Successivamente, i granuli essiccati possono opzionalmente essere macinati alla dimensione richiesta. Successivamente, gli eccipienti extra-granulari possono essere aggiunti miscelando (ad esempio un riempitivo, un diluente e un disintegrante). Successivamente, i granuli dimensionati possono essere inoltre lubrificati con stearato di magnesio e un disintegrante, ad esempio, sodio croscarmellosa. Successivamente la composizione granulare dell'invenzione può essere setacciata per un tempo sufficiente per ottenere la dimensione corretta e quindi compressa su punzoni adatti in varie formulazioni farmaceutiche secondo l'invenzione. Opzionalmente, le compresse possono essere rivestite con una pellicola, un colorante o altro rivestimento. Sorprendentemente, la granulazione a umido può essere effettuata senza perdita sostanziale delle forme allo stato solido del Composto 1 Forma I o del Composto 2 sostanzialmente amorfo.

In una realizzazione particolarmente preferita, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione vengono preparate mediante un procedimento continuo di granulazione a doppia vite (TSWG). La produzione continua fornisce prodotti di alta qualità e altamente coerenti con monitoraggio e controllo in linea. La produzione continua facilita inoltre lo sviluppo della qualità in base alla progettazione con uno spazio di progettazione "ricco di dati" e un impatto più comprensibile delle variabili a monte sul procedimento a valle e sulla qualità del prodotto finale. Inoltre, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione possono essere finalizzate in anticipo su apparecchiature di scala commerciale evitando rischi di scalabilità e modifiche di formulazione in ritardo nello sviluppo. Infine, la produzione continua ha vantaggi di produzione commerciale, come un migliore controllo del procedimento, una riduzione della gestione del prodotto e un'efficienza di rilascio in tempo reale. Il

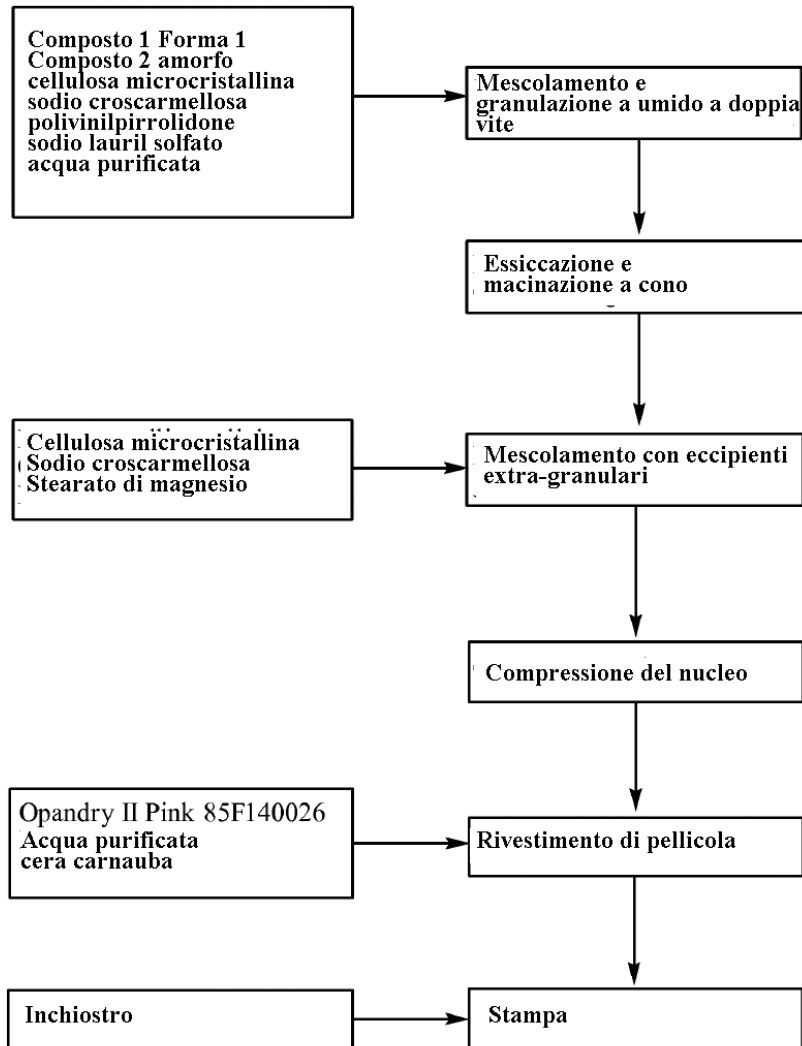
risultato complessivo è un procedimento più robusto, regolabile e scalabile che ha un numero inferiore di controlli del procedimento con conseguente aumento della qualità del prodotto e quindi maggiore sicurezza del paziente. Questi vantaggi rispondono alle preoccupazioni di Janet Woodcock (direttore del Centro per la valutazione e la ricerca sui farmaci (CDER)) che la chimica, la produzione e i controlli (CMC) non saranno in grado di tenere il passo con lo sviluppo clinico rapido di terapie altamente efficaci ("Quello che stiamo vedendo è che spesso il passo limitante è destinato ad essere la fabbricazione" 24 luglio 2013 riunione congressuale ospitata dal Friends of Cancer "Rispondere a un bisogno urgente: accelerare i trattamenti salvavita per i pazienti" per discutere la designazione di terapia di innovazione della Food and Drug Administration).

Ad esempio, granulazione ad alto fattore di taglio (HSG), una tecnica di granulazione comune è ben nota per il rischio di sovra-granulazione e regolazione del procedimento insufficiente. L'aumento di scala di questo procedimento è molto impegnativo e comporta un rischio significativo. Passando da un procedimento HSG a un procedimento TSWG continuo, è possibile aumentare la scala usando la stessa apparecchiatura per produrre lotti di dimensioni diverse, facendola funzionare più a lungo. Ciò elimina il rischio di aumento di scala comunemente riscontrato con altri procedimenti di granulazione. Inoltre, è stato osservato che il procedimento TSWG è più robusto, essendo meno sensibile all'eccessiva granulazione. Come si può vedere nella Figura 3 per un composto 1 in compressa, il procedimento HSG ha mostrato un significativo rallentamento della dissoluzione con aumento del contenuto di acqua, mentre il procedimento TSWG non ha mostrato un cambiamento per un simile intervallo di aggiunta dell'acqua. Sorprendentemente, non sono state riscontrate variazioni delle prestazioni con le formulazioni in compresse comprendenti il Composto 1 tra 45-55% in peso e le formulazioni in compresse comprendenti il Composto 1 tra 60-70% in peso usando il procedimento di granulazione a doppia vite. Questo non era il caso del procedimento HSG. Inoltre, questo procedimento continuo e con accresciuta qualità del prodotto risponde ad una comune lamentela da parte della FDA per quanto riguarda la mancanza di disponibilità di farmaci per i pazienti che ne hanno bisogno.

In una realizzazione il procedimento continuo inizia con l'alimentazione di singoli eccipienti, Composto 1 e Composto 2 in una mescolatrice continua in linea attraverso alimentazione a perdita di peso. Da questa

mescolatrice, il materiale viene continuamente trasportato e lavorato mediante granulazione a umido a doppia vite, essiccazione, macinazione, aggiunta di eccipienti extra-granulari, miscelazione, compressione e rivestimento a pellicola.

Ad esempio, in una realizzazione, una compressa comprendente il Composto 1 e il Composto 2 può essere preparata continuamente secondo il diagramma di flusso seguente.



Ciascuno degli ingredienti di questa miscela illustrativa è descritto sopra e negli esempi di seguito. Inoltre, la miscela può comprendere additivi opzionali, come uno o più coloranti, uno o più aromi e/o una o più fragranze

come descritto sopra e negli Esempi di seguito. In alcune realizzazioni, le concentrazioni relative (ad esempio, % in peso) di ciascuno di questi ingredienti (e di eventuali additivi opzionali) nella miscela sono anche presentate sopra e negli Esempi di seguito. Gli ingredienti che costituiscono la miscela possono essere forniti in sequenza o in qualsiasi combinazione di aggiunte; e, gli ingredienti o la combinazione di ingredienti possono essere forniti in qualsiasi ordine. In una realizzazione, il lubrificante è l'ultimo componente aggiunto alla miscela.

In un'altra realizzazione, la miscela comprende una composizione di Composto 1 Forma I, una dispersione solida di composto 2 sostanzialmente amorfo e uno qualsiasi o più degli eccipienti; un legante, un tensioattivo, un diluente, un lubrificante, un disintegrante e un riempitivo, in cui ciascuno di questi ingredienti è fornito sotto forma di polvere (ad esempio, fornito come particelle aventi un diametro medio o mediato, misurato mediante dispersione di luce, di 250 μm o meno (ad es. 150 μm o meno, 100 μm o meno, 50 μm o meno, 45 μm o meno, 40 μm o meno o 35 μm o meno)).

In un'altra realizzazione, la compressione della miscela in una compressa viene eseguita riempiendo una forma (ad esempio uno stampo) con la miscela e applicando una pressione alla miscela. Questo può essere ottenuto usando una pressa o altri apparati simili. In alcune realizzazioni, la miscela del Composto 1 Forma I, una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, e gli eccipienti possono essere prima trasformati in forma granulare. I granuli possono quindi essere dimensionati e compressi in compresse o formulati per l'incapsulamento secondo metodi noti nella tecnica farmaceutica. Si noti inoltre che l'applicazione della pressione alla miscela nella forma può essere ripetuta usando la stessa pressione durante ogni compressione o usando differenti pressioni durante le compressioni. In un altro esempio, la miscela di ingredienti in polvere o granuli può essere compressa usando una pressa per stampi che applica una pressione sufficiente a formare una compressa con una dissoluzione di circa 50% o più a circa 30 minuti (ad esempio circa 55% o più a circa 30 minuti o circa 60% o più a circa 30 minuti). Ad esempio, la miscela viene compressa usando una pressa per stampi per produrre una durezza della compressa di almeno circa 5 kP (almeno circa 5,5 kP, almeno circa 6 kP, almeno circa 7 kP, almeno circa 10 kP, o almeno 15 kP). In alcuni casi, l'additivo viene compresso per produrre una durezza della compressa compresa tra circa 5 e 20 kP.

In alcune realizzazioni, le compresse comprendenti una composizione farmaceutica come descritta nella presente possono essere rivestite con circa 3,0% in peso di un rivestimento di pellicola comprendente un colorante in peso della compressa. In certi casi, la sospensione o soluzione colorante usata per rivestire le compresse comprende circa 20% peso/peso di solidi in peso della sospensione o soluzione del colorante. In ancora altri casi, le compresse rivestite possono essere etichettate con un logo, altra immagine o testo.

In un'altra realizzazione, il metodo per produrre una composizione farmaceutica comprende il fornire una miscela di forme solide, ad es. una miscela di ingredienti in polvere e/o liquidi, la miscela comprendente il Composto 1 Forma I, una dispersione solida comprendente composto 2 sostanzialmente amorfo, e uno o più eccipienti scelti tra: un legante, un diluente, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, e un riempitivo; miscelare la miscela fino a quando la miscela è sostanzialmente omogenea e comprimere o compattare la miscela in forma granulare. Quindi la composizione granulare comprendente il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo può essere compressa in compresse o formulata in capsule come descritto sopra o negli Esempi di seguito. Alternativamente, metodi per produrre una composizione farmaceutica comprendono il fornire una miscela di Composto 1 Forma I, una dispersione solida comprendente composto 2 sostanzialmente amorfo, e uno o più eccipienti, ad es. un legante, un diluente, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante e un riempitivo; il miscelare la miscela fino a quando la miscela è sostanzialmente omogenea e comprimere/compattare la miscela in una forma granulare usando un procedimento di compattazione dei granuli a umido ad alto taglio come illustrato negli Esempi di seguito. Formulazioni farmaceutiche, per esempio una compressa come qui descritta, possono essere preparate usando i granuli preparati incorporando Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo in aggiunta agli eccipienti selezionati qui descritti.

In alcune realizzazioni, la miscela viene mescolata agitando, miscelando o scuotendo, usando miscelazione manuale, una mescolatrice, un miscelatore o una qualsiasi loro combinazione. Quando gli ingredienti o le combinazioni di ingredienti vengono aggiunti sequenzialmente, la miscelazione può avvenire tra aggiunte successive, continuamente attraverso l'aggiunta di ingredienti, dopo l'aggiunta di tutti gli ingredienti o

combinazioni di ingredienti, o qualsiasi loro combinazione. L'additivo viene miscelato fino a quando non ha una composizione sostanzialmente omogenea.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione comprende la macinazione a getto di una composizione farmaceutica comprendente il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo in un adatto apparecchio di macinazione convenzionale che usa una pressione dell'aria adatta a produrre particelle aventi una frazione significativa di dimensione particellare tra 0,1 micron e 50 micron. In un'altra realizzazione, la dimensione delle particelle è compresa tra 0,1 micron e 20 micron. In un'altra realizzazione, la dimensione delle particelle è compresa tra 0,1 micron e 10 micron. In un'altra realizzazione, la dimensione delle particelle è compresa tra 1,0 micron e 5 micron. In ancora un'altra realizzazione, la composizione farmaceutica ha una dimensione di particelle D50 di 2,0 micron.

Le formulazioni della presente invenzione forniscono un dosaggio fisso di due APIs per il trattamento efficace della fibrosi cistica, una combinazione che ha ricevuto una delle due sole designazioni di terapia innovativa dalla FDA, e lo fa con stabilità sorprendente misurata dalla piccola perdita della forma solida amorfa del Composto 2. La Figura 4 illustra la piccola quantità di cristallinità del Composto 2 nel tempo in PC-XVII a 50°C dopo il pre-equilibrio con un'umidità relativa del 60%. Anche dopo quasi 1000 ore in queste condizioni, meno del 5% in peso del Composto 2 è cristallizzato. La figura 5 mostra per PC-XVII che anche alla temperatura più elevata di 60°C dopo il pre-equilibrio al 60% di umidità relativa, a quasi 1000 ore in queste condizioni, si è cristallizzato meno del 10% in peso del composto 2. Le figure 6 e 7 mostrano risultati simili per PC-XIX. Le presenti formulazioni, quindi, forniscono la convenienza di un dosaggio fisso di due APIs innovativi in una composizione farmaceutica sorprendentemente stabile. Tali formulazioni aumentano l'adeguamento del paziente che si riferisce direttamente al trattamento efficace delle malattie.

Le forme di dosaggio preparate come sopra possono essere sottoposte a valutazioni di dissoluzione in vitro secondo Test 711 "Dissoluzione" nella Farmacopea degli Stati Uniti 29, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Maryland, 2005 ("USP"), per determinare la velocità con cui il principio attivo viene rilasciato dalle forme di dosaggio. Il contenuto della sostanza attiva e i livelli di impurezza sono

convenientemente misurati mediante tecniche come la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).

In alcune realizzazioni, l'invenzione include l'uso di materiali di imballaggio come contenitori e chiusure di polietilene ad alta densità (HDPE), polietilene a bassa densità (LDPE) e/o polipropilene e/o vetro, lamina di glassina, sacchetti di alluminio e *blister* o strisce composte da alluminio o cloruro di polivinile ad alta densità (PVC), opzionalmente incluso un essiccante, polietilene (PE), polivinilidencloruro (PVDC) e PVC/PE/PVDC. Questi materiali di confezionamento possono essere usati per conservare le varie composizioni farmaceutiche e formulazioni in modo sterile dopo appropriata sterilizzazione del pacchetto e del suo contenuto usando tecniche di sterilizzazione chimica o fisica comunemente impiegate nelle tecniche farmaceutiche.

METODI PER LA SOMMINISTRAZIONE DELLE COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE

In un aspetto, le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate a un paziente una volta al giorno o circa ogni ventiquattro ore. In alternativa, le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate ad un paziente due volte al giorno. In alternativa, la composizione farmaceutica dell'invenzione può essere somministrata circa ogni dodici ore. Queste composizioni farmaceutiche sono somministrate come formulazioni orali contenenti circa 100 mg o 200 mg di Composto 1 Forma I; e circa 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo. In questo aspetto, oltre al composto 1 forma I e al composto 2 sostanzialmente amorfo, le composizioni farmaceutiche comprendono un riempitivo; un disintegrante; un tensioattivo; un legante; e un lubrificante (a seconda che la composizione farmaceutica sia un granulo o una compressa). Ad esempio, una dose di 400 mg di Composto 1 Forma I, può comprendere due compresse dell'invenzione contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1 Forma I. Una dose di 250 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo, può comprendere due compresse dell'invenzione ciascuna contenente 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo.

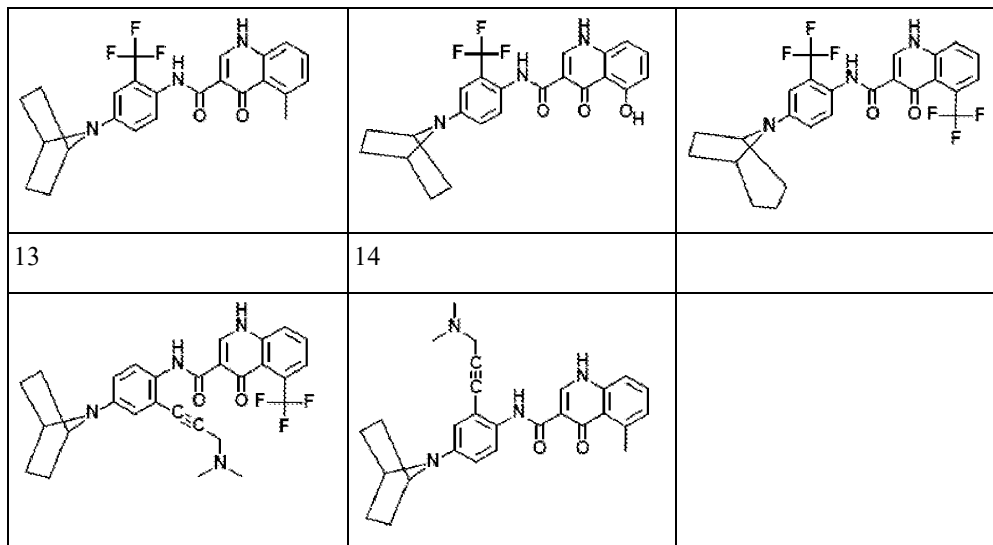
Si comprenderà anche che il composto e le composizioni accettabili farmaceuticamente e le formulazioni dell'invenzione possono essere impiegate in terapie combinate; cioè, il Composto 1 Forma I e una dispersione solida di Composto 2 sostanzialmente amorfo e sue composizioni accettabili farmaceuticamente possono essere somministrati in concomitanza con, prima o dopo, una o più altre terapie o procedure mediche desiderate.

In una realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è scelto tra un agente mucolitico, un broncodilatatore, un antibiotico, un agente anti-infettivo, un agente antinfiammatorio, un composto che induce attività CFTR diversa dal Composto 1 Forma I e dal Composto 2 sostanzialmente amorfo, o un agente nutrizionale.

In una realizzazione, l'agente addizionale è (*R*)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossolo-5-il)-N-(1-(2,3-diidrossipropil)-6-fluoro-2-(1-idrossi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il) ciclopropancarbrossammide. In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è acido 4-(3-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)isochinolin-1-il) benzoico. In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è scelto dalla Tabella 1:

Tabella 1.

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



In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è qualsiasi combinazione dei suddetti agenti. Per esempio, la combinazione può comprendere una composizione farmaceutica o compressa della presente invenzione comprendente Composto 1 Forma I e una dispersione solida di Composto 2 sostanzialmente amorfo, e l'agente terapeutico addizionale è (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)-N-(1-(2,3-diidrossipropil)-6-fluoro-2-(1-idrossi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarbrossammide. In un altro esempio, la combinazione può comprendere una composizione farmaceutica o compressa della presente invenzione comprendente Composto 1 Forma I e una dispersione solida di Composto 2 sostanzialmente amorfo, e l'agente terapeutico addizionale è acido 4-(3-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)isochinolin-1-il)benzoico. In un altro esempio, la combinazione può comprendere una composizione farmaceutica o compressa della presente invenzione comprendente Composto 1 Forma I e una dispersione solida di Composto 2 sostanzialmente amorfo, e l'agente terapeutico addizionale è uno qualsiasi dei composti da Tabella 1, cioè composti 1 fino a 14 di Tabella 1, o qualsiasi loro combinazione.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è scelto da Tabella 1:

TABELLA 1
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.407.976 (Col 13. In 35- col. 66. In 67; Composti 1-100 in Tabella 1 alla col. 67. In 1-col 127. In 42)

Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.645.789 (Col 16. ln 52-col 50. ln 22; Composti 1-322 in Tabella 1 alla col. 50. ln 24-col 167. ln 42)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.659.268 (Col 16. ln 20-col 70. ln 52; Composti 1-528 in Tabella 1 alla col. 70. ln 53-col 331. ln 34)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.671.221 (Col 16. ln 12-col 54. ln 48; Composti 1-1216 in Tabella 1 alla col. 54. ln 49-col 699. ln 27)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.691.902 (Col 16. ln 11-col 54. ln 29; Composti 1-959 in Tabella 1 alla col. 54. ln 29-col 683. ln 44)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.741.321 (Col 16. ln 25-col 72. ln 17; Composti 1-422 in Tabella 1 alla col. 72. ln 20-col 279. ln 15)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.754.739 (Col 16. ln 1-col 22. ln 47; Composti 1-2 in Tabella 1 alla col. 18. ln 26-65)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.776.905 (Col 16. ln 23-col 38. ln 40; Composti 1-306 in Tabella 1 alla col. 38. ln 45-col 96. ln 40)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.973.169 (Col 9. ln 16-col 40. ln 40; Composti 1-289 in Tabella 1 a col. 40. ln 41-col 289. ln 39)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.977.322 (Col 6. ln 26-col 37. ln 47; Composti 1-498 in Tabella 1 alla col. 37. ln 50-col 141. ln 40)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.999.113 (Col 6. ln 13-col 10. ln 67; Composti 1-13 in Tabella 1 alla col. 11. ln 5-col 13. ln 65)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.227.615 (Col 6. ln 10-col 29. ln 66; Composti 1-78 in Tabella 1 alla col. 30. ln 1-col 46. ln 48)
Composti descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.299.099 (Col 6. ln 10-col 34. ln 18; Composti 1-

47 in Tabella 1 alla col. 34. In 20-col 42. In 35)
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2006-0052358 (Paragrafi [0034]-[0056]; [0077]-[0240]; Composti 1-320 in Tabella 1 al paragrafo [0241])
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2009-0143381(Paragrafi [0102]-[0263]; Composti 1-28 in Tabella 1 al paragrafo [0264])
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2009-0170905 (Paragrafi [0012]-[0013]; [0030]-[0051])
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2009-0253736 (Paragrafi [0031]-[0162]; Composti 1-15 in Tabella 1 al paragrafo [0163])
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2011-0263654 (Paragrafi [0012]-[0013]; [0066]-[0141])
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2011-0251253 (Paragrafi [0012]-[0013]; [0054]-[0079])
Composti descritti in domanda PCT WO2008141119 (Paragrafi [0100]-[0339]; Composti 1-117 in Tabella 1 al paragrafo [03401])
Composti descritti in Domanda U.S.A. N. 11/047.361
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata n. 2013-0116238 (Paragrafi [0028]-[0044]; [0117]-[0128]), o loro combinazioni.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è scelto da Tabella 2:

TABELLA 2
Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata N. 2005-0113423 (paragrafo [00146]; Composti IA-1-IA-136 e Composti I-1-I-21 in Tabelle 1 e 2 ai paragrafi [0391]-[0392])

Composti descritti in Domanda U.S.A. pubblicata N. 2005-0059687(Paragrafi [00100]-[00101]; Composti 1-405 in Tabella 1 al paragrafo [0169])
Composti 1-108 descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.598.412 (Col.22. ln 14-col. 79. ln 20; Tabella 1)
Composti 1-485 descritti in Brevetto U.S.A. N. 7.495.103 (Col. 51. ln 1-col. 63. ln 43; Tabella 1)
Composti 1-718 descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.354.427 (Col. 51. ln 3-colo 71, ln 46; Tabella 1)
Composti 1-233 descritti in Domanda U.S.A. pubblicata N. 2007-0105833 (paragrafo [00145]; Tabella 1)
Composti 1-26 descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.242.149 (Col. 46, ln 47-col. 57, ln 37; Tabella 1)
Composti 1-18 descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.314.256 (Col. 21, ln 1-col. 26, ln 19)
Composti 1-14 descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.399.479 (Col. 36, ln 20-col. 38, ln 40; Tabella 1)
Composti 1-18 descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.188.283 (Col. 38, ln 43-col. 43, ln 36; Tabella 1)
Composti 1-16 descritti in Domanda U.S.A. pubblicata N. 2010-0249180 (paragrafo [0173]; Tabella 1)
Composti 1-19 descritti in Domanda U.S.A. pubblicata N. 2011-0008259 (paragrafo [0172]; Tabella 1)
Composti 1-129 descritti in Brevetto U.S.A. N. 8.367.660 (Col. 57, ln 31-col. 81, ln 24; Tabella 1)

In una realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un antibiotico. Gli antibiotici illustrativi qui utili comprendono tobramicina, compresa la polvere per inalazione di tobramicina (TIP), azitromicina, cayston, aztreonam, inclusa la forma aerosolizzata di aztreonam, amikacina, incluse le sue formulazioni liposomali, ciprofloxacina, incluse le sue formulazioni adatte per somministrazione per inalazione, levofloxacina, comprese formulazioni in aerosol degli stessi e combinazioni di due antibiotici, ad esempio fosfomicina e tobramicina.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un mucolitico. Mucolitici illustrativi qui utili includono Pulmozyme®.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un broncodilatatore. I broncodilatatori illustrativi includono albuterolo, metaprotenerolo solfato, pirbuterolo acetato, salmeterolo o solfato di tetrabulina.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è efficace nel ripristinare il liquido superficiale delle vie respiratorie polmonari. Tali agenti migliorano il movimento del sale dentro e fuori le cellule, consentendo al muco nelle vie respiratorie del polmone di essere più idratato e, quindi, eliminato più facilmente. Esempi di tali agenti includono soluzione salina ipertonica, denufosolo tetrasodio ([[(3S,5R)-5-(4-ammino-2-ossopirimidin-1-il)-3-idrossiosolan-2-il]metossi-idrossifosforil][[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-diossopirimidin-1-il)-3,4-diidrossiosolan-2-il]metossi-idrossifosforil]ossi-idrossifosforil]idrogeno fosfato), o bronchitolo (formulazione inalata di mannitolo).

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un agente antinfiammatorio, cioè un agente che può ridurre l'infiammazione nei polmoni. Esempi di tali agenti utili qui includono ibuprofene, acido docosaesanoico (DHA), sildenafil, glutazione per via inalatoria, pioglitazone, idrossiclorochina o simvastatina.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un composto che aumenta o induce l'attività di CFTR diversa dal Composto 1 Forma I o una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, cioè un agente che ha l'effetto di indurre o aumentare l'attività di CFTR. Ad esempio tali agenti includono ataluren ("PTC124®"; acido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-ossadiazol-3-il]benzoico), sinapultide, lancovutide, depelestat (un inibitore dell'elastasi di neutrofili ricombinante umana) e cobiprostone (acido 7-[(2R,4aR,5R,7aR)-2-[(3S)-1,1-difluoro-3-metilpentil]-2-idrossi-6-ossotaidrociclopenta[b]piran-5-il]eptanoico).

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un agente nutrizionale. Tra gli agenti nutrizionali illustrativi figurano la pancrelipasi (sostituzione di enzimi pancreatici), tra cui Pancreas®, Pancreacarb®, Ultrase® o Creon®, Liprotomase® (precedentemente Trizyte®), Aquadeks® o inalazione di glutazione. In una realizzazione, l'agente nutrizionale aggiuntivo è pancrelipasi.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un composto scelto tra gentamicina, curcumina, ciclofosfamide, 4-fenilbutirrato, miglustat, felodipina, nimodipina, Philoxin B, geniesteina, Apigenina, potenziatori o induttori di cAMP/cGMP come rolipram, sildenafil, milrinone, tadalafil, amrinone, isoproterenolo, albuterolo e almeterolo, deossispergualina, inibitori di HSP 90, inibitori di HSP 70, inibitori del proteasoma come epoxomicina, lattacistina, ecc.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un composto scelto tra acido 3-ammino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico (3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 5-ammino-6'-metil-3-trifluorometil-[2,3]bipiridinil-6-carbossilico (3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; 3-ammino-6-ciclopropil-N-(3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metilpropil)-5-(trifluorometil)picolinammide; 3-ammino-6-metossi-N-(3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-(trifluorometil)propil)-5-(trifluoro metil)picolinammide; acido 3-ammino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometilpiridin-2-carbossilico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-(4-fluorofenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico (2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; (S)-3-ammino-6-etossi-N-(3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metilpropil)-5-(trifluoro metil)picolinammide; acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-

piridin-2-carbossilico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico (3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide; acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide, o loro sali accettabili farmaceuticamente. In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un composto descritto in brevetto U.S.A. N. 8.247.436 e pubblicazione internazionale PCT WO 2011113894.

In un'altra realizzazione, l'agente addizionale può essere un modulatore del canale del sodio epiteliale (ENaC) descritto in pubblicazioni PCT WO2012035158, WO2009074575, WO2011028740, WO2009150137, WO2011079087, o WO2008135557.

In altre realizzazioni, l'agente addizionale è un composto descritto in WO 2004028480, WO 2004110352, WO 2005094374, WO 2005120497, o WO 2006101740. In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un derivato di benzo[c]chinolizino che mostra attività di induzione o aumento della CFTR o un derivato benzopiranic che mostra attività di induzione o aumento della CFTR. In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un composto descritto in brevetto U.S.A. N. 7.202.262, Brevetto U.S.A. N. 6.992.096, US20060148864, US20060148863, US20060035943, US20050164973, WO2006110483, WO2006044456, WO2006044682, WO2006044505, WO2006044503, WO2006044502, o WO2004091502. In un'altra realizzazione, l'agente addizionale è un composto descritto in WO2004080972, WO2004111014, WO2005035514, WO2005049018, WO2006099256, WO2006127588, o WO2007044560.

In una realizzazione, 400 mg di composto 1 forma I e 250 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrati a un soggetto che ne ha bisogno. In queste realizzazioni, le quantità di dosaggio possono essere ottenute mediante somministrazione di compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 400 mg di Composto 1 Forma I e 250 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo può essere ottenuta somministrando due compresse ciascuna contenente 200 mg di Composto 1 Forma I e 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo. La durata della somministrazione può continuare fino al miglioramento della malattia o fino a quando il medico di un soggetto non lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere

inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più. In una realizzazione, due compresse ciascuna comprendente 200 mg di composto 1 di forma I e 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrate al paziente ogni giorno. In un'altra realizzazione, le due compresse possono essere somministrate contemporaneamente o in momenti diversi durante il giorno. In un'altra realizzazione, una compressa viene somministrata ogni 12 ore.

In una realizzazione, 400 mg di Composto 1 Forma I e 500 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrati a un soggetto che ne ha bisogno. In una realizzazione, la quantità di dosaggio può essere ottenuta somministrando due compresse, ciascuna contenente 100 mg di Composto 1 Forma I e 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo, ogni 12 ore. In un'altra realizzazione, le quantità di dosaggio possono anche essere ottenute somministrando Composto 1 Forma I e composto 2 sostanzialmente amorfo in compresse separate. Per esempio, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando due compresse contenenti 200 mg di Composto 1 Forma I e quattro compresse contenenti 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo. La durata della somministrazione può continuare fino al miglioramento della malattia o fino a quando il medico del soggetto lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più. In una realizzazione, due compresse comprendenti 200 mg di composto 1 di forma I e quattro compresse comprendenti 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrate al paziente ogni giorno. In un'altra realizzazione, le due compresse possono essere somministrate contemporaneamente o in momenti diversi durante il giorno.

La durata della somministrazione può continuare fino al raggiungimento del miglioramento della malattia o fino a quando il medico di un soggetto non lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più. In un'altra realizzazione, una compressa viene somministrata ogni 12 ore.

In una realizzazione, 600 mg di Composto 1 Forma I e 500 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrati a un soggetto che ne ha bisogno. In queste realizzazioni, le quantità di dosaggio possono essere ottenute mediante somministrazione di compresse dell'invenzione. La durata della somministrazione può

continuare fino al raggiungimento del miglioramento della malattia o fino a quando il medico di un soggetto non lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più. In un'altra realizzazione, due compresse vengono somministrate ogni 12 ore.

In una realizzazione, 800 mg di Composto 1 Forma I e 500 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrati a un soggetto che ne ha bisogno. In queste realizzazioni, le quantità di dosaggio possono essere ottenute mediante somministrazione di compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 800 mg di Composto 1 Forma I e 500 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo può essere ottenuta somministrando quattro compresse ciascuna contenente 200 mg di Composto 1 Forma I e 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo. La durata della somministrazione può continuare fino al miglioramento della malattia o fino a quando il medico di un soggetto non lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più. In una realizzazione, quattro compresse ciascuna comprendente 200 mg di composto 1 di forma I e 125 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrate al paziente ogni giorno. In un'altra realizzazione, le quattro compresse possono essere somministrate contemporaneamente o in momenti diversi durante il giorno. In un'altra realizzazione, due compresse vengono somministrate per ogni occasione di dosaggio, e ci sono due occasioni di dosaggio al giorno. In un'altra realizzazione, 800 mg di composto 1 e 500 mg di composto 2 vengono somministrati al paziente mediante la somministrazione di due compresse ciascuna comprendente 200 mg di composto 1 e 125 mg di composto 2 due volte al giorno (BID). In un'altra realizzazione, 800 mg di composto 1 e 500 mg di composto 2 vengono somministrati al paziente mediante la somministrazione di due compresse ciascuna comprendente 200 mg di composto 1 e 125 mg di composto 2 ogni 12 ore (q12h).

In una realizzazione, 600 mg di composto 1 forma I e 250 mg di composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrati a un soggetto che ne ha bisogno. In queste realizzazioni, le quantità di dosaggio possono essere ottenute mediante somministrazione di compresse dell'invenzione. La durata della somministrazione può continuare fino al raggiungimento del miglioramento della malattia o fino a quando il medico di un soggetto non

lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più. In un'altra realizzazione, tre compresse vengono somministrate contemporaneamente.

In una realizzazione, 600 mg di Composto 1 Forma I e 500 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo possono essere somministrati a un soggetto che ne ha bisogno. In queste realizzazioni, le quantità di dosaggio possono essere ottenute mediante somministrazione di compresse dell'invenzione. La durata della somministrazione può continuare fino al raggiungimento del miglioramento della malattia o fino a quando il medico di un soggetto non lo consiglia, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, 4 settimane (28 giorni) o un mese o più.

Queste combinazioni sono utili per il trattamento delle malattie qui descritte compresa la fibrosi cistica. Queste combinazioni sono anche utili nei kit qui descritti. In un altro aspetto, la presente invenzione presenta un kit comprendente una composizione farmaceutica o una compressa della presente invenzione comprendente il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, e un altro agente terapeutico addizionale o una sua composizione farmaceutica. In un'altra realizzazione, la composizione farmaceutica o la compressa della presente invenzione, un altro agente terapeutico addizionale o una sua composizione farmaceutica sono in contenitori separati. In un'altra realizzazione, i contenitori separati sono bottiglie. In un'altra realizzazione, i contenitori separati sono fiale. In un'altra realizzazione, i contenitori separati sono confezioni a *blister*.

La quantità di agente terapeutico addizionale presente nelle composizioni di questa invenzione non sarà più della quantità che verrebbe normalmente somministrata in una composizione comprendente quell'agente terapeutico come l'unico agente attivo. Preferibilmente la quantità di agente terapeutico addizionale nelle composizioni descritte nella presente varierà da circa 50% al 100% della quantità normalmente presente in una composizione comprendente quell'agente come l'unico agente terapeuticamente attivo.

USI TERAPEUTICI DELLA COMPOSIZIONE

In un aspetto, l'invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica o una compressa per l'uso in un

metodo di trattamento, diminuzione della gravità di, o trattamento sintomatico di una malattia in un paziente, il metodo comprendente la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui la malattia è la fibrosi cistica. Nella presente è descritta una composizione farmaceutica o una compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica asma, COPD indotta da fumo, bronchite cronica, rinosinusite, costipazione, pancreatite, insufficienza pancreatica, infertilità maschile causata da assenza bilaterale congenita del dotto deferente (CBAVD), malattia polmonare lieve, pancreatite idiopatica, aspergilloso broncopolmonare allergica (ABPA), malattia epatica, enfisema ereditario, emocromatosi ereditaria, carenze di coagulazione-fibrinolisi, come carenza di proteina C, angioedema ereditario di tipo 1, carenze di elaborazione dei lipidi, come ipercolesterolemia familiare, chilomicronemia di tipo 1, abetalipoproteinemia, malattie da accumulo lisosomiale, come malattia delle cellule I/pseudo-Hurler, mucopolisaccaridosi, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatia/iperinsulinemia, diabete mellito, nanismo di Laron, carenza di mieloperossidasi, ipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosi CDG tipo 1, ipertiroidismo congenito, osteogenesi imperfetta, ipofibrinogenemia ereditaria, deficit di ACT, diabete insipido (DI), DI neuroipofisario, DI nefrogenico, sindrome di Charcot-Marie Tooth, malattia di Perlizaeus-Merzbacher, malattie neurodegenerative come morbo di Alzheimer, morbo di Parkinson, sclerosi laterale amiotrofica, paralisi progressiva sopranucleare, malattia di Pick, diversi disturbi neurologici da poliglutamina come corea di Huntington, atassia spinocerebellare di tipo I, atrofia muscolare spinale e bulbare, atrofia dentato-rubro-pallido-luisiana e distrofia miotonica, nonché encefalopatie spongiformi, come la malattia ereditaria di Creutzfeldt-Jakob (a causa del difetto di elaborazione della proteina prionica), malattia di Fabry, sindrome di Straussler-Scheinker, COPD, malattia dell'occhio secco, o malattia di Sjogren, osteoporosi, osteopenia, guarigione ossea e crescita ossea (compresa riparazione ossea, rigenerazione ossea, riduzione del riassorbimento osseo e aumento di deposizione ossea), sindrome di Gorham, patologie dei canali del cloruro come miotonia congenita (forme di Thomson e Becker), sindrome di Bartter di tipo III, malattia di Dent, ipereclessia, epilessia, malattia da accumulo lisosomiale, sindrome di Angelman, e discinesia ciliare primaria (PCD), termine per disturbi ereditari della struttura e/o funzione di *cilia*, compresa la PCD con

situs inversus (noto anche come sindrome di Kartagener), PCD senza *situs inversus* e aplasia ciliare.

Nella presente è descritto un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare sintomaticamente una malattia in un paziente comprendente la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica o della compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui la malattia è scelta tra epilessia generalizzata con convulsioni febbrili più (GEFS+), epilessia generale con convulsioni febbrili e afebrili, miotonia, paramiotonia congenita, miotonia aggravata da potassio, paralisi periodica da iperkaliemia, LQTS, sindrome di LQTS/Brugada, LQTS autosomica dominante con sordità, LQTS autosomico-recessivo, LQTS con caratteristiche dismorfiche, LQTS congenito e acquisito, sindrome di Timothy, ipoglicemia persistente iperinsulinemica dell'infanzia, cardiomiopia dilatativa, LQTS autosomica dominante, malattia di Dent, osteopetrosi, sindrome di Bartter di tipo III, malattia del nucleo centrale, ipertermia maligna e tachicardia polimorfica catecolaminergica.

In un aspetto, la presente invenzione è diretta ad una composizione farmaceutica o compressa per l'uso in un metodo per trattare, diminuire la gravità di, o trattare sintomaticamente fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica CFTR N1303K, $\Delta I507$ o R560T.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR G551D. In un'altra realizzazione, il paziente è omozigote in G551D. In un'altra realizzazione, il paziente è eterozigote in G551D in cui l'altra mutazione genetica di CFTR è una qualsiasi di $\Delta F508$, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G->A, 621+1G->T, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, $\Delta I507$, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA, o 711+1G->T.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un

metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR $\Delta F508$. In un'altra realizzazione, il paziente è omozigote in $\Delta F508$. In un'altra realizzazione, il paziente è eterozigote in $\Delta F508$ in cui l'altra mutazione genetica di CFTR è una qualsiasi di G551D, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G->A, 621+1G->T, 2789+5G->A, 3849+10kbC->T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, $\Delta I507$, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA, o 711+1G->T.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR è scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR è scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R. In una realizzazione di questo aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica

o compressa per uso in un metodo per trattare CFTR comprendente il somministrare Composto 1 a un paziente che possiede una mutazione di CFTR umano scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S1251N. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente comprendente il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR è scelta tra E193K, F1052V e G1069R. In alcune realizzazioni di questo aspetto, il metodo produce un aumento di più di 10 volte nel trasporto di cloruro rispetto al trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H. In una realizzazione di questo aspetto, il metodo produce un incremento nel trasporto di cloruro che è maggiore o uguale a 10% al di sopra del trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G. In un aspetto, la

presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 1717-1G->A, 1811+1,6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 2789+5G->A e 3272-26A->G.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di

CFTR scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S1251N, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra E193K, F1052V e G1069R, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D. In alcune realizzazioni di questo aspetto, il metodo produce un aumento di più di 10 volte nel trasporto di cloruro rispetto al trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D. In una realizzazione di questo aspetto, il metodo produce un incremento nel trasporto di cloruro che è maggiore o uguale a 10% al di sopra del trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa

dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 1717-1G->A, 1811+1,6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 2789+5G->A e 3272-26A->G, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S1251N. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra E193K, F1052V e G1069R. In alcune realizzazioni di questo aspetto, il metodo produce un aumento di più di 10 volte nel trasporto di cloruro rispetto al trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L,

R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H. In una realizzazione di questo aspetto, il metodo produce un incremento nel trasporto di cloruro che è maggiore o uguale a 10% al di sopra del trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 1717-1G->A, 1811+1,6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 2789+5G->A e 3272-26A->G.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di

CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e una mutazione di CFTR umano scelta tra Δ F508, R117H, e G551D, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra Δ F508, R117H, e G551D.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V e G1069R, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra Δ F508, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R e S1251N, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra Δ F508, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra E193K, F1052V e G1069R, e una o più mutazioni di

CFTR umano scelte tra $\Delta F508$, R117H, e G551D. In alcune realizzazioni di questo aspetto, il metodo produce un aumento di più di 10 volte nel trasporto di cloruro rispetto al trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N e D1152H, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra $\Delta F508$, R117H, e G551D. In una realizzazione di questo aspetto, il metodo produce un incremento nel trasporto di cloruro che è maggiore o uguale a 10% al di sopra del trasporto di cloruro alla linea di base.

In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 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+1,6kbA->G, 711+3A->G, 1898+3A->G, 1717-8G->A, 1342-2A->C, 405+3A->C, 1716G/A, 1811+1G->C, 1898+5G->T, 3850-3T->G, IVS14b+5G->A, 1898+1G->T, 4005+2T->C e 621+3A->G, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra $\Delta F508$, R117H, e G551D. In un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 1717-1G->A, 1811+1,6kbA->G, 2789+5G->A, 3272-26A->G e 3849+10kbC->T, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra $\Delta F508$, R117H, e G551D. In

un aspetto, la presente invenzione è rivolta a una composizione farmaceutica o compressa per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare una quantità efficace della composizione farmaceutica o compressa dell'invenzione al paziente, preferibilmente un mammifero, in cui il paziente possiede la mutazione genetica di CFTR scelta tra 2789+5G->A e 3272-26A->G, e una o più mutazioni di CFTR umano scelte tra $\Delta F508$, R117H, e G551D.

In certe realizzazioni, la composizione o compressa accettabile farmaceuticamente della presente invenzione comprendente il Composto 1 Forma I e una dispersione solida del Composto 2 sostanzialmente amorfo sono utili per trattare, ridurre la gravità di, o trattare sintomaticamente fibrosi cistica in pazienti che mostrano attività CFTR residua nella membrana apicale degli epitelii respiratori e non respiratori. La presenza di attività CFTR residua sulla superficie epiteliale può essere facilmente rilevata usando metodi noti nella tecnica, ad esempio tecniche elettrofisiologiche, biochimiche o istochimiche standard. Tali metodi identificano l'attività di CFTR usando tecniche elettrofisiologiche *in vivo* o *ex vivo*, misurazione della concentrazione di Cl⁻ nel sudore o salivare, o tecniche biochimiche o istochimiche *ex vivo* per monitorare la densità superficiale delle cellule. Usando tali metodi, l'attività CFTR residua può essere facilmente rilevata nei pazienti eterozigoti o omozigoti per una varietà di mutazioni differenti, compresi i pazienti omozigoti o eterozigoti per la mutazione più comune, $\Delta F508$, nonché altre mutazioni come la mutazione G551D o la mutazione R117H. In certe realizzazioni, le composizioni accettabili farmaceuticamente o compresse comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo sono utili per trattare, diminuire la gravità di, o trattare sintomaticamente la fibrosi cistica in pazienti che mostrano un'attività CFTR residua minima o nulla. In alcune realizzazioni, le composizioni accettabili farmaceuticamente o compresse comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo sono utili per trattare, diminuire la gravità di, o trattare sintomaticamente fibrosi cistica in pazienti che mostrano un'attività CFTR residua minima o nulla nella membrana apicale degli epitelii respiratori.

In un'altra realizzazione, i composti e le composizioni della presente invenzione sono utili per trattare o ridurre la gravità della fibrosi cistica in pazienti che hanno un'attività CFTR residua indotta o aumentata usando metodi

farmacologici. In un'altra realizzazione, i composti e le composizioni della presente invenzione sono utili per trattare o ridurre la gravità della fibrosi cistica in pazienti che hanno attività CFTR residua indotta o aumentata usando terapia genica. Tali metodi aumentano la quantità di CFTR presente sulla superficie della cellula, inducendo in tal modo un'attività CFTR fino ad allora assente in un paziente o aumentando il livello esistente di attività CFTR residua in un paziente.

In una realizzazione, composizioni farmaceutiche e compresse della presente invenzione comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, come qui descritto, sono utili per trattare o ridurre la gravità della fibrosi cistica in pazienti all'interno di certi genotipi che presentano attività CFTR residua, ad esempio, mutazioni di Classe I (non sintetizzate), mutazione di classe II (errato ripiegamento), mutazioni di classe III (regolazione o azionamento alterati), mutazioni di classe IV (conduttanza alterata) o mutazioni di classe V (sintesi ridotta).

In una realizzazione, composizioni farmaceutiche e compresse della presente invenzione comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, come qui descritto, sono utili per trattare, diminuire la gravità di, o trattare sintomaticamente la fibrosi cistica in pazienti all'interno di certi fenotipi clinici, ad esempio, un fenotipo clinico da moderato a lieve che di solito si correla con la quantità di attività CFTR residua nella membrana apicale degli epitelii. Tali fenotipi includono pazienti con insufficienza pancreatica.

In una realizzazione, composizioni farmaceutiche e compresse della presente invenzione comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, come qui descritto, sono utili per trattare, diminuire la gravità di, o trattare sintomaticamente pazienti diagnosticati con sufficienza pancreatica, pancreatite idiopatica e assenza bilaterale congenita del dotto deferente, o malattia polmonare lieve in cui il paziente mostra un'attività CFTR residua.

In una realizzazione, composizioni farmaceutiche e compresse della presente invenzione comprendenti il Composto 1 Forma I e una dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo, come qui descritto, sono utili per trattare, diminuire la gravità di, o trattare sintomaticamente pazienti diagnosticati con

sufficienza pancreatica, pancreatite idiopatica e assenza bilaterale congenita del dotto deferente, o lieve malattia polmonare in cui il paziente ha CFTR di tipo selvatico.

Oltre alla fibrosi cistica, la modulazione dell'attività della CFTR può essere utile per altre malattie non direttamente causate da mutazioni in CFTR, come malattie secretorie e altre malattie di ripiegamento delle proteine mediate da CFTR. Queste includono broncopneumopatia cronica ostruttiva (COPD), malattia dell'occhio secco, e sindrome di Sjögren. La COPD è caratterizzata da una limitazione del flusso respiratorio che progressiva e non completamente reversibile. La limitazione del flusso respiratorio è dovuta a ipersecrezione di muco, enfisema e bronchiolite. Attivatori di CFTR mutante o di tipo selvatico offrono un potenziale trattamento dell'ipersecrezione del muco e una compromissione della eliminazione mucociliare che è comune nella COPD. In particolare, l'aumento della secrezione di anioni attraverso CFTR può facilitare il trasporto di fluidi nel liquido superficiale delle vie respiratorie per idratare il muco e ottimizzare la viscosità del fluido periciliare. Ciò porterebbe ad una maggiore eliminazione mucociliare e ad una riduzione dei sintomi associati alla COPD. La malattia dell'occhio secco è caratterizzata da una diminuzione della produzione acquosa lacrimale e di profili lipidici, di proteine e mucina anormali nella pellicola lacrimale. Ci sono molte cause della secchezza oculare, alcune delle quali includono età, chirurgia dell'occhio di Lasik, artrite, farmaci, ustioni chimiche/termiche, allergie e malattie, come la fibrosi cistica e la sindrome di Sjögrens. L'aumento della secrezione di anioni tramite CFTR aumenterebbe il trasporto di fluidi dalle cellule endoteliali corneali e dalle ghiandole secretorie che circondano l'occhio per aumentare l'idratazione della cornea. Ciò contribuirebbe ad alleviare i sintomi associati alla malattia dell'occhio secco. La sindrome di Sjögrens è una malattia autoimmune in cui il sistema immunitario attacca le ghiandole che producono umidità in tutto il corpo, inclusi occhio, bocca, pelle, tessuto respiratorio, fegato, vagina e intestino. I sintomi comprendono: secchezza di occhi, bocca e vagina, oltre a patologie polmonari. La malattia è anche associata ad artrite reumatoide, lupus sistemico, sclerosi sistemica e polimiosite/dermatomiosite. Si ritiene che un traffico di proteine difettoso causi la malattia, per cui le opzioni di trattamento sono limitate. Potenzianti o induttori dell'attività CFTR possono idratare i vari organi colpiti dalla malattia e contribuire ad alleviare i sintomi associati.

È anche descritto un metodo per aumentare o indurre l'attività del canale anionico *in vitro*, comprendente il contatto del canale con una qualsiasi delle composizioni farmaceutiche **PC-I** fino a **PC-XXV**. Il canale anionico è un canale del cloruro o un canale del bicarbonato, oppure il canale anionico è un canale del cloruro.

L'esatta quantità richiesta varierà da soggetto a soggetto, a seconda della specie, dell'età e delle condizioni generali del soggetto, della gravità dell'infezione, dell'agente particolare e della sua modalità di somministrazione. Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione sono preferibilmente formulate in forma di unità di dosaggio per facilitare la somministrazione e l'uniformità di dosaggio. L'espressione "forma unitaria di dosaggio" come qui usata si riferisce ad un'unità di agente fisicamente distinta appropriata per il paziente da trattare. Si comprenderà, tuttavia, che l'uso quotidiano totale delle composizioni dell'invenzione sarà deciso dal medico curante nell'ambito di un sano giudizio medico. Il livello specifico di dose efficace per ogni particolare paziente o organismo dipenderà da una varietà di fattori tra cui il disturbo da trattare e la gravità del disturbo; l'attività del composto specifico impiegato; la composizione specifica usata; l'età, il peso corporeo, la salute generale, il sesso e la dieta del paziente; il tempo di somministrazione, la via di somministrazione e il tasso di escrezione dello specifico composto impiegato; la durata del trattamento; farmaci usati in combinazione o in coincidenza con il composto specifico impiegato, e fattori simili ben noti in medicina. Il termine "paziente", come usato nella presente, significa un animale, preferibilmente un mammifero, e più preferibilmente un essere umano.

Ovunque nella presente domanda, dove il nome di un composto potrebbe non descrivere correttamente la struttura del composto, la struttura sostituisce il nome ed è valida.

ESEMPI

XRPD (diffrazione dei raggi X da polvere)

I dati di diffrazione dei raggi X (XRD) del Composto 1 forma I sono stati raccolti su un diffrattometro per polveri Bruker D8 DISCOVER con rivelatore bidimensionale HI-STAR e un monocromatore a grafite piatto. È stato usato un tubo sigillato in Cu con radiazione $K\alpha$ a 40 kV, 35 mA. I campioni sono stati collocati su *wafers* di silicio a fondo zero a 25°C. Per ciascun campione, sono state raccolte due finestre di dati a 120 secondi ciascuna

a 2 diversi angoli θ_2 : 8° e 26° . I dati sono stati integrati con il software GADDS e uniti con software DIFFRACT^{plus} EVA. Le incertezze per le posizioni di picchi riportate sono di $\pm 0,2$ gradi.

Calorimetria a scansione differenziale (DSC)

I dati della calorimetria a scansione differenziale (DSC) del Composto 1 Forma I sono stati raccolti usando un DSC Q100 V9.6 Build 290 (TA Instruments, New Castle, DE). La temperatura è stata calibrata con indio e la capacità termica è stata calibrata con zaffiro. Campioni di 3-6 mg sono stati pesati in piattini di alluminio che sono stati crimpati usando coperchi con un foro di spillo. I campioni sono stati scansionati da 25°C a 350°C ad un regime di riscaldamento di $1,0^\circ\text{C}/\text{min}$ e con uno spurgo di gas azoto di $50 \text{ ml}/\text{min}$. I dati sono stati raccolti con software Thermal Advantage Q SeriesTM versione 2.2.0.248 e analizzati con software Universal Analysis versione 4.1D (TA Instruments, New Castle, DE). I numeri riportati rappresentano singole analisi.

Determinazione della struttura monocristallina di composto 1 forma I

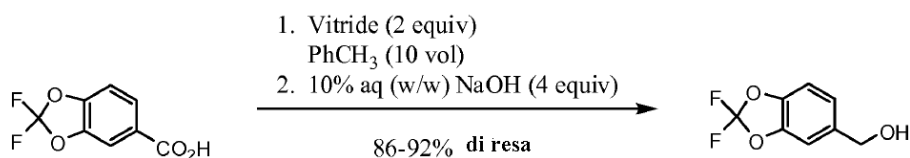
I dati di diffrazione sono stati acquisiti sul diffrattometro Bruker Apex II dotato di sorgente Cu K-alfa a tubo sigillato e un rivelatore CCD Apex II. La struttura è stata risolta e rifinita con il programma SHELX (Sheldrick, G.M., Acta Cryst., (2008) A64, 112-122). In base ad assenze sistematiche e statistiche di intensità, la struttura è stata risolta e perfezionata nel gruppo spaziale $P2_1/n$.

Vitride® (sodio bis(2-metossietossi)alluminio idruro [$0 \text{ NaAlH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3)_2$], soluzione al 65% in peso in toluene) è stato acquistato da Aldrich Chemicals.

Acido 2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo-5-carbossilico è stato acquistato da Saltigo (un affiliato di Lanxess Corporation).

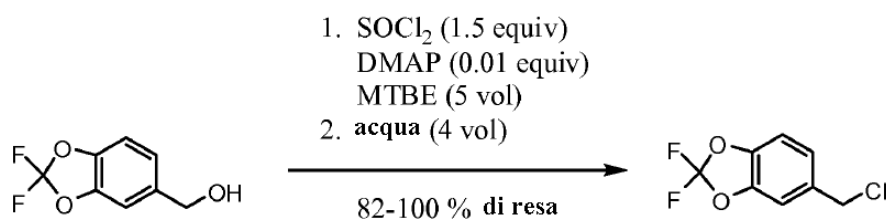
Preparazione di Composto 1

Preparazione di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-metanolo.



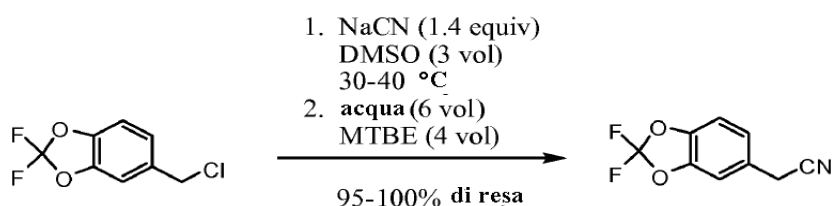
Il prodotto commerciale acido 2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo-5-carbossilico (1,0 eq) è stato impastato in toluene (10 vol), Vitride® (2 eq) è stato aggiunto tramite imbuto per aggiunte ad un regime tale da mantenere la temperatura a 15-25 °C. Al termine dell'aggiunta, la temperatura è stata aumentata a 40 °C per 2 ore (h), poi 10% (p/p) NaOH acquoso (aq) (4,0 eq) è stato aggiunto cautamente tramite imbuto per aggiunte, mantenendo la temperatura a 40-50 °C. Dopo aver agitato per altri 30 minuti (min), gli strati sono stati lasciati separare a 40 °C. La fase organica è stata raffreddata a 20 °C, poi lavata con acqua (2 x 1,5 vol), seccata (Na₂SO₄), filtrata, e concentrata per dare (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-metanolo grezzo che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

Preparazione di 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo.



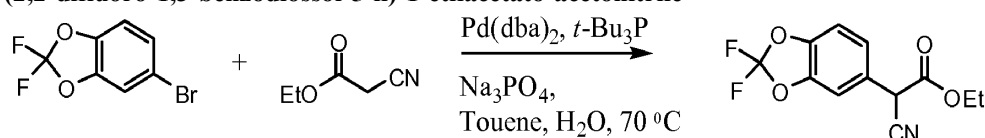
(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-metanolo (1,0 eq) è stato sciolto in MTBE (5 vol). Una quantità catalitica di 4-(N,N-dimetil)amminopiridina (DMAP) (1% molare) è stata aggiunta e SOCl₂ (1,2 eq) è stato aggiunto tramite imbuto per aggiunte. Il SOCl₂ è stato aggiunto ad un regime tale da mantenere la temperatura nel reattore a 15-25 °C. La temperatura è stata aumentata a 30 °C per 1 h, e poi è stata raffreddata a 20 °C. Acqua (4 vol) è stata aggiunta tramite imbuto per aggiunte mantenendo la temperatura a meno di 30 °C. Dopo aver agitato per altri 30 min, gli strati sono stati lasciati separare. Lo strato organico è stato agitato e 10% (w/v) aq NaOH (4,4 vol) è stato aggiunto. Dopo aver agitato per 15 fino a 20 min, gli strati sono stati lasciati separare. La fase organica è stata poi seccata (Na₂SO₄), filtrata, e concentrata per dare 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo grezzo che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

Preparazione di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile.



Una soluzione di 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo (1 eq) in DMSO (1,25 vol) è stata aggiunta ad un impasto liquido di NaCN (1,4 eq) in DMSO (3 vol), mantenendo la temperatura tra 30-40 °C. La miscela è stata agitata per 1 h, e poi acqua (6 vol) è stata aggiunta, seguita da metil *terz*-butil etere (MTBE) (4 vol). Dopo aver agitato per 30 min, gli strati sono stati separati. Lo strato acquoso è stato estratto con MTBE (1,8 vol). Gli strati organici combinati sono stati lavati con acqua (1,8 vol), seccati (Na₂SO₄), filtrati, e concentrati per dare (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile grezzo (95%) che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

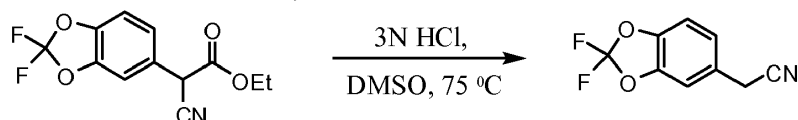
Sintesi di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrile



Un reattore è stato spurgato con azoto e caricato con 900 mL di toluene. Il solvente è stato degassato mediante diffusione di azoto per non meno di 16 h. Al reattore è stato poi aggiunto Na₃PO₄ (155,7 g, 949,5 mmoli), seguito da bis(dibenzilideneacetone) palladio (0) (7,28 g, 12,66 mmoli). Una soluzione al 10% p/p di *terz*-butilfosfina in esani (51,23 g, 25,32 mmoli) è stata caricata in 10 min a 23 °C da un imbuto per aggiunte spurgato con azoto. La miscela è stata lasciata agitare per 50 min, dopo di che 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo (75 g, 316,5 mmoli) è stato aggiunto in 1 min. Dopo aver agitato per altri 50 min, la miscela è stata caricata con etil cianoacetato (71,6 g, 633,0 mmoli) in 5 min seguiti da acqua (4,5 mL) in una porzione. La miscela è stata riscaldata a 70 °C in 40 min e analizzata mediante HPLC ogni 1 - 2 h per la conversione percentuale del reagente al prodotto. Dopo aver osservato conversione completa (tipicamente 100% di conversione dopo 5 - 8 h), la miscela è stata raffreddata a 20 - 25 °C e filtrata attraverso un pannello di celite. Il pannello di celite è stato risciacquato con toluene (2 X 450 mL) e le fasi organiche combinate sono state concentrate a 300 mL sotto vuoto a 60 - 65 °C. Il concentrato è stato caricato con 225mL DMSO e concentrato

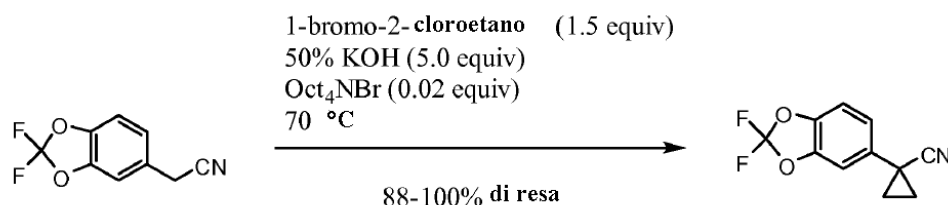
sotto vuoto a 70 - 80 °C fino a quando la distillazione attiva del solvente cessava. La soluzione è stata raffreddata a 20 - 25 °C e diluita a 900 mL con DMSO in preparazione per Passaggio 2. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,16 - 7,10 (m, 2H), 7,03 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 4,63 (s, 1H), 4,19 (m, 2H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

Sintesi di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile.



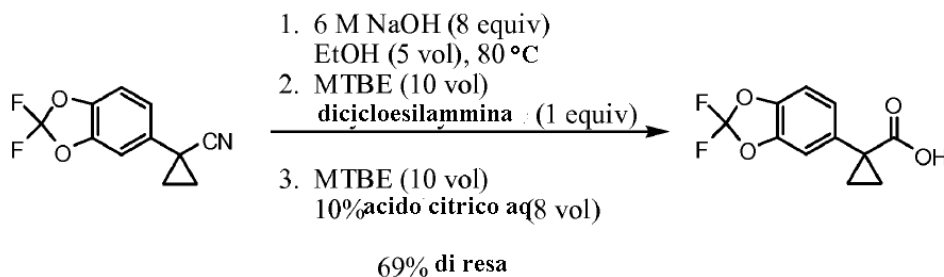
La soluzione in DMSO di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrile di cui sopra è stata caricata con 3 N HCl (617,3 mL, 1,85 moli) in 20 min mantenendo una temperatura interna < 40 °C. La miscela è stata poi riscaldata a 75°C in 1 h e analizzata mediante HPLC ogni 1 - 2 h per % di conversione. Quando si osservava una conversione di > 99% (tipicamente dopo 5 - 6 h), la reazione è stata raffreddata a 20 - 25 °C e estratta con MTBE (2 X 525 mL), con tempo sufficiente per consentire una completa separazione di fasi durante le estrazioni. Gli estratti organici combinati sono stati lavati con 5% NaCl (2 X 375 mL). La soluzione è stata poi trasferita ad un'apparecchiatura adatta una distillazione sotto vuoto a 1,5 - 2,5 Torr che era dotata di un pallone ricevente refrigerato. La soluzione è stata concentrata sotto vuoto a < 60°C per rimuovere i solventi. (2,2-Difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile è stato poi distillato dal risultante olio a 125 - 130 °C (temperatura del forno) e 1,5 - 2,0 Torr. (2,2-Difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile è stato isolato come un olio limpido in 66% di resa da 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodiossol (2 passaggi) e con una purezza HPLC di 91,5% AUC (corrisponde a un saggio p/p di 95%). ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,44 (s largo, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,22 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 4,07 (s, 2H).

Preparazione di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbonitrile.



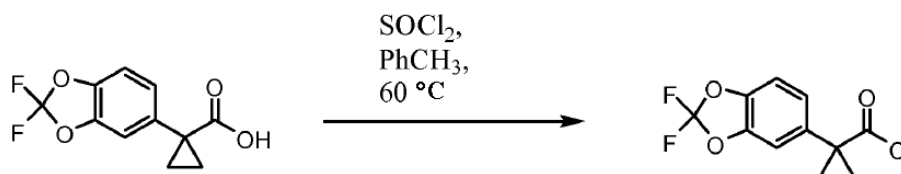
Una miscela di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile (1,0 eq), 50% in peso KOH acquoso (5,0 eq) 1-bromo-2-cloroetano (1,5 eq), e Oct₄NBr (0,02 eq) è stata riscaldata a 70 °C per 1 h. La miscela di reazione è stata raffreddata, poi elaborata con MTBE e acqua. La fase organica è stata lavata con acqua e salamoia. Il solvente è stato rimosso per dare (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbonitrile.

Preparazione di acido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbossilico.



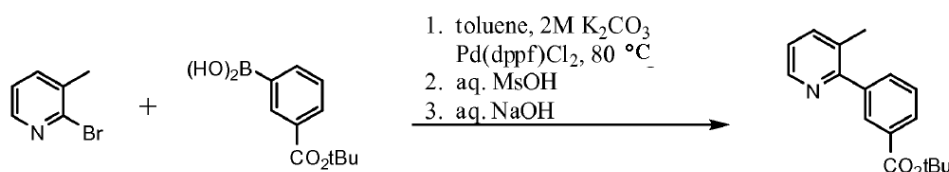
(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbonitrile è stato idrolizzato usando 6 M NaOH (8 equiv) in etanolo (5 vol) a 80 °C durante la notte. La miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e l'etanolo è stato evaporato sotto vuoto. Il residuo è stato ripreso in acqua e MTBE, 1 M HCl è stato aggiunto, e gli strati sono stati separati. Lo strato di MTBE è stato poi trattato con dicioesilammina (DCHA) (0,97 equiv). La sospensione è stata raffreddata a 0 °C, filtrata e lavata con eptano per dare il corrispondente sale di DCHA. Il sale è stato ripreso in MTBE e 10% acido citrico e agitato fino allo scioglimento di tutti i solidi. Gli strati sono stati separati e lo strato di MTBE è stato lavato con acqua e salamoia. Uno scambio di solvente a eptano seguito da filtrazione dava acido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbossilico dopo essiccazione in un forno da vuoto a 50 °C durante la notte.

Preparazione di 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbonyl cloruro.



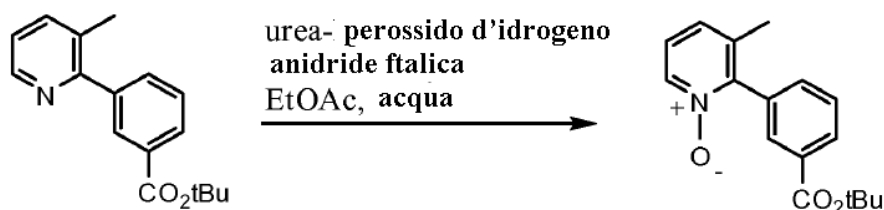
Acido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbossilico (1,2 eq) viene sospeso in toluene (2,5 vol) e la miscela è stata riscaldata a 60 °C. SOCl₂ (1,4 eq) è stato aggiunto tramite imbuto per aggiunte. Il toluene e SOCl₂ sono stati distillati dalla miscela di reazione dopo 30 minuti. Altro toluene (2,5 vol) è stato aggiunto e la risultante miscela è stata distillata nuovamente, lasciando il cloruro acilico prodotto come un olio, che è stato usato senza ulteriore purificazione.

Preparazione di *terz*-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato.



2-Bromo-3-metilpiridina (1,0 eq) è stata sciolta in toluene (12 vol), K₂CO₃ (4,8 eq) è stato aggiunto, seguito da acqua (3,5 vol). La risultante miscela è stata riscaldata a 65 °C sotto una corrente di N₂ per 1 ora. Acido 3-(*t*-Butossicarbonil)fenilboronico (1,05 eq) e Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂(0,015 eq) sono stati poi aggiunti e la miscela è stata riscaldata a 80 °C. Dopo 2 ore, il riscaldamento è stato spento, è stata aggiunta acqua (3,5 vol), e gli strati sono stati lasciati separare. La fase organica è stata poi lavata con acqua (3,5 vol) e estratta con 10% di acido metansolfonico acquoso (2 eq MsOH, 7,7 vol). La fase acquosa è stata resa basica con 50% NaOH acquoso (2 eq) e estratta con EtOAc (8 vol). Lo strato organico è stato concentrato per dare *terz*-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato grezzo (82%) che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

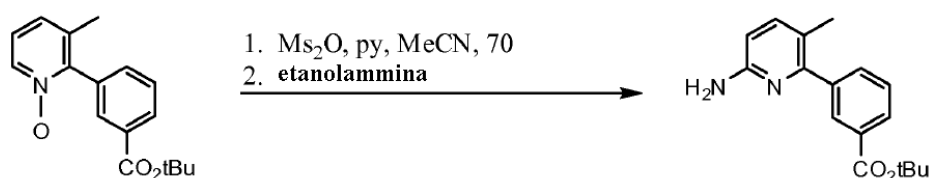
Preparazione di 2-(3-(*terz*-butossicarbonil)fenil)-3-metilpiridin-1-ossido.



terz-Butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato (1,0 eq) è stato sciolto in EtOAc (6 vol). Acqua (0,3 vol) è stata aggiunta, seguita da urea-perossido d'idrogeno (3 eq). Anidride ftalica (3 eq) è stata poi aggiunta in porzioni alla miscela come un solido ad un regime tale da mantenere la temperatura nel reattore al di sotto di 45 °C. Dopo

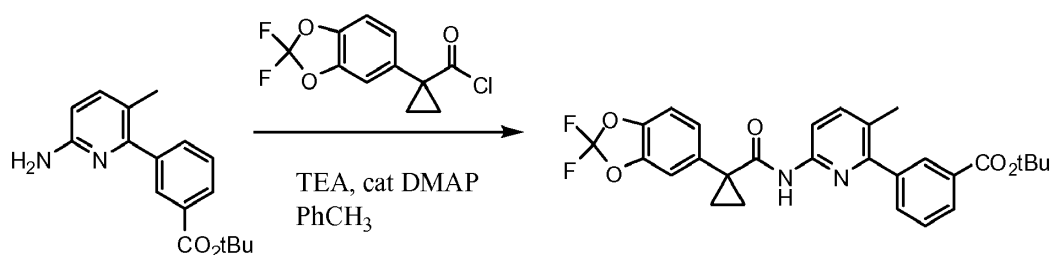
completamento dell'aggiunta di anidride ftalica, la miscela è stata riscaldata a 45 °C. Dopo aver agitato per altre 4 ore, il riscaldamento è stato spento, 10% p/p Na₂SO₃ acquoso (1,5 eq) è stato aggiunto tramite imbuto per aggiunte. Dopo completamento dell'aggiunta di Na₂SO₃, la miscela è stata agitata per altri 30 min e gli strati separati. Lo strato organico è stato agitato e 10% p/p Na₂CO₃ acquoso (2 eq) è stato aggiunto. Dopo aver agitato per 30 minuti, gli strati sono stati lasciati separare. La fase organica è stata lavata con 13% p/v aq NaCl. La fase organica è stata poi filtrata e concentrata per dare 2-(3-(*terz*-butossicarbonil)fenil)-3-metilpiridin-1-ossido grezzo (95%) che è stato usato direttamente nel seguente passaggio.

Preparazione di *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato.



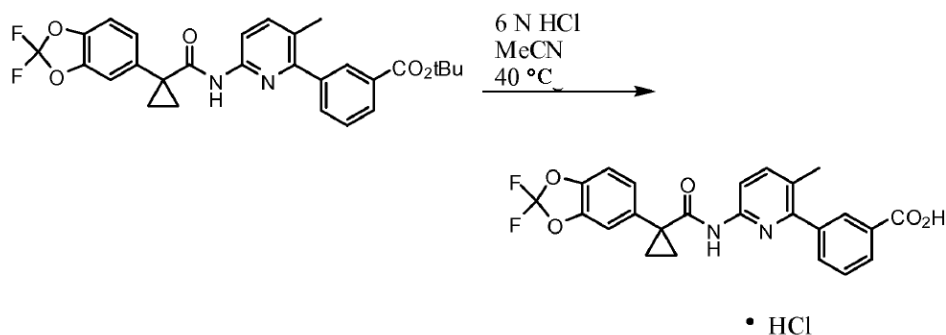
Una soluzione di 2-(3-(*terz*-butossicarbonil)fenil)-3-metilpiridin-1-ossido (1 eq) e piridina (4 eq) in acetonitrile (8 vol) è stata riscaldata a 70 °C. Una soluzione di anidride metansolfonica (1,5 eq) in MeCN (2 vol) è stata aggiunta in 50 min tramite imbuto per aggiunte mantenendo la temperatura a meno di 75 °C. La miscela è stata agitata per altre 0,5 ore dopo completamento dell'aggiunta. La miscela è stata poi lasciata raffreddare a temperatura ambiente. Etanolamina (10 eq) è stata aggiunta tramite imbuto per aggiunte. Dopo aver agitato per 2 ore, acqua (6 vol) è stata aggiunta e la miscela è stata raffreddata a 10 °C. Dopo aver agitato per 3 ore, il solido è stato raccolto per filtrazione e lavato con acqua (3 vol), 2:1 acetonitrile/acqua (3 vol), e acetonitrile (2 x 1,5 vol). Il solido è stato seccato a peso costante (<1% di differenza) in un forno da vuoto a 50 °C con una lieve corrente di N₂ per dare *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato come un solido rosso-giallo (53% di resa).

Preparazione di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)-ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato.



Il cloruro acilico grezzo descritto sopra è stato sciolto in toluene (2,5 volumi in base al cloruro acilico) e aggiunto tramite imbuto per aggiunte ad una miscela di *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato (1 eq), DMAP, (0,02 eq), e trietilammina (3,0 eq) in toluene (4 volumi in base a *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato). Dopo 2 ore, acqua (4 volumi in base a *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato) è stata aggiunta alla miscela di reazione. Dopo aver agitato per 30 minuti, gli strati sono stati separati. La fase organica è stata poi filtrata e concentrata per dare un olio denso di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato (resa grezza quantitativa). Acetonitrile (3 volumi in base a prodotto grezzo) è stato aggiunto e distillato fino alla cristallizzazione. Acqua (2 volumi in base a prodotto grezzo) è stata aggiunta e la miscela agitata per 2 h. Il solido è stato raccolto per filtrazione, lavato con 1:1 (in volume) acetonitrile/acqua (2 x 1 volumi in base a prodotto grezzo), e parzialmente seccato sul filtro sotto vuoto. Il solido è stato seccato ad un peso costante (<1% di differenza) in un forno da vuoto a 60 °C con una lieve corrente di N₂ per dare 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato come un solido marrone.

Preparazione di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • sale di HCl.



Ad un impasto di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanecarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) in MeCN (3,0 vol) è stata aggiunta acqua (0,83 vol) seguita da HCl acquoso concentrato (0,83 vol). La miscela è stata riscaldata a 45 ± 5 °C. Dopo aver agitato per 24 fino a 48 h, la reazione era completa, e la miscela è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente. Acqua (1,33 vol) è stata aggiunta e la miscela agitata. Il solido è stato raccolto per filtrazione, lavato con acqua (2 x 0,3 vol), e parzialmente seccato sul filtro sotto vuoto. Il solido è stato seccato ad un peso costante (<1% di differenza) in un forno da vuoto a 60 °C con una lieve corrente di N₂ per dare acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanecarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • HCl come un solido biancastro.

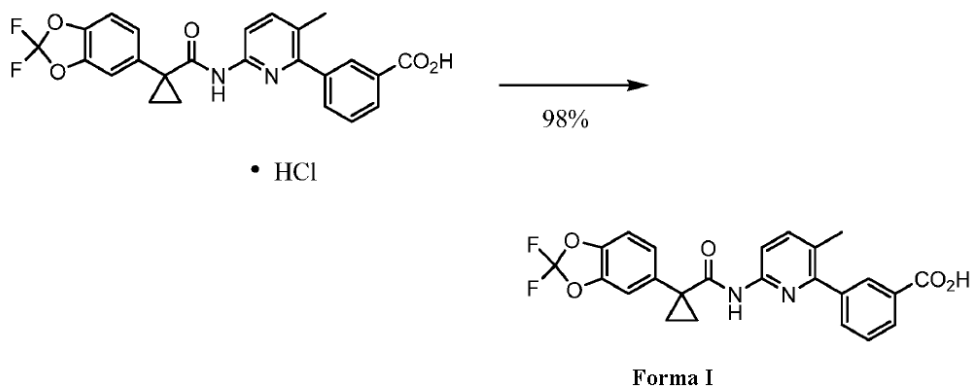
Uno spettro ¹HNMR di Composto 1 è mostrato in Figura 8 e Figura 9 riporta uno spettro ¹HNMR di Composto 1 come sale di HCl.

Tabella 2 seguente riporta i dati ¹HNMR per Composto I.

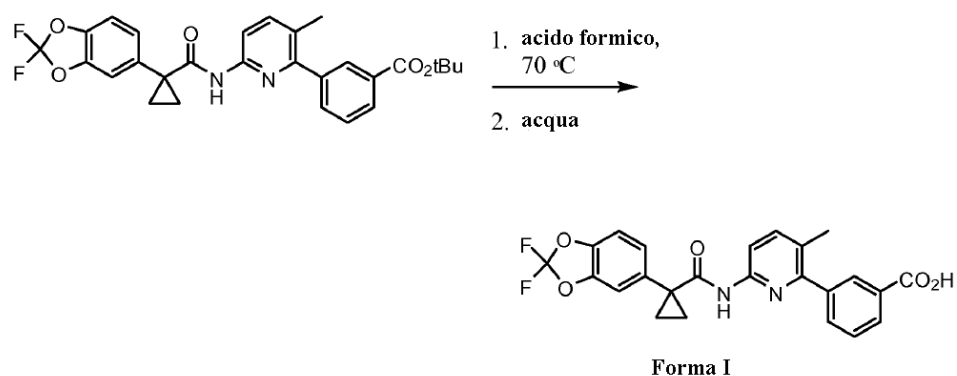
Tabella 2.

Composto N.	LC/MC M + 1	LC/RT minuti	NMR
1	453,3	1,93	¹ HNMR (400 MHz, DMSO-d ₆) 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).

Preparazione di Composto 1 Forma I

Preparazione di Composto 1 Forma I, Metodo A.

Un impasto di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzofuran-5-yl)ciclopropanecarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • HCl (1 eq) in acqua (10 vol) è stato agitato a temperatura ambiente. Un campione è stato prelevato dopo aver agitato per 24 h. Il campione è stato filtrato e il solido è stato lavato con acqua (2 volte). Il campione solido è stato sottoposto ad analisi DSC. Quando l'analisi DSC indicava conversione completa a Forma I, il solido è stato raccolto per filtrazione, lavato con acqua (2 x 1,0 vol), e parzialmente seccato su un filtro sotto vuoto. Il solido è stato poi seccato ad un peso costante (<1% di differenza) in un forno da vuoto a 60 °C con una lieve corrente di N₂ per dare Composto 1 Forma I come un solido biancastro (98% di resa). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 9,14 (s, 1H), 7,99-7,93 (m, 3H), 7,80-7,78 (m, 1H), 7,74-7,72 (m, 1H), 7,60-7,55 (m, 2H), 7,41-7,33 (m, 2H), 2,24 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,19-1,17 (m, 2H).

Preparazione di Composto 1 Forma I, Metodo B.

Una soluzione di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) in acido formico (3,0 vol) è stata riscaldata con agitazione a 70 ± 10 °C, per 8 h. La reazione era ritenuta completa quando rimaneva non più di 1,0% AUC con metodi cromatografici di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato). La miscela è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente. La soluzione è stata aggiunta a acqua (6 vol), riscaldata a 50 °C, e la miscela è stata agitata. La miscela è stata poi riscaldata a 70 ± 10 °C fino a quando il livello di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato era non più di 0,8% (AUC). Il solido è stato raccolto per filtrazione, lavato con acqua (2 x 3 vol), e parzialmente seccato sul filtro sotto vuoto. Il solido è stato seccato ad un peso costante (<1% di differenza) in un forno da vuoto a 60 °C con una lieve corrente di N₂ per dare Composto 1 Forma I come un solido biancastro. La traccia DSC di Composto 1 Forma I è mostrata in Figura 10. La fusione per Composto 1 Forma I avviene a circa 204 °C.

Un modello di diffrazione di raggi X è stato calcolato da una struttura a singolo cristallo di Composto 1 Forma I ed è mostrato in Figura 1. Tabella 3 elenca i picchi calcolati per Figura 1.

Tabella 3.

Rango picco	Angolo 2θ [gradi]	Intensità 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

Un modello di diffrazione di raggi X reale di Composto 1 Forma I è mostrato in Figura 2. Tabella 4 elenca i picchi reali per Figura 2.

Tabella 4.

Rango picco	Angolo 2 θ [gradi]	Intensità 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

Cristalli incolori del Composto 1 Forma I sono stati ottenuti raffreddando una soluzione concentrata di 1-butanolo da 75°C a 10°C ad una velocità di 0,2°C/min. Un cristallo con dimensioni di 0,50 x 0,08 x 0,03 mm è

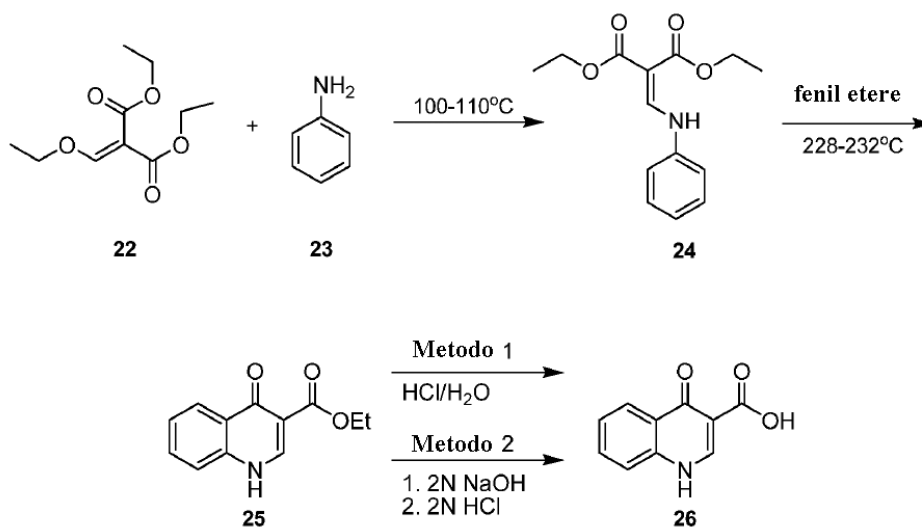
stato selezionato, pulito con olio minerale, montato su un MicroMount e centrato su un sistema Bruker *APEX* II. Sono stati ottenuti tre lotti di 40 finestre separati nello spazio reciproco per fornire una matrice di orientazione e parametri iniziali della cella. I parametri delle celle finali sono stati ottenuti e perfezionati in base alla serie di dati completa.

È stata ottenuta una serie di dati di diffrazione dello spazio reciproco con una risoluzione di 0,82 Å usando incrementi di 0,5° usando esposizione di 30 s per ciascun fotogramma. I dati sono stati raccolti a 100 (2) K. L'integrazione delle intensità e il raffinamento dei parametri di cella sono stati eseguiti usando il software *APEXII*. L'osservazione del cristallo dopo la raccolta dei dati non ha mostrato segni di decomposizione.

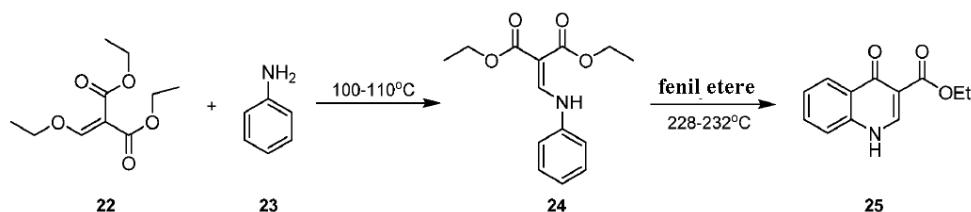
Un'immagine conformazionale di Composto 1 forma I basata su analisi a raggi X a cristallo singolo è mostrata nella Figura 11. Composto 1 Forma I è monoclinico, P_21/n , con le seguenti dimensioni di cella unitaria: $a = 4,9626(7)$ Å, $b = 12,299(2)$ Å, $c = 33,075(4)$ Å, $\beta = 93,938(9)^\circ$, $V = 2014,0$ Å³, $Z = 4$. Densità del composto 1 forma I calcolata dai dati strutturali è 1,492 g/cm³ a 100 K.

Preparazione di Composto 2

Sintesi di acido 4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossilico (26)

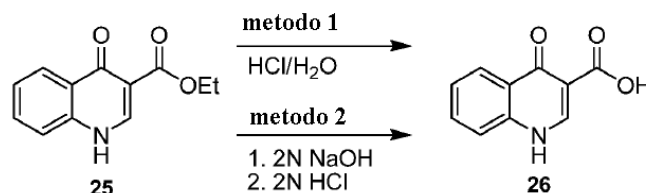


Procedura per la preparazione di etil 4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossilato (25)



Composto **23** (4,77 g, 47,7 mmoli) è stato aggiunto a gocce a composto **22** (10 g, 46,3 mmoli) con flusso di N₂ sotto superficie per portare via l'etanolo al di sotto di 30 °C per 0,5 ore. La soluzione è stata poi riscaldata a 100-110 °C e agitata per 2,5 ore. Dopo aver raffreddato la miscela a meno di 60 °C, difenil etere è stato aggiunto. La risultante soluzione è stata aggiunta a gocce a difenil etere che era stato riscaldata a 228-232 °C per 1,5 ore con flusso di N₂ sotto la superficie per allontanare l'etanolo. La miscela è stata agitata a 228-232 °C per altre 2 ore, raffreddata a meno di 100 °C e poi eptano è stato aggiunto per far precipitare il prodotto. La sospensione risultante è stata agitata a 30 °C per 0,5 ore. I solidi sono stati poi filtrati, e il pannello è stato lavato con eptano e seccato *sotto vuoto* per dare composto **25** come un solido marrone. ¹H NMR (DMSO-d₆; 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).

Procedura per la preparazione di acido 4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossilico (**26**)



Metodo 1

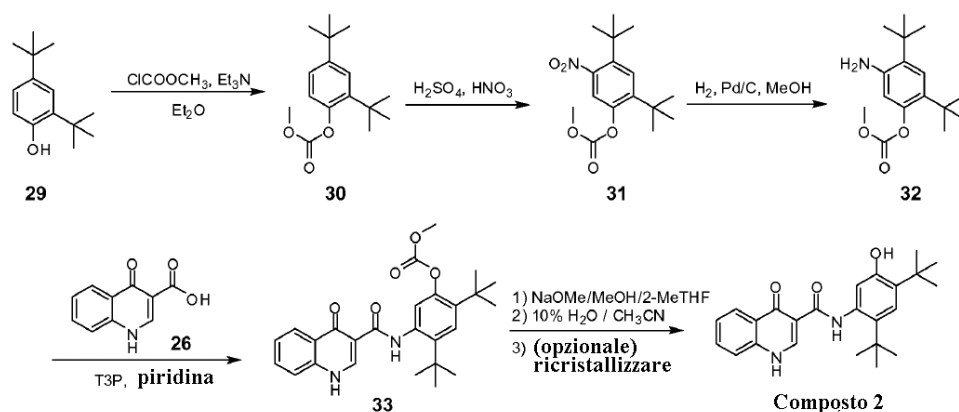
Composto **25** (1,0 eq) è stato sospeso in una soluzione di HCl (10,0 eq) e H₂O (11,6 vol). La sospensione è stata riscaldata a 85 - 90 °C, anche se temperature alternative sono anche adatte per questo passaggio di idrolisi. Per esempio, l'idrolisi può essere eseguita alternativamente ad una temperatura da circa 75 fino a circa 100 °C. In alcuni casi, l'idrolisi viene eseguita ad una temperatura da circa 80 fino a circa 95 °C. In altri, il passaggio di idrolisi viene eseguito ad una temperatura da circa 82 fino a circa 93 °C (ad es., da circa 82,5 fino a circa 92,5 °C o da circa 86 fino a circa 89 °C). Dopo aver agitato a 85 - 90 °C per circa 6,5 ore, la reazione è stata campionata

per il completamento della reazione. Agitazione può essere eseguita a qualsiasi temperatura adatta per l'idrolisi. La soluzione è stata poi raffreddata a 20 - 25 °C e filtrata. Il reattore/panello è stato risciacquato con H₂O (2 vol. x 2). Il pannello è stato poi lavato con 2 volumi di H₂O fino a pH ≥ 3,0. Il pannello è stato poi seccato sotto vuoto a 60 °C per dare composto **26**.

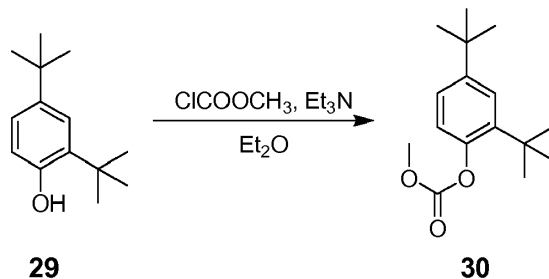
Metodo 2

Composto **25** (11,3 g, 52 mmoli) è stato aggiunto ad una miscela di 10% NaOH (aq) (10 mL) e etanolo (100 mL). La soluzione è stata riscaldata a riflusso per 16 ore, raffreddata a 20-25 °C e poi il pH è stato regolato a 2-3 con 8% HCl. La miscela è stata poi agitata per 0,5 ore e filtrata. Il pannello è stato lavato con acqua (50 mL) e poi seccato *sotto vuoto* per dare composto **26** come un solido marrone. ¹H NMR (DMSO-d₆; 400 MHz) δ 15,33 (s), δ 13,39 (s), δ 8,87 (s), δ 8,26 (m), δ 7,87 (m), δ 7,80 (m), δ 7,56 (m).

Sintesi totale di N-(2,4-di-terz-butil-5-idrossifenil)-4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossammide (Composto 2)



Procedura per la preparazione di 2,4-di-terz-butilfenil metil carbonato (30)



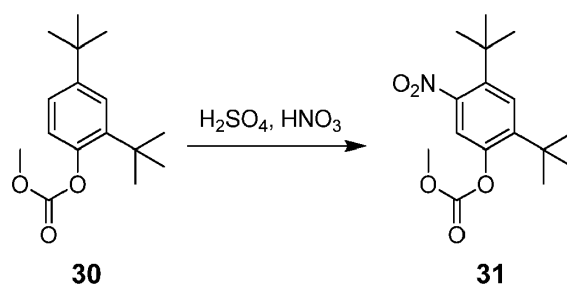
Metodo 1

Ad una soluzione di 2,4-di-*terz*-butil fenolo, **29**, (10 g, 48,5mmoli) in dietil etere (100 mL) e trietilammina (10,1 mL, 72,8 mmoli), è stato aggiunto metil cloroformiato (7,46 mL, 97 mmoli) a gocce a 0 °C. La miscela è stata poi lasciata riscaldare a temperatura ambiente e agitare per altre 2 ore. Altri 5 mL di trietilammina e 3,7 mL metil cloroformiato sono stati poi aggiunti e la reazione agitata durante la notte. La reazione è stata poi filtrata, il filtrato è stato raffreddato a 0 °C, e altri 5 mL di trietilammina e 3,7 mL di metil cloroformiato sono stati poi aggiunti e la reazione è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente e poi agitare per 1 ora aggiuntiva. A questo stadio, la reazione era quasi completa ed è stata elaborata per filtrazione, poi lavando con acqua (2x), seguita da salamoia. La soluzione è stata poi concentrata per produrre un olio giallo e purificata usando cromatografia su colonna per dare composto **30**. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,35 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H).

Metodo 2

Ad un recipiente di reazione caricato con 4-dimetilamminopiridina (DMAP, 3,16 g, 25,7 mmoli) e 2,4-di-*terz*-butil fenolo (composto **29**, 103,5 g, 501,6 mmoli) è stato aggiunto cloruro di metilene (415 g, 313 mL) e la soluzione è stata agitata fino allo scioglimento di tutti i solidi. Trietilammina (76 g, 751 mmoli) è stata poi aggiunta e la soluzione è stata raffreddata a 0 - 5 °C. Metil cloroformiato (52 g, 550,3 mmoli) è stato poi aggiunto a gocce in 2,5 - 4 ore, mantenendo la temperatura della soluzione tra 0 - 5 °C. La miscela di reazione è stata poi lentamente riscaldata a 23 - 28 °C e agitata per 20 ore. La reazione è stata poi raffreddata a 10 - 15 °C e caricata con 150 mL di acqua. La miscela è stata agitata a 15 - 20 °C per 35 - 45 minuti e lo strato acquoso è stato poi separato e estratto con 150 mL di cloruro di metilene. Gli strati organici sono stati combinati e neutralizzati con 2,5% HCl (aq) ad una temperatura di 5 - 20 °C per dare un pH finale di 5 - 6. Lo strato organico è stato poi lavato con acqua e concentrato *sotto vuoto* ad una temperatura inferiore a 20 °C a 150 mL per dare composto **30** in cloruro di metilene.

Procedura per la preparazione di 5-nitro-2,4-di-*terz*-butilfenil metil carbonato (31)



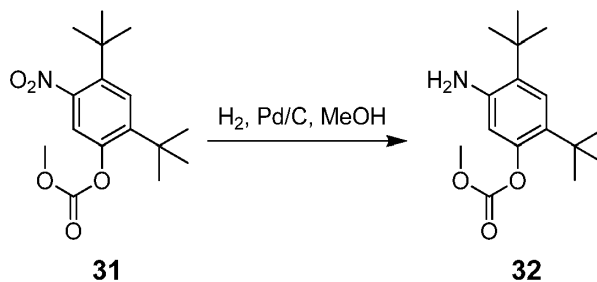
Metodo 1

Ad una soluzione agitata di composto **30** (6,77g, 25,6 mmoli) è stato aggiunto 6 mL di una miscela 1:1 di acido solforico e acido nitrico a 0 °C a gocce. La miscela è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente e agitata per 1 ora. Il prodotto è stato purificato usando cromatografia liquida (ISCO, 120 g, 0-7% EtOAc/Esani, 38 min) producendo una miscela di circa 8:1 - 10:1 di regioisomeri di composto **31** come un solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,63 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 1,36 (s, 9H), 1,32 (s, 9H), HPLC tempo di ritenzione 3,92 min 10-99% CH₃CN, corsa di 5 min; ESI-MS 310 m/z (MH)⁺.

Metodo 2

A composto **30** (100g, 378 mmoli) è stato aggiunto DCM (540 g, 408 mL). La miscela è stata agitata fino allo scioglimento di tutti i solidi, e poi raffreddata a -5 - 0 °C, acido solforico concentrato (163 g) è stato poi aggiunto a gocce, mantenendo la temperatura iniziale della reazione, e la miscela è stata agitata per 4,5 ore. Acido nitrico (62 g) è stato poi aggiunto a gocce in 2-4 ore mantenendo la temperatura iniziale della reazione, ed è stato poi agitato a questa temperatura per altre 4,5 ore. La miscela di reazione è stata poi lentamente aggiunta a acqua fredda, mantenendo a temperature al di sotto di 5 °C. La reazione spenta è stata poi riscaldata a 25 °C e lo strato acquoso è stato rimosso e estratto con cloruro di metilene. Gli strati organici combinati sono stati lavati con acqua, seccati usando Na₂SO₄, e concentrati 124 - 155 mL. Esano (48 g) è stato aggiunto e la risultante miscela è stata nuovamente concentrata a 124 - 155 mL. Altro esano (160 g) è stato successivamente aggiunto alla miscela. La miscela è stata poi agitata a 23 - 27 °C per 15,5 ore, ed è stata poi filtrata. Al pannello di filtrazione è stato aggiunto esano (115 g), la risultante miscela è stata riscaldata a riflusso e agitata per 2 - 2,5 ore. La miscela è stata poi raffreddata a 3 - 7 °C, agitata per altre 1 - 1,5 ore, e filtrata per dare composto **31** come un solido giallo chiaro.

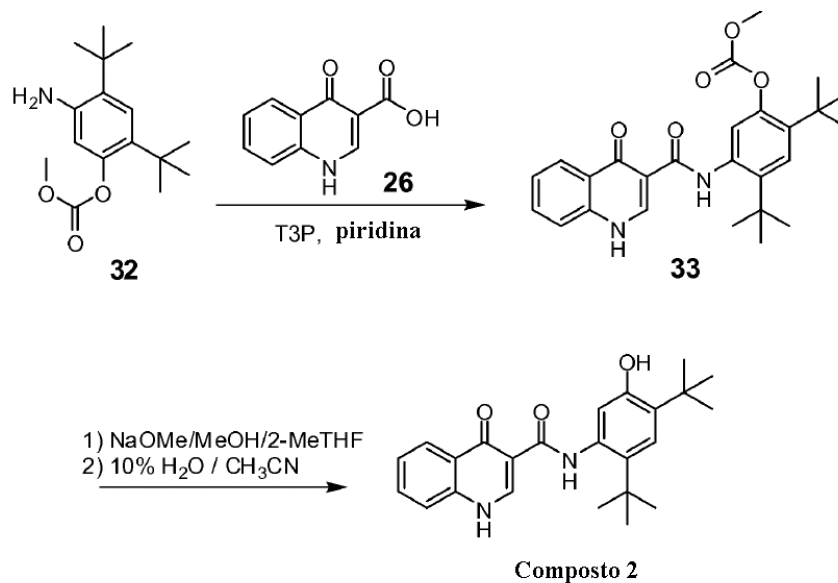
Procedura per la preparazione di 5-ammino-2,4-di-terz-butilfenil metil carbonato (32)



2,4-Di-terz-butil-5-nitrofenil metil carbonato (1,00 eq) è stato caricato in un reattore di idrogenazione adatto, seguito da 5% Pd/C (2,50% in peso su base secca, Johnson-Matthey Tipo 37). MeOH (15,0 vol) è stato caricato nel reattore, e il sistema è stato chiuso. Il sistema è stato spurgato con N₂ (g), ed è stato poi pressurizzato a 2,0 Bar con H₂ (g). La reazione è stata eseguita ad una temperatura di reazione di 25 °C +/- 5°C. Quando completa, la reazione è stata filtrata, e il reattore/panello è stato lavato con MeOH (4,00 vol). Il risultante filtrato è stato distillato sotto vuoto a non più di 50°C a 8,00 volumi. Acqua (2,00 vol) è stata aggiunta a 45 °C +/- 5°C. La sospensione risultante è stata raffreddata a 0 °C +/- 5. La sospensione è stata tenuta a 0 °C +/- 5 °C per non meno di 1 ora, e filtrata. Il pannello è stato lavato una volta con 0 °C +/- 5 °C MeOH/H₂O (8:2) (2,00 vol). Il pannello è stato seccato sotto vuoto (-0,90 bar e -0,86 bar) a 35 °C - 40 °C per dare composto **32**. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 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).

Una volta che la reazione era completa, la risultante miscela è stata diluita con circa 5 fino a 10 volumi di MeOH (ad es., da circa 6 fino a circa 9 volumi di MeOH, da circa 7 fino a circa 8,5 volumi di MeOH, da circa 7,5 fino a circa 8 volumi di MeOH, o circa 7,7 volumi di MeOH), riscaldata a una temperatura di circa 35 ± 5 °C, filtrata, lavata, e seccata, come descritto sopra.

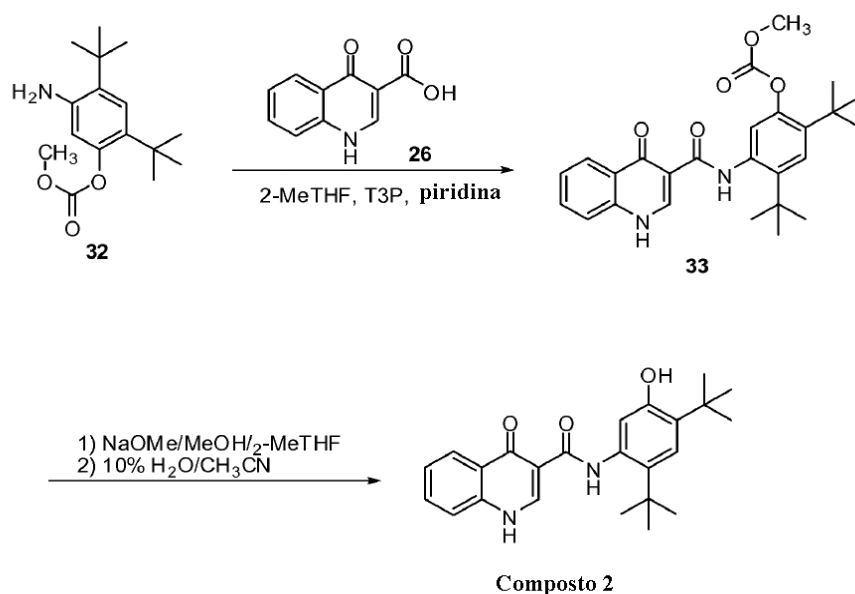
Preparazione di N-(2,4-di-terz-butil-5-idrossifenil)-4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossammide (Composto 2).



Acido 4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossilico, **26**, (1,0 eq) e 5-ammino-2,4-di-terz-butilfenil metil carbonato, **32**, (1,1 eq) sono stati caricati in un reattore. 2-MeTHF (4,0 volumi, rispetto all'acido) è stato aggiunto seguito da T3P® soluzione al 50% in 2-MeTHF (1,7 eq). Il recipiente caricato con T3P è stato lavato con 2-MeTHF (0,6 vol). Piridina (2,0 eq) è stata poi aggiunta, e la risultante sospensione è stata riscaldata a 47,5 +/- 5,0 °C e tenuta a questa temperatura per 8 ore. Un campione è stato prelevato e controllato per completamento per HPLC. Una volta completa, la risultante miscela è stata raffreddata a 25,0 °C +/- 2,5 °C. 2-MeTHF è stato aggiunto (12,5 vol) per diluire la miscela. La miscela di reazione è stata lavata con acqua (10,0 vol) 2 volte, 2-MeTHF è stato aggiunto per portare il volume totale della reazione a 40,0 volumi (16,5 volumi caricati). A questa soluzione è stato aggiunto NaOMe/MeOH (1,7 equiv) per eseguire la metanolisi. La reazione è stata agitata per non meno di 1,0 ora, e controllata per il completamento mediante HPLC. Una volta completa, la reazione è stata spenta con 1 N HCl (10,0 vol), e lavata con 0,1 N HCl (10,0 vol). La soluzione organica è stata raffinata per filtrazione per rimuovere qualsiasi materiale particellare e posta in un secondo reattore. La soluzione filtrata è stata concentrata a non più di 35 °C (temperatura della camicia) e non meno di 8,0 °C (temperatura di reazione interna) a pressione ridotta a 20 volumi. CH₃CN è stato aggiunto a 40 volumi e la soluzione concentrata a non più di 35 °C (temperatura della camicia) e non meno di 8,0 °C (temperatura di reazione interna) a 20 volumi. Il ciclo di

aggiunta di CH₃CN e concentrazione è stato ripetuto ancora 2 volte per un totale di 3 aggiunte di CH₃CN e 4 concentrazioni a 20 volumi. Dopo la concentrazione finale a 20 volumi, 16,0 volumi di CH₃CN sono stati aggiunti seguiti da 4,0 volumi di H₂O per preparare una concentrazione finale di 40 volumi di 10% H₂O/CH₃CN rispetto all'acido di partenza. Questa sospensione è stata riscaldata a 78,0 °C +/- 5,0 °C (riflusso). La sospensione è stata poi agitata per non meno di 5 ore. La sospensione è stata raffreddata a 0,0 °C +/- 5 °C in 5 ore, e filtrata. Il pannello è stato lavato con 0,0 °C +/- 5,0 °C CH₃CN (5 vol) 4 volte. Il solido risultante (Composto 2) è stato seccato in un forno da vuoto a 50,0 °C +/- 5,0 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 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).

Preparazione alternativa di N-(2,4-di-terz-butil-5-idrossifenil)-4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossamide (Composto 2).

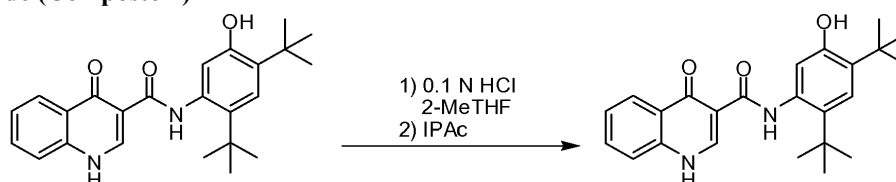


Acido 4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossilico, **26**, (1,0 eq) e 5-ammino-2,4-di-terz-butilfenil metil carbonato, **32**, (1,1 eq) sono stati caricati in un reattore. 2-MeTHF (4,0 volumi, rispetto all'acido) è stato aggiunto seguito da T3P® soluzione al 50% in 2-MeTHF (1,7 eq). Il recipiente caricato con T3P è stato lavato con 2-MeTHF (0,6 vol). Piridina (2,0 eq) è stata poi aggiunta, e la risultante sospensione è stata riscaldata a 47,5 +/- 5,0 °C e tenuta

a questa temperatura per 8 ore. Un campione è stato prelevato e controllato per il completamento mediante HPLC. Una volta completa, la risultante miscela è stata raffreddata a 20 °C +/- 5 °C, 2-MeTHF è stato aggiunto (12,5 vol) per diluire la miscela. La miscela di reazione è stata lavata con acqua (10,0 vol) 2 volte e 2-MeTHF (16,5 vol) è stato caricato nel reattore. Questa soluzione è stata caricata con 30% p/p NaOMe/MeOH (1,7 equiv) per eseguire la metanolisi. La reazione è stata agitata a 25,0 °C +/- 5,0 °C per non meno di 1,0 ora, e controllata per il completamento mediante HPLC. Una volta completa, la reazione è stata spenta con 1,2 N HCl/H₂O (10,0 vol), e lavata con 0,1 N HCl/H₂O (10,0 vol). La soluzione organica è stata raffinata per filtrazione per rimuovere qualsiasi materiale particellare e posta in un secondo reattore.

La soluzione filtrata è stata concentrata a non più di 35 °C (temperatura della camicia) e non meno di 8,0°C (temperatura di reazione interna) a pressione ridotta a 20 volumi. CH₃CN è stato aggiunto a 40 volumi e la soluzione concentrata a non più di 35 °C (temperatura della camicia) e non meno di 8,0 °C (temperatura di reazione interna) a 20 volumi. Il ciclo di aggiunta di CH₃CN e concentrazione è stato ripetuto ancora 2 volte per un totale di 3 aggiunte di CH₃CN e 4 concentrazioni a 20 volumi. Dopo la concentrazione finale a 20 volumi, 16,0 volumi di CH₃CN sono stati caricati seguiti da 4,0 volumi di H₂O per preparare una concentrazione finale di 40 volumi di 10% H₂O/CH₃CN rispetto all'acido di partenza. Questa sospensione è stata riscaldata a 78,0 °C +/- 5,0°C (riflusso). La sospensione è stata poi agitata per non meno di 5 ore. La sospensione è stata raffreddata a 20 fino a 25 °C in 5 ore, e filtrata. Il pannello è stato lavato con CH₃CN (5 vol) riscaldato a 20 fino a 25 °C 4 volte. Il solido risultante (Composto 2) è stato seccato in un forno da vuoto a 50,0 °C +/- 5,0 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 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).

Procedura per la ricristallizzazione di N-(2,4-di-terz-butil-5-idrossifenil)-4-osso-1,4-diidrochinolin-3-carbossammide (Composto 2)



Composto 2 (1,0 eq) è stato caricato in un reattore. 2-MeTHF (20,0 vol) è stato aggiunto seguito da 0,1N HCl (5,0 vol). La soluzione bifasica è stata agitata e separata e la fase organica superiore è stata lavata altre due volte con 0,1N HCl (5,0 vol). La soluzione organica è stata raffinata per filtrazione per rimuovere qualsiasi materiale particellare e posta in un secondo reattore. La soluzione filtrata è stata concentrata a non più di 35 °C (temperatura della camicia) e non più di 8,0 °C (temperatura di reazione interna) a pressione ridotta a 10 volumi. Isopropil acetato (IPAc) (10 vol) è stato aggiunto e la soluzione concentrata a non più di 35 °C (temperatura della camicia) e non più di 8,0 °C (temperatura di reazione interna) a 10 volumi. L'aggiunta di IPAc e concentrazione è stato ripetuto ancora 2 volte per un totale di 3 aggiunte di IPAc e 4 concentrazioni a 10 volumi. Dopo la concentrazione finale, 10 volumi di IPAc sono stati caricati e la sospensione è stata riscaldata a refluxo e mantenuta a questa temperatura per 5 ore. La sospensione è stata raffreddata a 0,0 °C +/- 5 °C in 5 ore e filtrata. Il pannello è stato lavato con IPAc (5 vol) una volta. Il solido risultante è stato seccato in un forno da vuoto a 50,0 °C +/- 5,0 °C.

Preparazione di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo

Un sistema solvente di MEK e acqua DI, formulato secondo il rapporto 90% in peso MEK/10% in peso di acqua DI, è stato riscaldato ad una temperatura di 20-30°C in un reattore, dotato di un agitatore magnetico e circuito termico. In questo sistema solvente sono stati aggiunti polimero acetato succinato di ipromellosa (HPMCAS) (grado HG), SLS e composto 2 secondo il rapporto 19,5% in peso di acetato succinato di ipromellosa/0,5% in peso di SLS/80% in peso di composto 2. La miscela risultante conteneva 10,5% in peso di solidi. Le quantità effettive di ingredienti e solventi usati per generare questa miscela sono indicate nella Tabella 5 seguente:

Tabella 5: Ingredienti per la dispersione da spray solido per intermedio F.

	Unità	Lotto
Composto 2	Kg	70,0
HPMCAS	Kg	17,1
SLS	Kg	0,438

Solidi totali	Kg	87,5
MEK	Kg	671
Acqua	Kg	74,6
Solventi totali	Kg	746
Peso totale di soluzione di spray	Kg	833

La temperatura della miscela è stata regolata in un intervallo di 20-45°C e miscelata fino a renderla sostanzialmente omogenea e tutti i componenti sono stati sostanzialmente disciolti.

Un essiccatore a spruzzo, l'essiccatore commerciale a spruzzo Niro PSD4, dotato di ugello a pressione (Spray System Maximum Passage serie SK-MFP avente dimensione di orifizio/nucleo di 54/21) dotato di cappuccio anti-sbavatura, è stato usato in modalità normale di essiccazione a spruzzo, seguendo i parametri del procedimento di spruzzatura a secco indicati nella Tabella 6, di seguito.

Tabella 6: Parametri del procedimento di spruzzatura a secco usati per generare intermedio F.

Parametro	Valore
Pressione di alimentazione	20 bar
Portata di alimentazione	92 - 100 Kg/hr
Temperatura in ingresso	93 - 99 °C
Temperatura in uscita	53 - 57 °C
Temperatura dell'essiccatore da vuoto	80 °C per 2 ore poi 110 °C (+/-5 °C)
Tempo di essiccazione sotto vuoto	20 - 24 ore

Un ciclone ad alta efficienza separava il prodotto umido dal gas di spruzzo e dai vapori di solvente. Il prodotto umido conteneva 8,5-9,7% MEK e 0,56-0,83% di acqua e aveva una dimensione media delle particelle di 17-19µm e una densità apparente di 0,27-0,33 g/cc. Il prodotto umido è stato trasferito in un essiccatore sotto vuoto a doppio cono in acciaio inossidabile da 4000L per essiccazione per ridurre i solventi residui ad un livello

inferiore a circa 5000 ppm e per generare dispersione secca per spruzzatura a secco del composto amorfo 2, contenente <0,03% MEK e 0,3% di acqua.

Formazione di compresse da un procedimento di granulazione a umido completamente continuo

Attrezzature/Procedimento

Attrezzatura

Attrezzatura di sviluppo e lancio completamente continuo (DLR) o tipo simile di attrezzature.

Setacciatura

Composto 1 Forma I, la dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo ed eccipienti possono essere erogati in contenitori a divisori intermedi separati (IBC). Questi materiali possono essere vagliati usando un'operazione di setacciatura "bin-to-bin". Le dimensioni di setaccio appropriate sono maglia 20, maglia 40 o maglia 60.

Miscelamento

Gli IBC contenenti il Composto 1 Forma I setacciato, la dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo e gli eccipienti possono essere agganciati al sistema di alimentazione, che può alimentare i materiali in un modo controllato, ad es. usando perdite volumetriche o gravimetriche in dosatori a peso, in un miscelatore continuo. I regimi di alimentazione dei singoli componenti sono definiti dalla composizione della formulazione e dalla velocità di linea complessiva. La velocità della linea può essere di 8 kg/ora fino a 30 kg/ora. Il miscelatore continuo può avere diverse configurazioni della lama per consentire un'appropriata miscelazione e la velocità di rotazione di queste lame può essere compresa tra 80 GPM e 300 GPM.

Granulazione a umido

Una soluzione di granulazione può essere preparata sciogliendo 48 g di sodio lauril solfato e 159 g di polivinilpirrolidone in 1,626 g di acqua in un contenitore di acciaio inossidabile, usando un agitatore meccanico con una velocità di agitazione di 700 GPM. La soluzione di granulazione può essere collocata in un contenitore da cui la soluzione può essere pompata nel granulatore a doppia vite usando una pompa peristaltica con un

misuratore di flusso massico e controllo, usando una portata appropriata per il procedimento. La miscela può essere granulata usando un granulatore a doppia vite come il granulatore che fa parte del DLR. La miscela può essere aggiunta al granulatore a doppia vite usando un alimentatore a perdita di peso, come l'alimentatore K-Tron sul DLR, con una velocità di alimentazione da 8 kg/ora a 24 kg/ora. Il granulatore a doppia vite può essere azionato con una temperatura del cilindro di 25 gradi Celsius e una velocità della vite da 200 a 950 GPM. Il procedimento di granulazione può essere eseguito per tre minuti per lotti di piccole dimensioni o per diverse ore per lotti di grandi dimensioni.

Essiccazione

I granuli umidi possono essere alimentati direttamente in un essiccatore a letto fluido, come l'essiccatore a letto fluido segmentato sul DLR. Il punto finale dell'essiccazione può essere scelto a una temperatura del prodotto durante la scarica che va da 40 a 55 gradi Celsius, a quel punto il contenuto di acqua dei granuli può essere 2,1% p/p ("Perdita all'essiccazione, LOD") o inferiore. Il tempo di essiccazione può essere di 12 minuti, o più corto o più lungo, per raggiungere il punto finale di essiccazione desiderato.

Macinazione

I granuli essiccati possono essere macinati per ridurre le dimensioni dei granuli. A tale scopo può essere usato un mulino a cono come il Quadro U10 CoMil integrato.

Mescolamento

I granuli possono essere miscelati con eccipienti extra-granulari come riempitivi e lubrificanti usando alimentatori a perdita di peso e un miscelatore continuo. La velocità di mescolamento può essere di 80-300 GPM.

Compressione

La miscela di compressione può essere pressata in compresse usando una pressa di pastigliatura a singola stazione o rotativa, come la pressa Courtoy Modul P, che fa parte del sistema DLR, usando utensili di dimensioni appropriate. Il peso delle compresse per una dose di 200 mg di Composto 1 Forma I e 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo può essere di circa 500 o 600 mg.

Rivestimento con pellicola

Le compresse possono essere rivestite con pellicola usando la spalmatrice per pellicole innovativa Omega, che fa parte del sistema DLR. Questo dispositivo di rivestimento consente di rivestire rapidamente pellicola di sub-lotti da 1 a 4 kg per consentire una produzione continua.

Stampa

Le compresse rivestite con pellicola possono essere stampate con un monogramma su una o entrambe le facce della compressa con, per esempio, una stampante a rampa Ackley.

Formazione di compresse da procedimento di granulazione a umido a doppia vite

Attrezzature/Procedimento

Attrezzatura

Granulatori a umido a doppia vite: ConsiGma-1, ConsiGma-25 o Leistritz nano.

Setacciatura/Pesatura

Composto 1 Forma I, la dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo e gli eccipienti possono essere sottoposti a setacciatura prima o dopo la pesatura. Dimensioni del setaccio appropriate sono maglia 20, maglia 40 o maglia 60. Il composto 1 forma I e/o la dispersione solida comprendente il composto 2 sostanzialmente amorfo può essere pre-miscelato con uno o più degli eccipienti per semplificare la setacciatura.

Mescolamento

Composto 1 Forma I, la dispersione solida comprendente il Composto 2 sostanzialmente amorfo e gli eccipienti possono essere aggiunti al miscelatore in un ordine differente. Il mescolamento può essere eseguito in un miscelatore Turbula, un miscelatore con guscio a v, o un miscelatore a comparti. I componenti possono essere miscelati per 10 minuti.

Granulazione a umido

Una soluzione di granulazione può essere preparata sciogliendo 48 g di sodio lauril solfato e 159 g di polivinilpirrolidone in 1,626 g di acqua in un contenitore di acciaio inossidabile, usando un agitatore meccanico con una velocità di agitazione di 700 GPM. La miscela può essere granulata usando un granulatore a doppia vite

come il ConsiGma-1. La soluzione di granulazione può essere aggiunta al granulatore a doppia vite usando una pompa peristaltica, come la pompa sul ConsiGma-1, con una velocità di alimentazione di 67 g/min. La miscela può essere aggiunta al granulatore a doppia vite usando un alimentatore a perdita di peso, come l'alimentatore Brabender sul ConsiGma-1, con una velocità di avanzamento di 10 kg/ora. Il granulatore a doppia vite può essere azionato con una temperatura del cilindro di 25 gradi Celsius e una velocità della vite di 400 giri/min. Il procedimento di granulazione può essere eseguito per quattro minuti. Il procedimento di granulazione può essere eseguito per un periodo di tempo più breve o più lungo per produrre una quantità più o meno grande di granuli umidi.

Essiccazione

I granuli umidi possono essere alimentati direttamente in un essiccatore a letto fluido, come la camera di essiccazione sul ConsiGma-1 o l'essiccatore a letto fluido segmentato sul CTL-25. Il punto finale di essiccazione può essere scelto ad una temperatura del prodotto di 43 gradi Celsius, a quel punto il contenuto di acqua dei granuli può essere di 1,6% p/p ("Perdita all'essiccazione, LOD"). Il tempo di essiccazione può essere di 12 minuti, o più corto o più lungo, per raggiungere il punto finale di essiccazione desiderato. L'essiccazione può essere eseguita con un flusso d'aria di 59 m³/min e temperatura di ingresso di 60 gradi Celsius. In alternativa, i granuli umidi provenienti dal granulatore a doppia vite possono essere raccolti in un comparto o contenitore per un certo periodo di tempo dopo il quale i granuli umidi vengono trasferiti in un essiccatore separato a letto fluido separato, come il Vector Multi 15.

Macinazione

I granuli essiccati possono essere macinati per ridurre le dimensioni dei granuli. Per questo può essere usato un mulino a cono come il Quadro 194 CoMil.

Mescolamento

I granuli possono essere miscelati con eccipienti extra-granulari come riempitivi e lubrificante usando una mescolatrice con guscio a V o una mescolatrice a comparti. Il tempo di miscelazione può essere di 5, 3 o 1 minuto/i.

Compressione

La miscela di compressione può essere pressata in compresse usando una pressa a singola stazione o rotativa, come la pressa Courtoy Modul P, usando utensili di forma ovale di 0,55 x 0,33'. Il peso delle compresse per una dose di 200 mg di Composto 1 Forma I e 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo può essere di circa 500 o 600 mg.

Rivestimento di pellicola

Le compresse possono essere rivestite con pellicola usando un dispositivo di rivestimento a cestello, come ad esempio un dispositivo di rivestimento Thomas Engineering Compu-Lab. Può essere aggiunta una traccia di cera di Carnauba per migliorare l'aspetto della compressa e l'abilità del procedimento.

Stampa

Le compresse rivestite con pellicola possono essere stampate con un monogramma su una o entrambe le facce della compressa con, ad esempio, una stampante Hartnett Delta.

Formazione di compresse da procedimento di granulazione a umido a doppia vite continua

Attrezzature/Procedimento

Attrezzatura

Granulatore: granulatore a doppia vite ConsiGma o Leistritz o Thermo Fisher.

Setacciatura/Pesatura

Il composto 1 e gli eccipienti possono essere setacciati prima o dopo la pesatura. Le possibili dimensioni del setaccio sono maglia 20, maglia 40 o maglia 60. Il composto 1 può essere pre-miscelato con uno o più degli eccipienti per semplificare la setacciatura.

Mescolamento

Il composto 1 e gli eccipienti possono essere aggiunti alla mescolatrice in ordine diverso. Il mescolamento può essere eseguito in un miscelatore Turbula, un miscelatore con guscio a v, un miscelatore a comparti o un miscelatore continuo. I componenti possono essere miscelati per 10 minuti per i miscelatori discontinui o continuamente per un miscelatore continuo.

Operazione di granulazione

Fluido di granulazione - SLS e legante vengono aggiunti ad acqua purificata e miscelati fino a scioglimento. Un rapporto adatto è di 2,5% p/p SLS e 10,0% p/p PVP K30 in acqua.

Granulazione - La miscela contenente il Composto 1 e gli eccipienti può essere dosata nel granulatore a doppia vite usando un alimentatore a perdita di peso ad una velocità di 10 kg/ora. Il fluido di granulazione può essere aggiunto usando una pompa peristaltica alla velocità di 3,5 kg/ora. Il granulatore può essere azionato a una velocità di 400 giri/min. Un notevole vantaggio del presente procedimento di granulazione a umido a doppia vite è l'uso di un fluido di granulazione che comprende sia un tensioattivo che il legante per una migliore granulazione attraverso l'aumento della bagnabilità. In una realizzazione, il tensioattivo è SLS. Un altro vantaggio notevole è che, poiché il procedimento è continuo e in qualsiasi momento nel tempo viene elaborata solo una quantità limitata di materiale, il procedimento può essere ben regolato e risultare in un prodotto di alta qualità.

Macinazione

I granuli possono essere ridotti di dimensioni usando un mulino a setaccio o un mulino a cono, prima dell'essiccazione o dopo l'essiccazione, o entrambi.

Essiccazione

I granuli possono essere essiccati usando un forno a vuoto, un essiccatore a vassoio, un essiccatore bi-conico o un essiccatore a letto fluido.

Mescolamento

I granuli possono essere miscelati con eccipienti extra-granulari. I granuli sono stati miscelati usando una mescolatrice a scomparti da 300 litri per 60 giri.

Compressione

La miscela di compressione è stata pressata in compresse usando una pressa rotativa Courtoy Modul P.

Rivestimento di pellicola

Le compresse possono essere rivestite con pellicola usando un dispositivo di rivestimento a cestello, come ad

esempio un O'Hara Labcoat.

Stampa

Le compresse rivestite con pellicola possono essere stampate con un monogramma su una o entrambe le facce della compressa con, ad esempio, una stampante Hartnett Delta.

SAGGI

PROTOCOLLO 1

Saggi per il rilevamento e la misurazione delle proprietà di potenziamento di $\Delta F508$ -CFTR dei composti

Metodi ottici a potenziali di membrana per saggiare le proprietà di modulazione di $\Delta F508$ -CFTR dei composti

Il saggio utilizza coloranti sensibili a potenziale fluorescenti per misurare le variazioni del potenziale di membrana usando un lettore di fluorescenza in piastre (ad esempio, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) come una lettura per aumento di $\Delta F508$ -CFTR funzionale in cellule NIH 3T3. La forza guida della risposta è la creazione di un gradiente di ione cloruro in concomitanza con l'attivazione del canale mediante una singola fase di aggiunta di liquido dopo che le cellule sono state precedentemente trattate con composti e successivamente caricate con un colorante sensibile a potenziale.

Identificazione di composti potenziatori

Per identificare potenziatori di $\Delta F508$ -CFTR, un formato di saggio HTS a doppia aggiunta è stato sviluppato. Questo saggio HTS utilizza coloranti fluorescenti sensibili a potenziale per misurare le variazioni del potenziale di membrana sul FLIPR III come misura dell'aumento di azionamento (conduttanza) di $\Delta F508$ CFTR in cellule $\Delta F508$ CFTR NIH 3T3 a temperatura corretta. La forza guida della risposta è un gradiente di ioni Cl^- in concomitanza con l'attivazione del canale con forskolina in un singolo passaggio di aggiunta di liquido usando un lettore di fluorescenza da piastre come FLIPR III dopo che le cellule sono state precedentemente trattate con composti potenziatori (o controllo di veicolo di DMSO) e successivamente caricate con un colorante di redistribuzione.

Soluzioni

Soluzione di bagno # 1: (in mM) NaCl 160, KCl 4,5, $CaCl_2$ 2, $MgCl_2$ 1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

Soluzione di bagno senza cloruro: i sali di cloruro in Soluzione di bagno #1 (sopra) sono sostituiti con sali di gluconato.

Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 esprimenti in modo stabile $\Delta F508$ -CFTR vengono usati per misure ottiche di potenziale di membrana. Le cellule vengono mantenute a 37°C in 5% CO₂ e 90% umidità in terreno Eagle modificato da Dulbecco integrato con 2 mM glutammina, 10% siero bovino fetale, 1 X NEAA, β -ME, 1 X pen/strep, e 25 mM HEPES in flaconi di coltura da 175 cm². Per tutti i saggi ottici, le cellule sono state seminate a ~20,000/pozzetto in piastre a 384 pozzetti rivestite con matrigel e coltivate per 2 ore a 37°C prima di coltivare a 27°C per 24 ore per il saggio di potenziatore. Per i saggi di correzione, le cellule vengono coltivate a 27°C o 37°C con e senza composti per 16 - 24 ore.

Saggi elettrofisiologici per saggiare le proprietà di modulazione di $\Delta F508$ -CFTR di composti.

Saggio con camera di Ussing

Esperimenti in camera di Ussing sono stati condotti su cellule epiteliali delle vie aeree polarizzate esprimenti $\Delta F508$ -CFTR per caratterizzare ulteriormente i modulatori di $\Delta F508$ -CFTR identificati nei test ottici. Epiteli delle vie respiratorie non-CF e CF sono stati isolati da tessuto bronchiale, coltivati come precedentemente descritto (Galiotta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O. Romano, L., Rossi, G.A., e Zegarra-Moran, O. (1998) *In Vitro Cell. Dev. Biol.* **34**, 478-481), e piastrati su filtri Costar® Snapwell™ che sono stati pre-rivestiti con terreno condizionato con NIH3T3. Dopo quattro giorni il terreno apicale è stato rimosso e le cellule sono state coltivate ad una interfaccia aria liquido per >14 giorni prima dell'uso. Questo risultava in un monostrato di cellule colonnari completamente differenziate che erano ciliate, caratteristiche che sono distintive di epiteli delle vie aeree. Non-CF HBE sono stati isolati da non fumatori che non avevano alcuna malattia polmonare conosciuta. CF-HBE sono stati isolati da pazienti omozigoti per $\Delta F508$ -CFTR.

HBE coltivati su inserti di coltura cellulare Costar® Snapwell™ sono stati montati in una camera di Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), e la resistenza transepiteliale e la corrente di corto circuito in presenza di un gradiente di Cl⁻ da basolaterale a apicale (I_{sc}) sono state misurate usando un sistema di "voltage-

clamp" (Department of Bioengineering, University of Iowa, IA). In breve, HBE sono stati esaminati in condizioni di registrazione di "voltage-clamp" ($V_{\text{mantenimento}} = 0 \text{ mV}$) a 37°C . La soluzione basolaterale conteneva (in mM) 145 NaCl, 0,83 K_2HPO_4 , 3,3 KH_2PO_4 , 1,2 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 , 10 Glucosio, 10 HEPES (pH regolato a 7,35 con NaOH) e la soluzione apicale conteneva (in mM) 145 NaGluconato, 1,2 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 , 10 glucosio, 10 HEPES (pH regolato a 7,35 con NaOH).

Identificazione di composti potenziatori

Il tipico protocollo usava un gradiente di concentrazione di Cl^- da membrana basolaterale ad apicale. Per allestire questo gradiente, soluzione di Ringer normale è stata usata sulla membrana basolaterale, mentre NaCl apicale è stato sostituito da gluconato di sodio equimolare (titolato a pH 7,4 con NaOH) per dare un grande gradiente di concentrazione di Cl^- attraverso l'epitelio. Forskolin ($10 \mu\text{M}$) e tutti i composti di prova sono stati aggiunti al lato apicale degli inserti di coltura cellulare. L'efficacia dei potenziatori di $\Delta\text{F508-CFTR}$ putativi è stata confrontata con quella del potenziatore noto, genisteina.

Registrazioni di "patch-clamp"

Corrente totale di Cl^- in cellule $\Delta\text{F508-NIH3T3}$ è stata monitorata usando la configurazione di registrazione a zona perforata come descritto in precedenza (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991), *J. Neurosci. Methods* **37**, 15-26). Le registrazioni di "voltage-clamp" sono state eseguite a 22°C usando un amplificatore per "patch-clamp" Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La soluzione in pipetta conteneva (in mM) 150 *N*-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 EGTA, 10 HEPES, e $240 \mu\text{g/ml}$ di anfotericina-B (pH regolato a 7,35 con HCl). Il mezzo extracellulare conteneva (in mM) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 HEPES (pH regolato a 7,35 con HCl). Generazione di impulsi, acquisizione dei dati, e analisi sono state eseguite usando un PC dotato di interfaccia Digidata 1320 A/D in combinazione con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Per attivare $\Delta\text{F508-CFTR}$, $10 \mu\text{M}$ forskolin e $20 \mu\text{M}$ genisteina sono stati aggiunti al bagno e la relazione corrente-potenziale è stata monitorata ogni 30 secondi.

Identificazione di composti potenziatori

La capacità di potenziatori di $\Delta\text{F508-CFTR}$ di aumentare la corrente di Cl^- macroscopica di $\Delta\text{F508-CFTR}$

($I_{\Delta F508}$) in cellule NIH3T3 che esprimono stabilmente $\Delta F508$ -CFTR è stata anche studiata usando tecniche di registrazione a zona perforata. I potenziatori identificati dai saggi ottici evocavano un aumento dipendente dalla dose della $I_{\Delta F508}$ con potenza ed efficacia simili a quelle osservate nei saggi ottici. In tutte le cellule esaminate, il potenziale di inversione prima e durante l'applicazione di potenziatore era di circa -30 mV, che è la E_{Cl} calcolata (-28 MV).

Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 che esprimono stabilmente $\Delta F508$ -CFTR vengono usati per le registrazioni su cellule intere. Le cellule vengono mantenute a 37°C in 5% CO₂ e 90% di umidità in terreno Eagle modificato da Dulbecco integrato con glutammina 2 mM, siero fetale bovino al 10%, 1 X NEAA, β -ME, 1X pen/strep, e 25 mM HEPES in flaconi di coltura da 175 cm². Per le registrazioni a cellule intere, 2.500 - 5.000 cellule sono state seminate su vetrini rivestiti di poli-L-lisina e coltivate per 24 - 48 ore a 27°C prima dell'uso per verificare l'attività dei potenziatori; e incubate con o senza il composto di correzione a 37°C per misurare l'attività di correttori.

Registrazioni a singolo canale

L'attività di azionamento di wt-CFTR e $\Delta F508$ -CFTR a temperatura corretta espressi in cellule NIH3T3 è stata osservata usando registrazioni di zone di membrana rovesciate asportate come descritto in precedenza (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, JP., Lazdunski, M. (1991) *Nature* **354**, 526-528) usando un amplificatore di "patch-clamp" Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipetta conteneva (in mM): 150 NMDG, 150 acido aspartico, 5 CaCl₂, 2 MgCl₂, e 10 HEPES (pH regolato a 7,35 con base Tris). Il bagno conteneva (in mM): 150 NMDG-Cl, 2 MgCl₂, 5 EGTA, 10 TES, e 14 base Tris (pH regolato a 7,35 con HCl). Dopo l'asportazione, sia wt- che $\Delta F508$ -CFTR sono stati attivati aggiungendo 1 mM Mg-ATP, 75 nM della subunità catalitica della proteina chinasi cAMP-dipendente (PKA; Promega Corp. Madison, WI), e 10 mM NaF per inibire proteinfosfatasi, che impediva l'abbattimento della corrente. Il potenziale di pipetta è stato mantenuto a 80 mV. L'attività dei canali è stata analizzata da zone di membrana contenenti ≤ 2 canali attivi. Il numero massimo di aperture simultanee determinava il numero di

canali attivi nel corso di un esperimento. Per determinare l'ampiezza della corrente di singolo canale, i dati registrati da 120 sec di attività di $\Delta F508$ -CFTR sono stati filtrati "fuori linea" a 100 Hz e poi usati per costruire istogrammi di ampiezza con tutti i punti che sono stati interpolati con funzioni multigaussiane usando il software di analisi Bio-Patch (Bio-Logic Comp. Francia). La corrente microscopica totale e probabilità di apertura (P_o) sono state determinate da 120 secondi di attività del canale. La P_o è stata determinata usando il software Bio-Patch o dalla relazione $P_o = I/i(N)$, dove I = corrente media, i = ampiezza di corrente di canale singolo, e N = numero di canali attivi nella zona.

Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 che esprimono stabilmente $\Delta F508$ -CFTR vengono usati per le registrazioni di "patch-clamp" di membrane asportate. Le cellule vengono mantenute a 37°C in 5% CO₂ e 90% di umidità in terreno Eagle modificato da Dulbecco integrato con glutammina 2 mM, siero fetale bovino al 10%, 1 X NEAA, β -ME, 1 X pen/strep, e 25 mM HEPES in flaconi di coltura da 175 cm². Per le registrazioni a canale singolo, 2.500 - 5.000 cellule sono state seminate su vetrini rivestiti di poli-L-lisina e coltivate per 24 - 48 ore a 27°C prima dell'uso.

PROTOCOLLO 2

Saggi per rivelare e misurare le proprietà di correzione di $\Delta F508$ -CFTR di composti

Metodi ottici a potenziale di membrana per saggiare le proprietà di modulazione di $\Delta F508$ -CFTR di composti.

Il saggio di potenziale di membrana utilizzava sensori FRET sensibili a potenziale descritti da Gonzalez e Tsien (vedere Gonzalez, J. E. e R. Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" *Biophys J* 69(4): 1272-80, e Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" *Chem Biol* 4(4): 269-77) in combinazione con strumentazione per misurare le variazioni di fluorescenza come il Voltage/Ion Probe Reader (VIPR) (si veda, 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).

Questi saggi sensibili a potenziale sono basati sulla variazione di trasferimento di energia risonante di

fluorescenza (FRET) tra il colorante sensibile al potenziale, solubile in membrana, DiSBAC₂(3), e un fosfolipide fluorescente, CC2-DMPE, che è attaccato al foglietto esterno della membrana plasmatica e agisce come donatore FRET. Variazioni del potenziale di membrana (V_m) causano la redistribuzione del DiSBAC₂(3) portante carica negativa attraverso la membrana plasmatica e l'entità del trasferimento di energia da CC2-DMPE cambia di conseguenza. Le variazioni di emissione di fluorescenza sono state monitorate usando VIPR™ II, che è un manipolatore integrato di liquidi e rivelatore a fluorescenza progettato per eseguire prove basate su cellule in micropiastre da 96 o 384 pozzetti.

Identificazione dei composti di correzione

Per identificare piccole molecole che correggono il difetto del traffico associato a $\Delta F508$ -CFTR; è stato sviluppato un formato di saggio HTS a singola aggiunta. Le cellule sono state incubate in terreno privo di siero per 16 ore a 37°C in presenza o assenza (controllo negativo) del composto in esame. Come controllo positivo, le cellule piastrate in piastre da 384 pozzetti sono state incubate per 16 ore a 27°C per "correggere in temperatura" $\Delta F508$ -CFTR. Le cellule sono state successivamente risciacquate 3X con la soluzione Krebs Ringers e caricate con i coloranti sensibili al potenziale. Per attivare $\Delta F508$ -CFTR, forskolina 10 μM e potenziatore di CFTR, genisteina (20 μM), sono stati aggiunti insieme a terreno privo di Cl^- a ciascun pozzetto. L'aggiunta di terreno senza Cl^- promuoveva l'efflusso di Cl^- in risposta all'attivazione di $\Delta F508$ -CFTR e la depolarizzazione della membrana risultante è stata monitorata otticamente usando i coloranti sensori di potenziale basati su FRET.

Identificazione dei composti potenziatori

Per identificare i potenziatori di $\Delta F508$ -CFTR, è stato sviluppato un formato di saggio HTS a doppia aggiunta. Durante la prima aggiunta, un terreno privo di Cl^- con o senza composto di prova è stato aggiunto a ciascun pozzetto. Dopo 22 secondi, una seconda aggiunta di terreno privo di Cl^- contenente 2-10 μM di forskolin è stata aggiunta per attivare $\Delta F508$ -CFTR. La concentrazione di Cl^- extracellulare dopo entrambe le aggiunte era di 28 mM, il che promuoveva l'efflusso di Cl^- in risposta all'attivazione di $\Delta F508$ -CFTR e la depolarizzazione della membrana risultante è stata monitorata otticamente usando i coloranti sensori di potenziale basati su FRET.

Soluzioni

Soluzione di bagno #1:	(in mM) NaCl 160, KCl 4,5, CaCl ₂ 2, MgCl ₂ 1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.
Soluzione di bagno senza cloruro:	sali di cloruro in Soluzione di bagno #1 (sopra) sono sostituiti con sali di gluconato.
CC2-DMPE:	Preparato come soluzione madre 10 mM in DMSO e conservato a -20°C.
DiSBAC ₂ (3):	Preparato come madre 10 mM in DMSO e conservato a -20°C.

Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 che esprimono stabilmente $\Delta F508$ -CFTR sono usati per le misurazioni ottiche del potenziale di membrana. Le cellule vengono mantenute a 37°C in 5% CO₂ e 90% di umidità nel terreno Eagle modificato da Dulbecco integrato con 2 mM di glutammina, siero fetale bovino al 10%, 1 X NEAA, β -ME, 1 X pen/strep e 25 mM HEPES in flaconi di coltura da 175 cm². Per tutte le analisi ottiche, le cellule sono state seminate a 30.000/pozzetto in piastre con rivestimento in matrigel di 384 pozzetti e sottoposte a coltura per 2 ore a 37°C prima della coltura a 27°C per 24 ore per il saggio di potenziatore. Per i saggi di correzione, le cellule vengono coltivate a 27°C o 37°C con e senza composti per 16-24 ore.

Saggi elettrofisiologici per saggiare le proprietà di modulazione di $\Delta F508$ -CFTR dei composti

Saggio in camera di Ussing

Esperimenti in camera di Ussing sono stati condotti su cellule epiteliali polarizzate che esprimono $\Delta F508$ -CFTR per caratterizzare ulteriormente i potenziatori o induttori di $\Delta F508$ -CFTR identificati nei saggi ottici. Cellule epiteliali FRT^{AF508-CFTR} coltivate su inserti di colture cellulari Costar Snapwell sono state montate in una camera di Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), e i monostrati sono stati continuamente cortocircuitati usando un sistema di "Voltage-clamp" (Department of Bioengineering, University of Iowa, IA, e, Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA). La resistenza transepiteliale è stata misurata applicando un impulso da 2mV.

In queste condizioni, l'epitelio FRT ha dimostrato resistenze di $4 \text{ K}\Omega/\text{cm}^2$ o più. Le soluzioni furono mantenute a 27°C e fatte gorgogliare con aria. La tensione di sbilanciamento dell'elettrodo e la resistenza del fluido sono state corrette usando un inserto senza cellule. In queste condizioni, la corrente rispecchia il flusso di Cl^- attraverso $\Delta\text{F508-CFTR}$ espresso nella membrana apicale. La I_{SC} è stata acquisita digitalmente usando un'interfaccia MP100A-CE e il software AcqKnowledge (v3.2.6; BIOPAC Systems, Santa Barbara, CA).

Identificazione di composti correttori

Il protocollo tipico utilizzava un gradiente di concentrazione di Cl^- da membrana basolaterale a quella apicale. Per impostare questo gradiente, è stata usata soluzione di Ringer normale sulla membrana basolaterale, mentre NaCl apicale è stato sostituito da gluconato di sodio equimolare (titolato a pH 7,4 con NaOH) per dare un grande gradiente di concentrazione di Cl^- attraverso l'epitelio. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti con monostrati intatti. Per attivare completamente $\Delta\text{F508-CFTR}$, forskolin ($10 \mu\text{M}$) e l'inibitore di PDE, IBMX ($100 \mu\text{M}$), sono stati applicati seguiti dall'aggiunta del potenziatore di CFTR, genisteina ($50 \mu\text{M}$).

Come osservato in altri tipi di cellule, l'incubazione a basse temperature di cellule FRT che esprimono stabilmente $\Delta\text{F508-CFTR}$ aumenta la densità funzionale di CFTR nella membrana plasmatica. Per determinare l'attività dei composti correttivi, le cellule sono state incubate con $10 \mu\text{M}$ del composto di prova per 24 ore a 37°C e successivamente sono state lavate 3 volte prima della registrazione. La I_{SC} mediata da cAMP e genisteina in cellule trattate con composti è stata normalizzata ai controlli di 27°C e 37°C ed espressa come attività percentuale. La preincubazione delle cellule con il composto correttivo aumentava significativamente la I_{SC} mediata da cAMP e genisteina rispetto ai controlli a 37°C .

Identificazione di composti potenziatori

Il protocollo tipico usava un gradiente di concentrazione di Cl^- da membrana basolaterale a quella apicale. Per impostare questo gradiente, è stata usata soluzione di Ringer normale sulla membrana basolaterale ed è stata permeabilizzata con nistatina ($360 \mu\text{g/ml}$), mentre NaCl apicale è stato sostituito da gluconato di sodio equimolare (titolato a pH 7,4 con NaOH) per dare un grande gradiente di concentrazione di Cl^- attraverso l'epitelio. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti 30 minuti dopo la permeabilizzazione con nistatina. Forskolin

(10 μ M) e tutti i composti di prova sono stati aggiunti su entrambi i lati degli inserti di coltura cellulare. L'efficacia dei potenziatori putativi di Δ F508-CFTR è stata confrontata con quella del noto potenziatore, genisteina.

Soluzioni

Soluzione basolaterale NaCl (135), CaCl₂ (1,2), MgCl₂ (1,2), K₂HPO₄ (2,4), KHPO₄ (0,6),
(in mM): acido N-2-idrossietilpiperazin-N'-2-etansolfonico (HEPES) (10), e
destrosio (10). La soluzione è stata titolata a pH 7,4 con NaOH.

Soluzione apicale (in uguale alla soluzione basolaterale con NaCl sostituito con Na
mM): Gluconato (135).

Coltura cellulare

Cellule epiteliali di ratto Fisher (FRT) che esprimono Δ F508-CFTR (FRT ^{Δ F508-CFTR}) sono state usate per gli esperimenti con camera di Ussing per i potenziatori o induttori putativi di Δ F508-CFTR identificati dai nostri saggi ottici. Le cellule sono state coltivate su inserti di colture cellulari Costar Snapwell e coltivate per cinque giorni a 37°C e al 5% di CO₂ in terreno di Ham F-12 modificato da Coon integrato con siero fetale di vitello al 5%, penicillina a 100 U/ml e streptomicina a 100 μ g/ml. Prima dell'uso per caratterizzare l'attività di potenziamento dei composti, le cellule sono state incubate a 27°C per 16-48 ore per correggere per il Δ F508-CFTR. Per determinare l'attività dei composti correttivi, le cellule sono state incubate a 27°C o 37°C con e senza i composti per 24 ore.

Registrazioni a cellule intere

La corrente macroscopica di Δ F508-CFTR (I_{Δ F508}) in cellule NIH3T3 corrette per temperatura e per composto di prova esperimenti in modo stabile Δ F508-CFTR sono state monitorate usando la registrazione a cellule intere perforate a zona perforata. In breve, registrazioni di "voltage-clamp" di I_{Δ F508} sono state eseguite a temperatura ambiente usando un amplificatore per "patch-clamp" Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). Tutte le registrazioni sono state acquisite con una frequenza di campionamento di 10 kHz e con filtro passabasso a 1 kHz. Le pipette avevano una resistenza di 5-6 M Ω quando riempite con la soluzione intracellulare. In

queste condizioni di registrazione, il potenziale di inversione calcolato per Cl^- (E_{Cl}) a temperatura ambiente era di -28 mV. Tutte le registrazioni avevano una resistenza di tenuta $>20 \text{ G}\Omega$ e una resistenza in serie $<15 \text{ M}\Omega$. Generazione di impulsi, acquisizione dati e analisi sono state eseguite usando un PC dotato di un'interfaccia Digidata 1320 A/D in combinazione con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Il bagno conteneva $<250 \mu\text{l}$ di soluzione salina ed era continuamente perfuso ad un regime di 2 ml/min usando un sistema di perfusione azionato per gravità.

Identificazione dei composti di correzione

Per determinare l'attività dei composti di correzione per aumentare la densità del ΔF508 -CFTR funzionale nella membrana plasmatica, abbiamo usato le tecniche di registrazione a zone perforate sopra descritte per misurare la densità di corrente dopo il trattamento di 24 ore con i composti correttori. Per attivare completamente ΔF508 -CFTR, sono stati aggiunti alle cellule $10 \mu\text{M}$ di forskolina e $20 \mu\text{M}$ di genisteina. Nelle nostre condizioni di registrazione, la densità di corrente dopo un'incubazione di 24 ore a 27°C era più alta di quella osservata dopo un'incubazione di 24 ore a 37°C . Questi risultati sono coerenti con gli effetti noti dell'incubazione a bassa temperatura sulla densità di ΔF508 -CFTR nella membrana plasmatica. Per determinare gli effetti dei composti correttivi sulla densità di corrente CFTR, le cellule sono state incubate con $10 \mu\text{M}$ del composto in esame per 24 ore a 37°C e la densità di corrente è stata confrontata con i controlli di 27°C e 37°C (% di attività). Prima della registrazione, le cellule sono state lavate 3 volte con terreno di registrazione extracellulare per rimuovere qualsiasi composto di prova residuo. La preincubazione con $10 \mu\text{M}$ di composti correttivi ha aumentato significativamente la corrente dipendente da cAMP e da genisteina rispetto ai controlli a 37°C .

Identificazione di composti potenziatori

La capacità di potenziatori di ΔF508 -CFTR di aumentare la corrente di Cl^- da ΔF508 -CFTR macroscopica ($I_{\Delta\text{F508}}$) in cellule NIH3T3 che esprimono stabilmente ΔF508 -CFTR è stata anche studiata usando tecniche di registrazione a zona perforata. I potenziatori identificati dai saggi ottici evocavano un aumento di $I_{\Delta\text{F508}}$ dipendente dalla dose con potenza ed efficacia simili a quelle osservate nei saggi ottici. In tutte le cellule esaminate, il potenziale di inversione prima e durante l'applicazione del potenziatore era di circa -30 mV, che è

E_{Cl} calcolato (-28 mV).

Soluzioni

Soluzione intracellulare (in Cs-aspartato (90), CsCl (50), MgCl₂ (1), HEPES (10), e 240 mM):
 μg/ml anfotericina-B (pH regolato a 7,35 con CsOH).

Soluzione extracellulare (in N-metil-D-glucammina (NMDG)-Cl (150), MgCl₂(2), CaCl₂ (2), HEPES (10) (pH regolato a 7,35 con HCl).

Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 che esprimono stabilmente ΔF508-CFTR vengono usati per registrazioni a cellule intere. Le cellule vengono mantenute a 37°C in 5% CO₂ e 90% di umidità in terreno Eagle modificato da Dulbecco integrato con 2 mM di glutammina, siero fetale bovino al 10%, 1 X NEAA, β-ME, 1 X pen/strep e 25 mM HEPES in flaconi di coltura da 175 cm². Per le registrazioni a cellule intere, 2.500-5.000 cellule sono state seminate su coprioggetti in vetro rivestiti di poli-L-lisina e coltivate per 24-48 ore a 27°C prima dell'uso per provare l'attività dei potenziatori; e incubate con o senza il composto di correzione a 37°C per misurare l'attività dei correttori.

Registrazioni a canale singolo

Le attività di canale singolo di ΔF508-CFTR corretti per temperatura espressi in modo stabile nelle cellule NIH3T3 e le attività di composti di potenziamento sono state osservate usando zone di membrana escisse rovesciate. In breve, le registrazioni di "patch-clamp" dell'attività di canale singolo sono state eseguite a temperatura ambiente con un amplificatore "patch-clamp" Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). Tutte le registrazioni sono state acquisite con una frequenza di campionamento di 10 kHz e con filtro passa-basso a 400 Hz. Le pipette delle zone sono state fabbricate da vetro Corning Kovar Sealing #7052 (World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) e avevano una resistenza di 5-8 MΩ quando riempite con soluzione extracellulare. Il ΔF508-CFTR è stato attivato dopo l'escissione, aggiungendo 1 mM di Mg-ATP e 75 nM della proteina chinasi cAMP-dipendente, subunità catalitica (PKA, Promega Corp. Madison, WI). Dopo che l'attività del canale si è stabilizzata, la zona è stata perfusa usando un sistema di microperfusione basato sulla gravità.

L'afflusso è stato posizionato adiacente alla zona, risultando in uno scambio completo della soluzione entro 1-2 s. Per mantenere l'attività di $\Delta F508$ -CFTR durante la rapida perfusione, l'inibitore di fosfatasi non specifico F⁻ (10 mM NaF) è stato aggiunto alla soluzione di bagno. In queste condizioni di registrazione, l'attività del canale rimaneva costante per tutta la durata della registrazione della zona (fino a 60 minuti). Le correnti prodotte dal movimento di cariche positive dalle soluzioni intra- ad extra-cellulari (gli anioni si muovono nella direzione opposta) sono indicate come correnti positive. Il potenziale di pipetta (V_p) è stato mantenuto a 80 mV.

L'attività del canale è stata analizzata da zone di membrana contenenti ≤ 2 canali attivi. Il numero massimo di aperture simultanee determinava il numero di canali attivi nel corso di un esperimento. Per determinare l'ampiezza della corrente di canale singolo, i dati registrati da 120 s di attività di $\Delta F508$ -CFTR sono stati filtrati "fuori linea" a 100 Hz e quindi usati per costruire istogrammi di ampiezza con tutti i punti che sono stati interpolati con funzioni multigaussiane usando software di analisi Bio-Patch (Bio-Logic Comp. Francia). La corrente microscopica totale e la probabilità aperta (P_o) sono state determinate da 120 secondi di attività del canale. La P_o è stata determinata usando il software Bio-Patch o dalla relazione $P_o = I/i(N)$, dove I = corrente media, i = ampiezza di corrente di canale singolo, e N = numero di canali attivi nella zona.

Soluzioni

Soluzione extracellulare (in mM): NMDG (150), acido aspartico (150), $CaCl_2$ (5), $MgCl_2$ (2), e HEPES (10) (pH regolato a 7,35 con Tris base).

Soluzione intracellulare (in mM): NMDG-Cl (150), $MgCl_2$ (2), EGTA (5), TES (10), e Tris base (14) (pH regolato a 7,35 con HCl).

Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 che esprimono stabilmente $\Delta F508$ -CFTR vengono usati per registrazioni "patch-clamp" a membrana escissa. Le cellule vengono mantenute a 37°C in 5% CO_2 e 90% di umidità in terreno Eagle modificato da Dulbecco integrato con 2 mM di glutammina, siero fetale bovino al 10%, 1 X NEAA, β -ME, 1 X pen/strep e 25 mM HEPES in flaconi di coltura da 175 cm². Per le registrazioni a canale singolo, 2.500-5.000

cellule sono state seminate su coprioggetti in vetro rivestiti di poli-L-lisina e coltivate per 24-48 ore a 27°C prima dell'uso.

Composto 1 e Composto 2 dell'invenzione sono utili come potenziatori o induttori dell'attività di CFTR. La seguente tabella 5 illustra la CE50 e l'efficacia relativa del Composto 1 e del Composto 2. Nella Tabella 5 seguente, si applicano i seguenti significati. CE50: "+++" significa <10 uM; "++" significa tra 10 uM e 25 uM; "+" significa tra 25 uM e 60uM. % Efficacia: "+" significa <25%; "++" significa da 25% a 100%; "+++" significa >100%.

Tabella 5.

Comp. N.	CE50 (μ M)	% Attività
1	+++	+++
2	+++	++

ALTRE REALIZZAZIONI

La suddetta discussione illustra e descrive semplicemente realizzazioni illustrative dell'invenzione, che è definita nella rivendicazioni allegate.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione farmaceutica comprendente:

100 mg o 200 mg di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diosso1-5-il)ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1) Forma I e

una dispersione solida comprendente N-(5-idrossi-2,4-diterz-butilfenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide sostanzialmente amorfa (Composto 2) e un polimero,

in cui il Composto 2 sostanzialmente amorfo è presente nella composizione farmaceutica in una quantità di 125 mg,

in cui Composto 1 Forma I è caratterizzato da uno o più picchi a 15,4, 16,3, e 14,5 gradi in un modello di diffrazione di raggi X da polvere, e

in cui Composto 2 sostanzialmente amorfo ha una cristallinità inferiore al 15%.

2. Composizione farmaceutica della rivendicazione 1 comprendente inoltre:

- a. un riempitivo;
- b. un disintegrante;
- c. un tensioattivo; e
- d. un legante;

riferita come **PC-I**.

3. Composizione farmaceutica della rivendicazione 2, comprendente inoltre:

- e. un lubrificante

riferita come **PC-III**.

4. Composizione farmaceutica della rivendicazione 1, in cui la composizione farmaceutica comprende inoltre:

un riempitivo che è cellulosa microcristallina in una quantità da 20 fino a 30 percento in peso,

un disintegrante che è sodio croscarmellosa in una quantità da 3 fino a 10 percento in peso,

un tensioattivo che è sodio lauril solfato in una quantità da 0,5 fino a 2 percento in peso,

un legante che è polivinilpirrolidone in una quantità da 0 fino a 5 percento in peso, e

un lubrificante che è magnesio stearato, in una quantità da 0,5 fino a 2 percento in peso.

5. Composizione farmaceutica della rivendicazione 1, comprendente 30 fino a 55 percento in peso di Composto 1 Forma I, e 10 fino a 45 percento in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo.

6. Composizione farmaceutica della rivendicazione 3, comprendente 25 fino a 50 percento in peso di Composto 1 Forma I, e 15 fino a 35 percento in peso di una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo.

7. Composizione farmaceutica di qualsiasi delle rivendicazioni 1-6, comprendente 200 mg di Composto 1 Forma I, e 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo.

8. Composizione farmaceutica della rivendicazione 5, comprendente 100 mg di Composto 1 Forma I, e 125 mg di Composto 2 sostanzialmente amorfo.

9. Composizione farmaceutica di qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, o 6-7 avente la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	25-50
Una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	15-35
Cellulosa microcristallina	20-30
Sodio croscarmellosa	3-10
Sodio lauril solfato	0,5-2
Polivinilpirrolidone	0-5
Magnesio stearato	0,5-2

riferita come **PC-IV**.

10. Composizione farmaceutica di qualsiasi delle rivendicazioni 1-9, comprendente inoltre un colorante e una cera.

11. Composizione farmaceutica di qualsiasi delle rivendicazioni 1-10, in cui la composizione farmaceutica è una composizione farmaceutica orale solida.

12. Composizione farmaceutica della rivendicazione 11, in cui la composizione farmaceutica orale solida è un granulo.

13. Granulo della rivendicazione 12 avente la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	43
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	34
Cellulosa microcristallina	17
Sodio croscarmellosa	2
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3

referita come **PC-V** o:

	% in peso
Composto 1 Forma I	38
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	40
Cellulosa microcristallina	16
Sodio croscarmellosa	2
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3

referita come **PC-VI**.

14. Composizione farmaceutica della rivendicazione 11, in cui la composizione farmaceutica orale solida è una compressa.

15. Compressa della rivendicazione 14 avente la seguente formulazione:

	% in peso
Composto 1 Forma I	35
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	28
Cellulosa microcristallina	26
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1

riferita come **PC-VIII**, o:

	% in peso
Composto 1 Forma I	31
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	32
Cellulosa microcristallina	26
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1

riferita come **PC-IX**, o:

	% in peso
Composto 1 Forma I	41
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	22
Cellulosa microcristallina	26
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1

riferita come **PC-X**, o:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	150
Sodio croscarmellosa	34
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	15
Magnesio stearato	6

riferita come **PC-XI**, o:

	% in peso
Composto 1 Forma I	34
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	27

Cellulosa microcristallina	25
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1
Colorante	3

riferita come **PC-XIV**, o:

	% in peso
Composto 1 Forma I	30
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	31
Cellulosa microcristallina	25
Sodio croscarmellosa	6
Sodio lauril solfato	1
Polivinilpirrolidone	3
Magnesio stearato	1
Colorante	3

riferita come **PC-XV**, o:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	150

Sodio croscarmellosa	34
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	15
Magnesio stearato	6
Colorante	17

riferita come **PC-XVII**, o:

	mg
Composto 1 Forma I	200
Composto 2 sostanzialmente amorfo	125
Cellulosa microcristallina	150
Sodio croscarmellosa	34
Sodio lauril solfato	4
Polivinilpirrolidone	15
Magnesio stearato	6
Colorante	17

riferita come **PC-XVIII**, o:

Componente	mg/Compressa
Composto 1 Forma I	100
Dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo	156
Cellulosa microcristallina	55

Sodio croscarmellosa	7
Polivinilpirrolidone	11
Sodio lauril solfato	3
Totale Granuli	332
Sodio croscarmellosa	18
Cellulosa microcristallina	53
Magnesio stearato	4
Totale Compresa	407

riferita come **PC-XXIII**.

16. Composizione farmaceutica della rivendicazione 1 per uso in un metodo per trattare, ridurre la gravità di, o trattare per via sintomatica fibrosi cistica in un paziente, in cui il metodo comprende il somministrare al paziente una quantità efficace della composizione farmaceutica della rivendicazione 1.

17. Composizione farmaceutica per l'uso secondo la rivendicazione 16, in cui la composizione farmaceutica ha una delle formulazioni riportate nella rivendicazione 9, 13, o 15.

18. La composizione farmaceutica per l'uso secondo la rivendicazione 16, in cui il paziente ha una mutazione $\Delta F508$ CFTR.

19. Composizione farmaceutica per l'uso secondo la rivendicazione 18, in cui il paziente è omozigote in $\Delta F508$.

20. Composizione farmaceutica per l'uso secondo la rivendicazione 18, in cui il paziente è eterozigote in $\Delta F508$.

21. Metodo per preparare una compressa secondo la rivendicazione 14, in cui il metodo comprende:

a) granulazione a umido dei seguenti componenti per produrre un granulo:

a. Composto 1 Forma I;

b. una dispersione solida comprendente Composto 2 sostanzialmente amorfo;

c. un riempitivo;

d. un disintegrante;

e. un tensioattivo; e

f. un legante;

e

b) compressione dei seguenti componenti per produrre una compressa:

i. una pluralità di granuli da passaggio a);

ii) un disintegrante;

iii) un riempitivo; e

iv) un lubrificante.

in cui Composto 1 Forma I è caratterizzato da uno o più picchi a 15,4, 16,3, e 14,5 gradi in un modello di diffrazione di raggi X da polvere, e

in cui Composto 2 sostanzialmente amorfo ha una cristallinità inferiore al 15%.

22. Kit comprendente la composizione farmaceutica della rivendicazione 1 e un agente terapeutico separato.

23. Kit della rivendicazione 22, in cui la composizione farmaceutica e l'agente terapeutico sono in contenitori separati.

24. Kit della rivendicazione 23, in cui i contenitori sono bottiglie, fiale, o confezioni in *blister*, o loro combinazione.

Figura 1

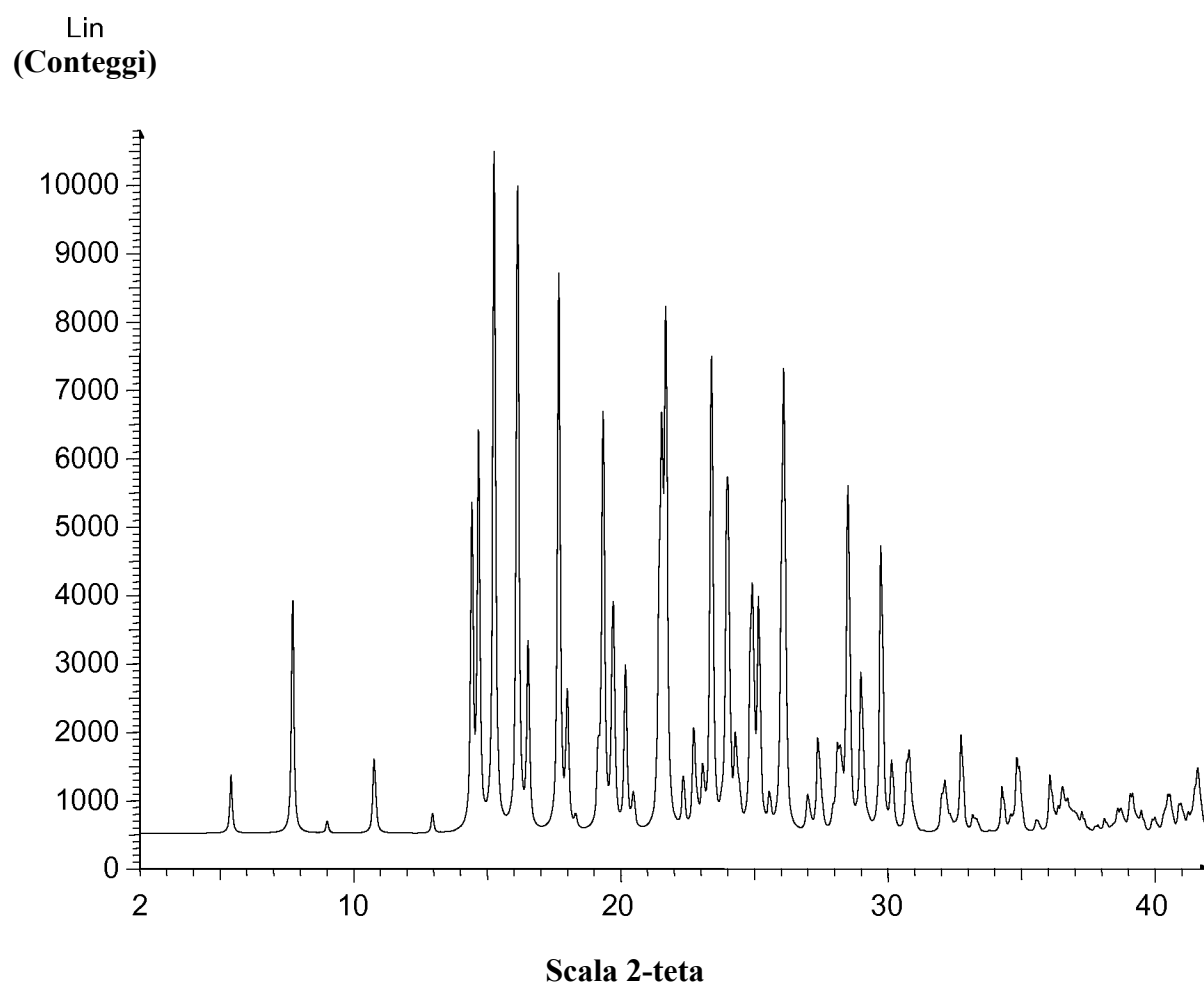


Figura 2

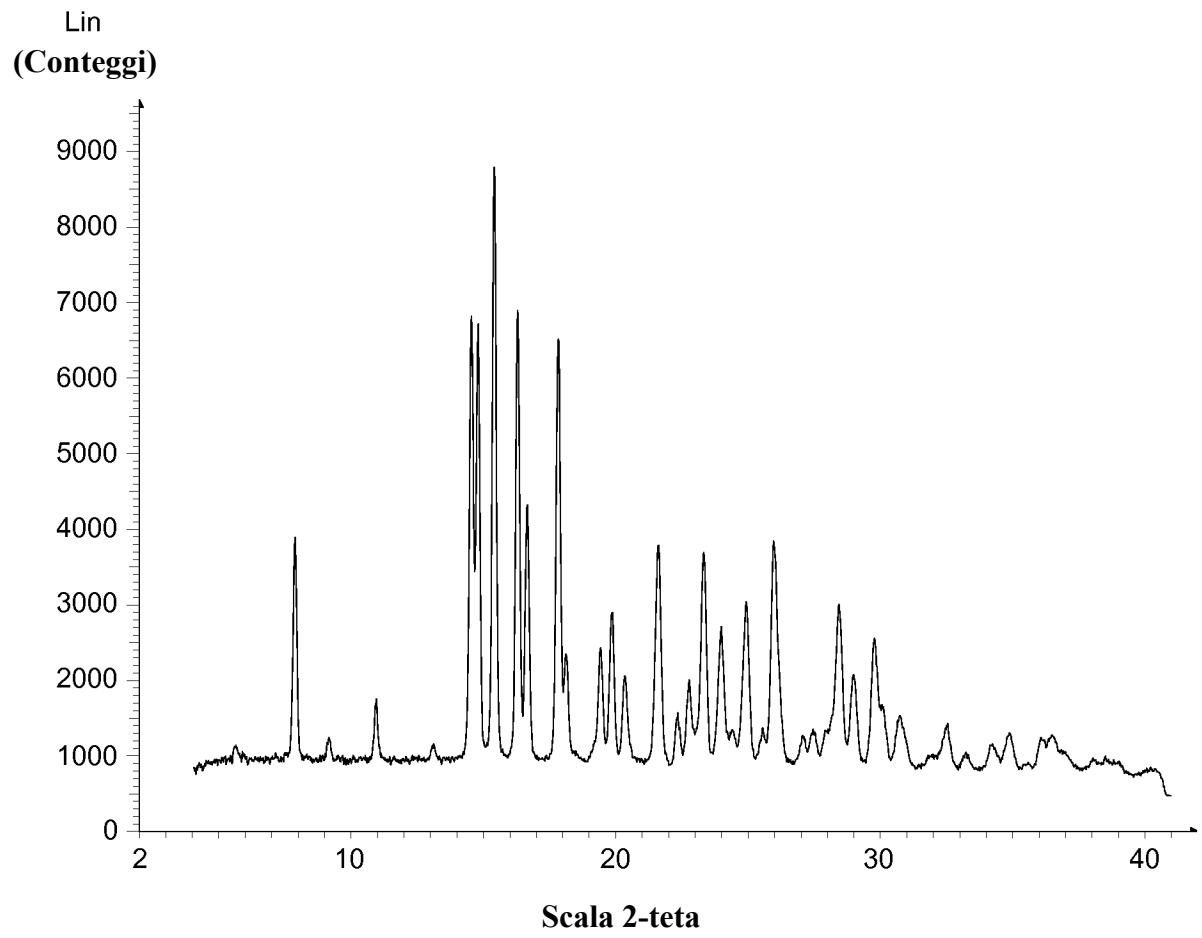


Figura 3

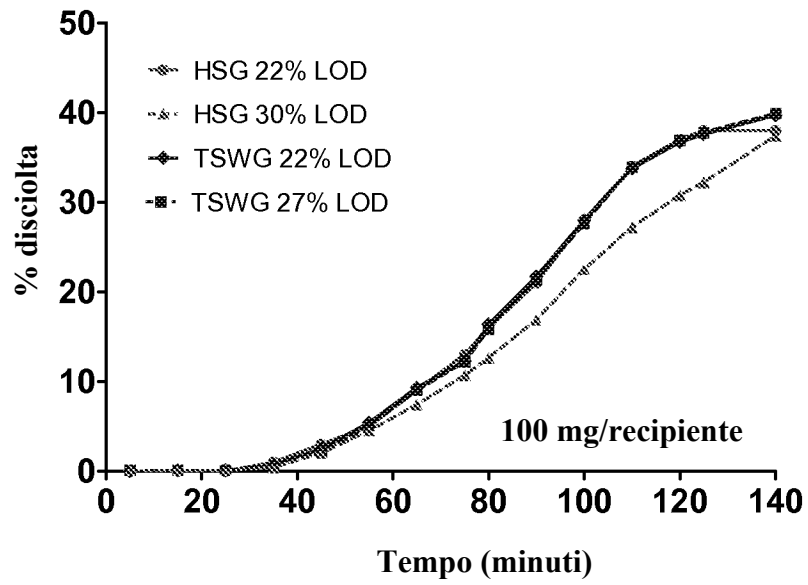


Figura 4

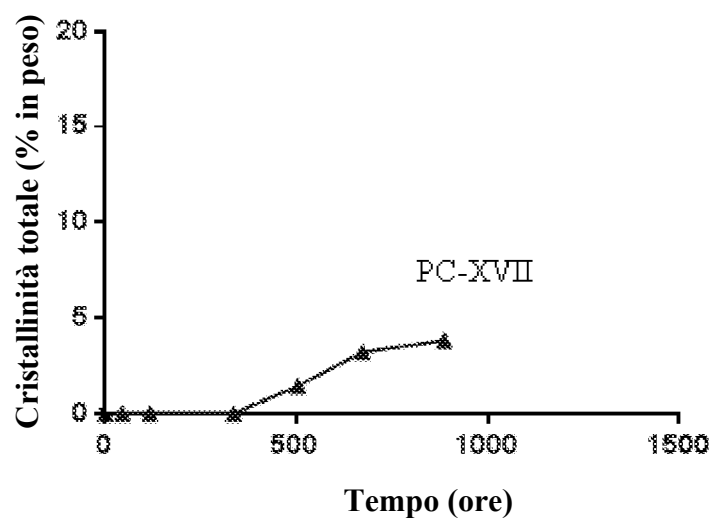


Figura 5

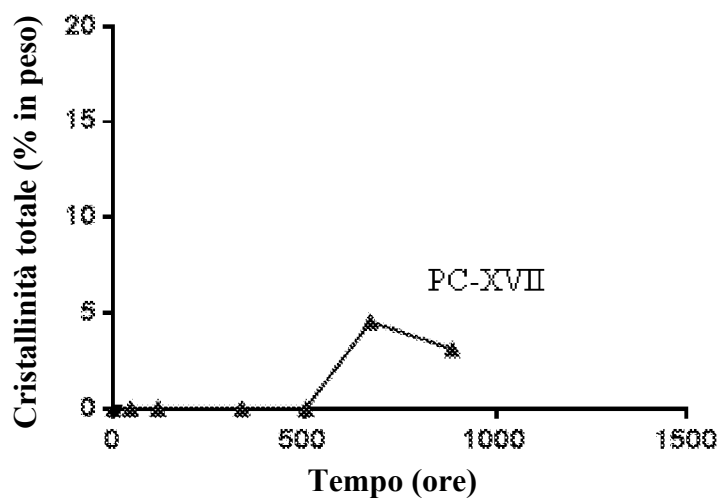


Figura 6

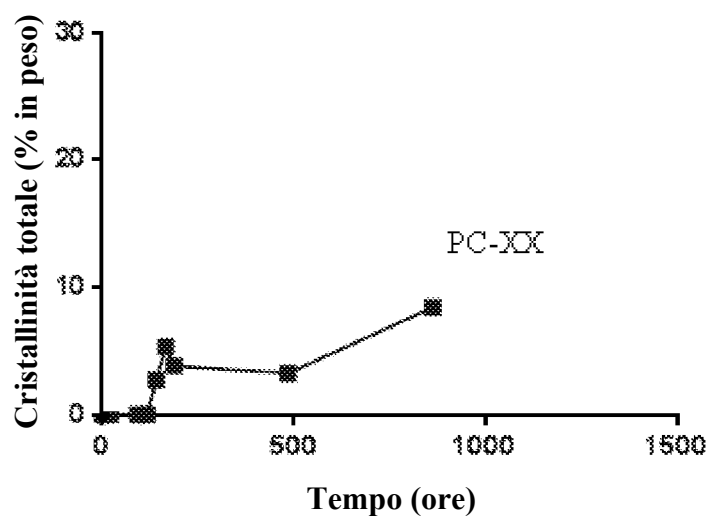


Figura 7

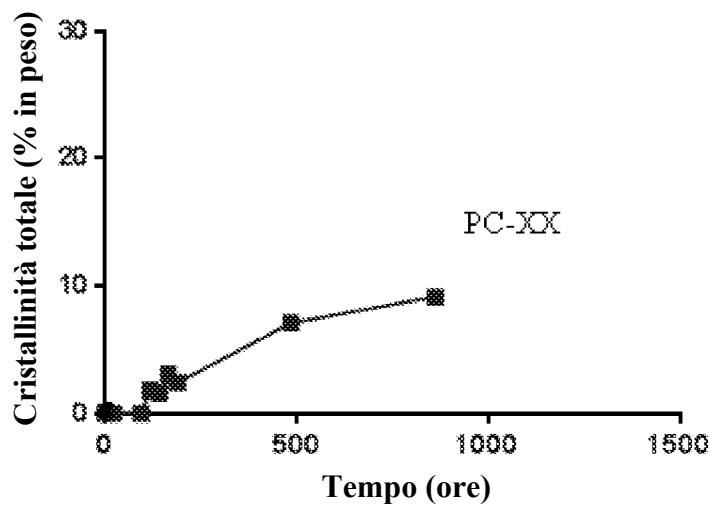


Figura 8

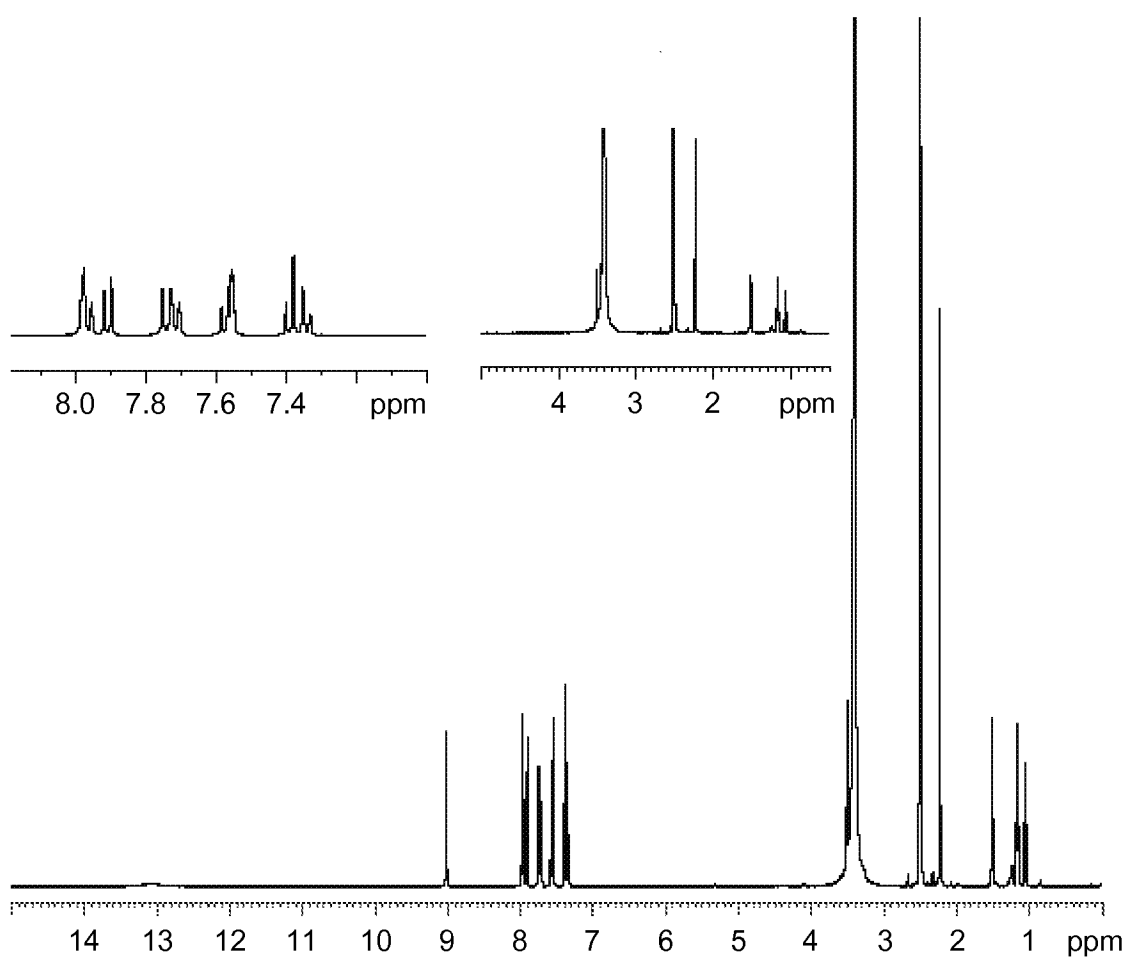


Figura 9

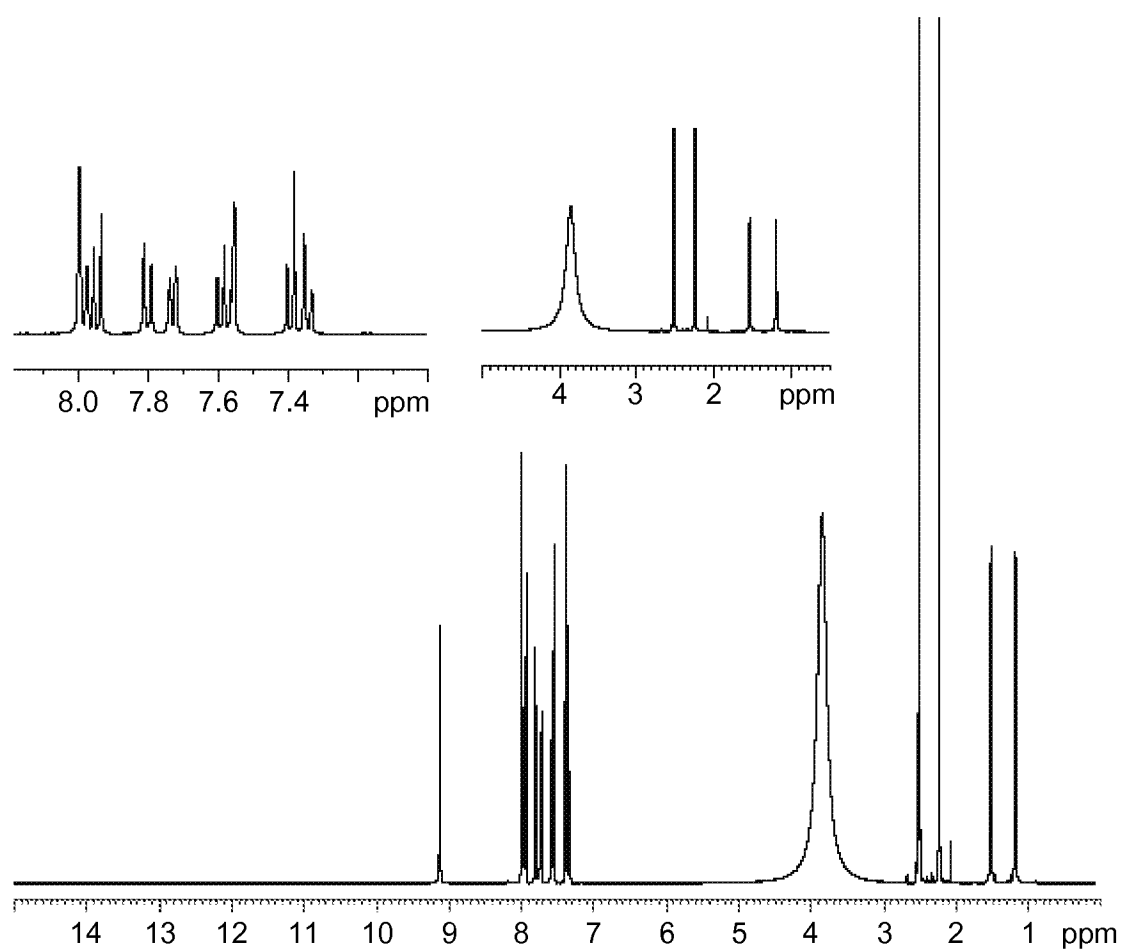


Figura 10

Flusso di calore (W/g)

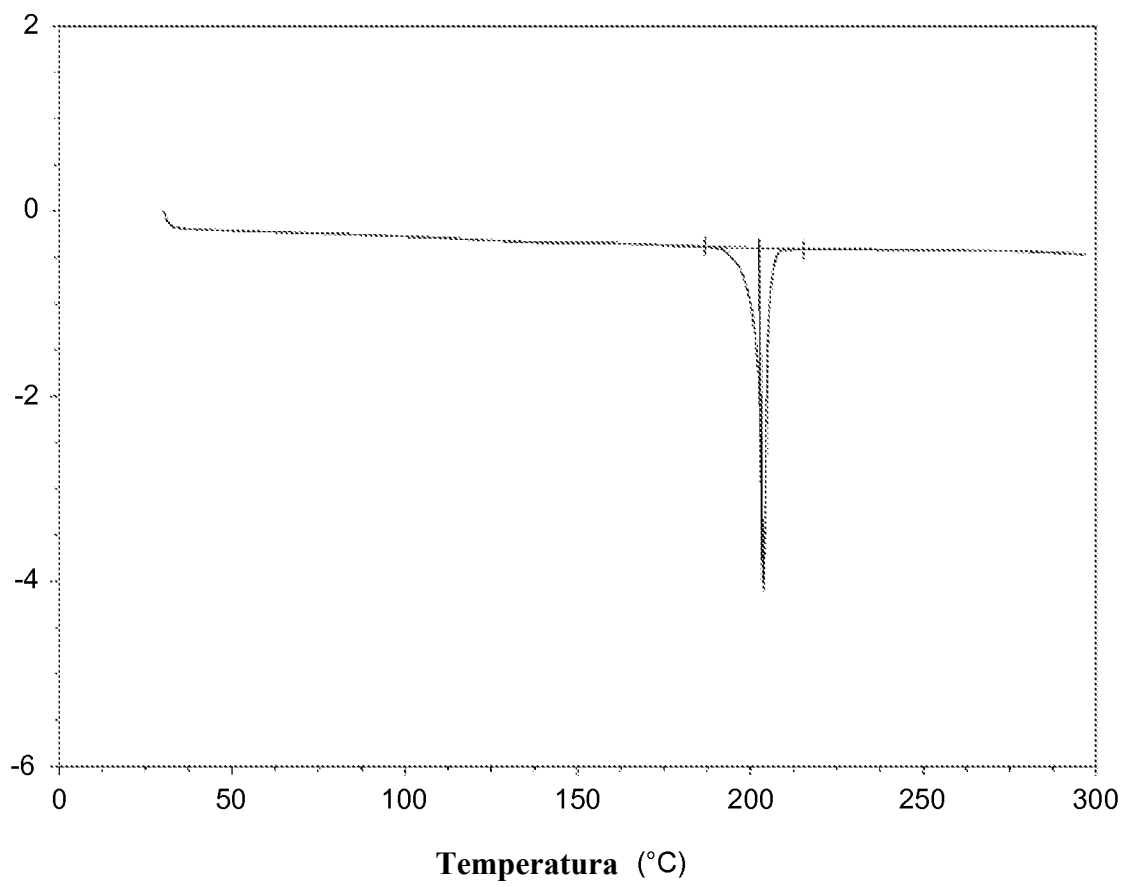


Figura 11

