

SIB EX5314R

P064478-SM:ECO/REC

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo

domanda n° 13703243.9 pubblicazione n° 2806859

a nome di Vertex Pharmaceuticals Incorporated

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

“FORMULAZIONI DI ACIDO 3-(6-(1-(2,2-DIFLUOROBENZO[D][1,3]DIOSOL-5-IL)
CICLOPROPANCARBOSSAMMIDO)-3-METILPIRIDIN-2-IL)BENZOICO”

**** **

Jacopo de Benedetti
USBM-043R B

DESCRIZIONE

CAMPO TECNICO DELL'INVENZIONE

L'invenzione riguarda composizioni farmaceutiche comprendenti l'acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1), metodi per produrre tali composizioni e metodi per somministrare composizioni farmaceutiche comprendenti lo stesso.

FONDAMENTO

Il CFTR è un canale anionico cAMP/ATP dipendente che è espresso in numerosi tipi cellulari incluse le cellule epiteliali assorbenti e secretorie, dove regola il flusso anionico attraverso la membrana, nonché l'attività di altri canali ionici e proteine. Nelle cellule epiteliali, la funzione normale del CFTR è importante per il mantenimento del trasporto elettrolitico attraverso l'organismo, incluso il tessuto respiratorio e digerente. Il CFTR è costituito da circa 1480 amminoacidi che codificano una proteina costituita da una ripetizione in tandem di domini transmembrana, ciascuna contenente sei eliche transmembrana e un dominio legante il nucleotide. I due domini transmembrana sono legati mediante un dominio grande, polare, regolatorio con più siti di fosforilazione che regolano l'attività di canale e il traffico cellulare.

Il gene codificante CFTR è stato identificato e sequenziato (Si veda Gregory, R. J. et al. (1990) Nature 347:382-386; Rich, D. P. et al. (1990) Nature 347:358-362), (Riordan, J. R. et al. (1989) Science 245:1066-1073). Un difetto di questo gene causa mutazioni nel CFTR determinando la fibrosi cistica ("CF"), la malattia genetica fatale più comune negli esseri umani. La fibrosi cistica interessa circa uno su ogni 2500 neonati negli Stati Uniti. Nella popolazione degli Stati Uniti generale, fino a 10 milioni di persone portano una singola copia del gene difettivo senza effetti patologici evidenti. Al contrario, gli individui con due copie del gene associato a CF presentano effetti debilitanti e fatali di CF, inclusa la malattia polmonare cronica.

In pazienti con fibrosi cistica, le mutazioni nel CFTR espresso in modo endogeno nell'epitelio respiratorio portano a una secrezione anionica apicale ridotta provocando uno squilibrio del trasporto ionico e di fluidi. La riduzione risultante del trasporto anionico contribuisce a potenziare l'accumulo di muco nel polmone e infezioni

microbiche associate che infine provocano la morte del paziente con CF. Oltre alla malattia respiratoria, i pazienti affetti da CF tipicamente presentano problemi gastrointestinali e insufficienza pancreatica che, se lasciata non trattata, determinano la morte. Inoltre, la maggior parte di individui di sesso maschile con fibrosi cistica sono infertili e la fertilità è ridotta tra gli individui di sesso femminile con fibrosi cistica. Al contrario, effetti gravi di due copie di gene associato a CF, individui con una singola copia del gene associato a CF presentano resistenza aumentata al colera e alla disidratazione derivante da diarrea forse spiegando la frequenza relativamente elevata del gene della CF nella popolazione.

L'analisi di sequenza del gene CFTR di cromosomi della CF ha rivelato numerose mutazioni che provocano la malattia (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). Attualmente, sono state identificate oltre 1000 mutazioni che causano malattia nel gene della CF come riportato dalla letteratura scientifica medica. La mutazione più prevalente è una delezione della fenilalanina in posizione 508 della sequenza amminoacidica di CFTR ed è comunemente definita *F508del*-CFTR. Questa mutazione avviene in circa il 70 per cento dei casi di fibrosi cistica ed è associata a una malattia grave. Altre mutazioni includono *R117H* e *G551D*.

La delezione del residuo 508 in *F508del*-CFTR previene il corretto ripiegamento della proteina nascente. Ciò determina l'incapacità della proteina mutante di uscire da ER, e trasferirsi nella membrana plasmatica. Come risultato, il numero di canali presenti nella membrana è di gran lunga inferiore a quello osservato nelle cellule che esprimono CFTR di tipo selvatico. Oltre a compromettere il traffico, la mutazione determina il gating di canale difettivo. Complessivamente, il numero ridotto di canali nella membrana e il gating difettivo portano a un trasporto anionico ridotto attraverso l'epitelio portando a un trasporto ionico e di fluidi difettivo. (Quinton, P. M. (1990), *FASEB J.* 4: 2709-2727). Gli studi hanno dimostrato tuttavia che il numero ridotto di *F508del*-CFTR nella membrana è funzionale, sebbene inferiore a CFTR di tipo selvatico. (Dalemans et al. (1991), *Nature Lond.* 354: 526-528; Denning et al., supra; Pasyk and Foskett (1995), *J. Cell. Biochem.* 270: 12347-50). Oltre a *F508del*-CFTR, altre mutazioni che causano malattia nel CFTR che determinano traffico difettivo, la sintesi

e/o il gating di canale potrebbe essere regolato positivamente o negativamente per alterare la secrezione anionica e modificare la progressione e/o la gravità della malattia.

Sebbene il CFTR trasporti numerose molecole oltre agli anioni, è chiaro che questo ruolo (trasporto di anioni) rappresenta un elemento in un meccanismo importante di trasporto di ioni e acqua attraverso l'epitelio. Gli altri elementi includono il canale di Na^+ epiteliale, ENaC, co-trasportatore $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$, pompa Na^+/K^+ -ATPasi e i canali di K^+ di membrana basolaterale che sono responsabili dell'assorbimento del cloruro nella cellula.

Questi elementi agiscono insieme per ottenere il trasporto direzionale attraverso l'epitelio mediante la loro espressione selettiva e localizzazione nella cellula. L'assorbimento di cloruro avviene mediante l'attività coordinata di ENaC e CFTR presenti sulla membrana apicale e della pompa Na^+/K^+ -ATPasi e i canali di Cl^- espressi sulla superficie basolaterale della cellula. Il trasporto attivo secondario di cloruro dal lato luminale porta l'accumulo di cloruro intracellulare che può quindi lasciare passivamente la cellula attraverso i canali di Cl^- determinando un trasporto vettoriale. La disposizione del co-trasportatore $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$, pompa Na^+/K^+ -ATPase e i canali di K^+ di membrana basolaterale sulla superficie basolaterale e il CFTR sul lato luminale coordinano la secrezione di cloruro attraverso CFTR sul lato luminale. Poiché probabilmente l'acqua non è mai trasportata attivamente di per sé, il suo flusso attraverso gli epitelii dipende dai piccolissimi gradienti osmotici transepiteliali generati dal flusso in massa di sodio e cloruro.

Come sopra descritto, si ritiene che la delezione del residuo 508 in *F508del*-CFTR impedisce il corretto ripiegamento della proteina nascente, determinando l'incapacità di questa proteina mutante di uscire da ER, e trasferirsi sulla membrana plasmatica. Come risultato, la quantità insufficiente della proteina matura è presente sulla membrana plasmatica e il trasporto di cloruro nei tessuti epiteliali è significativamente ridotto. Infatti, è stato osservato che questo fenomeno cellulare di processamento nel reticolo endoplasmatico difettivo (ER) dei trasportatori cassetta legante l'ATP (ABC) da parte del sistema ER, è la base fondamentale non soltanto per la malattia CF ma per un'ampia gamma di altre malattie isolate ed ereditate. I due modi in cui il sistema ER può mal funzionare e mediante la perdita di accoppiamento nell'esporto ER delle proteine che porta alla degradazione, o mediante l'accumulo nell'ER di queste proteine difettive/mal ripiegate [Aridor M, *et al.*, Nature

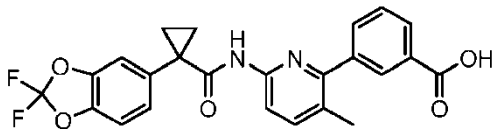
Med., 5(7), pagg. 745-751 (1999); Shastry, B.S., *et al.*, *Neurochem. International*, 43, pagg. 1-7 (2003); Rutishauser, J., *et al.*, *Swiss Med Wkly*, 132, pagg. 211-222 (2002); Morello, JP *et al.*, *TIPS*, 21, pagg. 466- 469 (2000); Bross P., *et al.*, *Human Mut.*, 14, pagg. 186-198 (1999)].

Il Composto 1 in forma salina è descritto nella pubblicazione PCT Internazionale WO 2007056341 come modulatore dell'attività del CFTR e pertanto come trattamento utile per malattie mediate dal CFTR quale fibrosi cistica. La Forma I del Composto 1, che è sostanzialmente cristallina e priva di sale, è descritta nella domanda di brevetto statunitense pubblicato US20090170905, depositato il 4 dicembre, 2008. La Forma II del Composto 1 e la Forma A sale HCl del Composto 1 sono descritti nella domanda di brevetto statunitense pubblicata US20110263654, depositato il 7 aprile, 2011. Tutte le domande sono incorporate nella presente per riferimento nella loro interezza.

Al Composto 1, come parte di una combinazione con ivacaftor (N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolina-3-carbossammide), è stata assegnata la designazione Breakthrough Therapy della Food and Drug Administration (FDA) per il trattamento della fibrosi cistica, una soltanto di due tali assegnazioni al momento del deposito della presente domanda (l'altra per ivacaftor). Ciò dimostra una significativa necessità impellente di trattamento efficace della causa della fibrosi cistica rispetto ai trattamenti sintomatici. Inoltre, una difficoltà comune per i farmaci approvata da FDA è la mancanza occasionale di disponibilità di farmaco per i pazienti che ne necessitano. Di conseguenza, esiste una necessità urgente significativa di formulazioni del Composto 1 precedentemente descritte e processi per prepararlo in un modo continuo e controllato.

SOMMARIO

L'invenzione riguarda composizioni farmaceutiche, preparazioni farmaceutiche, e forme farmaceutiche solide comprendenti l'acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1) che ha la struttura di seguito:



In un aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente:

- a. Composto 1;
- b. un riempitivo;
- c. un disintegrante;
- d. un tensioattivo;
- e. un lubrificante; e
- f. un agente di scorrevolezza o un legante.

In altre forme di realizzazione, il Composto 1 è sostanzialmente in una delle sue forme solide cristalline. In una forma di realizzazione, il Composto 1 è nella forma I sostanzialmente cristallina (Composto 1, forma I). In una forma di realizzazione, il Composto 1 è nella forma II sostanzialmente cristallina (Composto 1, forma II). In una forma di realizzazione, il Composto 1 è in una forma di sale HCl sostanzialmente cristallina (Forma A sale HCl del Composto 1). Si comprende che il termine "Composto 1" come usato dappertutto, include, tra altre forme, forme non cristalline, le seguenti forme in stato solido: Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, e/o Forma A del sale HCl del Composto 1.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende da 25 mg a 400 mg. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 25 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 50 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 100 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 125 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 150 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 200 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 250 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 300 mg del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende 400 mg del Composto 1.

In un aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|---------|
| Miscela di granuli per compattazione a rulli | (%p/p) |
| Composto 1 | 20-40 |
| Cellulosa microcristallina | 30-50 |
| Mannitolo | 10-30 |
| Croscarmellosa sodica | 1-5 |
| Sodio lauril solfato | 0.1-2 |
| Silice colloidale | 0.1-1 |
| Stearato di magnesio | 1-3 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli per compattazione a rulli | 99-99.9 |
| Stearato di magnesio | 0.1-1 |

In un aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti composti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Composto 1 | 60-70 |
| Cellulosa microcristallina | 5-15 |
| Croscarmellosa sodica | 1-5 |
| Sodio lauril solfato | 0.1-2 |
| Polivinilpirrolidone | 1-5 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 75-89 |
| Cellulosa microcristallina | 10-15 |
| Croscarmellosa sodica | 1-5 |
| Stearato di magnesio | 0.1-5 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 60-70 |
| Cellulosa microcristallina | 5-15 |
| Croscarmellosa sodica | 1-5 |
| Polivinilpirrolidone | 1-5 |
| Sodio lauril solfato | 0.1-2 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 78-89 |
| Cellulosa microcristallina | 10-15 |
| Croscarmellosa sodica | 1-5 |
| Stearato di magnesio | 0.1-2 |
| Compressa rivestita da film | (%p/p) |
| Composizione di compressa di nucleo | 95-99 |
| Rivestimento in film | 1-5 |
| Cera | Tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli per compattazione a rulli | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 30 |
| Cellulosa microcristallina | 42.3 |
| Mannitolo | 21.2 |
| Croscarmellosa sodica | 3 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Silice colloidale | 0.5 |
| Stearato di magnesio | 2 |

| | |
|--|--------|
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli per compattazione a rulli | 99.5 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 40-80 |
| Cellulosa microcristallina | 20-40 |
| Mannitolo | 10-15 |
| Croscarmellosa sodica | 1-5 |
| Polivinilpirrolidone | 1-10 |
| Sodio lauril solfato | 0.1-2 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 95-99 |
| Croscarmellosa sodica | 1-4 |
| Stearato di magnesio | 0.1-1 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 50 |
| Cellulosa microcristallina | 30 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |

| | |
|--|------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 97.5 |
| Croscarmellosa sodica | 2.0 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 60 |
| Cellulosa microcristallina | 20 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 97.5 |
| Croscarmellosa sodica | 2.0 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 60 |
| Cellulosa microcristallina | 20 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |

| Composizione della compressa | (%p/p) |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 14 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Stearato di magnesio | 1 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| Miscela di granuli a doppia coclea | (%p/p) |
|------------------------------------|--------|
| Forma I del Composto 1 | 60 |
| Cellulosa microcristallina | 20 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 14 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Stearato di magnesio | 1 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| Miscela di granuli a doppia coclea a umido | (%p/p) |
|--|--------|
| Forma I del Composto 1 | 80.0 |
| Cellulosa microcristallina | 13.6 |
| Croscarmellosa sodica | 2.5 |

| | |
|------------------------------------|--------|
| Polivinilpirrolidone | 3.1 |
| Sodio lauril solfato | 0.7 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 12 |
| Croscarmellosa sodica | 4 |
| Stearato di magnesio | 1 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|-------------------------------------|--------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 80.0 |
| Cellulosa microcristallina | 13.6 |
| Croscarmellosa sodica | 2.5 |
| Polivinilpirrolidone | 3.1 |
| Sodio lauril solfato | 0.7 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 12 |
| Croscarmellosa sodica | 4 |
| Stearato di magnesio | 1 |
| Compressa rivestita con film | (%p/p) |
| Composizione di compressa di nucleo | 97 |
| Rivestimento con film | 3 |
| Cera | Tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti

componenti:

| | |
|---|--------|
| miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 66 |
| Mannitolo | 43 |
| Croscarmellosa sodica | 7 |
| Polivinilpirrolidone | 13 |
| Sodio lauril solfato | 3 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 200 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 332 |
| Cellulosa microcristallina | 56 |
| Croscarmellosa sodica | 8 |
| Stearato di magnesio | 4 |
| Compressa rivestita con film (dose 200 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 400 |
| Rivestimento con film | 12 |
| Cera | tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|------------------------------------|-----|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 66 |
| Mannitolo | 43 |
| Croscarmellosa sodica | 7 |
| Polivinilpirrolidone | 13 |

| | |
|---|-----|
| Sodio lauril solfato | 3 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 200 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 332 |
| Cellulosa microcristallina | 56 |
| Croscarmellosa sodica | 8 |
| Stearato di magnesio | 4 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|---|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 67 |
| Mannitolo | 45 |
| Croscarmellosa sodica | 7 |
| Polivinilpirrolidone | 10.4 |
| Sodio lauril solfato | 2.6 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 200 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 332 |
| Cellulosa microcristallina | 56 |
| Croscarmellosa sodica | 8 |
| Stearato di magnesio | 4 |
| Compressa rivestita con film (dose 200 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 400 |
| Rivestimento con film | 12 |
| Cera | Tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti

componenti:

| | |
|---|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 300 |
| Cellulosa microcristallina | 99 |
| Mannitolo | 64.5 |
| Croscarmellosa sodica | 10.5 |
| Polivinilpirrolidone | 19.5 |
| Sodio lauril solfato | 4.5 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 300 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 498 |
| Cellulosa microcristallina | 84 |
| Croscarmellosa sodica | 12 |
| Stearato di magnesio | 6 |
| Compressa rivestita da film (dose 300 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 600 |
| Rivestimento con film | 18 |
| Cera | Tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|-------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 300 |
| Cellulosa microcristallina | 100.5 |
| Mannitolo | 67.5 |
| Croscarmellosa sodica | 10.5 |
| Polivinilpirrolidone | 15.6 |

| | |
|---|--------|
| Sodio lauril solfato | 3.9 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 300 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 498 |
| Cellulosa microcristallina | 84 |
| Croscarmellosa sodica | 12 |
| Stearato di magnesio | 6 |
| Compressa rivestita da film (dose 300 mg) | gm |
| Composizione della compressa nucleo | 600 |
| Rivestimento con film | 18 |
| Cera | Tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 70 |
| Cellulosa microcristallina | 12 |
| Mannitolo | 11 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 97.5 |
| Croscarmellosa sodica | 2.0 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I o Forma II del Composto 1 | 61 |
| Cellulosa microcristallina | 20.3 |
| Mannitolo | 13.2 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 2.7 |
| Sodio lauril solfato | 0.7 |
| Composizione della compressa | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 14 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Stearato di magnesio | 1 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|---|-------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I o Forma II del Composto 1 | 100 |
| Cellulosa microcristallina | 33.3 |
| Mannitolo | 21.7 |
| Croscarmellosa sodica | 3.3 |
| Polivinilpirrolidone | 4.4 |
| Sodio lauril solfato | 1.1 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 100 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 163.9 |
| Cellulosa microcristallina | 27.6 |
| Croscarmellosa sodica | 3.9 |

| | |
|----------------------|-----|
| Stearato di magnesio | 2.0 |
|----------------------|-----|

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|---|-------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 34.0 |
| Croscarmellosa sodica | 6.3 |
| Polivinilpirrolidone | 7.8 |
| Sodio lauril solfato | 1.8 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 200 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 249.9 |
| Cellulosa microcristallina | 36.1 |
| Croscarmellosa sodica | 12.0 |
| Stearato di magnesio | 3.0 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|---|-------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 400 |
| Cellulosa microcristallina | 68.0 |
| Croscarmellosa sodica | 12.6 |
| Polivinilpirrolidone | 15.6 |
| Sodio lauril solfato | 3.6 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 400 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 499.8 |
| Cellulosa microcristallina | 72.2 |

| | |
|-----------------------|------|
| Croscarmellosa sodica | 24.0 |
| Stearato di magnesio | 6.0 |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|---|--------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 34.0 |
| Croscarmellosa sodica | 6.3 |
| Polivinilpirrolidone | 7.8 |
| Sodio lauril solfato | 1.8 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 200 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 249.9 |
| Cellulosa microcristallina | 36.1 |
| Croscarmellosa sodica | 12.0 |
| Stearato di magnesio | 3.0 |
| Compressa rivestita con film (dose 200 mg, totale 310 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 301 |
| Rivestimento con film | 9.0 |
| Cera | tracce |

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente i seguenti componenti:

| | |
|------------------------------------|------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 400 |
| Cellulosa microcristallina | 68.0 |
| Croscarmellosa sodica | 12.6 |

| | |
|--|--------|
| Polivinilpirrolidone | 15.6 |
| Sodio lauril solfato | 3.6 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose 400 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 499.8 |
| Cellulosa microcristallina | 72.2 |
| Croscarmellosa sodica | 24.0 |
| Stearato di magnesio | 6.0 |
| Compressa rivestita con film (dose 400 mg totale 620 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 602 |
| Rivestimento con film | 18.0 |
| Cera | tracce |

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica sotto forma di una compressa che comprende il Composto 1, e uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili, ad esempio, un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, un diluente, un legante, un agente di scorrevolezza e un lubrificante e qualsiasi loro combinazione, in cui la compressa ha una dissoluzione di almeno circa 50% in circa 30 minuti. In un'altra forma di realizzazione, il tasso di dissoluzione è almeno circa 75% in circa 30 minuti. In un'altra forma di realizzazione, il tasso di dissoluzione è almeno circa 90% in circa 30 minuti.

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica costituita da una compressa che comprende una miscela di polvere o granuli comprendente il Composto 1; e uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili, ad esempio, un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, un diluente, un legante, un agente di scorrevolezza e un lubrificante in cui la compressa ha una durezza di almeno circa 5 kP (kP = kilo Ponds; 1 kP = ~9,8 N). In un'altra forma di realizzazione, la compressa ha una friabilità target inferiore a 1,0% dopo 400 rivoluzioni. In un altro aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica costituita da una compressa che comprende una miscela in polvere o granuli comprendente la forma II del Composto 1, il Composto 1; e uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili, ad esempio un riempitivo, un disintegrante, un

tensioattivo, un diluente, un legante, un agente di scorrevolezza e un lubrificante, in cui la compressa ha una durezza di almeno circa 5 kP (kP = kilo Ponds; 1 kP = ~9,8 N). In un'altra forma di realizzazione, la compressa ha una friabilità target inferiore a 1,0% dopo 400 rivoluzioni.

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica come descritto nella presente comprendente inoltre un agente terapeutico addizionale. In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico addizionale è N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide.

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce il metodo per trattare una malattia mediata da CFTR in un mammifero comprendente la somministrazione al mammifero di una quantità efficace di una composizione farmaceutica come descritto nella presente. In alcune forme di realizzazione, la malattia mediata da CFTR è la fibrosi cistica, l'enfisema, COPD, o osteoporosi. In altre forme di realizzazione, la malattia mediata da CFTR è la fibrosi cistica. Questo metodo può inoltre comprendere la somministrazione di un agente terapeutico addizionale, in cui in alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico addizionale è selezionato tra un agente mucolitico, broncodilatatore, un antibiotico, un agente antinfettivo, un agente antinfiammatorio, un potenziatore di CFTR, un agente nutrizionale. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico addizionale è N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolina-3-carbossammide. In un'altra forma di realizzazione, il paziente ha una mutazione *F508del*-CFTR. In un'altra forma di realizzazione, il paziente è omozigote per *F508del*. In un'altra forma di realizzazione, il paziente è eterozigote per *F508del*.

In un altro aspetto, l'invenzione presenta un kit comprendente una compressa della presente invenzione e un agente terapeutico separato o una sua composizione farmaceutica. In un'altra forma di realizzazione, il Composto 1 nella compressa è in forma I. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico è un correttore della fibrosi cistica diverso dal Composto 1. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico è un potenziatore della fibrosi cistica. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico è N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolina-3-carbossammide. In un'altra forma di realizzazione, la compressa e l'agente terapeutico sono in contenitori separati. In un'altra forma di realizzazione, i contenitori separati sono flaconi. In un'altra forma di realizzazione, i contenitori separati sono fiale. In un'altra forma di realizzazione, i

contenitori separati sono confezioni blister.

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce un processo per produrre composizioni farmaceutiche descritte nella presente mediante un processo di compattazione a rulli comprendente i passaggi di esaminare e pesare il Composto 1 e gli eccipienti; miscelare il Composto 1 e gli eccipienti per un periodo di tempo adatto; compattare mediante rulli la miscela in nastri e macinare i nastri in granuli; miscelare i granuli con eccipienti extra-granulari per un periodo di tempo adatto; pressare la miscela in compresse; rivestire le compresse e, opzionalmente, stampare un monogramma su una o entrambe le facce della compressa.

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce un procedimento per produrre le composizioni farmaceutiche descritte nella presente mediante un procedimento di granulazione a elevato taglio comprendente i passaggi di selezionare e pesare il Composto 1 e gli eccipienti; miscelare il Composto 1 e gli eccipienti aggiungendo contemporaneamente un fluido di granulazione comprendente tensioattivo e un legante a una velocità di miscelazione adatta per un periodo di tempo adatto e tritare la miscela in granuli; essiccare i granuli; miscelare i granuli con eccipienti extra-granulari per un periodo di tempo adatto; pressare la miscela in compresse; rivestire le compresse; e, opzionalmente, stampare un monogramma su una o su entrambe le facce della compressa.

In un altro aspetto, l'invenzione fornisce un procedimento continuo o semicontinuo per produrre le composizioni farmaceutiche descritte nella presente mediante un procedimento di granulazione a umido a doppia coclea comprendente i passaggi di selezionare e pesare il Composto 1 e gli eccipienti; miscelare il Composto 1 e gli eccipienti in un miscelatore e alimentare la miscela in un granulatore continuo aggiungendo contemporaneamente un fluido di granulazione comprendente un tensioattivo e un legante a una velocità adatta per un periodo di tempo adatto e tritare la miscela in granuli; essiccare i granuli; miscelare i granuli con eccipienti extra-granulari per un periodo di tempo adatto; pressare la miscela in compresse; opzionalmente il procedimento comprende inoltre rivestire le compresse e opzionalmente stampare un monogramma su una o su entrambe le facce della compressa.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

La **Figura 1** è un pattern di diffrazione ai X calcolata da una singola struttura cristallina della Forma I del

Composto 1.

La **Figura 2** è un pattern di diffrazione della polvere a raggi X della Forma I del Composto 1.

La **Figura 3** è un pattern di diffrazione della polvere a raggi X della Forma II del Composto 1.

La **Figura 4** fornisce pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1 selezionati tra:

- 1) Forma II del Composto 1, Metanolo solvato;
- 2) Forma II del Composto 1, Etanolo solvato;
- 3) Forma II del Composto 1, acetone solvato;
- 4) Forma II del Composto 1, 2-propanolo solvato;
- 5) Forma II del Composto 1, acetonitrile solvato;
- 6) Forma II del Composto 1, tetraidrofurano solvato;
- 7) Forma II del Composto 1, metil acetato solvato;
- 8) Forma II del Composto 1, 2-butanone solvato;
- 9) Forma II del Composto 1, etil formiato solvato; e
- 10) Forma II del Composto 1, 2-metiltetraidrofurano solvato.

La **Figura 5** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, metanolo solvato.

La **Figura 6** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, etanolo solvato.

La **Figura 7** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, acetone solvato.

La **Figura 8** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, 2-propanolo solvato.

La **Figura 9** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, acetonitrile solvato.

La **Figura 10** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, tetraidrofurano solvato.

La **Figura 11** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, metil acetato solvato.

La **Figura 12** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, 2-butanone solvato.

La **Figura 13** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, etil formiato solvato.

La **Figura 14** fornisce un pattern di diffrazione a raggi X della Forma II del Composto 1, 2-metiltetraidrofurano solvato.

La **Figura 15** è un tracciato di calorimetria a scansione differenziale (DSC) della Forma II del Composto 1, acetone solvato.

La **Figura 16** è un grafico dell'analisi termogravimetrica (TGA) della Forma II del Composto 1, acetone solvato.

La **Figura 17** è un'immagine conformazionale della Forma II del Composto 1, acetone solvato in base a un'analisi a raggi X a singolo cristallo.

La **Figura 18** è un'immagine conformazionale del dimero della Forma A del sale HCl del Composto 1.

La **Figura 19** è un pattern di diffrazione di raggi X della Forma A sale HCl del Composto 1 calcolato dalla struttura cristallina.

La **Figura 20** è uno spettro ^1H NMR del Composto 1.

La **Figura 21** è uno spettro ^1H NMR del sale HCl del Composto 1.

La **Figura 22** è un tracciato di calorimetria a scansione differenziale (DSC) della Forma I del Composto 1.

La **Figura 23** è una rappresentazione conformazionale della Forma I del Composto 1 in base all'analisi a raggi X a singolo cristallo.

La **Figura 24** è un'immagine conformazionale della Forma II del Composto 1, acetone solvato, in base all'analisi a raggi X a singolo cristallo.

La **Figura 25** è uno spettro ^{13}C NMR in stato solido (rotazione 15,0 kHz) della Forma II del Composto 1, acetone solvato.

La **Figura 26** è uno spettro ^{19}F NMR in stato solido (rotazione 12,5 kHz) della Forma II del Composto 1, acetone solvato.

La **Figura 27** è un pattern di diffrazione a raggi X della Forma A sale HCl del Composto 1 calcolato dalla struttura cristallina.

La **Figura 28** è un grafico che rappresenta i profili di dissoluzione a gradiente di pH del Composto 1 per una compressa prodotta mediante un procedimento di granulazione a elevato taglio (HSG) e un procedimento di granulazione a umido a doppia coclea (TSWG) (LOD sta per perdita all'essiccazione una misura per definire la quantità di acqua in una polvere/granulo).

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

DEFINIZIONI

Come usato nella presente, “CFTR” sta per regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica.

Come usato nella presente, un “ $\Delta F508$ ” o “*F508del*” è una mutazione specifica nella proteina CFTR. La mutazione è una delezione dei tre nucleotidi che comprendono il codone per l’amminoacido fenilalanina in posizione 508, determinando una proteina CFTR che è priva di questa particolare fenilalanina.

Come usato nella presente, un paziente che è “omozigote” per una particolare mutazione, ad es. *F508del*, ha la stessa mutazione su entrambi gli alleli.

Come usato nella presente, un paziente che è “eterozigote” per una particolare mutazione, ad es. *F508del*, ha questa mutazione su un allele, e una mutazione differente sull’altro allele.

Come usato nella presente, l’espressione “correttore del CFTR” si riferisce a un composto che aumenta o induce la quantità di proteina CFTR funzionale sulla superficie cellulare, determinando un’attività funzionale aumentata.

Come usato nella presente, l’espressione “potenziatore del CFTR” si riferisce a un composto che aumenta o induce l’attività di canale della proteina CFTR situata sulla superficie cellulare, determinando un’attività funzionale aumentata.

Come usata nella presente, l’espressione “ingrediente farmaceutico attivo” o “API” si riferisce a un composto biologicamente attivo. Gli API esemplificativi includono acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1).

Le espressioni “forma solida”, “forme solide” e termini correlati, quando usati nella presente si riferiscono all’acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico (Composto 1), indicano una forma solida ad es. cristalli e simili, comprendente il Composto 1 che non è in modo predominante in uno stato liquido o gassoso.

Come usata nella presente, l’espressione “sostanzialmente amorfo” si riferisce a un materiale solido avente un minimo o non avente un ordine a lungo raggio nella posizione delle sue molecole. Ad esempio, materiali

sostanzialmente amorfi hanno una cristallinità inferiore a circa il 15% (ad es., una cristallinità inferiore a circa il 10% o una cristallinità inferiore a circa il 5%). Si deve anche evidenziare che l'espressione "sostanzialmente amorfo" include l'identificatore "amorfo", che si riferisce a materiali non aventi una cristallinità (0%).

Come usata nella presente, l'espressione "sostanzialmente cristallino" (come nella frase Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, o Forma A del sale HCl del Composto 1 sostanzialmente cristallina) si riferisce a un materiale solido avente un ordine di intervallo prevalentemente lungo nella posizione delle sue molecole. Ad esempio, i materiali sostanzialmente cristallini hanno una cristallinità superiore a circa 85% (ad es., una cristallinità superiore a circa 90% o una cristallinità superiore a circa 95%). Si deve anche evidenziare che l'espressione "sostanzialmente cristallino" include l'identificatore, "cristallino" che si riferisce a materiali aventi una cristallinità del 100%.

Il termine "cristallino" e i termini correlati usati nella presente, quando usati per descrivere una sostanza, componente, prodotto o forma, indica che la sostanza, componente o prodotto è sostanzialmente cristallino come determinato mediante diffrazione a raggi X. (Si veda, ad es., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ma Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003); The United States Pharmacopeia, 23ma ed., 1843-1844 (1995)).

Come usato nella presente, il termine "composizione" si riferisce in generale a una composizione di due o più componenti, usualmente uno o più farmaci (ad es., un farmaco (ad es., Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, o Forma A del sale HCl del Composto 1)) e uno o più eccipienti farmaceutici.

Come usata nella presente, l'espressione "forma farmaceutica solida" si riferisce in generale a una composizione farmaceutica, che quando usata in un modo di somministrazione orale include capsule, compresse, pillole, polveri e granuli. In tali forme farmaceutiche solide, il composto attivo è miscelato con almeno un eccipiente o veicolante farmaceuticamente accettabile inerte.

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

contribuisce alla dispersione della compressa. Come usato nella presente, un “diluente” o “riempitivo” è un eccipiente che addiziona volume a una composizione farmaceutica.

Come usato nella presente, un “tensioattivo” è un eccipiente che conferisce solubilità e/o umettabilità potenziata alle composizioni farmaceutiche.

Come usato nella presente, un “legante” è un eccipiente che conferisce coesione o resistenza a trazione potenziata alla composizione farmaceutica (ad es., durezza).

Come usato nella presente, un “agente di scorrevolezza” è un eccipiente che conferisce proprietà di flusso potenziate alle composizioni farmaceutiche.

Come usato nella presente, un “colorante” è un eccipiente che conferisce un colore desiderato alla composizione farmaceutica. Esempi di coloranti includono pigmenti disponibili in commercio quali 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 forma di realizzazione, la composizione farmaceutica fornita dall’invenzione è viola.

Come usato nella presente, un “lubrificante” è un eccipiente che è addizionato alle composizioni farmaceutiche che sono pressate in compresse. Il lubrificante favorisce la compattazione di granuli in compresse e l’espulsione di una compressa di una composizione farmaceutica da una pressa matrice.

Come usato nella presente, “centimetro cubico” e “cc” sono usati in modo intercambiabile per rappresentare un’unità di volume. Si evidenzia che 1 cc = 1 mL.

Come usato nella presente, “kiloPond” e “kP” sono usati in modo intercambiabile e si riferiscono alla misura di forza dove un kP = circa 9,8 Newtons.

Come usato nella presente, “friabilità” si riferisce alla proprietà di una compressa a 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:

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

in cui W_0 è il peso originale della compressa e W_f è il peso finale della compressa dopo che è sottoposto a un frantumatore. La friabilità è misurata usando un apparecchio di test USP standard che fa ruotare le compresse

sperimentali per 100 o 400 rivoluzioni. Alcune compresse dell'invenzione hanno una friabilità inferiore a 5,0%. In un'altra forma di realizzazione, la friabilità è inferiore a 2,0%. In un'altra forma di realizzazione, la friabilità target è inferiore a 1,0% dopo 400 rivoluzioni.

Come usato nella presente, "diametro particellare medio" è il diametro particellare medio come misurato usando tecniche quali diffusione della luce laser, analisi di immagine, o analisi a setaccio. In una forma di realizzazione, i granuli usati per preparare le composizioni farmaceutiche fornite dall'invenzione hanno un diametro particellare medio inferiore a 1,0 mm.

Come usato nella presente, "densità in massa" è la massa di particelle di materiali diviso per il volume totale occupato dalle particelle. Il volume totale include volume particellare, il volume di vuoto inter-particella e il volume del poro interno. La densità in massa non è una proprietà intrinseca di un materiale; essa può variare in base a come è trattato il materiale. In una forma di realizzazione, i granuli usati per preparare le composizioni farmaceutiche fornite dall'invenzione hanno una densità in massa di circa 0,5-0,7 g/cc.

Una quantità efficace o "quantità terapeuticamente efficace" di un composto farmaceutico dell'invenzione può variare in base a fattori quali stato patologico, età, e peso dell'individuo, e la capacità del composto dell'invenzione di stimolare una risposta desiderata nell'individuo. Regimi di dosaggio possono essere regolati per ottenere una risposta terapeutica ottimale. Una quantità efficace è anche una in cui qualsiasi effetto tossico o nocivo (ad es., effetti collaterali) del composto dell'invenzione sono superati dagli effetti terapeuticamente benefici.

Come usato nella presente, se non diversamente specificato, le espressioni "quantità terapeuticamente efficace" e "quantità efficace" di un composto indicano una quantità sufficiente a fornire un beneficio terapeutico nel trattamento o gestione di una malattia o disturbo, o di ritardare o ridurre al minimo uno o più sintomi associati a una 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. Le espressioni "quantità terapeuticamente efficace" e "quantità efficace" possono includere una quantità che migliora la terapia totale, riduce o evita

sintomi o le cause della malattia o disturbo, o potenzia l'efficacia terapeutica di un altro agente terapeutico.

“Sostanzialmente puro” come usato nella frase “Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, o Forma A del sale HCl del Composto 1, sostanzialmente puro” indica purezza superiore a circa 90%. In un'altra forma di realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 95%. In un'altra forma di realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 98%. In un'altra forma di realizzazione, sostanzialmente puro si riferisce a una purezza superiore a circa 99%.

Riguardo il Composto 1 (ad es., Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, o Forma A del sale HCl del Composto 1), i termini “circa” e “approssimativamente”, quando usati in associazione a dosi, quantità, o percentuale in peso di ingredienti di una composizione o di una forma farmaceutica indicano una dose, una quantità o una percentuale in peso che è riconosciuta da un comune esperto nella tecnica come fornire un effetto farmacologico equivalente a quello ottenuto dalla dose, quantità o percentuale in peso specificata. In particolare il termine “circa” o “approssimativamente” indica un errore accettabile per un particolare valore come determinato da un comune esperto nella tecnica che dipende in parte da come il valore è misurato o determinato. In alcune forme di realizzazione, il termine “circa” o “approssimativamente” indica entro 1, 2, 3, o 4 deviazioni standard. In alcune forme di realizzazione, il termine “circa” o “approssimativamente” indica entro 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.

Se non diversamente specificato, il termine “Composto 1” include, senza limitazioni, le forme solide del Composto 1 come descritto nella presente, ad es. Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, o Forma A sale HCl del Composto 1, nonché loro combinazioni.

COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE

L'invenzione fornisce composizioni farmaceutiche, formulazioni farmaceutiche e forme farmaceutiche solide comprendenti il Composto 1 che può essere in forma sostanzialmente cristallina. In alcune forme di realizzazione, il Composto 1 è la Forma I cristallina (Forma I del Composto 1). In alcune forme di realizzazione, il Composto 1 è in Forma II cristallina (Forma II del Composto 1). In alcune forme di realizzazione, il Composto 1 è in forma cristallina sale HCl (Forma A del sale HCl del Composto 1). In alcune forme di realizzazione del

presente aspetto, la quantità di Composto 1 che è presente nella composizione farmaceutica è 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, o 400 mg. In alcune forme di realizzazione del presente aspetto, la percentuale relativa peso/peso del Composto 1 che è presente nella composizione farmaceutica è da 10 a 75 percento. In queste e altre forme di realizzazione, l'acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico è presente come Composto 1 sostanzialmente puro. "Sostanzialmente puro" indica puro preferibilmente oltre novanta per cento; preferibilmente puro oltre 95 percento; in modo maggiormente preferibile puro superiore a 99,5 percento (ovvero, non miscelato con altre forme cristalline del Composto 1).

Pertanto in un aspetto, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente:

- a. Composto 1;
- b. un riempitivo;
- c. un disintegrante;
- d. un tensioattivo;
- e. un diluente;
- f. un lubrificante; e
- g. un agente di scorrevolezza o un legante.

In una forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 25 mg del Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 50 mg del Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 100 mg di Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 125 mg del Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 150 mg del Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 200 mg del Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 250 mg del Composto 1. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica comprende 300 mg del Composto 1. In un'altra

forma di realizzazione del presente aspetto, la composizione farmaceutica 400 mg del Composto 1.

In alcune forme di realizzazione, le composizioni farmaceutiche comprendono il Composto 1, in cui il Composto 1 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, almeno 60% in peso, o almeno 70% in peso) in base al peso della composizione.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende il Composto 1, un riempitivo, un diluente, un disintegrante, un tensioattivo, un agente di scorrevolezza, e un lubrificante. In questa forma di realizzazione, la composizione comprende da circa 20% in peso a circa 50% in peso (ad es., circa 25-35% in peso) del Composto 1 in base al peso della composizione, e più tipicamente, da 25% in peso a circa 45% in peso (ad es., circa 28-32% in peso) di Composto 1 in base al peso della composizione.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende il Composto 1, un riempitivo, un diluente, un disintegrante, un tensioattivo, un legante e un lubrificante. In questa forma di realizzazione, la composizione comprende da circa 30% in peso a circa 60% in peso (ad es., circa 40-55% in peso) di Composto 1 in base al peso della composizione, e più tipicamente da 35% in peso a circa 70% in peso (ad es., circa 45-55% in peso) di Composto 1 in base al peso della composizione.

La concentrazione del Composto 1 nella composizione dipende da diversi fattori quali la quantità di composizione farmaceutica necessaria per fornire una quantità desiderata del Composto 1 e un profilo di dissoluzione desiderato della composizione farmaceutica.

In un'altra forma di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende il Composto 1, in cui il Composto 1 nella sua forma solida ha un diametro particellare medio, misurato mediante diffusione della luce (ad es., usando un Malvern Mastersizer disponibile dalla Malvern Instruments in Inghilterra) da 0,1 micron a 10 micron. In un'altra forma di realizzazione, la granulometria del Composto 1 è da 1 micron a 5 micron. In un'altra forma di realizzazione, il Composto 1 ha una granulometria D50 di 2,0 micron.

Come indicato, oltre al Composto 1, in alcune forme di realizzazione dell'invenzione, le composizioni farmaceutiche che sono formulazioni orali comprendono anche uno o più eccipienti quali riempitivi,

disintegranti, tensioattivi, diluenti, leganti, agenti di scorrevolezza, lubrificanti, coloranti, o fragranze e qualsiasi loro combinazione.

I riempitivi adatti per l'invenzione sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza, la stabilità chimica, la stabilità fisica o l'attività biologica della composizione farmaceutica. I riempitivi esemplificativi includono: cellulose, cellulose modificate, (ad es. sodio carbossimetil cellulosa, etil cellulosa idrossimetil cellulosa, idrossiprolilcellulosa), cellulosa acetato, cellulosa microcristallina, fosfati di calcio, fosfato di calcio dibasico, amidi (ad es. amido di mais, amido di patata), zuccheri (ad es., sorbitolo) lattosio, saccarosio, o simili) o qualsiasi loro combinazione.

Pertanto, in una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende almeno un riempitivo in una quantità di almeno 5% in peso (ad es., almeno circa 20% in peso, almeno circa 30% in peso, o almeno circa 40% in peso) in base al peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 10% in peso a circa 60% in peso (ad es., da circa 20% in peso a circa 55% in peso, da circa 25% in peso a circa 50% in peso, o da circa 27% in peso a circa 45% in peso) di riempitivo in base al peso della composizione. In un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende almeno circa 20% in peso (ad es., almeno 30% in peso o almeno 40% in peso) di cellulosa microcristallina, ad esempio MCC Avicel PH102, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 10% in peso a circa 60% in peso (ad es., da circa 20% in peso a circa 55% in peso o da circa 25% in peso a circa 45% in peso) di microcellulosa, in base al peso della composizione.

Disintegranti adatti per l'invenzione potenziano la dispersione della composizione farmaceutica e sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, non riducono sostanzialmente la stabilità chimica, la stabilità fisica, la durezza o l'attività biologica della composizione farmaceutica.

Disintegranti esemplificativi includono croscarmellosa sodica, sodio amido glicolato, o una loro combinazione.

Pertanto, in una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un 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) in base al peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa

1% in peso a circa 10% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso a circa 7,5% in peso o da circa 2,5% in peso a circa 6% in peso) di disintegrante, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da 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 croscarmellosa sodica, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 1% in peso a circa 10% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso a circa 7,5% in peso o da circa 2,5% in peso a circa 6% in peso) di croscarmellosa sodica, in base al peso della composizione. In alcuni esempi, la composizione farmaceutica comprende da circa 0,1% a circa 10% in peso (ad es., da circa 0,5% in peso a circa 7,5% in peso o da circa 1,5% in peso a circa 6% in peso) di disintegrante, in base al peso della composizione. In ancora altri esempi, la composizione farmaceutica comprende da circa 0,5% a circa 10% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso a circa 7,5% in peso o da circa 2,5% in peso a circa 6% in peso) di disintegrante, in base al peso della composizione.

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

Pertanto, in una forma di 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) in base al peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica include da circa 10% in peso a circa 0,1% in peso (ad es., da circa 5% in peso a circa 0,2% in peso o da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso) di tensioattivo, in base al 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, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 10% in peso a circa 0,1% in peso (ad es., da circa 5% in peso a

circa 0,2% in peso o da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso) di sodio lauril solfato, in base al peso della composizione.

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

Pertanto, in una forma di 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) in base al peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 0,1% in peso a circa 10% in peso (ad es., da circa 1% in peso a circa 10% in peso o da circa 2% in peso a circa 7% in peso) di un legante, in base al 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, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende un agente di scorrevolezza in una quantità che varia da circa 0,1% in peso a circa 10% in peso (ad es., da circa 1% in peso a circa 8% in peso o da circa 2% in peso a circa 5% in peso) di polivinilpirrolidone, in base al peso della composizione.

Diluenti adatti per l'invenzione possono aggiungere massa necessaria a una formulazione per preparare compresse della dimensione desiderata e sono generalmente compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza, la stabilità chimica, la stabilità fisica, o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Diluenti esemplificativi includono: zuccheri, ad esempio, zucchero impalpabile, zucchero comprimibile, destrati, destrina, destrosio, lattosio, mannitolo, sorbitolo, cellulosa, e cellulose modificate, ad esempio, cellulosa in polvere, talco, fosfato di calcio, amido, o qualsiasi loro combinazione.

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

Gli agenti di scorrevolezza adatti per l'invenzione potenziano le proprietà di flusso della composizione farmaceutica e sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza, la stabilità chimica, la stabilità fisica o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Agenti di scorrevolezza esemplificativi includono biossido di silicio colloidale, talco o una loro combinazione.

Pertanto, in una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un agente di scorrevolezza in una quantità del 2% in peso o meno (ad es., 1,75% in peso, 1,25% in peso o meno, o 1,00% in peso o meno) in base al peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso a circa 0,07% in peso o da circa 1,0% in peso a circa 0,09% in peso) di agente di scorrevolezza in base al 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, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso (ad es., da circa 1,5% in peso a circa 0,07% in peso o da circa 1,0% in peso a circa 0,09% in peso) di biossido di silice colloidale, in base al peso della composizione.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica può includere una forma di dosaggio

farmaceutica solida orale che può comprendere un lubrificante che può evitare l'adesione di una miscela granulato-perle a una superficie (ad es., una superficie in una vasca di miscelazione, uno stampo di compressione e/o punzone). Un lubrificante può anche ridurre l'attrito interparticellare nel granulato e migliorare la compressione e la rimozione delle composizioni farmaceutiche compresse da una pressa matrice. Il lubrificante è anche compatibile con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, non riducono sostanzialmente la solubilità, la durezza o l'attività biologica della composizione farmaceutica. Lubrificanti esemplificativi includono stearato di magnesio, stearato di calcio, stearato di zinco, stearato di sodio, acido stearico, stearato di alluminio, leucina, gliceril behenato, olio vegetale idrogenato o qualsiasi loro combinazione. In una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un lubrificante in una quantità del 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) in base al peso della composizione. Ad esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 5% in peso a circa 0,10% in peso (ad es., da circa 4,5% in peso a circa 0,5% in peso o da circa 3% in peso a circa 1% in peso) di lubrificante, in base al 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 stearato di magnesio, in base al peso della composizione. In ancora un altro esempio, la composizione farmaceutica comprende da circa 5% in peso a circa 0,10% in peso (ad es., da circa 4,5% in peso a circa 0,15% in peso o da circa 3,0% in peso a circa 0,50% in peso) di stearato di magnesio, in base al peso della composizione.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono opzionalmente comprendere uno o più coloranti, aromatizzanti, e/o fragranze per potenziare l'aspetto, il gusto, e/o l'odore della composizione. I coloranti, aromatizzanti, o fragranze adatti sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, non riducono sostanzialmente la solubilità, la stabilità chimica, la stabilità fisica, la durezza, o l'attività biologica della composizione farmaceutica. In una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende un colorante, un aroma e/o una fragranza. In una forma di realizzazione, le composizioni farmaceutiche fornite dall'invenzione sono viola.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica include o può essere prodotta in compresse e/o le compresse possono essere rivestite con un colorante opzionalmente contrassegnate con un logo, altre immagini e/o test usando un inchiostro adatto. In ancora altre forme di realizzazione, la composizione farmaceutica include o può essere prodotta in compresse e le compresse possono essere rivestite con un colorante, cerate, e opzionalmente contrassegnate con un logo, altra immagine e/o soggetto usando un inchiostro adatto. Coloranti e inchiostri adatti sono compatibili con gli ingredienti della composizione farmaceutica, ovvero, 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 a base di solvente. In una forma di realizzazione, le compresse prodotte dalla composizione farmaceutica sono rivestite con un colorante e quindi contrassegnate con un logo, altre immagini e/o soggetto usando un inchiostro adatto. Ad esempio, le compresse comprendenti la composizione farmaceutica come descritto nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad es., meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di rivestimento in film comprendente un colorante. Le compresse colorate possono essere contrassegnate con un logo e testo che indicano la forza del principio attivo nella compressa usando un inchiostro adatto. In un altro esempio, le compresse comprendenti la composizione farmaceutica come descritto nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad es., meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di un rivestimento in film comprendente un colorante.

In un'altra forma di realizzazione, le compresse prodotte dalla composizione farmaceutica sono rivestite con un colorante, cerate, e quindi contrassegnate con un logo, altra immagine, e/o testo usando un inchiostro adatto. Ad esempio, le compresse comprendenti la composizione farmaceutica come descritto nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad es., meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di rivestimento in film comprendente un colorante. Le compresse colorate possono essere cerate con polvere di cera Carnauba pesata in una quantità di circa 0,01% p/p del nucleo della compressa di partenza. Le compresse cerate possono essere contrassegnate con un logo e testo che indicano la forza del principio attivo nella compressa usando un inchiostro adatto. In un altro esempio, le compresse comprendenti la composizione farmaceutica come descritto

nella presente possono essere rivestite con circa 3% in peso (ad es., meno di circa 6% in peso o meno di circa 4% in peso) di un rivestimento in film comprendente un colorante. Le compresse colorate possono essere cerate con polvere di cera Carnauba pesata in una quantità di circa 0,01% p/p del peso del nucleo della compressa di partenza. Le compresse cerate possono essere contrassegnate con un logo e testo indicante la forza del principio attivo nella compressa usando un inchiostro di qualità farmaceutica quale inchiostro nero (ad es., Opacode® S-1-17823, un inchiostro a base di solvente, disponibile in commercio dalla Colorcon, Inc. of West Point, PA.).

Una composizione farmaceutica esemplificativa comprende da circa 15% in peso a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso a circa 60% in peso, da circa 15% in peso a circa 50% in peso, o da circa 15% in peso a circa 40% in peso, o da circa 20% in peso a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso a circa 70% in peso, o da circa 40% in peso a circa 70% in peso, o da circa 50% in peso a circa 70% in peso) del Composto 1, in base al peso della composizione. Le composizioni sopra citate possono anche includere uno o più eccipienti farmaceuticamente accettabili, ad esempio, da circa 20% in peso a circa 50% in peso di un riempitivo, da circa 1% in peso a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso a circa 5% in peso di un legante; da circa 1% in peso a circa 30% in peso di un diluente; da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso di un agente di scorrevolezza; e da circa 5% in peso a circa 0,1% in peso di un lubrificante. Oppure, la composizione farmaceutica comprende una composizione contenente da circa 15% in peso a circa 70% in peso (ad es., da circa 20% in peso a circa 40% in peso, da circa 25% in peso a circa 60% in peso, o da circa 30% in peso a circa 55% in peso) del Composto 1, in base al peso della composizione; e uno o più eccipienti, ad esempio, da circa 20% in peso a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso a circa 5% in peso di un legante; da circa 1% in peso a circa 30% in peso di un diluente; da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso di un agente di scorrevolezza; e da circa 5% in peso a circa 0,1% in peso di un lubrificante.

Un'altra composizione farmaceutica esemplificativa comprende da circa 15% in peso a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso a circa 60% in peso, da circa 15% in peso a circa 50% in peso, o da circa 15% in peso a circa 40% in peso o da circa 20% in peso a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso a circa 70% in peso, o da

circa 40% in peso a circa 70% in peso, o da circa 50% in peso a circa 70% in peso) di Composto 1 in peso della composizione, e uno o più eccipienti, ad esempio, da circa 20% in peso a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso a circa 5% in peso di legante; da circa 1% in peso a circa 30% in peso di un diluente; da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso di un agente di scorrevolezza; e da circa 2% in peso a circa 0,1% in peso di un lubrificante.

Un'altra composizione farmaceutica esemplificativa comprende da circa 15% in peso a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso a circa 60% in peso, da circa 15% in peso a circa 50% in peso, o da circa 15% in peso a circa 40% in peso o da circa 20% in peso a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso a circa 70% in peso, o da circa 40% in peso a circa 70% in peso, o da circa 50% in peso a circa 70% in peso) di Composto 1 in peso della composizione, e uno o più eccipienti, ad esempio, da circa 20% in peso a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso a circa 5% in peso di un legante; da circa 1% in peso a circa 30% in peso di un diluente; da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso di agente di scorrevolezza; e da circa 2% in peso a circa 0,1% in peso di un lubrificante.

Un'altra composizione farmaceutica esemplificativa comprende da circa 15% in peso a circa 70% in peso (ad es., da circa 15% in peso a circa 60% in peso, da circa 15% in peso a circa 50% in peso, o da circa 15% in peso a circa 40% in peso o da circa 20% in peso a circa 70% in peso, o da circa 30% in peso a circa 70% in peso, o da circa 40% in peso a circa 70% in peso, o da circa 50% in peso a circa 70% in peso) di Composto 1 e uno o più eccipienti, ad esempio, da circa 20% in peso a circa 50% in peso di un riempitivo; da circa 1% in peso a circa 5% in peso di un disintegrante; da circa 2% in peso a circa 0,3% in peso di un tensioattivo; da circa 0,1% in peso a circa 5% in peso di un legante; da circa 1% in peso a circa 30% in peso di un diluente; da circa 2% in peso a circa 0,05% in peso di un agente di scorrevolezza; e da circa 2% in peso a circa 0,1% in peso di un lubrificante.

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

a. circa 30% in peso di Composto 1 in peso della composizione;

- b. circa 42% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione;
- c. circa 21% in peso di mannitolo in peso della composizione;
- d. circa 3% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione;
- e. circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione;
- f. circa 2% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione; e
- g. circa 0,5% in peso di silice colloidale in peso della composizione.

Un'altra composizione granulata formulata in una formulazione orale dell'invenzione comprende:

- a. circa 50% in peso di Composto 1;
- b. circa 30% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione;
- c. circa 13% in peso di mannitolo in peso della composizione;
- d. circa 2% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione;
- e. circa 4% in peso di polivinilpirrolidone in peso della composizione; e
- f. circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione.

In una forma di realizzazione, una formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

- a. circa 30% in peso di un Composto 1 in peso della composizione;
- b. circa 42% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione;
- c. circa 21% in peso di mannitolo in peso della composizione;
- d. circa 3% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione;
- e. circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione;
- f. circa 2,5% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione; e
- g. circa 0,5% in peso di silice colloidale in peso della composizione.

Un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

- a. circa 50% in peso di un Composto 1 in peso della composizione;
- b. circa 30% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione;
- c. circa 13% in peso di mannitolo in peso della composizione;

- d. circa 4% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione;
- e. circa 4% in peso di polivinilpirrolidone in peso della composizione
- f. circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione; e
- g. circa 0,5% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione.

Un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

- a. circa 60% in peso di un Composto 1 in peso della composizione;
- b. circa 20% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione;
- c. circa 13% in peso di mannitolo in peso della composizione;
- d. circa 4% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione;
- e. circa 4% in peso di polivinilpirrolidone in peso della composizione
- f. circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione; e
- g. circa 0,5% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione.

Un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

- a. da circa 150 a 250 mg di Composto 1;
- b. da circa 40 a 50 mg di mannitolo;
- c. da circa 120 a 130 mg di cellulosa microcristallina;
- d. da circa 10 a 20 mg di croscarmellosa sodica;
- e. da circa 10 a 20 mg di polivinilpirrolidone;
- f. da circa 1 a 5 mg di sodio lauril solfato; e
- g. da circa 1 a 5 mg di stearato di magnesio.

Un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

- a. circa 200 mg di Composto 1;
- b. circa 43 mg di mannitolo;
- c. circa 123 mg di cellulosa microcristallina;
- d. circa 15 mg di croscarmellosa sodica;

e. circa 13 mg di polivinilpirrolidone;

f. circa 3 mg di sodio lauril solfato; e

g. circa 4 mg di stearato di magnesio.

Un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

a. circa 200 mg di Composto 1;

b. circa 45 mg di mannitolo;

c. circa 123 mg di cellulosa microcristallina;

d. circa 15 mg di croscarmellosa sodica;

e. circa 10,4 mg di polivinilpirrolidone;

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

g. circa 4 mg di stearato di magnesio.

Un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione comprende:

a. circa 70% in peso di un Composto 1 in peso della composizione;

b. circa 12% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione;

c. circa 11% in peso di mannitolo in peso della composizione;

d. circa 4% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione;

e. circa 4% in peso di polivinilpirrolidone in peso della composizione

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

g. circa 0,5% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere lavorate in forma di compressa, in forma di capsula, in forma di sacchetto, in forma di pastiglia o altra forma solida che è adatta per la somministrazione orale. Pertanto, in alcune forme di realizzazione, le composizioni farmaceutiche sono in forma di compressa.

In ancora un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione, una composizione farmaceutica sagomata in compressa avente una durezza iniziale di $5-21 \text{ kP} \pm 20$ percento comprende: circa 30% in peso di Composto 1; circa 42% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione; circa 21% in peso di mannitolo in

peso della composizione; circa 3% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione; circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione; circa 2,5% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione; e circa 0,5% in peso di silice colloidale in peso della composizione. In cui la quantità di Composto 1 nella compressa farmaceutica sagomata varia da circa 25 mg a circa 250 mg, ad esempio, 50 mg, o 75 mg, o 100 mg, o 150 mg, 200 mg, o 250 mg di Composto 1 per compressa.

In ancora un'altra formulazione farmaceutica orale dell'invenzione, una composizione farmaceutica in compressa sagomata avente una durezza iniziale di 5-21 kP \pm 20 percento comprende: circa 49% in peso di un Composto 1; circa 29% in peso di cellulosa microcristallina in peso della composizione; circa 12,6% in peso di mannitolo in peso della composizione; circa 4% in peso di sodio croscarmellosa sodica in peso della composizione; circa 4% in peso di polivinilpirrolidone in peso della composizione; circa 1% in peso di sodio lauril solfato in peso della composizione; e circa 0,5% in peso di stearato di magnesio in peso della composizione. La quantità di Composto 1 nella compressa farmaceutica sagomata varia da circa 25 mg a circa 250 mg, ad esempio, 50 mg, o 75 mg, o 100 mg, o 150 mg, 200 mg, o 250 mg di Composto 1 per compressa.

In certe forme di realizzazione, la compressa farmaceutica sagomata contiene circa 100 mg di Composto 1. In certe forme di realizzazione, la compressa farmaceutica sagomata contiene 200 mg di Composto 1.

Un altro aspetto dell'invenzione fornisce una formulazione farmaceutica consistente in una compressa o capsula che include un Composto 1 e altri eccipienti (ad es., un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un agente di scorrevolezza, un colorante, un lubrificante, o qualsiasi loro combinazione), ognuno dei quali è descritto sopra e negli esempi di seguito, in cui la compressa ha una dissoluzione di almeno circa 50% (ad es., 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 in una quantità che varia da 25 mg a 250 mg, ad esempio, 25 mg, o 50 mg, o 75 mg, o 100 mg, o 150 mg, 200 mg, o 250 mg e uno o più eccipienti (ad es., un riempitivo, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un agente di scorrevolezza, un colorante, un lubrificante, o qualsiasi loro combinazione), ognuno dei quali è descritto sopra e negli esempi di seguito, in cui la compressa ha una dissoluzione da circa 50% a circa 100% (ad es., da circa 55%

a circa 95% o da circa 60% a circa 90%) in circa 30 minuti. In un altro esempio, la composizione farmaceutica consiste in una compressa che comprende una composizione comprendente il Composto 1; e uno o più eccipienti tra: un riempitivo, un diluente, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un agente di scorrevolezza e un lubrificante, in cui la compressa ha una dissoluzione di almeno circa 50% (ad es., almeno circa 60%, almeno circa 70%, almeno circa 80%, almeno circa 90%, o almeno circa 99%) in circa 30 minuti.

In una forma di realizzazione, la compressa comprende una composizione comprendente almeno circa 25 mg (ad es., almeno circa 30 mg, almeno circa 40 mg, o almeno circa 50 mg) di Composto 1; e uno o più eccipienti tra: un riempitivo, un diluente, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un agente di scorrevolezza e un lubrificante. In un'altra forma di realizzazione, la compressa comprende una composizione comprendente almeno circa 25 mg (ad es., almeno circa 30 mg, almeno circa 40 mg, almeno circa 50 mg, almeno circa 100 mg, o almeno 150 mg) di Composto 1 e uno o più eccipienti tra: un riempitivo, un diluente, un disintegrante, un tensioattivo, un legante, un agente di scorrevolezza e un lubrificante.

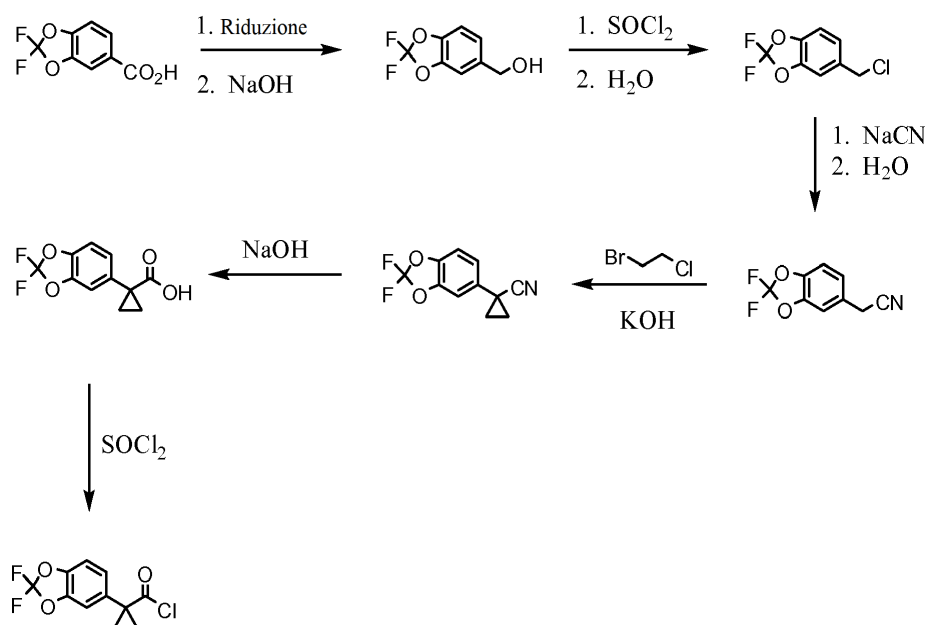
La dissoluzione può essere misurata con un apparato di Tipo II USP standard che impiega un mezzo di dissoluzione di CTAB allo 0,1% dissolto in 900 mL di acqua DI, tamponato a pH 6.8 with con fosfato di potassio monobasico 50 mM, agitando a circa 50-75 giri al minuto a una temperatura di circa 37°C. Una singola compressa sperimentale è testata in ogni recipiente di test dell'apparato. La dissoluzione può anche essere misurata con un apparato di Tipo II USP standard che impiega un mezzo di dissoluzione di sodio lauril solfato a 0,7% 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 è testata in ogni recipiente di test dell'apparato. La dissoluzione può anche essere misurata con un apparato di Tipo II USP standard che impiega un mezzo di dissoluzione di sodio lauril solfato allo 0,5% dissolto 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 è testata in ogni recipiente di test dell'apparato.

METODI PER PRODURRE COMPOSTO 1, FORMA I DEL COMPOSTO 1, FORMA II DEL COMPOSTO 1, FORMA A DEL SALE HCL DEL COMPOSTO 1

Composto 1

Il Composto 1 è usato come punto di partenza per le altre forme allo stato solido e può essere preparato accoppiando una parte caratteristica cloruro acido con una parte caratteristica ammina secondo gli Schemi 1-4.

Schema 1. Sintesi della parte caratteristica cloruro acido.

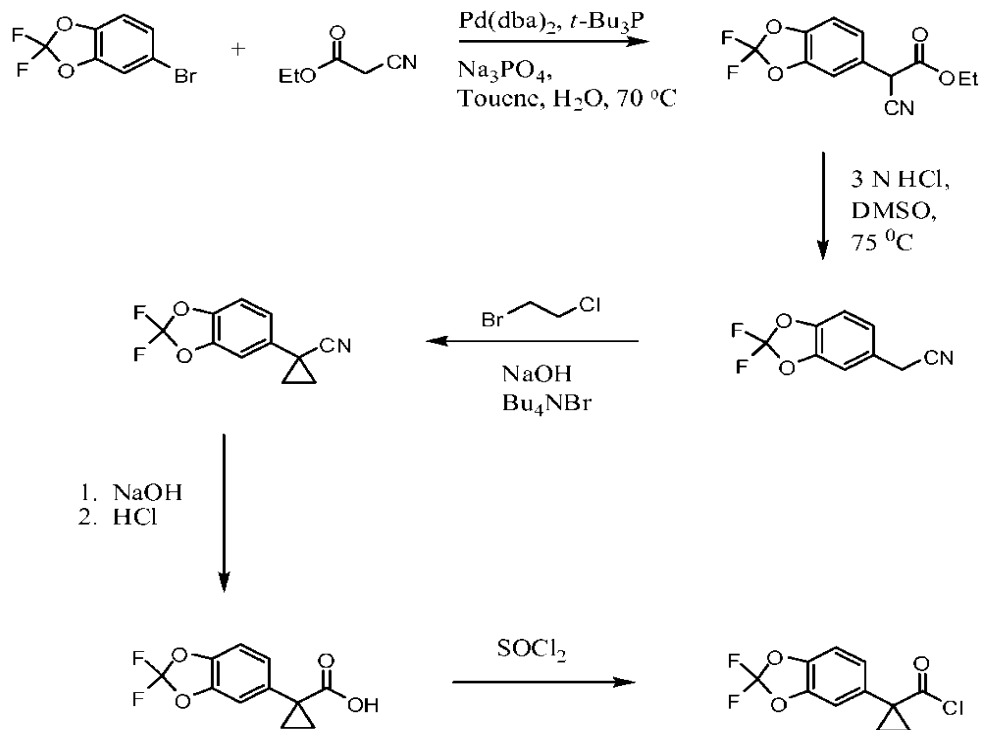


Lo Schema 1 presenta la preparazione di 1-(2,2-difluorobenzodioxol-5-yl)ciclopropanecarbonyl cloruro, che è usato nello Schema 3 per produrre il legame ammidico del Composto 1.

Il materiale di partenza, acido 2,2-difluorobenzodioxol-5-carbossilico, è disponibile in commercio dalla Saltigo (un'affiliata della Lanxess Corporation). La riduzione della parte caratteristica acido carbossilico in acido 2,2-difluorobenzodioxol-5-carbossilico nell'alcol primario, seguita dalla conversione nel corrispondente cloruro usando tionil cloruro (SOCl₂), fornisce 5-(clorometil)-2,2-difluorobenzodioxolo, che è successivamente convertito in 2-(2,2-difluorobenzodioxol-5-yl)acetonitrile usando cianuro di sodio. Il trattamento di 2-(2,2-difluorobenzodioxol-5-yl)acetonitrile con una base e 1-bromo-2-cloroetano fornisce 1-(2,2-difluorobenzodioxol-5-yl)ciclopropanecarbonitrile. La parte caratteristica nitrile in 1-(2,2-difluorobenzodioxol-5-yl)ciclopropanecarbonitrile è convertita in un acido carbossilico usando una base per fornire acido 1-(2,2-difluorobenzodioxol-5-yl)ciclopropanecarbossilico, che è convertito nel cloruro

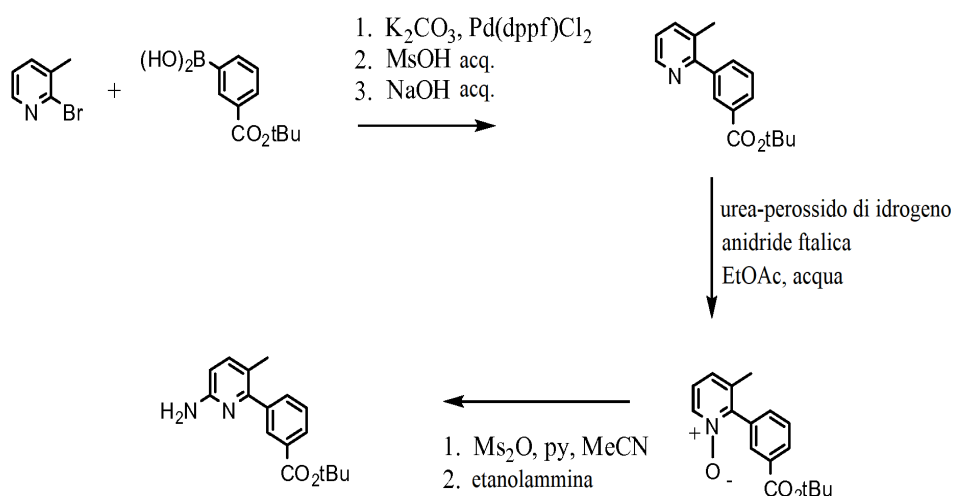
acido desiderato usando tionil cloruro.

Schema 2. Sintesi alternativa della parte caratteristica cloruro acido.



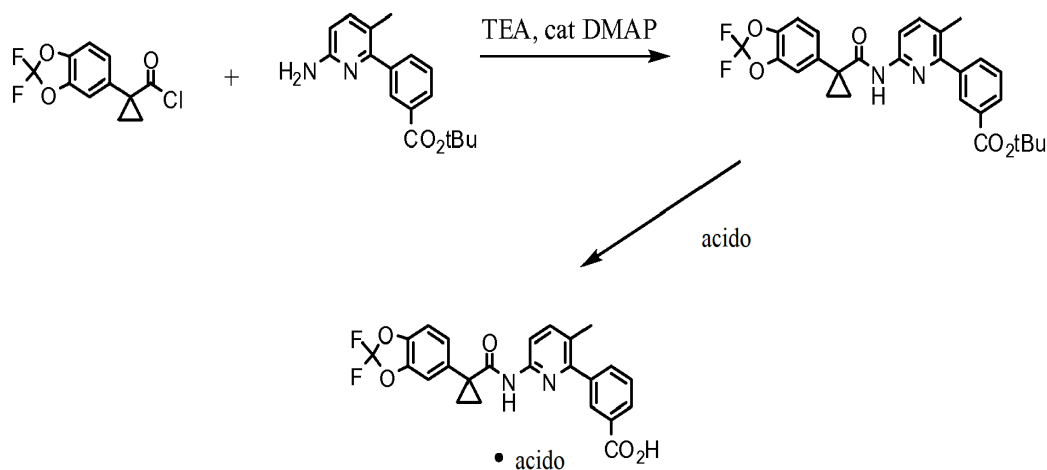
Lo Schema 2 rappresenta una sintesi alternativa del cloruro acido richiesto. 5-bromometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo è accoppiato con etil cianoacetato in presenza di un catalizzatore di palladio per formare il corrispondente alfa ciano etil estere. La saponificazione della parte caratteristica estere all'acido carbossilico fornisce il composto cianoetile. L'alchilazione del composto cianoetile con 1-bromo-2-cloro etano in presenza di una base fornisce il composto cianociclopropile. Il trattamento del composto cianociclopropile con una base fornisce il sale carbossilato, che è convertito nell'acido carbossilico mediante trattamento con acido. La conversione dell'acido carbossilico nel cloruro acido è quindi realizzata usando un agente di clorurazione come tionil cloruro o simili.

Schema 3. Sintesi della parte caratteristica ammina



Lo Schema 3 rappresenta la preparazione del *tert*-butil 3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato necessario, che è accoppiato con 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbonyl cloruro nello Schema 3 per fornire il Composto 1. L'accoppiamento catalizzato da palladio di 2-bromo-3-metilpiridina con acido 3-(*tert*-butossicarbonil)fenilboronico fornisce *tert*-butil 3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato, che è successivamente convertito nel composto desiderato.

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



Lo Schema 4 rappresenta l'accoppiamento di 1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbonyl cloruro con *tert*-butil 3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato usando trietil ammina e 4-

dimetilamminopiridina per fornire inizialmente il terz-butil estere del Composto 1.

Forma I del Composto 1

La Forma I del Composto 1 è preparata disperdendo o dissolvendo una forma salina, come sale HCl, del Composto 1 in un solvente appropriato per una quantità di tempo efficace. Il trattamento del terz-butil estere con un acido come HCl, fornisce il sale HCl del Composto 1, che tipicamente è un solido cristallino. La Forma I del Composto 1 può anche essere preparata direttamente dal precursore t-butil estere 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 formare la Forma I disperdendo o dissolvendo il sale 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 una quantità 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, ad esempio, sali derivati da altri acidi minerali o organici. Gli altri sali derivano dall'idrolisi mediata da acido della parte caratteristica t-butil estere. I sali derivati da altri acidi possono includere, ad esempio, 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 impedisce la formazione della Forma I. Ad esempio, in una forma di realizzazione, il solvente appropriato può essere acqua o una miscela alcol/acqua come una miscela metanolo al 50%/acqua, anche se la forma sale HCl di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico è soltanto debolmente solubile in acqua. In una forma di realizzazione, il solvente appropriato è acqua.

La quantità di tempo efficace per la formazione della 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 più. È riconosciuto che la quantità di tempo necessaria è inversamente proporzionale alla temperatura. Vale a dire, superiore è la temperatura meno tempo sarà necessario per effettuare la dissociazione

dell'acido per formare la Forma I. Quando il solvente è acqua, l'agitazione della dispersione per circa 24 ore a temperatura ambiente fornisce la Forma I in una resa di circa il 98%. Se una soluzione del sale di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico è desiderata a scopo di processo, può essere usata una temperatura elevata. Dopo agitazione della soluzione per una quantità di tempo efficace a temperatura elevata, la ricristallizzazione dopo raffreddamento fornisce la Forma I sostanzialmente pura. In una forma di realizzazione, sostanzialmente pura si riferisce a una purezza superiore a circa 90%. In un'altra forma di realizzazione, sostanzialmente pura si riferisce a una purezza superiore a circa 95%. In un'altra forma di realizzazione, sostanzialmente pura si riferisce a una purezza superiore a circa 98%. In un'altra forma di realizzazione, sostanzialmente pura si riferisce a una purezza superiore a circa 99%. La temperatura selezionata dipende in parte dal solvente usato e rientra all'interno delle capacità di determinazione di un comune esperto nella tecnica. In una forma di realizzazione, la temperatura è tra la temperatura ambiente e circa 80°C. In un'altra forma di realizzazione, la temperatura è tra la temperatura ambiente e circa 40°C. In un'altra forma di realizzazione, la temperatura è tra circa 40°C e circa 60°C. In un'altra forma di realizzazione, la temperatura è tra circa 60°C e 80°C.

La Forma I del Composto 1 può anche essere formata direttamente da 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)t-benzoato (cf. Schema 3), che è un precursore del sale del Composto 1. Pertanto, 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)t-benzoato è lasciato reagire con un acido appropriato come, ad esempio, acido formico in condizione di reazioni appropriate per fornire la Forma I del Composto 1.

La Forma I del Composto 1 può essere ulteriormente purificata mediante ricristallizzazione da un solvente organico. Esempi di solventi organici includono, tuttavia senza limitazioni, toluene, cumene, anisolo, 1-butanolo, isopropil acetato, butil acetato, isobutil acetato, metil *t*-butil etere, metil isobutil chetone e miscele 1-propanolo-acqua. La temperatura può essere come descritto sopra. Ad esempio, la Forma I è dissolta in 1-butanolo a 75°C fino a quando è completamente dissolta. Il raffreddamento della soluzione a 10°C a una velocità di 0,2°C/min fornisce cristalli di Forma I che possono essere isolati mediante filtrazione.

In una forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi da 15,2 a 15,6 gradi, da 16,1 a 16,5 gradi, e da 14,3 a 14,7 gradi in una diffrazione delle polveri ai raggi X usando radiazione Cu K alfa. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi a 15,4, 16,3, e 14,5 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 14,6 a 15,0 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 14,8 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 17,6 a 18,0 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 17,8 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 16,4 a 16,8 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 16,4 a 16,8 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 16,6 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 7,6 a 8,0 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 7,8 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 25,8 a 26,2 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 26,0 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 21,4 a 21,8 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 21,6 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 23,1 a 23,5 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 23,3 gradi. In alcune forme di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è caratterizzata da un pattern di diffrazione sostanzialmente simile a quella di Figura 1. In alcune forme di realizzazione, la Forma I del Composto 1 è caratterizzata da un pattern di diffrazione sostanzialmente simile a quello di Figura 2.

In alcune forme di realizzazione, la distribuzione granulometrica di D90 è circa 82 μm o meno per la Forma I del Composto 1. In alcune forme di realizzazione, la distribuzione granulometrica di D50 è circa 30 μm o meno

della Forma I del Composto 1.

Forma II del Composto 1

La Forma II del Composto 1 è preparata sospendendo la Forma I del Composto 1 in un solvente appropriato a una concentrazione sufficiente per un tempo sufficiente. La sospensione è quindi filtrata in modo centrifugo o sotto vuoto ed essiccata a condizioni ambiente per un tempo sufficiente per fornire la Forma II del Composto 1.

In alcune forme di realizzazione, da circa 20 a 40 mg di Forma I del Composto 1 sono sospesi in da circa 400 a 600 μL di un solvente appropriato. In un'altra forma di realizzazione, da circa 25 a 35 mg di Forma I del Composto 1 sono sospesi in da circa 450 a 550 μL di un solvente appropriato. In un'altra forma di realizzazione, circa 30 mg di Forma I del Composto 1 sono sospesi in circa 500 μL di un solvente appropriato.

In alcune forme di realizzazione, il tempo per cui la Forma I del Composto 1 è lasciata sospendere con il solvente è da 1 ora a 4 giorni. Più in particolare, il tempo in cui la Forma I del Composto 1 è lasciata sospendere con il solvente è da 1 a 3 giorni. Più in particolare, il tempo è 2 giorni.

In alcune forme di realizzazione, il solvente appropriato è selezionato da un solvente organico di dimensioni sufficienti da adattarsi ai vuoti nella struttura cristallina della Forma II del Composto 1. In altre forme di realizzazione, il solvato è di dimensioni sufficienti a adattarsi nei vuoti che misurano circa 100 \AA^3 .

In altre forme di realizzazione, il solvente è selezionato dal gruppo consistente in metanolo, etanolo, acetone, 2-propanolo, acetonitrile, tetraidrofurano, metil acetato, 2-butanone, etil formiato e 2-metil tetraidrofurano.

In altre forme di realizzazione, una miscela di due o più di questi solventi può essere usata per ottenere la Forma II del Composto 1. In alternativa, la Forma II del Composto 1 può essere ottenuta da una miscela comprendente uno o più di questi solventi e acqua.

In alcune forme di realizzazione, la quantità di tempo efficace per l'essiccazione della Forma II del Composto 1 è da 1 a 24 ore. Più in particolare, il tempo è da 6 a 18 ore. Più in particolare, il tempo è circa 12 ore.

In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è preparata disperdendo o dissolvendo una forma salina del Composto 1, come un sale HCl del Composto 1 del solvente appropriato per una quantità di tempo efficace.

La Forma II del Composto 1 come descritta nella presente comprende una struttura cristallina del Composto 1 in cui gli spazi vuoti nella struttura cristallina sono vuoti, o occupati, o parzialmente occupati da una o più molecole di un solvente adatto. Solventi adatti includono, tuttavia senza limitazioni, metanolo, etanolo, acetone, 2-propanolo, acetonitrile, tetraidrofurano, metil acetato, 2-butanone, etil formiato, e 2-metil tetraidrofurano. Determinate caratteristiche fisiche delle forme solvato isostrutturali del Composto 1, come la diffrazione ai raggi X delle polveri, punti di fusione e DSC, non sono sostanzialmente influenzate dalla particolare molecola solvente in questione.

In una forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi da 21,50 a 21,90 gradi, da 8,0 a 9,20 gradi, e da 10,80 a 11,20 gradi in una diffrazione ai raggi X delle polveri ottenuta usando radiazione Cu K alfa. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi da 21,50 a 21,90 gradi, da 8,80 a 9,20 gradi, da 10,80 a 11,20 gradi, da 18,00 a 18,40 gradi, e da 22,90 a 23,30 gradi in una diffrazione ai raggi X delle polveri ottenuta usando radiazione Cu K alfa. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi a 21,70, 8,98, e 11,04 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi a 21,70, 8,98, 11,04, 18,16, e 23,06 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da un picco da 21,50 a 21,90 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 21,70 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 8,80 a 9,20 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 8,98 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 10,80 a 11,20 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 11,04. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 18,00 a 18,40 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 18,16 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 22,90 a 23,30 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente

caratterizzata da un picco a 23,06 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 20,40 a 20,80 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 20,63 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 22,00 a 22,40 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 22,22 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 18,40 a 18,80 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 18,57 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 16,50 a 16,90 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 16,66 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 19,70 a 20,10 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 19,86 gradi.

In alcune forme di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da un pattern di diffrazione sostanzialmente simile a quello della Figura 3. In alcune forme di realizzazione, la Forma II del Composto 1 è caratterizzata da pattern di diffrazione sostanzialmente simile a quelli forniti nella Figura 4.

In un'altra forma di realizzazione, il solvato che forma la Forma II del Composto 1 è selezionato dal gruppo consistente in metanolo, etanolo, acetone, 2-propanolo, acetonitrile, tetraidrofurano, metil acetato, 2-butanone, etil formiato, e 2-metil tetraidrofurano. I pattern di diffrazione sono forniti per la seguente Forma II del Composto 1: metanolo (Figura 5), etanolo (Figura 6), acetone (Figura 7), 2-propanolo (Figura 8), acetonitrile (Figura 9), tetraidrofurano (Figura 10), metil acetato (Figura 11), 2-butanone (Figura 12), etil formiato (Figura 13), e 2-metitetraidrofurano (Figura 14).

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione fornisce la Forma II del Composto 1 che mostra due o più transizioni di fase come determinato mediante DSC o metodo analitico simile noto al tecnico esperto. In alcune forme di realizzazione, la DSC di Forma II del Composto 1 è sostanzialmente simile alla traccia DSC rappresentata in Figura 15. In un'altra forma di realizzazione del presente aspetto, la DSC fornisce due

transizioni di fase. In un'altra forma di realizzazione, la DSC fornisce tre transizioni di fase. In un'altra forma di realizzazione, una delle transizioni di fase si verifica tra 200 e 207°C. In un'altra forma di realizzazione, una delle transizioni di fase si verifica tra 204 e 206°C. In un'altra forma di realizzazione, una delle transizioni di fase si verifica tra 183 e 190°C. In un'altra forma di realizzazione, una delle transizioni di fase si verifica tra 185 e 187°C. In una forma di realizzazione, il punto di fusione del Composto 1, Forma di solvato A è tra 183°C e 190°C. In un'altra forma di realizzazione, il punto di fusione del Composto 1, Forma di solvato A è tra 185°C e 187°C.

In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 comprende da 1 a 10 percento in peso (% in peso) di solvato come determinato mediante TGA. In alcune forme di realizzazione, la TGA di Forma II del Composto 1 è sostanzialmente simile alla traccia TGA rappresentata in Figura 16. In un'altra forma di realizzazione, la Forma II del Composto 1 comprende da 2 a 5% in peso di solvato come determinato mediante TGA o metodo analitico e simile noto al tecnico esperto.

In un'altra forma di realizzazione, la conformazione del solvato in acetone della Forma II del Composto 1 è sostanzialmente simile a quella rappresentata nella Figura 17, che si basa su singola analisi a raggi X.

In un'altra forma di realizzazione, il solvato in acetone della Forma II del Composto 1, ha un gruppo spaziale $P2_1/n$, e le dimensioni di cella unitaria seguenti:

| | |
|--------------------------------|-----------------------------|
| $a = 16,5235 (10) \text{ \AA}$ | $\alpha = 90^\circ$ |
| $b = 12,7425 (8) \text{ \AA}$ | $\beta = 103,736 (4)^\circ$ |
| $c = 20,5512 (13) \text{ \AA}$ | $\gamma = 90^\circ$ |

Forma A del sale HCl del Composto 1

La Forma A del sale HCl del Composto 1 può essere preparata dal sale HCl del Composto 1 dissolvendo il sale HCl del Composto 1 in una quantità minima di solvente rimuovendo il solvente mediante evaporazione lenta. In un'altra forma di realizzazione, il solvente è un alcol. In un'altra forma di realizzazione, il solvente è etanolo. L'evaporazione lenta è generalmente eseguita impedendo l'evaporazione del solvente. Ad esempio, in una forma di realizzazione, l'evaporazione lenta implica la dissoluzione del sale HCl del Composto 1 in una fiala e la

copertura della fiala con parafilm che contiene un foro creato con le dita.

In forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi da 8,80 a 9,20 gradi, da 17,30 a 17,70 gradi, e da 18,20 a 18,60 gradi in una diffrazione ai raggi X delle polveri ottenuta usando radiazione Cu K alfa. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi da 8,80 a 9,20 gradi, da 17,30 a 17,70 gradi, da 18,20 a 18,60 gradi, da 10,10 a 10,50, e da 15,80 a 16,20 gradi in una diffrazione ai raggi X delle polveri ottenuta usando radiazione Cu K alfa. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi a 8,96, 17,51, e 18,45 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da uno o più picchi da 8,96, 17,51, 18,45, 10,33, e 16,01 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da un picco da 8,80 a 9,20 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da un picco a 8,96 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 17,30 a 17,70 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da un picco a 17,51 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 18,20 a 18,60 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 18,45 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 10,10 a 10,50 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 10,33 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 15,80 a 16,20 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 16,01 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 11,70 a 12,10 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 11,94 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 7,90 a 8,30 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la

Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 8,14 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 9,90 a 10,30 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 10,10 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 16,40 a 16,80 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 16,55 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 9,30 a 9,70 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 9,54 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco da 16,40 a 16,80 gradi. In un'altra forma di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è ulteriormente caratterizzata da un picco a 16,55 gradi. In alcune forme di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata come un dimero come rappresentato in Figura 18.

In alcune forme di realizzazione, la Forma A del sale HCl del Composto 1 è caratterizzata da un pattern di diffrazione sostanzialmente simile a quella di Figura 19.

In un'altra forma di realizzazione, l'invenzione caratterizza alla Forma A del sale HCl del Composto 1 cristallina avente un gruppo spaziale P1, e le seguenti dimensioni di cella unitaria:

| | |
|-------------------------------|-------------------------------|
| $a = 10,2702 (2) \text{ \AA}$ | $\alpha = 67,0270 (10)^\circ$ |
| $b = 10,8782 (2) \text{ \AA}$ | $\beta = 66,1810 (10)^\circ$ |
| $c = 12,4821 (3) \text{ \AA}$ | $\gamma = 72,4760 (10)^\circ$ |

METODI PER PRODURRE LE COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE

Le forme di dosaggio unitarie dell'invenzione possono essere prodotte compattando o comprimendo una miscela o composizione, ad esempio, una polvere o granuli, sotto pressione per formare una forma tridimensionale stabile (ad es., una compressa). Come usato nella presente, "compressa" include forme farmaceutiche a dosaggio unitario compresse di tutte le forme e dimensioni, rivestite o non rivestite.

L'espressione "forma di dosaggio unitario" come usata nella presente si riferisce a unità fisicamente discreta di agente appropriato per il paziente da trattare. In generale, una miscela compattata ha una densità maggiore a quella della miscela prima della compattazione. Una forma di dosaggio unitario dell'invenzione può avere quasi qualsiasi forma incluse facce concave e/o convesse, angoli arrotondati o angolati e una forma arrotondata o rettilinea. In alcune forme di realizzazione, le forme di dosaggio compresse dell'invenzione comprendono una compressa arrotondata avente facce piane. Le forme farmaceutiche di dosaggio solido dell'invenzione possono essere preparate mediante qualsiasi metodo di compattazione e compressione noto ai comuni esperti nella tecnica della formazione di forme farmaceutiche di dosaggio solido compresse. In particolari forme di realizzazione, le formulazioni fornite nella presente possono essere preparate usando metodi convenzionali noti agli esperti nel campo della formulazione farmaceutica, come descritto, ad es., nei libri di testo pertinenti. Si vedano, ad es., Remington: The Science and Practice di Pharmacy, 21^{ma} Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms And Drug Delivery Systems, 7^{ma} Edizione, Lippincott Williams & Wilkins, (1999); The Handbook di Pharmaceutical Excipients, 4^a edizione, Rowe et al., Ed., American Pharmaceuticals Association (2003); Gibson, Pharmaceutical Preformulation And Formulation, CRC Press (2001), questi riferimenti incorporati nella presente in riferimento alla loro interessezza.

Granulazione e compressione

In alcune forme di realizzazione, forme solide, incluse polveri comprendenti il principio attivo Composto 1 e gli eccipienti farmaceuticamente accettabili inclusi (ad es. riempitivo, diluente, disintegrante, tensioattivo, agente di scorrevolezza, legante, lubrificante, o qualsiasi loro combinazione) possono essere sottoposti a un procedimento di granulazione a secco. Il procedimento di granulazione a secco causa l'agglomerazione della polvere in particelle più grandi aventi una dimensione adatta per l'ulteriore lavorazione. La granulazione a secco può migliorare la fluidità di una miscela al fine di essere in grado di produrre compresse che soddisfano la richiesta di variazione di massa o uniformità di contenuto.

Le formulazioni come descritte nella presente possono essere prodotte usando uno o più passaggi di miscelazione e granulazione a secco. L'ordine e il numero dei passaggi di miscelazione e granulazione non

sembrano essere fondamentali. Tuttavia, almeno uno degli eccipienti e il Composto 1 possono essere sottoposti a granulazione a secco, granulazione a elevata forza di taglio a umido prima della compressione in compresse. La granulazione a secco del Composto 1 e degli eccipienti effettuata insieme prima della compressione in compressa sembra, sorprendentemente, essere un modo semplice, economico ed efficiente per fornire a stretto contatto fisico tra gli ingredienti delle presenti composizioni e formulazioni e, pertanto, determinare una formulazione in compressa con proprietà di buona stabilità. La granulazione a secco può essere eseguita mediante un procedimento meccanico, il quale trasferisce energia alla miscela senza alcun uso di qualsiasi sostanza liquida (né sotto forma di soluzioni acquose, soluzioni a base di soluti organici, o loro miscele) al contrario dei procedimenti di granulazione a umido, anche contemplati nella presente. Generalmente, il procedimento meccanico richiede compattazione come quella fornita mediante compattazione a rulli. Un esempio di un metodo alternativo di granulazione a secco è slugging.

In alcune forme di realizzazione, la compattazione a rulli è un procedimento di granulazione comprendente la compattazione meccanica altamente intensa di una o più sostanze. In alcune forme di realizzazione, una composizione farmaceutica comprendente una miscela di polveri è pressata, ossia compattata a rulli, tra due rulli controrotanti per formare un foglio solido che è successivamente frantumato in un setaccio per formare una materia particellare. In questa materia particellare, può essere ottenuto uno stretto contatto meccanico tra gli ingredienti. Un esempio di attrezzatura di compattazione a rulli è Minipactor® a Gerteis 3W-Polygran della Gerteis Maschinen+Processengineering AG.

In alcune forme di realizzazione, la compressione in compresse secondo l'invenzione può avvenire senza alcun uso di alcuna sostanza liquida (né sotto forma di soluzioni acquose, soluzioni a base di soluti organici, o loro miscele), ossia un procedimento di granulazione a secco. In una tipica forma di realizzazione, il nucleo risultante o compressa ha una forza di compressione nell'intervallo da 1 a 15 kP; come da 1,5 a 12,5 kP, preferibilmente nell'intervallo da 2 a 10 kP.

Breve procedura di produzione

In alcune forme di realizzazione, gli ingredienti sono pesati secondo la formula esposta nella presente.

Successivamente, tutti gli ingredienti intragranulari sono setacciati e miscelati bene. Gli ingredienti possono essere lubrificati con un lubrificante adatto, ad esempio, stearato di magnesio. Il passaggio successivo può comprendere la compattazione/slugging della miscela in polvere e degli ingredienti dimensionati. Successivamente, le miscele compattate o sottoposte a slugging sono macinate in granuli e setacciate per ottenere la dimensione desiderata. Successivamente, i granuli possono essere ulteriormente lubrificati, ad esempio, con stearato di magnesio. Successivamente, la composizione granulare dell'invenzione può essere compressa su punzoni adatti in diverse formulazioni farmaceutiche secondo l'invenzione. Opzionalmente, le compresse possono essere rivestite con un film, un colorante o altro rivestimento.

Un altro aspetto dell'invenzione fornisce un metodo per produrre una composizione farmaceutica comprendente fornire una miscela di una composizione comprendente il Composto 1 e uno o più eccipienti selezionati tra: un riempitivo, un diluente, un legante, un agente di scorrevolezza, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, e comprimere la composizione in una compressa avente una dissoluzione di almeno circa 50% in circa 30 minuti.

In un'altra forma di realizzazione, è eseguito un procedimento di granulazione a umido 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 e uno o più eccipienti selezionati tra: un riempitivo, un diluente, un legante, un agente di scorrevolezza, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, sono pesati secondo la formula esposta nella presente. Successivamente, tutti gli ingredienti intragranulari sono setacciati e miscelati in un granulatore a elevata forza di taglio o bassa forza di taglio o un granulatore a doppia coclea usando acqua o acqua con un tensioattivo o acqua con un legante o acqua con un tensioattivo e un legante per granulare la miscela in polvere. Un fluido diverso dall'acqua può anche essere usato con o senza tensioattivo e/o legante per granulare la miscela in polvere. Successivamente, i granuli umidi possono opzionalmente essere macinati usando un mulino adatto. Successivamente, l'acqua può essere opzionalmente rimossa dalla miscela essiccando gli ingredienti in qualsiasi modo adatto. Successivamente, i granuli essiccati possono opzionalmente essere macinati alla dimensione richiesta. Successivamente, eccipienti

extragranulari possono essere addizionati alla miscela (ad esempio, un riempitivo, un diluente e un disintegrante). Successivamente, i granuli dimensionati possono essere ulteriormente lubrificati con stearato di magnesio e un disintegrante, ad esempio, croscarmellosa sodica. Successivamente, la composizione granulare dell'invenzione può essere compressa su punzoni adatti in diverse formulazioni farmaceutiche secondo l'invenzione. Opzionalmente, le compresse possono essere rivestite con un film, un colorante o un altro rivestimento.

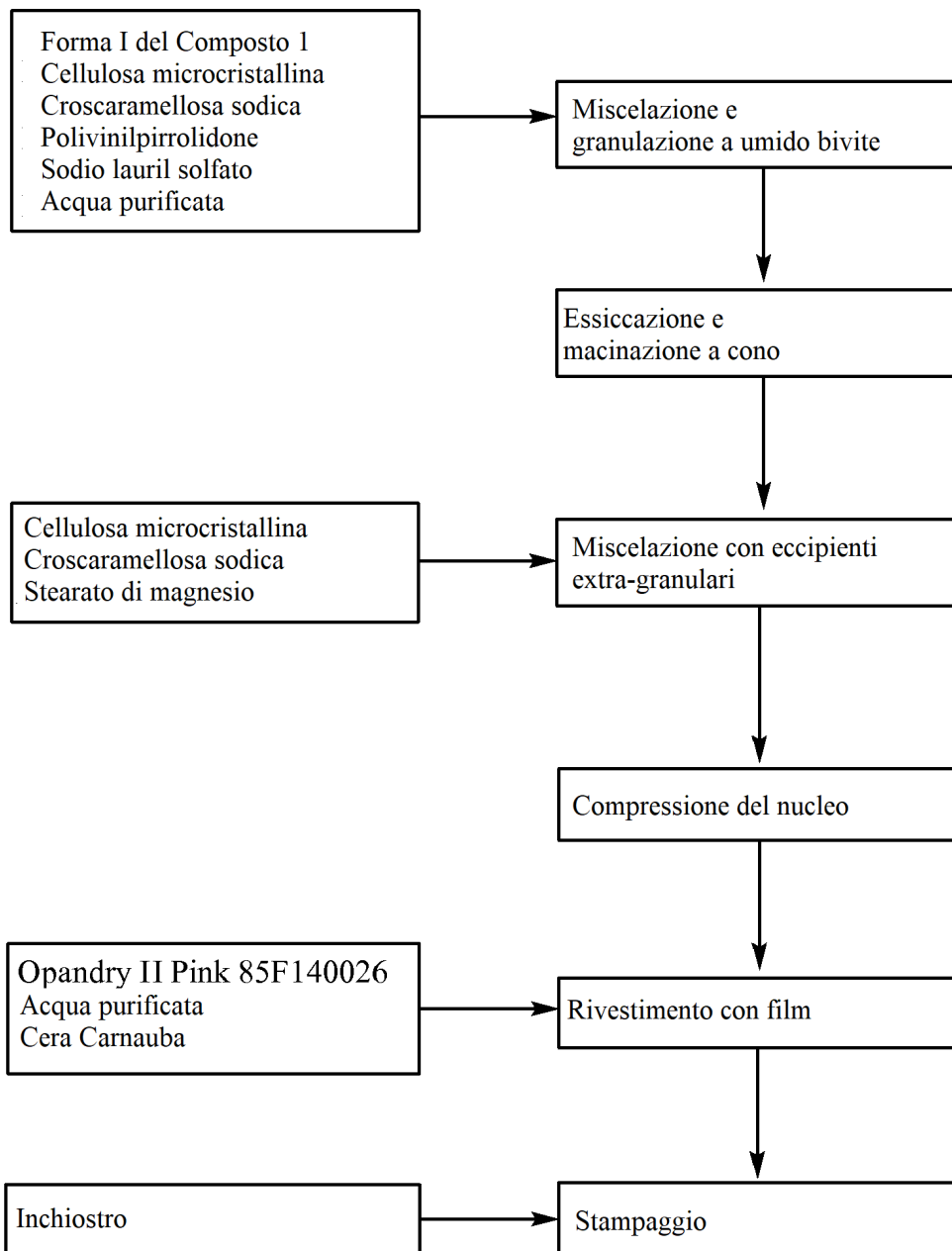
In una forma di realizzazione particolarmente preferita, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione sono preparate mediante un procedimento di granulazione a umido a doppia coclea continuo (TSWG). La produzione continua rilascia prodotto di elevata qualità ed elevata coerenza con il monitoraggio e il controllo in linea. La produzione continua facilita anche la qualità mediante lo sviluppo di progetto con uno spazio di progetto di "dati ricchi" e una più facile comprensione dell'impatto delle variabili a monte sul procedimento a valle e sulla qualità del prodotto finale. Inoltre, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione possono essere finalizzate precocemente sull'attrezzatura su scala commerciale il che impedisce i rischi di aumento e variazioni di formulazione successivamente nello sviluppo. Infine, la produzione continua presenta vantaggi di produzione commerciale come controllo di processo migliorato, manipolazione del prodotto ridotta ed efficienza di rilascio in tempo reale. Il risultato globale è un procedimento più robusto, controllabile e dimensionabile che presenta minori controlli di processo determinando qualità di prodotto aumentata e pertanto maggiore sicurezza per il paziente.

Ad esempio, la granulazione a elevata forza di taglio (HSG), una comune tecnica di granulazione è ben nota per il rischio di sovra-granulazione e scarso controllo del processo. L'aumento in scala di questo processo è molto difficile e implica rischi significativi. La variazione da un procedimento HSG a un procedimento TSWG continuo, consente l'aumento in scala usando la stessa attrezzatura per produrre dimensioni di lotto differenti, mediante esecuzione per un tempo maggiore. Ciò elimina il rischio di aumento in scala comunemente riscontrato con i procedimenti di granulazione a umido. Inoltre, è stato scoperto che il procedimento TSWG è più robusto, essendo meno sensibile alla sovra-granulazione. Come è possibile osservare nella figura 28 per una compressa di

Composto 1, il procedimento HSG mostrava un significativo rallentamento di dissoluzione con un contenuto di acqua crescente, mentre il procedimento TSWG non mostrava una variazione per un simile intervallo di aggiunta d'acqua. Sorprendentemente, non è stata scoperta alcuna variazione di prestazione con le formulazioni in compressa comprendenti il Composto 1 tra 45-55 percento in peso e le formulazioni in compressa comprendenti il Composto 1 tra 60-70 percento in peso usando il procedimento di granulazione a umido a doppia coclea. Questo non era il caso del procedimento HSG. Inoltre, questo procedimento continuo e la qualità di prodotto aumentata affronta una rimostranza comune da parte della FDA riguardante la mancanza di disponibilità di farmaco per i pazienti che ne hanno bisogno.

In una forma di realizzazione, il procedimento continuo inizia con l'alimentazione dei singoli eccipienti e del Composto 1 in un miscelatore continuo in linea attraverso un'alimentazione a perdita di peso. Da questo miscelatore, il materiale è convogliato in modo continuo e lavorato tramite granulazione a umido a doppia coclea, essiccazione, macinazione, addizione di eccipienti extra-granulari, miscelazione, compressione e rivestimento con film.

Ad esempio, in una forma di realizzazione, una compressa comprendente il Composto 1 può essere preparata in modo continuo secondo il diagramma di flusso che segue.



Ciascuno degli ingredienti di questa miscela esemplificativa 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 uno o più fragranze, come descritto sopra e negli esempi di seguito. In alcune forme di realizzazione, le concentrazioni relative (ad es., % in peso) di ciascuno di questi ingredienti (a qualsiasi additivo opzionale) nella miscela sono

anche presentate sopra negli esempi di seguito. Gli ingredienti che costituiscono la miscela possono essere forniti sequenzialmente o in qualsiasi combinazione di addizioni; e, gli ingredienti o la combinazione di ingredienti possono essere forniti in qualsiasi ordine. In una forma di realizzazione, il lubrificante è l'ultimo componente addizionato alla miscela.

In un'altra forma di realizzazione, la miscela comprende una composizione del Composto 1, e uno qualsiasi o più degli eccipienti; un legante, un agente di scorrevolezza, un tensioattivo, un diluente, un lubrificante, un disintegrante, e un riempitivo, in cui ciascuno di questi ingredienti è fornito sotto forma di polvere (ad es., fornito come particelle aventi un diametro medio, misurato mediante diffusione della 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)). Ad esempio, la miscela comprende una composizione di Composto 1, un diluente, un agente di scorrevolezza, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, e un riempitivo, in cui ciascuno di questi ingredienti è fornito sotto forma di polvere (ad es., fornito come particelle aventi un diametro medio, misurato mediante diffusione della 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 altro esempio, la miscela comprende una composizione di Composto 1, un diluente, un legante, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, e un riempitivo, in cui ciascuno di questi ingredienti è fornito sotto forma di polvere (ad es., fornito come particelle aventi un diametro medio, misurato mediante diffusione della 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 forma di realizzazione, la miscela comprende una composizione di Composto 1, e qualsiasi combinazione di: un legante, un agente di scorrevolezza, un diluente, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, e un riempitivo, in cui ciascuno di questi ingredienti è sostanzialmente privo di acqua. Ciascuno degli ingredienti comprende meno del 5% in peso (ad es., meno del 2% in peso, meno dell'1% in peso, meno dello 0,75% in peso, meno dello 0,5% in peso, o meno dello 0,25% in peso) di acqua in peso degli ingredienti. Ad esempio, la miscela comprende una composizione di Composto 1, un diluente, un agente di scorrevolezza, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante, e un riempitivo, in cui ciascuno di questi ingredienti è

sostanzialmente privo di acqua. In alcune forme di realizzazione, ciascuno degli ingredienti comprende meno del 5% in peso (ad es., meno del 2% in peso, meno dell'1% in peso, meno dello 0,75% in peso, meno dello 0,5% in peso, o meno dello 0,25% in peso) di acqua in peso degli ingredienti.

In un'altra forma di realizzazione, la compressione della miscela in una compressa è realizzata riempiendo una forma (ad es., uno stampo) con la miscela e applicando pressione alla miscela. Ciò può essere realizzato usando una pressa matrice o altro apparato simile. In alcune forme di realizzazione, la miscela di Composto 1 e degli eccipienti può essere in primo luogo lavorata in forma granulare. I granuli possono quindi essere dimensionati e compressi in compresse o formulati per l'incapsulamento secondo metodi noti nella tecnica farmaceutica. È anche evidenziato che l'applicazione di pressione alla miscela nella forma può essere ripetuto usando la stessa pressione durante ogni compressione o usando pressioni differenti durante le compressioni. In un altro esempio, la miscela di ingredienti in polvere o granuli può essere compressa usando una pressa matrice che applica pressione sufficiente per formare una compressa avente una dissoluzione di circa 50% o più a circa 30 minuti (ad es., circa 55% o più a circa 30 minuti o circa 60% o più a circa 30 minuti). Ad esempio, la miscela è compressa usando una pressa matrice per produrre una durezza di 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, la miscela è compressa per produrre una durezza di compressa tra circa 5 e 20 kP.

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

In un'altra forma di realizzazione, il metodo per produrre una composizione farmaceutica comprende fornire una miscela di una forma solida, ad es. una miscela di ingredienti in polvere e/o liquidi, la miscela comprendendo il Composto 1 e uno o più eccipienti selezionati tra: un legante, un agente di scorrevolezza, 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 una forma granulare. Quindi la composizione granulare comprendente il Composto 1 può essere compressa in compresse o formulata in capsule come descritto sopra o negli esempi di seguito. In alternativa, metodi per produrre una composizione farmaceutica comprendono fornire una miscela di Composto 1 e uno o più eccipienti, ad es. un legante, un agente di scorrevolezza, un diluente, un tensioattivo, un lubrificante, un disintegrante e un riempitivo; miscelare la miscela fino a quando la miscela è sostanzialmente omogenea e comprimere/compattare la miscela in una forma granulare usando un compattatore a rulli usando una composizione di granulazione a secco come esposto negli esempi di seguito o, in alternativa, compressa/compattata in granuli usando un procedimento di compattazione dei granuli a umido a elevata forza di taglio come esposto negli esempi di seguito. Le formulazioni farmaceutiche, ad esempio una compressa come descritto nella presente, possono essere prodotte usando i granuli preparati incorporando il Composto 1 oltre agli eccipienti selezionati descritti nella presente.

In alcune forme di realizzazione, la miscela è miscelata mediante agitazione, mescolamento, oscillazione, o simili, usando miscelazione manuale, un miscelatore, un mescolatore, qualsiasi loro combinazione, o simili. Quando gli ingredienti o le combinazioni di ingredienti sono aggiunti sequenzialmente, la miscelazione può avvenire tra addizioni successive, in modo continuo attraverso tutta l'addizione degli ingredienti, dopo l'addizione di tutti gli ingredienti o combinazioni di ingredienti o qualsiasi loro combinazione. La miscela è miscelata fino a quando ha una composizione sostanzialmente omogenea.

In un'altra forma di realizzazione, la presente invenzione comprende la macinazione a getto del Composto 1, Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, Forma A del sale HCl del Composto 1, in un dispositivo di macinazione convenzionale adatto usando pressione ad aria adatta a produrre particelle aventi una frazione granulometrica significativa tra 0,1 micro e 50 micron. In un'altra forma di realizzazione, la granulometria è tra 0,1 micron e 20 micron. In un'altra forma di realizzazione, la granulometria è tra 0,1 micron e 10 micron. In un'altra forma di realizzazione, la granulometria è tra 1,0 micron e 5 micron. In ancora un'altra forma di realizzazione, il Composto 1, Forma I del Composto 1, la Forma II del Composto 1, la Forma A del sale HCl del Composto 1 ha una granulometria D50 di 2,0 micron.

In diverse forme di realizzazione, un secondo agente terapeutico può essere formulato insieme al Composto 1 per formare una forma a dose unitaria o singola, ad esempio, una compressa o una capsula.

Le forme farmaceutiche preparate come sopra possono essere sottoposte a valutazioni di dissoluzione in vitro secondo il Test 711 "Dissoluzione" della Farmacopea Statunitense 29, United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md., 2005 ("USP"), per determinare la velocità a cui la sostanza attiva è rilasciata dalle forme farmaceutiche. Il contenuto di sostanza attiva e i livelli di impurità sono convenientemente misurati mediante tecniche come cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).

In alcune forme di realizzazione, l'invenzione include l'uso di materiali di confezionamento come contenitori e chiusure in polietilene ad alta densità (HDPE), polietilene a bassa densità (LDPE) e/o polipropilene e/o vetro, fogli di carta trasparente, sacchetti in alluminio e blister o strisce costituite in alluminio o polivinil cloruro ad alta densità (PVC), opzionalmente comprendenti un dissecante, polietilene (PE), polivinilidene dicloruro (PVDC), PVC/PE/PVDC, e simili. Questi materiali di imballaggio possono essere usati per conservare le diverse composizioni e formulazioni farmaceutiche in modo sterile dopo appropriata sterilizzazione dell'imballaggio e del suo contenuto usando tecniche di sterilizzazione chimica e fisica comunemente impiegate nelle tecniche farmaceutiche.

METODI PER SOMMINISTRARE LE COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE

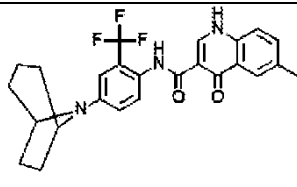
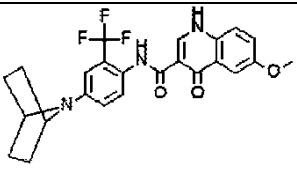
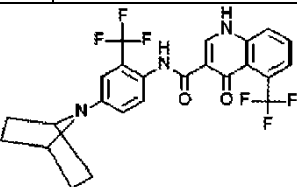
In un aspetto, le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate a un paziente una volta al giorno o circa ogni ventiquattro ore. In alternativa, le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere somministrate a un paziente due volte al giorno o circa ogni dodici ore. Queste composizioni farmaceutiche sono somministrate come formulazioni orali contenenti circa 25 mg, 50 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, o 400 mg di Composto 1. In questo aspetto, oltre al Composto 1, le composizioni farmaceutiche comprendono un riempitivo; un diluente; un disintegrante; un tensioattivo; almeno uno tra un legante e un agente di scorrevolezza; e un lubrificante. Ad esempio, una dose di 400 mg di Composto 1, può comprendere due compresse dell'invenzione ciascuna contenente 200 mg di Composto 1, o quattro compresse dell'invenzione ciascuna contenente 100 mg di Composto 1.

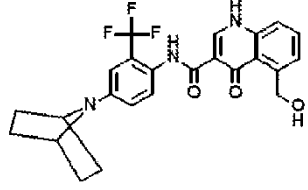
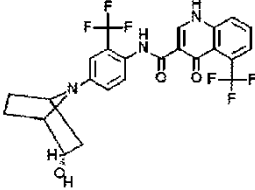
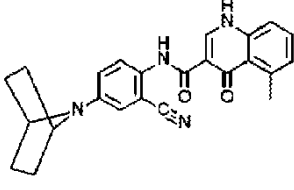
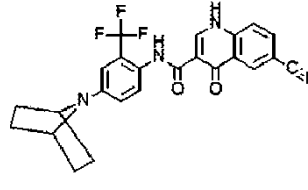
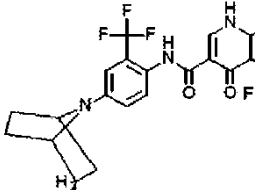
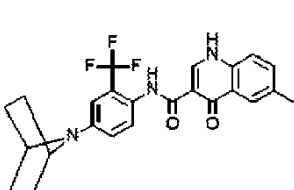
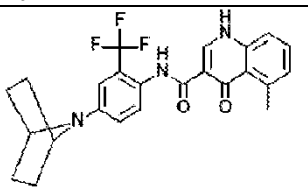
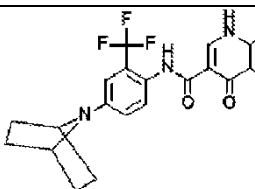
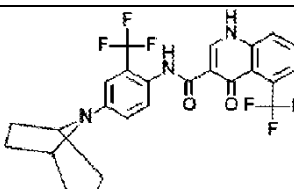
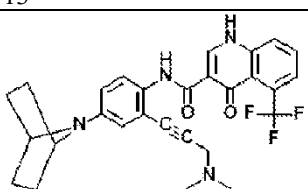
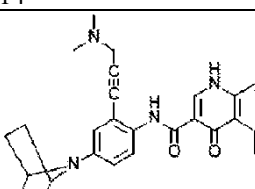
Si apprezzerà anche che il composto e le composizioni e formulazioni farmaceuticamente accettabili dell'invenzione possono essere impiegati in terapie combinate; vale a dire, il Composto 1 e le sue composizioni farmaceuticamente accettabili possono essere somministrati contemporaneamente a, prima di o successivamente a uno o più altri farmaci o procedure mediche desiderate. La particolare combinazione di terapie (farmaci o procedure) da impiegare in un regime combinato terrà in considerazione la compatibilità dei farmaci e/o delle procedure desiderati e dell'effetto terapeutico desiderato da ottenere. Si apprezzerà anche che le terapie impiegate possono ottenere un effetto desiderato per lo stesso disturbo (ad esempio, un composto dell'invenzione può essere somministrato contemporaneamente a un altro agente usato per trattare lo stesso disturbo), o possono ottenere effetti differenti (ad es., il controllo di qualsiasi effetto negativo). Come usati nella presente, agenti terapeutici aggiuntivi che sono normalmente somministrati per trattare o prevenire una particolare malattia, ad esempio, una malattia, o condizione, mediata da CFTR, sono noti come "appropriati per la malattia o condizione trattata".

In una forma di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è selezionato tra un agente mucolitico, un broncodilatatore, un antibiotico, un agente antinfettivo, un agente antinfiammatorio, un modulatore del CFTR diverso dal Composto 1 dell'invenzione o un agente nutritivo.

In una forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo 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)ciclopropancarbossammide. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è selezionato dalla tabella 1.

Tabella 1.

| | | |
|---|---|--|
| 1 | 2 | 3 |
|  |  |  |
| 4 | 5 | 6 |

| | | |
|--|--|--|
|  |  |  |
| 7 | 8 | 9 |
|  |  |  |
| 10 | 11 | 12 |
|  |  |  |
| 13 | 14 | |
|  |  | |
| | | |

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è qualsiasi combinazione degli agenti di cui sopra. Ad esempio, la composizione può comprendere il Composto 1, (R)-1-(2,2-difluorobenzod[[1,3]diossol-5-il)-N-(1-(2,3-diidrossipropil)-6-fluoro-2-(1-idrossi-2-metilpropan-2-il)-1H-indol-5-il)ciclopropancarbrossammide, e N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide. In un altro esempio, la composizione può comprendere il Composto 1, N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide, e uno qualsiasi dei composti della tabella 1, ossia i composti da 1 a 14 della tabella 1, o qualsiasi loro combinazione.

In una forma di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un antibiotico. Antibiotici esemplificativi utili nella presente includono trobamicina, inclusa polvere inalata di trobamicina (TIP), azitromicina, aztreonam, inclusa la forma aerosolizzata di aztreonam, amikacina, incluse le sue formulazioni liposomiali, ciprofloxacina, incluse le sue formulazioni adatte per la somministrazione mediante inalazione, levofloxacina, incluse sue

formulazioni aerosolizzate, e combinazioni di due antibiotici, ad es., fosfomicina e tobramicina.

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un mucolitico. Mucolitici esemplificativi utili nella presente includono Pulmozyme®.

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un broncodilatatore. Broncodilatatori esemplificativi includono albuterolo, metaprotenerolo solfato, pirbuterolo acetato, salmeterolo o tetrabulina solfato.

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è efficace nel ristabilire il surfattante polmonare. Tali agenti migliorano il movimento dei sali dentro e fuori dalle cellule, consentendo la maggiore idratazione del muco nelle vie aeree polmonari e, pertanto, l'eliminazione più facile. Esempi di tali agenti includono soluzione salina ipertonica, denufosol tetrasodico ([[(3S,5R)-5-(4-ammino-2-ossopirimidin-1-il)-3-idrossiossolan-2-il]metossi-idrossifosforil][[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-diossopirimidin-1-il)-3,4-diidrossiossolan-2-il]metossi-idrossifosforil]ossi-idrossifosforil] idrogeno fosfato), o bronchitolo (formulazione inalata di mannitolo).

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un agente antinfiammatorio, ossia, un agente che può ridurre l'infiammazione nei polmoni. Esempi di tali agenti utili nella presente includono ibuprofene, acido docosaesanoico (DHA), sildenafil, glutazione inalato, pioglitazone, idrossiclorochina, o simvastatina.

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un modulatore del CFTR diverso dal Composto 1, ossia, un agente che ha l'effetto di modulare l'attività del CFTR. Esempi di tali agenti includono ataluren ("PTC124®"; acido 3-[5-(2-fluorofenil)-1,2,4-ossadiazol-3-il]benzoico), sinapultide, lancovutide, depelestat (un inibitore dell'elastasi dei neutrofili ricombinante umano), e cobiprostone acido (7-[(2R, 4aR, 5R, 7aR)-2-[(3S)-1,1-difluoro-3-metilpentil]-2-idrossi-6-ossoottaidrociclopenta[b]piran-5-il]eptanoico).

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un agente nutritivo. Agenti nutritivi esemplificativi includono pancrelipasi (sostituto dell'enzima pancreatico), inclusi Pancrease®, Pancreacarb®, Ultrase®, o Creon®, Liprotomase® (già Trizytec®), Aquadeks®, o inalazione di glutazione. In una forma di realizzazione, l'agente nutritivo aggiuntivo è pancrelipasi.

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto selezionato fra gentamicina, curcumina, ciclofosfamide, 4-fenilbutirrato, miglustat, felodipina, nimodipina, Philoxin B, geniesteina, Apigenina,

modulatori del cAMP/cGMP con rolipram, sildenafil, milrinone, tadalafil, amrinone, isoproterenolo, albuterolo, e almeterolo, deossispergualina, inibitori di HSP 90, inibitori di HSP 70, inibitori del proteasoma come epoxomicina, lactacistina, ecc.

In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto selezionato tra (3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; (3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 5-ammino-6'-metil-3-trifluorometil-[2,3]bipiridinil-6-carbossilico; 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; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-(2,4-dicloro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; (2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-(4-fluorofenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; (S)-3-ammino-6-etossi-N-(3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metilpropil)-5-(trifluoro metil)picolinammide; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-metossi-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; (3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-6-(4-fluoro-fenil)-5-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((S)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico; ((R)-3,3,3-trifluoro-2-idrossi-2-metil-propil)-ammide dell'acido 3-ammino-5,6-bis-trifluorometil-piridin-2-carbossilico, o loro sali farmaceuticamente accettabili. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto descritto nel

brevetto statunitense in No. 8.247.436 e nella pubblicazione PCT Internazionale WO 2011113894, ciascuno incorporato nella presente nella loro interezza per riferimento.

In una forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è trimetilangelicina. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto descritto in WO 2012171954, incorporato nella presente nella sua interezza per riferimento.

In altre forme di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto descritto in WO 2004028480, WO 2004110352, WO 2005094374, WO 2005120497, o WO 2006101740. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un derivato di benzo[c]chinolizinio che mostra attività di modulazione del CFTR o un derivato di benzopirano che mostra attività di modulazione del CFTR. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto descritto nel brevetto U.S. No. 7.202.262, brevetto U.S. No. 6.992.096, US20060148864, US20060148863, US20060035943, US20050164973, WO2006110483, WO2006044456, WO2006044682, WO2006044505, WO2006044503, WO2006044502, o WO2004091502. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è un composto descritto in WO 2012171954, WO2004080972, WO2004111014, WO2005035514, WO2005049018, WO2006099256, WO2006127588, o WO2007044560. In un'altra forma di realizzazione, l'agente aggiuntivo è N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide.

In una forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati in un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 250 mg di N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide (Composto 2). In queste forme di realizzazione, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando una o più compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 600 mg di Composto 1 può essere realizzata somministrando tre compresse contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1, quattro compresse contenenti ciascuna 150 mg di Composto 1, o una compressa di 400 mg di Composto 1 e una compressa di 200 mg di Composto 1. Il Composto 2 può essere somministrato come composizione farmaceutica comprendente il Composto 2 e un veicolante farmaceuticamente accettabile. La durata di somministrazione può continuare fino a quando si ottiene il miglioramento della malattia o fino a quando lo

ritiene il medico curante dell'individuo, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, o un mese o più. Il periodo di co-somministrazione può essere preceduto da un periodo di somministrazione di soltanto il Composto 1 da solo. Ad esempio, vi potrebbe essere la somministrazione di 600 mg di Composto 1 per 2 settimane seguita dalla co-somministrazione di 250 mg di Composto 2 per 1 ulteriore settimana. In un'altra forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni seguiti da 250 mg di Composto 2 somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni. In un'altra forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati qd (una volta al giorno) per 28 giorni seguiti da 250 mg di Composto 2 somministrati qd (una volta al giorno) per 28 giorni. In un'altra forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati qd (una volta al giorno) per 28 giorni seguiti dalla co-somministrazione di 600 mg di Composto 1 qd (una volta al giorno) e 250 mg di Composto 2 q12h (una volta ogni 12 ore) per 28 giorni. In un'altra forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati qd (una volta al giorno) e 250 mg di Composto 2 somministrati qd (una volta al giorno).

In una forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati a un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 450 mg di N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide (Composto 2). In queste forme di realizzazione, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando una o più compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 600 mg di Composto 1 può essere ottenuta somministrando tre compresse contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1, o quattro compresse contenenti ciascuna 150 mg di Composto 1. Il Composto 2 può essere somministrato come composizione farmaceutica comprendente il Composto 2 e un veicolante farmaceuticamente accettabile. La durata di somministrazione può continuare fino a quando si ottiene il miglioramento della malattia o fino a quando lo ritiene il medico curante dell'individuo, ad es., la durata della somministrazione può essere inferiore a 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, o un mese o più. Il periodo di co-somministrazione può essere preceduto da un periodo di somministrazione di soltanto il Composto 1 da solo. Ad esempio, è possibile la somministrazione di 600 mg di Composto 1 per 2 settimane seguita dalla co-somministrazione di 450 mg di

Composto 2 per 1 ulteriore settimana. In un'altra forma di realizzazione, 600 mg di Composto 1 possono essere somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni seguiti da 450 mg di Composto 2 somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni.

In una forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati a un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 350 mg di N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide (Composto 2). In queste forme di realizzazione, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando una o più compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 400 mg di Composto 1 può essere ottenuta somministrando due compresse contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1, o quattro compresse contenenti ciascuna 100 mg di Composto 1. Il Composto 2 può essere somministrato come composizione farmaceutica comprendente il Composto 2 e un veicolante farmaceuticamente accettabile. La durata della somministrazione può continuare fino a quando è ottenuto il miglioramento della malattia o fino a quando lo ritiene il medico curante dell'individuo, ad es. la durata di somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, o un mese o più. Il periodo di co-somministrazione può essere preceduto da un periodo di somministrazione di soltanto il Composto 1 da solo. Ad esempio, si potrebbero somministrare 400 mg di Composto 1 per 2 settimane seguiti dalla co-somministrazione di 350 mg di Composto 2 per 1 ulteriore settimana. In un'altra forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati q8h (ogni 8 ore) per 28 giorni seguiti da 350 mg di Composto 2 somministrati q8h (ogni 8 ore) per 28 giorni.

In una forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati a un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 250 mg di N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide (Composto 2). In queste forme di realizzazione, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando una o più compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 400 mg di Composto 1 può essere ottenuta somministrando due compresse contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1, o quattro compresse contenenti ciascuna 100 mg di Composto 1. Il Composto 2 può essere somministrato come composizione farmaceutica comprendente il Composto 2 e un veicolante farmaceuticamente accettabile. La

durata di somministrazione può continuare fino a quando è ottenuto il miglioramento della malattia o fino a quando lo ritiene il medico curante dell'individuo, ad es. la durata della somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, o un mese o più. Il periodo di co-somministrazione può essere preceduto da un periodo di somministrazione di soltanto il Composto 1 da solo. Ad esempio, si potrebbero somministrare 400 mg di Composto 1 per 2 settimane seguiti dalla co-somministrazione di 150 mg o 250 mg di Composto 2 per 1 ulteriore settimana. In un'altra forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni seguiti da 250 mg di Composto 2 somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni. In un'altra forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati bid (due volte al giorno) per 28 giorni seguiti da 250 mg di Composto 2 somministrati qd (una volta al giorno) per 28 giorni. In un'altra forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati qd (una volta al giorno) per 28 giorni seguiti dalla co-somministrazione di 400 mg di Composto 1 qd (una volta al giorno) e 250 mg di Composto 2 q12h (una volta ogni 12 ore) per 28 giorni. In un'altra forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati bid (due volte al giorno) e 250 mg di Composto 2 somministrati qd (una volta al giorno).

In una forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati una volta al giorno a un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 150 mg di Composto 2 una volta al giorno. In queste forme di realizzazione, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando una o più compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 400 mg di Composto 1 può essere ottenuta somministrando due compresse contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1, o quattro compresse contenenti ciascuna 100 mg di Composto 1. Il Composto 2 può essere somministrato come composizione farmaceutica comprendente il Composto 2 e un veicolante farmaceuticamente accettabile. La durata di somministrazione può continuare fino a quando si è ottenuto il miglioramento della malattia o fino a quando ritiene il medico curante dell'individuo, ad es. la durata di somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, o un mese o più. Il periodo di co-somministrazione può essere preceduto da un periodo di somministrazione di soltanto il Composto 1 da solo. Ad esempio, si potrebbero somministrare 400 mg di

Composto 1 per 2 settimane seguiti dalla co-somministrazione di 150 mg o 250 mg di Composto 2 per 1 ulteriore settimana.

In una forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati una volta al giorno a un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 150 mg di Composto 2 ogni 12 ore. In un'altra forma di realizzazione, 400 mg di Composto 1 possono essere somministrati una volta al giorno a un individuo che ne ha necessità seguiti dalla co-somministrazione di 250 mg di Composto 2 ogni 12 ore. In queste forme di realizzazione, le quantità di dosaggio possono essere ottenute somministrando una o più compresse dell'invenzione. Ad esempio, la somministrazione di 400 mg di Composto 1 può essere ottenuta somministrando due compresse contenenti ciascuna 200 mg di Composto 1, o quattro compresse contenenti ciascuna 100 mg di Composto 1. Il Composto 2 può essere somministrato come composizione farmaceutica comprendente il Composto 2 e un veicolante farmaceuticamente accettabile. La durata di somministrazione può continuare fino a quando è ottenuto il miglioramento della malattia o fino a quando lo ritiene il medico curante dell'individuo, ad es. la durata di somministrazione può essere inferiore a una settimana, 1 settimana, 2 settimane, 3 settimane, o un mese o più. Il periodo di co-somministrazione può essere preceduto da un periodo di somministrazione di soltanto il Composto 1 da solo. Ad esempio, si potrebbero somministrare 400 mg di Composto 1 per 2 settimane seguiti dalla co-somministrazione di 150 mg o 250 mg di Composto 2 per 1 ulteriore settimana.

In un'altra forma di realizzazione, 200 mg di Composto 1 possono essere somministrati qd (una volta al giorno) per 28 giorni seguiti dalla co-somministrazione di 200 mg di Composto 1 qd (una volta al giorno) e 250 mg di Composto 2 q12h (una volta ogni 12 ore) per 28 giorni.

In una forma di realizzazione, i 100 mg, 200 mg, e 300 mg di compresse di Composto 1 possono essere combinati per formare numerose quantità di dosaggio differenti. Ad esempio, quantità di dosaggio di 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg, 800 mg, 900 mg, 1000 mg, 1100 mg, o 1200 mg di Composto 1 possono essere somministrate usando le formulazioni in compressa da 100 mg, 200 mg, e 300 mg e loro multipli. Ad esempio, una quantità di dosaggio di 900 mg di Composto 1 può essere somministrata usando 3 compresse da 300 mg di Composto 1. Una quantità di somministrazione di 600 mg di Composto 1 può essere

somministrata usando 3 compresse da 200 mg di Composto 1 o 2 compresse da 300 mg di Composto 1. Qualsiasi delle quantità di dosaggio precedenti di questo paragrafo può essere somministrata con le quantità di Composto 2 e/o i programmi di dosaggio dei 3 paragrafi precedenti.

Queste combinazioni sono utili per trattare le malattie descritte nella presente inclusa la fibrosi cistica. Queste combinazioni sono utili anche nei kit descritti nella presente.

La quantità di agente terapeutico aggiuntivo presente nelle composizioni della presente invenzione non sarà superiore alla quantità che sarebbe normalmente somministrata in una composizione comprendente tale agente terapeutico come unico principio attivo. Preferibilmente, la quantità di agente terapeutico aggiuntivo nelle composizioni descritte nella presente varierà da circa 50% a 100% della quantità normalmente presente in una composizione comprendente tale agente come unico principio terapeuticamente attivo.

In un altro aspetto, l'invenzione caratterizza un kit comprendente una compressa della presente invenzione, e un agente terapeutico separato o sua composizione farmaceutica. In un'altra forma di realizzazione, il Composto 1 nella compressa è nella Forma I. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico è un correttore della fibrosi cistica diversa dal Composto 1. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico è un potenziatore della fibrosi cistica. In un'altra forma di realizzazione, l'agente terapeutico è N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide. In un'altra forma di realizzazione, la compressa e l'agente terapeutico sono in contenitori separati. In un'altra forma di realizzazione, i contenitori separati sono bottiglie. In un'altra forma di realizzazione, i contenitori separati sono fiale. In un'altra forma di realizzazione, i contenitori separati sono confezioni in blister.

USI TERAPEUTICI DELLA COMPOSIZIONE

In un aspetto, l'invenzione fornisce anche un metodo di trattamento, riduzione della gravità di o trattamento sintomatico di una malattia in un paziente, il metodo comprendendo la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica dell'invenzione al paziente, in cui la malattia è selezionata tra fibrosi cistica, asma, BPCO indotta da fumo, bronchite cronica, rinosinusite, costipazione, pancreatite, insufficienza pancreatica, infertilità maschile causata da assenza bilaterale congenita dei dotti deferenti (CBAVD), malattia

polmonare lieve, pancreatite idiopatica, aspergilloso broncopolmonare allergica (ABPA), epatopatia, enfisema ereditario, emocromatosi ereditaria, carenze della coagulazione-fibrinolisi, come carenza della proteina C, angioedema ereditario di tipo I, carenze nella processazione dei lipidi, come ipercolesterolemia famigliare, chilomicronemia di tipo I, abetalipoproteinemia, malattie da accumulo lisosomiale, come malattia a cellule I/pseudoHurler, mucopolisaccharidosi, sindrome di Sandhof/Tay-Sachs, malattia di Crigler-Najjar di tipo II, poliendocrinopatia/iperinsulemia, diabete mellito, nanismo di Laron, carenze di mileoperossidasi, ipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosi CDG di tipo I, ipertiroidismo congenito, osteogenesi imperfetta, ipofibrinogenemia ereditaria, carenza di ACT, diabete insipido (DI), DI centrale, DI nefrogenico, sindrome di Charcot-Marie Tooth, malattia di Perlizaues-Merzbacher, malattia neurodegenerativa come il morbo di Alzheimer, morbo di Parkinson, sclerosi laterale amiotrofica, paralisi sopranucleare progressiva, malattia di Pick, disturbi neurologici della poligluttamina gravi come il morbo di Huntington, atassia spinocerebellare di tipo I, atrofia muscolare spinale e bulbare, atrofia dentatorubale-pallidoluisiana, e distrofia miotonica, nonché encefalopatia spongiforme, come morbo di Creutzfeldt-Jakob ereditario (causato da difetti della processazione delle proteine prioniche), malattia di Fabry, sindrome di Straussler-Scheinker, BPCO, sindrome dell'occhio secco, o malattia di Sjogren, osteoporosi, osteopenia, guarigione ossea e crescita ossea (incluse riparazioni ossea, rigenerazione ossea, riduzione del riassorbimento osseo e aumento della deposizione ossea), sindrome di Gorham, canalopatie del cloro come miotonia congenita (forme di Thomson e Becker), sindrome di Bartter di tipo III, malattia di Dent, iperekplasia, epilessia, malattia da accumulo lisosomiale, sindrome di Angelman e discinesia ciliare primaria (PCD), un termine per disturbi ereditari della struttura e/o della funzione delle ciglia, inclusa PCD con sito inverso (anche nota come sindrome di Kartagener), PCD senza sito inverso e aplasia ciliare.

Il Composto 1, come parte di una combinazione con ivacaftor N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide, ha ottenuto una denominazione di Breakthrough Therapy Designation dalla Food and Drug Administration (FDA) per il trattamento della fibrosi cistica, una di soltanto due di tali concessioni al momento del deposito della presente domanda (l'altro essendo per ivacaftor). Ciò dimostra una significativa

necessità non soddisfatta di 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 farmaco per i pazienti che ne hanno bisogno. Di conseguenza, esiste una significativa necessità non soddisfatta delle attuali formulazioni di Composto 1 descritte e dei processi per prepararle in modo continuo e controllato.

In un aspetto, l'invenzione fornisce anche un metodo di trattamento, miglioramento della gravità o trattamento sintomatico di una malattia in un paziente comprendente la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica dell'invenzione al paziente, in cui la malattia è selezionata tra epilessia generalizzata con convulsioni febbrili + (GEFS+), epilessia generale con convulsioni febbrili e afebrili, miotonia, paramiotonia congenita, miotonia aggravata dal potassio, paralisi periodica iperpotassemica, LQTS, LQTS/sindrome di Brugada, LQTS autosomica-dominante con sordità, LQTS autosomica recessiva, LQTS con caratteristiche dismorfiche, LQTS congenita e acquisita, sindrome di Timothy, ipoglicemia iperinsulinemica persistente infantile, cardiomiopatia dilatativa, LQTS autosomica-dominante, malattia di Dent, osteopetrosi, sindrome di Bartter di tipo III, displasia cleidocranica, ipertermia maligna, e tachicardia polimorfa catecolaminergica.

In un aspetto, la presente invenzione è diretta a un metodo di trattamento, riduzione della gravità o trattamento sintomatico della fibrosi cistica in un paziente comprendente la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica dell'invenzione al paziente, in cui il paziente possiede la mutazione genetica del CFTR *N1303K*, *A1507*, o *R560T*.

In un aspetto, la presente invenzione è diretta a un metodo di trattamento, riduzione della gravità o trattamento sintomatico della fibrosi cistica in un paziente comprendente la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica dell'invenzione al paziente, in cui il paziente possiede la mutazione genetica del CFTR *G551D*. In un'altra forma di realizzazione, il paziente è omozigote per *G551D*. In un'altra forma di realizzazione, il paziente è eterozigote per *G551D* in cui l'altra mutazione genetica del CFTR è una qualsiasi tra *F508del*, *G542X*, *N1303K*, *W1282X*, *R117H*, *R553X*, *1717-1G->A*, *621+1G->T*, *2789+5G->A*, *3849+10kbC-*

>T, R1162X, G85E, 3120+1G->A, ΔI507, 1898+1G->A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA, o 711+1G->T.

In un aspetto, la presente invenzione è diretta a un metodo di trattamento, miglioramento della gravità o trattamento sintomatico della fibrosi cistica in un paziente comprendente la somministrazione di una quantità efficace della composizione farmaceutica dell'invenzione al paziente, in cui il paziente possiede la mutazione genetica del CFTR *F508del*. In un'altra forma di realizzazione, il paziente è omozigote per *F508del*. In un'altra forma di realizzazione, il paziente è eterozigote per *F508del*, in cui l'altra mutazione genetica del CFTR è una qualsiasi tra *G551D*, *G542X*, *N1303K*, *W1282X*, *R117H*, *R553X*, *1717-1G->A*, *621+1G->T*, *2789+5G->A*, *3849+10kbC->T*, *R1162X*, *G85E*, *3120+1G->A*, *ΔI507*, *1898+1G->A*, *3659delC*, *R347P*, *R560T*, *R334W*, *A455E*, *2184delA*, o *777+7G->T*.

In certe forme di realizzazione, le composizioni farmaceuticamente accettabili della presente invenzione comprendenti il Composto 1 sono utili per trattare, diminuire la gravità o trattare sintomaticamente la fibrosi cistica in pazienti che mostrano attività residua del CFTR nella membrana apicale dell'epitelio respiratorio e non respiratorio. La presenza di attività residua del CFTR a livello della superficie epiteliale può essere facilmente rivelata usando metodi noti nella tecnica, ad es., tecniche elettrofisiologiche, biochimiche o istochimiche standard. Tali metodi identificano l'attività del CFTR usando tecniche elettrofisiologiche *in vivo* o *ex vivo*, misurazione delle concentrazioni di Cl⁻ nell'essudato o nella saliva o tecniche biochimiche o istochimiche *ex vivo* per monitorare la densità superficiale cellulare. Usando tali metodi, l'attività residua del CFTR può essere facilmente rivelata in pazienti eterozigoti o omozigoti per una varietà di mutazioni differenti, inclusi i pazienti omozigoti o eterozigoti per le mutazioni più comuni, *F508del*, nonché altre mutazioni come la mutazione *G551D*, o la mutazione *R117H*. In certe forme di realizzazione, le composizioni farmaceutiche comprendenti il Composto 1 sono utili per trattare, diminuire la gravità o trattare sintomaticamente la fibrosi cistica in pazienti che mostrano scarsa o nessuna attività residua del CFTR. In certe forme di realizzazione, le composizioni farmaceutiche comprendenti il Composto 1 sono utili per trattare, diminuire la gravità o trattare sintomaticamente la fibrosi cistica nei pazienti che mostrano scarsa o nessuna attività residua del CFTR nella

membrana apicale dell'epitelio respiratorio.

In un'altra forma di realizzazione, i composti e le composizioni della presente invenzione sono utili per trattare o diminuire la gravità della fibrosi cistica in pazienti che hanno attività residua del CFTR indotta o aumentata. Tale induzione o potenziamento residuo del CFTR può essere effettuato usando metodi farmacologici. In un'altra forma di realizzazione, i composti e le composizioni della presente invenzione sono utili per trattare o diminuire la gravità della fibrosi cistica in pazienti che hanno attività residua del CFTR indotta o potenziata usando terapia genica. Tali metodi aumentano la quantità di CFTR presente in corrispondenza della superficie cellulare, inducendo in tal modo un'attività finora assente del CFTR in un paziente o potenziando il livello esistente di attività residua del CFTR in un paziente.

In una forma di realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendenti il Composto 1, come descritta nella presente, sono utili per trattare o diminuire la gravità della fibrosi cistica in pazienti in certi genotipi esibenti attività residua del CFTR, ad es., mutazioni di Classe I (non sintetizzate), mutazioni di Classe II (mal ripiegamento), mutazioni di Classe III (regolazione o gating compromesso), mutazioni di classe IV (conduttanza alterata) o mutazioni di Classe V (sintesi ridotta).

In una forma di realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendenti il Composto 1, come descritto nella presente, sono utili per trattare, diminuire la gravità o trattare sintomaticamente la fibrosi cistica in pazienti in certi fenotipi clinici, per esempio, un fenotipo clinico da moderato a lieve che tipicamente è correlato alla quantità di attività residua del CFTR nella membrana apicale degli epitelii. Tali fenotipi includono pazienti che mostrano insufficienza pancreatica.

In una forma di realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendenti il Composto 1, come descritto nella presente, sono utili per trattare, diminuire la gravità o trattare sintomaticamente, pazienti a cui è stata diagnosticata insufficienza pancreatica, pancreatite idiopatica e assenza bilaterale congenita dei dotti deferenti o pneumopatia lieve in cui il paziente mostra attività residua del CFTR.

In una forma di realizzazione, le composizioni farmaceutiche della presente invenzione comprendenti il Composto 1, come descritto nella presente, sono utili per trattare, diminuire la gravità o trattare

sintomaticamente pazienti a cui è stata diagnosticata insufficienza pancreatica, pancreatite idiopatica e assenza bilaterale congenita dei dotti deferenti o pneumopatia lieve in cui il paziente presenta CFTR di tipo selvatico.

Oltre alla fibrosi cistica, la modulazione dell'attività del CFTR può essere vantaggiosa per altre malattie non direttamente causate da mutazioni in CFTR, come malattie secretorie e altre malattie di ripiegamento proteico mediate da CFTR. Queste includono, tuttavia senza limitazioni, pneumopatia cronico ostruttiva (BPCO), sindrome dell'occhio secco, e sindrome di Sjögren. La BPCO è caratterizzata da limitazione delle vie aeree che è progressiva e non completamente reversibile. La limitazione delle vie aeree è dovuta all'ipersecrezione di muco, enfisema e bronchiolite. Gli attivatori di CFTR mutante o di tipo selvatico offrono un potenziale trattamento dell'ipersecrezione di muco e della clearance mucociliare compromessa che è comune nella BPCO. Specificatamente, l'aumento della secrezione anionica attraverso CFTR può facilitare il trasporto di fluido nel tessuto polmonare per idratare il muco e viscosità di fluido periciliare ottimizzata. Ciò porterebbe a clearance mucociliare potenziata e a una riduzione dei sintomi associati alla BPCO. La sindrome dell'occhio secco è caratterizzata da una riduzione della produzione di lacrime acquose e da anomali profili di lipidi, proteine e mucina nel film lacrimale. Esistono molte cause dell'occhio secco, alcune delle quali includono l'età, chirurgia oculare Lasik, artrite, medicinali, ustioni chimiche/termiche, allergie e malattie, come la fibrosi cistica e la sindrome di Sjögren. L'aumento di secrezione anionica attraverso CFTR potenzierebbe il trasporto di fluidi dalle cellule endoteliali corneali e dalle ghiandole secretorie circostanti l'occhio per aumentare l'idratazione corneale. Ciò aiuterebbe ad alleviare i sintomi associati alla sindrome dell'occhio secco. La sindrome di Sjögren è una malattia autoimmune in cui il sistema immunitario attacca le ghiandole esocrine in tutto l'organismo, inclusi l'occhio, la bocca, la pelle, il tessuto respiratorio, il fegato, la vagina e l'intestino. I sintomi includono occhio, bocca, e vagina secchi, nonché pneumopatia. La malattia è associata anche ad artrite reumatoide, lupus sistemico, sclerosi sistemica e polimiosite/dermatomiosite. Il trasporto proteico difettoso è ritenuto causare la malattia, per la quale le opzioni di trattamento sono limitate. Potenziatori o induttori dell'attività del CFTR possono idratare i diversi organi affetti dalla malattia e aiutare ad alleviare i sintomi associati.

In una forma di realizzazione, l'invenzione riguarda un metodo di potenziamento o induzione dell'attività del

canale anionico *in vitro* o *in vivo*, comprendente mettere a contatto il canale con una composizione farmaceutica della presente invenzione. In un'altra forma di realizzazione, il canale anionico è un canale del cloro o un canale del bicarbonato. In un'altra forma di realizzazione, il canale anionico è un canale del cloro.

L'esatta quantità necessaria varierà da individuo a individuo, a seconda della specie, dell'età e delle condizioni generali dell'individuo, della gravità dell'infezione, del particolare agente, della sua modalità di somministrazione e simili. I composti dell'invenzione sono preferibilmente formulati in forme di dosaggio unitario per facilità di somministrazione e uniformità di dosaggio. L'espressione "forma di dosaggio unitario", come usata nella presente, si riferisce a unità fisicamente discreta di agente appropriato per i pazienti da trattare. Si comprenderà, tuttavia, che l'uso giornaliero totale dei composti e delle composizioni dell'invenzione sarà deciso dal medico curante all'interno dell'oggetto del giudizio medico sensato. Il livello di dose efficace specifico per qualsiasi particolare paziente o organismo dipenderà da una varietà di fattori incluso il disturbo trattato e la gravità del disturbo; l'attività dello specifico composto impiegato, la specifica composizione impiegata; l'età, il peso corporeo, la salute generale, il sesso e la dieta del paziente; il tempo di somministrazione, la via di somministrazione e la velocità di escrezione dello specifico composto impiegato; la durata del trattamento; i farmaci usati in combinazione o in concomitanza con lo specifico composto impiegato e fattori simili ben noti nelle tecniche mediche. Il termine "paziente", come usato nella presente, indica un animale, preferibilmente un mammifero e in modo massimamente preferibile un essere umano.

Ovunque nella presente domando quando un nome di un composto non può descrivere correttamente la struttura del composto, la struttura sostituisce il nome e prevale.

ESEMPI

XRPD (diffrazione ai raggi X delle polveri)

I dati di diffrazione ai raggi X (XRD) del Composto 1, della Forma I del Composto 1, della Forma II del Composto 1, o della Forma A del sale HCl del Composto 1 sono stati raccolti su un diffrattometro delle polveri Bruker D8 DISCOVER con rivelatore bidimensionale HI-STAR e un monocromatore di grafite piatto. Un tubo di Cu sigillato con radiazione $K\alpha$ è stato usato a 40 kV, 35mA. I campioni sono stati posti su fette in silicio a

background zero a 25°C. Per ogni campione, due intervalli di dati sono stati raccolti a 120 secondi ciascuno a 2 angoli θ_2 differenti: 8° e 26°. I dati sono stati integrati con il programma GADDS e uniti con il programma DIFFRACT^{plus}EVA. Le incertezze per le posizioni di picco riportate sono $\pm 0,2$ gradi.

Descrizione della macinazione a getto

Il Composto 1, la Forma I del Composto 1, la Forma II del Composto 1, o la Forma A del sale HCl del Composto 1 non micronizzate sono setacciate per eliminare i grumi prima di posizionarle nella tramoggia del mulino a getto. Tutti i setacci sono monouso e sono stati puliti prima dell'uso. Il Composto 1, la Forma I del Composto 1, la Forma II del Composto 1, o la Forma A del sale HCl del Composto 1 non micronizzate sono aggiunte alla tramoggia del mulino a getto a una velocità di alimentazione controllata usando gas azoto compresso. L'intervallo di pressione del gas è 40-45/45-70 (Venturi/Mill) PSI e l'intervallo di velocità di alimentazione è 0,5-1,6 Kg/ora. Il Composto 1, la Forma I del Composto 1, la Forma II del Composto 1, o la Forma A del sale HCl del Composto 1 sono micronizzate nel mulino tramite collisioni particella-particella e particella-parete e il Composto 1, la Forma I del Composto 1, la Forma II del Composto 1, o la Forma A del sale HCl del Composto 1 trattate sono svuotate nei contenitori di prodotto micronizzato. Si ritiene che un comune esperto nella tecnica possa anche ottenere il Composto 1, la Forma I del Composto 1, la Forma II del Composto 1, o la Forma A del sale HCl del Composto 1 con una granulometria favorevole tramite macinazione a perni basata in parte sulle condizioni descritte sopra.

Calorimetria differenziale a scansione (DSC)

I dati della calorimetria differenziale a scansione (DSC) del Composto 1, della Forma I del Composto 1, della Forma II del Composto 1, o della Forma A del sale HCl del Composto 1 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. I campioni di 3-6 mg sono stati pesati in recipienti in alluminio che sono stati corrugati usando coperchi con un foro da 1 puntina. I campioni sono stati scansionati da 25°C a 350°C a una velocità di riscaldamento di 1,0°C/min e con uno spurgo di gas azoto di 50 ml/min. I dati sono stati raccolti con il programma Thermal Advantage Q SeriesTM versione 2.2.0.248 e analizzati con il programma Universal

Analysis versione 4.1D (TA Instruments, New Castle, DE). I numeri riportati rappresentano singole analisi.

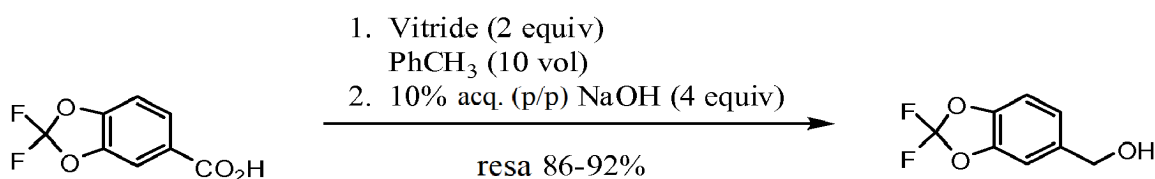
Determinazione della struttura di un singolo cristallo della Forma I del Composto 1, Forma II del Composto 1, e Forma A del sale HCl del Composto 1

I dati di diffrazione sono stati acquisiti su un diffrattometro Bruker Apex II dotato di un tubo sigillato fonte Cu K-alfa e un rivelatore Apex II CCD. La struttura è stata risolta e raffinata usando il programma SHELX (Sheldrick, G.M., Acta Cryst., (2008) A64, 112-122). In base alle assenze sistematiche e alle statistiche di intensità è stata risolta e raffinata la struttura 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 in toluene al 65% in peso) è stato acquistato dalla Aldrich Chemicals.

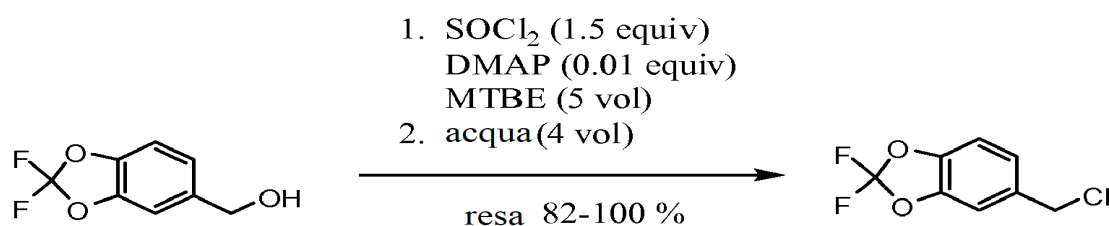
Acido 2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-carbossilico è stato acquistato dalla Saltigo (un affiliato della Lanxess Corporation).

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



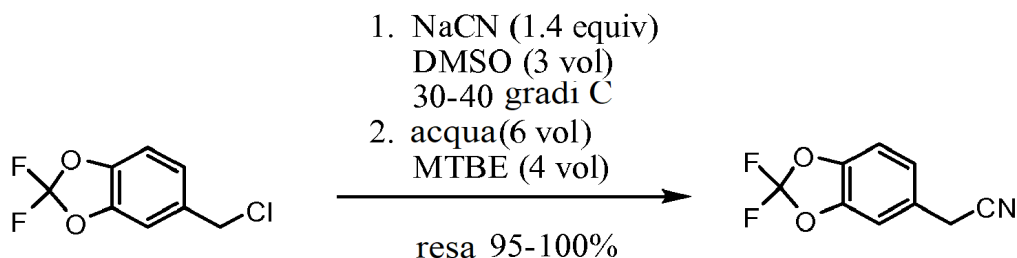
Acido 2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-carbossilico disponibile in commercio (1,0 eq) è stato sospeso in toluene (10 vol). Vitride® (2 eq) è stato addizionato tramite un imbuto di addizione a una velocità per mantenere la temperatura a 15-25°C. Al termine dell'addizione, la temperatura è stata aumentata a 40°C per 2 ore (h), quindi NaOH acquoso (acq) al 10% (p/p) (4,0 eq) è stato attentamente addizionato mediante l'imbuto di addizione, mantenendo la temperatura a 40-50°C. Dopo agitazione per ulteriori 30 minuti (min), gli strati sono stati lasciati separare a 40°C. La fase organica è stata raffreddata a 20°C, quindi lavata con acqua (2 x 1,5 vol), anidrificata (Na_2SO_4), filtrata, e concentrata per ottenere (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-metanolo grezzo che è stato usato direttamente nel passaggio successivo.

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



(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-metanolo (1,0 eq) è stato dissolto in MTBE (5 vol). Una quantità catalitica di 4-(N,N-dimetil)amminopiridina (DMAP) (1% mol) è stata addizionata e SOCl_2 (1,2 eq) è stato addizionato mediante l'imbutto di addizione. Il SOCl_2 è stato addizionato a una velocità per mantenere la temperatura nel reattore a 15-25°C. La temperatura è stata aumentata a 30°C per 1 ora e quindi è stata raffreddata a 20°C. Acqua (4 vol) è stata addizionata mediante l'imbutto di addizione mantenendo al contempo la temperatura a meno di 30°C. Dopo agitazione per ulteriori 30 min, gli strati sono stati lasciati separare. Lo strato organico è stato agitato ed è stato addizionato NaOH acq al 10% (p/v) (4,4 vol). Dopo agitazione per un periodo da 15 a 20 min, gli strati sono stati lasciati separare. La fase organica è stata quindi anidrificata (Na_2SO_4), filtrata, e concentrata per ottenere 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossol grezzo che è stato usato direttamente nel passaggio successivo.

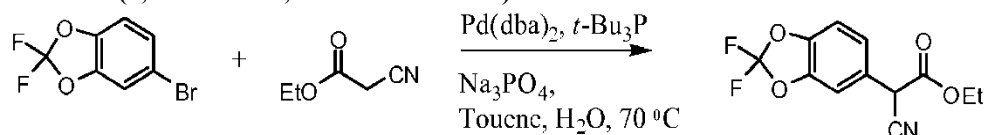
Preparazione di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile.



Una soluzione di 5-clorometil-2,2-difluoro-1,3-benzodiossol (1 eq) in DMSO (1,25 vol) è stata addizionata a una sospensione di NaCN (1,4 eq) in DMSO (3 vol), mantenendo al contempo la temperatura tra 30-40°C. La miscela è stata agitata per 1 ora e quindi è stata addizionata acqua (6 vol) seguita da metil *terz*-butil etere (MTBE) (4 vol). Dopo agitazione 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), anidrificati (Na_2SO_4), filtrati, e concentrati per ottenere (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile grezzo (95%) che è stato usato

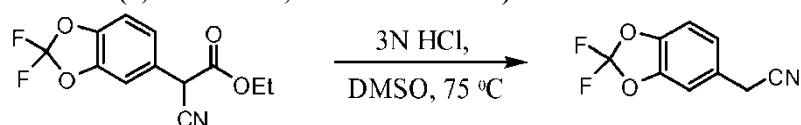
direttamente nel passaggio successivo.

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 spruzzatura di idrogeno per non meno di 16 ore. Al reattore è stato quindi caricato Na_3PO_4 (155,7 g, 949,5 mmol), seguito da bis(dibenzilidenacetone) palladio (0) (7,28 g, 12,66 mmol). Una soluzione al 10% p/p di terz-butilfosfina in esani (51,23 g, 25,32 mmol) è stata caricata in 10 min a 23°C da un imbuto di addizione spurgato con azoto. La miscela è stata lasciata agitare per 50 min, momento in cui è stato addizionato 5-bromo-2,2-difluoro-1,3-benzodiossolo (75 g, 316,5 mmol) in 1 min. Dopo agitazione per ulteriori 50 min, la miscela è stata caricata con etil cianoacetato (71,6 g, 633,0 mmol) in 5 min seguito 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 ore per la conversione in percentuale del reagente nel prodotto. Dopo che è stata osservata la conversione completa (tipicamente conversione del 100% dopo 5 - 8 ore), la miscela è stata raffreddata a 20 - 25°C e filtrata attraverso un tampone di celite. Il tampone di celite è stato lavato con toluene (2 X 450 mL) e gli strati organici combinati sono stati concentrati a 300 mL sotto vuoto a 60 - 65°C. Il concentrato è stato caricato con 225 mL 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 nella preparazione del passaggio 2. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.16 - 7.10 (m, 2H), 7.03 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.63 (s, 1H), 4.19 (m, 2H), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

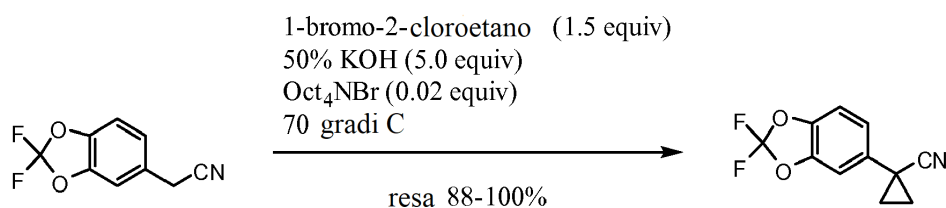
Sintesi di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile.



La soluzione in DMSO di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-1-etilacetato-acetonitrile di cui sopra è stata caricata con HCl 3 N (617,3 mL, 1,85 mol) in 20 min mantenendo al contempo una temperatura interna < 40°C. La miscela è stata quindi riscaldata a 75°C in 1 ora e analizzata mediante HPLC ogni 1 - 2 ore per la conversione

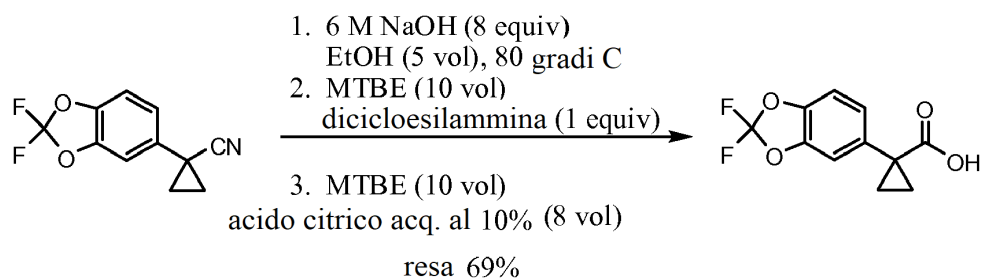
in %. Quando è stata osservata una conversione > 99% (tipicamente dopo 5 - 6 ore), la reazione è stata raffreddata a 20 - 25°C ed estratta con MTBE (2 X 525 mL), con tempo sufficiente a consentire la completa separazione di fase durante le estrazioni. Gli estratti organici combinati sono stati lavati con NaCl al 5% (2 X 375 mL). La soluzione è stata quindi trasferita all'attrezzatura appropriata per una distillazione sotto vuoto di 1,5 - 2,5 Torr che era dotata di una beuta di ricezione raffreddata. 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 quindi distillato dall'olio risultante 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 olio trasparente in una resa del 66% 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 (br s, 1H), 7.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 8.2, 1.8 Hz, 1H), 4.07 (s, 2H).

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



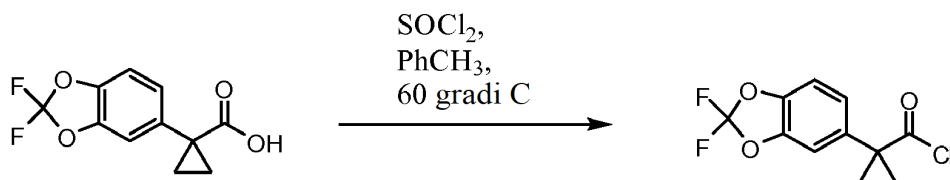
Una miscela di (2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-acetonitrile (1,0 eq), KOH acquoso al 50% in peso (5,0 eq) 1-bromo-2-cloroetano (1,5 eq), e Oct₄NBr (0,02 eq) è stata riscaldata a 70°C per 1 ora. La miscela di reazione è stata raffreddata, quindi lavorata con MTBE e acqua. La fase organica è stata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

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



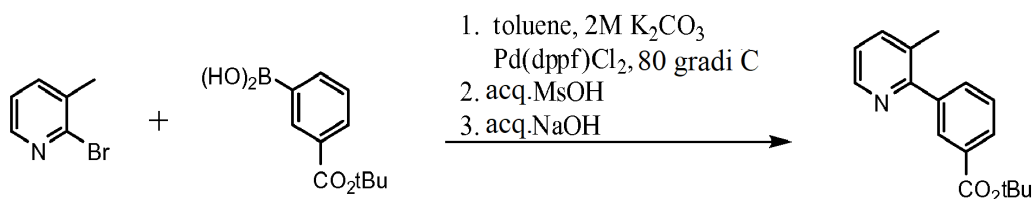
(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarboneitrile è stato idrolizzato usando NaOH 6 M (8 equiv) in etanolo (5 vol) a 80°C durante la notte. La miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e l'etanolo è stato fatto evaporare sotto vuoto. Il residuo è stato ripreso in acqua e MTBE, è stato addizionato HCl 1 M, e gli strati sono stati separati. Lo strato di MTBE è stato quindi trattato con dicesilammina (DCHA) (0,97 equiv). La sospensione è stata raffreddata a 0°C, filtrata, e lavata con eptano per fornire il corrispondente sale DCHA. Il sale è stato preso in MTBE e acido citrico al 10% e agitato fino a quando tutte le sostanze solide si sono dissolte. Gli strati sono stati separati e lo strato di MTBE è stato lavato con acqua e soluzione salina. Uno scambio di solvente in eptano seguito da filtrazione forniva acido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbossilico dopo essiccazione in forno sotto vuoto a 50°C per una notte.

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



Acido 1-(2,2-difluoro-1,3-benzodiossol-5-il)-ciclopropancarbossilico (1,2 eq) è sospeso in toluene (2,5 vol) e la miscela è stata riscaldata a 60°C. SOCl₂ (1,4 eq) è stato addizionato mediante l'imbutto di addizione. Il toluene e SOCl₂ sono stati distillati dalla miscela di reazione dopo 30 minuti. Toluene aggiuntivo (2,5 vol) è stato addizionato e la miscela risultante è stata nuovamente distillata, lasciando il prodotto cloruro acido come un olio, il quale è stato usato senza ulteriore purificazione.

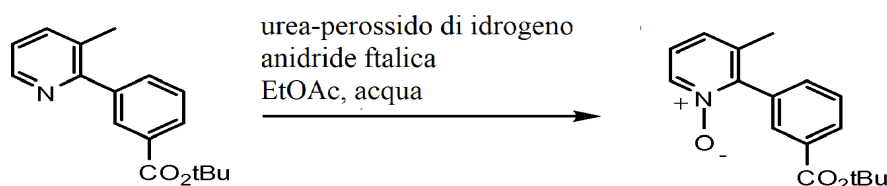
Preparazione di *terz*-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato.



2-bromo-3-metilpiridina (1,0 eq) è stato dissolto in toluene (12 vol). K₂CO₃ (4,8 eq) è stato addizionato, seguito da acqua (3,5 vol). La miscela risultante è stata riscaldata a 65°C sotto un flusso di N₂ per 1 ora. Acido 3-(*t*-butossicarbonil)fenilboronico (1,05 eq) e Pd(dppf)Cl₂·CH₂Cl₂ (0,015 eq) sono stati quindi addizionati e la

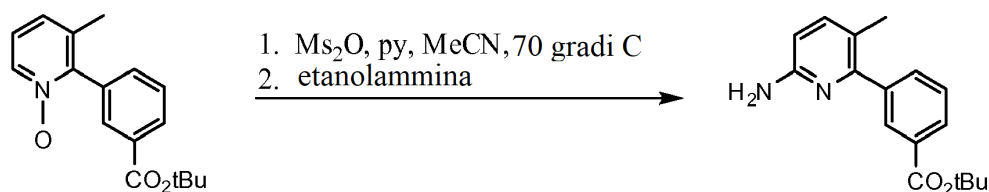
miscela è stata riscaldata a 80°C. Dopo 2 ore, il calore è stato spento, è stata addizionata acqua (3,5 vol), e gli strati sono stati lasciati separare. La fase organica è stata quindi lavata con acqua (3,5 vol) ed estratta con acido metansolfonico acquoso al 10% (2 eq MsOH, 7,7 vol). La fase acquosa è stata resa basica con NaOH acquosa al 50% (2 eq) ed estratta con EtOAc (8 vol). Lo strato organico è stato concentrato per ottenere *terz*-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato grezzo (82%) che è stato usato direttamente nel passaggio successivo.

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



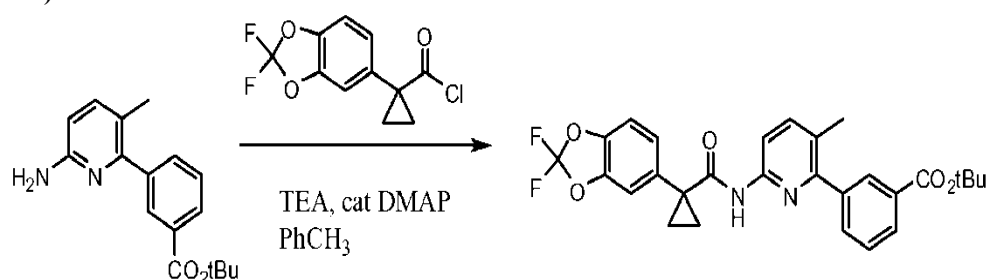
terz-butil-3-(3-metilpiridin-2-il)benzoato (1,0 eq) è stato dissolto in EtOAc (6 vol). Acqua (0,3 vol) è stata addizionata, seguita da urea-perossido di idrogeno (3 eq). Anidride ftalica (3 eq) è stata quindi addizionata a porzioni alla miscela come una sostanza solida a una velocità per mantenere la temperatura nel reattore inferiore a 45°C. Dopo completamento dell'addizione dell'anidride ftalica, la miscela è stata riscaldata a 45°C. Dopo agitazione per ulteriori 4 ore, il calore è stato spento. Na₂SO₃ acquoso al 10% p/p (1,5 eq) è stato addizionato mediante l'imbuto di addizione. Dopo completamento dell'addizione di Na₂SO₃, la miscela è stata agitata per ulteriori 30 min e gli strati separati. Lo strato organico è stato agitato ed è stato addizionato Na₂CO₃ acquoso al 10% p/p (2 eq). Dopo agitazione per 30 minuti, gli strati sono stati lasciati separare. La fase organica è stata lavata con NaCl acq. al 13% p/v. La fase organica è stata quindi filtrata e concentrata per ottenere 2-(3-(*terz*-butossicarbonil)fenil)-3-metilpiridin-1-ossido grezzo (95%) che è stato usato direttamente nel passaggio successivo.

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 addizionata in 50 min mediante l'imbutto di addizione mantenendo al contempo la temperatura inferiore a 75°C. La miscela è stata agitata per ulteriori 0,5 ore dopo il completamento dell'addizione. La miscela è stata quindi lasciata raffreddare a temperatura ambiente. Etanolamina (10 eq) è stata addizionata mediante l'imbutto di addizione. Dopo agitazione per 2 ore, è stata addizionata acqua (6 vol) e la miscela è stata raffreddata a 10°C. Dopo agitazione per 3 ore, la sostanza solida è stata raccolta mediante filtrazione e lavata con acqua (3 vol), acetonitrile/acqua 2:1 (3 vol), e acetonitrile (2 x 1,5 vol). La sostanza solida è stata essiccata a peso costante (differenza <1%) in un forno sotto vuoto a 50°C con una lieve fuoriuscita di N₂ per ottenere *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato come una sostanza solida rossa-gialla (resa 53%).

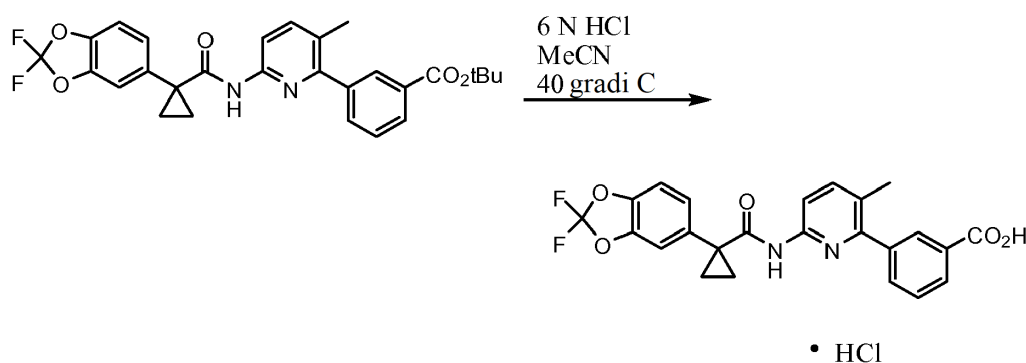
Preparazione di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)-ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato.



Il cloruro acido grezzo descritto sopra è stato dissolto in toluene (2,5 vol in base al cloruro acido) e addizionato mediante l'imbutto di addizione a 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 vol in base a *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato). Dopo 2 ore, è stata addizionata acqua (4 vol in base a *terz*-butil-3-(6-ammino-3-metilpiridin-2-il)benzoato) alla miscela di reazione. Dopo agitazione per 30 minuti, gli strati sono stati separati. La fase organica è stata quindi filtrata e concentrata per ottenere un olio spesso di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-*t*-butilbenzoato (resa grezza quantitativa). Acetonitrile (3 vol in base al prodotto grezzo) è stato addizionato e distillato fino a quando si verifica cristallizzazione. Acqua (2 vol in base al prodotto grezzo) è stata addizionata e la miscela agitata per 2 h.

Il solido è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acetonitrile/acqua 1:1 (in volume) (2 x 1 volumi in base al prodotto grezzo), e parzialmente anidrificato su filtro sotto vuoto. Il solido è stato essiccato a un peso costante (differenza <1%) in un forno sotto vuoto a 60°C con lieve fuoriuscita di N₂ per ottenere 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato come un solido marrone.

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



A una sospensione di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) in MeCN (3,0 vol) è stata addizionata acqua (0,83 vol seguita da HCl acquoso concentrato (0,83 vol). La miscela è stata riscaldata a 45 ± 5°C. Dopo agitazione per un periodo da 24 a 48 ore, la reazione era completa e la miscela è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente. Acqua (1,33 vol) è stata addizionata e la miscela agitata. La sostanza solida è stata raccolta mediante filtrazione, lavato con acqua (2 x 0,3 vol), e parzialmente anidrificato su filtro sotto vuoto. La sostanza solida è stata essiccata a un peso costante (differenza <1%) in un forno sotto vuoto a 60°C con lieve fuoriuscita di N₂ per ottenere 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]diossol-5-il) acido ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • HCl come una sostanza solida biancastra.

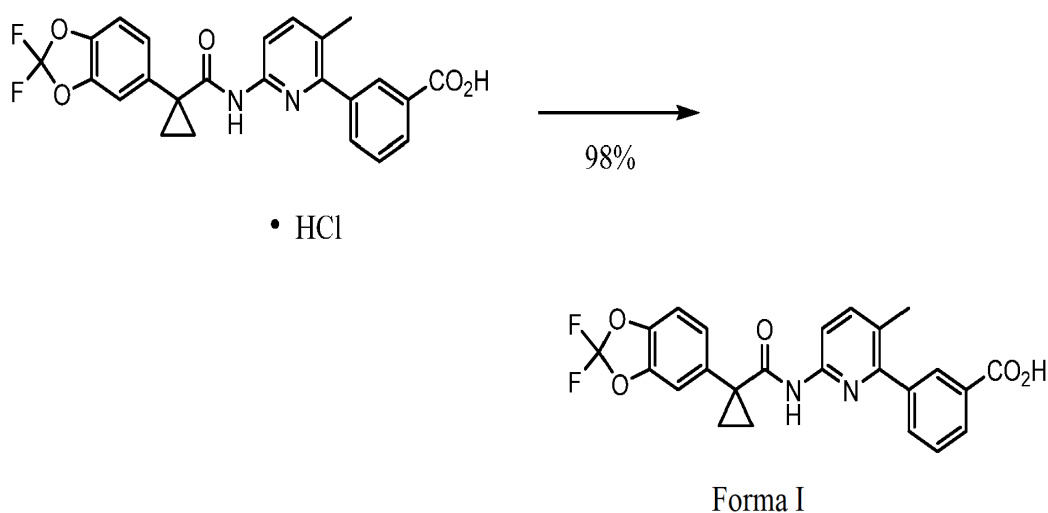
Uno spettro¹HNMR del Composto 1 è mostrato in Figura 20 e la Figura 21 rappresenta uno spettro¹HNMR del Composto 1 come sale HCl.

La tabella 2 di seguito indica i dati ¹HNMR per il Composto 1.

Tabella 2.

| Composto No. | LC/MS 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). |

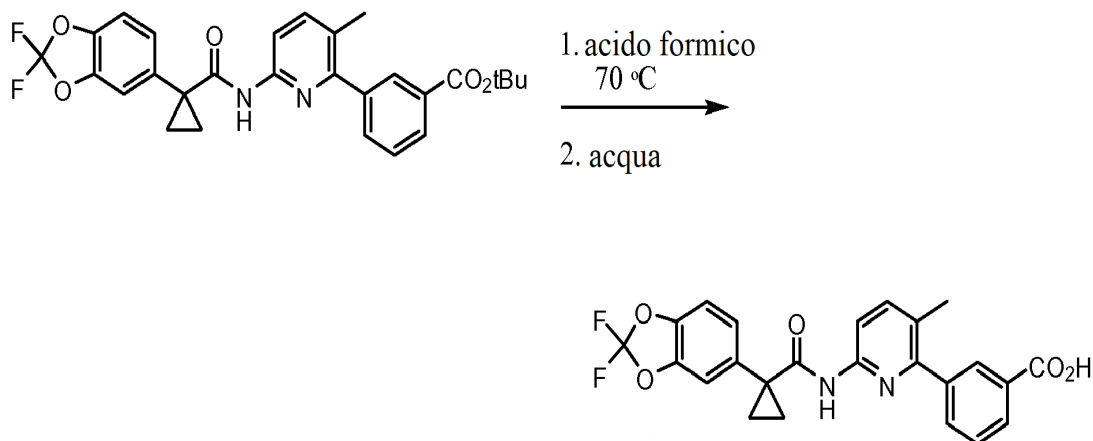
Preparazione della Forma I del Composto 1, Metodo A.



Una sospensione di acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il)ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico • HCl (1 eq) in acqua (10 vol) è stata agitata a temperatura ambiente. Un campione è stato prelevato dopo agitazione per 24 ore. 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 la conversione completa nella Forma I, la sostanza solida è stata raccolta mediante filtrazione, lavato con acqua (2 x 1,0 vol), e parzialmente anidrificato su un filtro sotto vuoto. La sostanza solida è stata quindi essiccata a un peso costante (differenza <1%) in un forno sotto vuoto a 60°C con una lieve fuoriuscita di N₂ per ottenere la Forma I del Composto 1 come un solido biancastro (resa 98%). 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 della Forma I del Composto 1, Metodo B.



Forma I

Una soluzione di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanecarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato (1,0 eq) in acido formico (3,0 vol) è stata riscaldata con agitazione a $70 \pm 10^\circ\text{C}$, per 8 ore. La reazione è stata considerata completa quando non più di 1,0% dell'AUC mediante metodi cromatografici di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanecarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato) rimaneva. La miscela è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente. La soluzione è stata addizionata ad acqua (6 vol), riscaldata a 50°C , e la miscela è stata agitata. La miscela è stata quindi riscaldata a $70 \pm 10^\circ\text{C}$ fino a quando il livello di 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il) ciclopropanecarbossammido)-3-metilpiridin-2-il)-t-butilbenzoato era non superiore a 0,8% (AUC). La sostanza solida è stata raccolta mediante filtrazione, lavata con acqua (2 x 3 vol), e parzialmente anidrificata su filtro sotto vuoto. La sostanza solida è stata essiccata a temperatura costante (differenza $<1\%$) in un forno sotto vuoto a 60°C con lieve fuoriuscita di N_2 per ottenere la Forma I del Composto 1 come una sostanza solida biancastra.

La traccia DSC della Forma I del Composto 1 è mostrata nella Figura 22. La fusione della Forma I del Composto 1 si verifica a circa 204°C .

Un pattern di diffrazione ai raggi X è stato calcolato da una singola struttura cristallina della Forma I del Composto I ed è mostrato nella Figura 1. La tabella 3 elenca i picchi calcolati per la Figura 1.

Tabella 3.

| Grado di 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 effettivo pattern di diffrazione ai raggi X delle polveri della Forma I del Composto I è mostrato nella Figura 2. La tabella 4 elenca i picchi effettivi per la Figura 2.

Tabella 4.

| Grado di picco | Angolo 2θ [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 della Forma I del Composto 1 sono stati ottenuti raffreddando una soluzione di 1-butanol concentrata da 75°C a 10°C a 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 *APEXII*. Tre lotti di 40 strutture separate in spazio reciproco sono stati ottenuti per fornire una matrice di orientamento e parametri di cella iniziali. I parametri di cella finali sono stati ottenuti e raffinati in base all'insieme di dati completo.

Un insieme di dati di diffrazione dello spazio reciproco è stato ottenuto con una risoluzione di 0,82 Å usando passaggi da 0,5° usando esposizione di 30 s per ogni struttura. I dati sono stati raccolti a 100 (2) K. L'integrazione delle intensità e la raffinazione dei parametri di cella sono stati realizzati usando il programma *APEXI*. L'osservazione del cristallo dopo la raccolta dei dati non mostrava segni di decomposizione.

Un'immagine conformazionale della Forma I del Composto 1 basata sull'analisi ai raggi X del singolo cristallo è mostrata in Figura 23. La Forma I del Composto 1 è monoclinica, 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, $Z=4$. La densità della Forma I del Composto 1 calcolata dai dati strutturali è 1,492 g/cm³ a 100 K.

Preparazione della Forma II del Composto I dalla Forma I del Composto I.

La Forma I del Composto 1 (circa 30 mg) è stata sospesa in 500 µL di un solvente appropriato (ad esempio, metanolo, etanolo, acetone, 2-propanolo, acetonitrile, tetraidrofurano, metil acetato, 2-butanone, etil formiato, e - metil tetraidrofurano per due giorni. La sospensione è stata quindi filtrata in modo centrifugo o sotto vuoto ed è stata lasciata essiccare a temperatura ambiente durante la notte per fornire la Forma II del Composto 1.

La traccia DSC del solvato in acetone della Forma II del Composto 1 è mostrata in Figura 15, che mostra due transizioni di fase. Il punto di fusione del solvato in acetone della Forma II del Composto 1 si verifica a circa 188°C e 205°C.

Un effettivo pattern di diffrazione ai raggi X delle polveri della Forma II del Composto 1 è mostrato in Figura 3.

La tabella 5 elenca gli effettivi picchi per la Figura 3 in ordine decrescente di intensità relativa.

Tabella 5.

| Angolo 2θ [gradi] | Intensità relativa [%] |
|--------------------------|-------------------------------|
| 21.70 | 100.0 |
| 8.98 | 65.5 |
| 11.04 | 57.4 |
| 18.16 | 55.9 |
| 23.06 | 55.4 |
| 20.63 | 53.1 |
| 22.22 | 50.2 |
| 18.57 | 49.1 |
| 16.66 | 47.2 |
| 19.86 | 35.0 |

Le rappresentazioni conformazionali del solvato in acetone della Forma II del Composto 1 basate sull'analisi ai raggi X del singolo cristallo sono mostrate in Figura 24. La stechiometria tra la Forma II del Composto 1 e l'acetone è circa 4,4:1 (4,48:1 calcolata da ¹H NMR; 4,38:1 da raggi X). La struttura del cristallo rivela un impaccamento delle molecole in cui sono presenti due spazi vuoti o tasche per cella unitaria o uno spazio vuoto per molecola ospite. Nel solvato in acetone, circa 92 per cento degli spazi vuoti sono occupati da molecole di acetone. La Forma I del Composto 1 è un monoclinio, gruppo spaziale P2₁/n con le seguenti dimensioni di cella unitaria: a = 16,5235(10) Å, b = 12,7425(8) Å, c = 20,5512 (13) Å, α = 90°, β = 103,736(4)°, γ = 90°, V = 4203,3(5) Å³, Z = 4. La densità del Composto 1 nella Forma II del Composto 1 calcolata dai dati strutturali è 1,430/cm³ a 100 K.

Uno spettro ¹³C NMR allo stato solido del solvato in acetone della Forma II del Composto 1 è mostrato in Figura 25. La tabella 6 fornisce gli spostamenti chimici dei picchi rilevanti.

Tabella 6.

| Forma II del Composto 1, Solvato in Acetone spostamenti chimici ¹³ C | | |
|---|----------|-----------|
| Picco n. | F1 [ppm] | Intensità |
| 1 | 202.8 | 6.05 |
| 2 | 173.3 | 62.66 |
| 3 | 171.9 | 20.53 |
| 4 | 153.5 | 28.41 |
| 5 | 150.9 | 21.68 |
| 6 | 150.1 | 19.49 |
| 7 | 143.2 | 45.74 |
| 8 | 142.3 | 42.68 |
| 9 | 140.1 | 37.16 |
| 10 | 136.6 | 26.82 |
| 11 | 135.9 | 30.1 |
| 12 | 134.6 | 39.39 |
| 13 | 133.2 | 23.18 |
| 14 | 131.0 | 60.92 |
| 15 | 128.5 | 84.58 |
| 16 | 116.0 | 34.64 |
| 17 | 114.2 | 23.85 |
| 18 | 112.4 | 25.3 |
| 19 | 110.9 | 24.12 |
| 20 | 107.8 | 18.21 |
| 21 | 32.0 | 54.41 |
| 22 | 22.2 | 20.78 |

| | | |
|----|------|-----|
| 23 | 18.8 | 100 |
|----|------|-----|

Uno spettro ^{19}F NMR allo stato solido del solvato in acetone della Forma II del Composto 1 è mostrato nella Figura 26. I picchi con un asterisco indicano bande laterali di spinning. La tabella 7 fornisce gli spostamenti chimici dei picchi rilevanti.

Tabella 7.

| Forma II del Composto 1, Solvato in Acetone spostamenti chimici ^{19}F | | |
|---|----------|-----------|
| Picco n. | F1 [ppm] | Intensità |
| 1 | -41.6 | 12.5 |
| 2 | -46.4 | 6.77 |
| 3 | -51.4 | 9.05 |

Preparazione della Forma A del sale HCl del Composto 1

Cristalli incolori della Forma A del sale HCl del Composto 1 sono stati ottenuti mediante evaporazione lenta da una soluzione concentrata del sale HCl del Composto 1 in etanolo. Un cristallo con dimensione di $0,30 \times 1/5 \times 0,15$ mm è stato selezionato, pulito usando olio minerale, montato su un MicroMount e centrato su un diffrattometro Bruker *APEXII*. Tre lotti di 40 strutture separate in spazio reciproco sono stati ottenuti per fornire una matrice di orientamento e parametri di cella iniziali. I parametri di cella finali sono stati ottenuti e raffinati in base all'insieme di dati completo.

La Figura 18 fornisce un'immagine conformazionale della Forma A del sale HCl del Composto 1 come dimero, in base all'analisi del singolo cristallo. Un pattern di diffrazione ai raggi X della Forma A del sale HCl del Composto 1 calcolato dalla struttura del cristallo è mostrato nella Figura 27. La tabella 8 contiene i picchi calcolati per la Figura 27 in ordine decrescente di intensità relativa.

Tabella 8.

| 2θ [gradi] | Intensità relativa [%] |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| 8.96 | 100.00 |
| 17.51 | 48.20 |

| | |
|-------|-------|
| 18.45 | 34.60 |
| 10.33 | 32.10 |
| 16.01 | 18.90 |
| 11.94 | 18.40 |
| 8.14 | 16.20 |
| 10.10 | 13.90 |
| 16.55 | 13.30 |
| 9.54 | 10.10 |
| 16.55 | 13.30 |

Formulazioni farmaceutiche orali esemplificative comprendenti il Composto 1

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencati nella Tabella 9 per la compressa esemplificativa 1A comprendente 100mg di API, ossia la Forma I del Composto 1. La compressa esemplificativa 1A (formulata per avere 100 mg del Composto 1) è preparata usando un procedimento di formulazione con dispositivo di compattazione a rulli a secco. Nella Tabella 9, le qualità/i marchi erano cellulosa microcristallina: Avicel PH102; mannitolo: Pearlitol SD 100; croscarmellosa sodica: Acdisol; e silice colloidale: Cabosil.

Tabella 9.

| Miscela di granuli per compattazione a rulli | (%p/p) |
|---|--------|
| Forma I del Composto 1 | 30 |
| Cellulosa microcristallina | 42.3 |
| Mannitolo | 21.2 |
| Croscarmellosa sodica | 3 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Silice colloidale | 0.5 |
| Stearato di magnesio | 2 |
| Composizione della compressa (dose da 100 mg, immagine da 335 mg) | (%p/p) |

| | |
|--|------|
| Miscela di granuli per compattazione a rulli | 99.5 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 10 per la compressa esemplificativa 1B comprendente 100mg di API, ossia la Forma I del Composto 1. La compressa esemplificativa 1B (formulata per avere 100 mg della Forma I del Composto 1) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 10, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa – croscarmellosa sodica: Acdisol.

Tabella 10.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 50 |
| Cellulosa microcristallina | 30 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa (dose da 100mg, immagine da 205 mg) | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 97.5 |
| Croscarmellosa sodica | 2.0 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencati nella Tabella 11 per la compressa esemplificativa 1C comprendente 100mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1C (formulata per avere 100 mg della Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 11, le qualità/i marchi

erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa – croscarmellosa sodica: Acdisol.

Tabella 11.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 60 |
| Cellulosa microcristallina | 20 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa (dose da 100mg, immagine da 171 mg) | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 97.5 |
| Croscarmellosa sodica | 2.0 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencati nella Tabella 12 per la compressa esemplificativa 1D comprendente 200mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1D (formulata per avere 200 mg della Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 12, le qualità/i marchi erano come segue. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712.

Tabella 12.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
|--|--------|

| | |
|--|--------|
| Forma I del Composto 1 | 60 |
| Cellulosa microcristallina | 20 |
| Mannitolo | 13 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione della compressa (dose da 200mg, immagine da 402 mg) | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 14 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Stearato di magnesio | 1 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 13 per la compressa esemplificativa 1E comprendente 200 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1E (formulata per avere 200 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 13, le qualità/i marchi erano come segue. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712; e nel rivestimento con film – rivestimento con film: Opadry II; cera: Carnauba.

Tabella 13.

| | |
|--|-----|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 66 |
| Mannitolo | 43 |

| | |
|--|--------|
| Croscarmellosa sodica | 7 |
| Polivinilpirrolidone | 13 |
| Sodio lauril solfato | 3 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 200 mg, immagine da 400 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 332 |
| Cellulosa microcristallina | 56 |
| Croscarmellosa sodica | 8 |
| Stearato di magnesio | 4 |
| Compressa rivestita da film (dose da 200 mg, immagine da 412 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 400 |
| Rivestimento con film | 12 |
| Cera | tracce |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 14 per la compressa esemplificativa 1F comprendente 200 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1F (formulata per avere 200 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 14, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela granulare a elevato taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712; e nel rivestimento con film – rivestimento con film: Opadry II; cera: Carnauba.

Tabella 14.

| | |
|--|-----|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 67 |
| Mannitolo | 45 |

| | |
|--|------|
| Croscarmellosa sodica | 7 |
| Polivinilpirrolidone | 10.4 |
| Sodio lauril solfato | 2.6 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 200 mg, immagine da 400 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 332 |
| Cellulosa microcristallina | 56 |
| Croscarmellosa sodica | 8 |
| Stearato di magnesio | 4 |
| Compressa rivestita con film (dose da 200 mg, immagine da 412 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 400 |
| Rivestimento con film | 12 |
| Cera | 0.04 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 15 per la compressa esemplificativa 1G comprendente 100 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1G (formulata per avere 100 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 15, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa – croscarmellosa sodica: Acdisol.

Tabella 15.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I del Composto 1 | 70 |
| Cellulosa microcristallina | 12 |
| Mannitolo | 11 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |

| | |
|---|--------|
| Polivinilpirrolidone | 4 |
| Sodio lauril solfato | 1 |
| Composizione di compressa (dose da 100mg, immagine da 147 mg) | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 97.5 |
| Croscarmellosa sodica | 2.0 |
| Stearato di magnesio | 0.5 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 16 per la compressa esemplificativa 1H comprendente 100 mg di API, ossia la Forma I o la Forma II del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1H (formulata per avere 100 mg di Forma I o Forma II del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 16, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712.

Tabella 16.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | (%p/p) |
| Forma I o Forma II del Composto 1 | 61 |
| Cellulosa microcristallina | 20.3 |
| Mannitolo | 13.2 |
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Polivinilpirrolidone | 2.7 |
| Sodio lauril solfato | 0.7 |
| Composizione di compressa (dose da 100 mg, immagine da 197 mg) | (%p/p) |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 83 |
| Cellulosa microcristallina | 14 |

| | |
|-----------------------|---|
| Croscarmellosa sodica | 2 |
| Stearato di magnesio | 1 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 17 per la compressa esemplificativa II comprendente 100 mg di API, ossia la Forma I o la Forma II del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa II (formulata per avere 100 mg di Forma I o Forma II del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 17, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712.

Tabella 17.

| | |
|--|-------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I o Forma II del Composto 1 | 100 |
| Cellulosa microcristallina | 33.3 |
| Mannitolo | 21.7 |
| Croscarmellosa sodica | 3.3 |
| Polivinilpirrolidone | 4.4 |
| Sodio lauril solfato | 1.1 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 100 mg, immagine da 197 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 163.9 |
| Cellulosa microcristallina | 27.6 |
| Croscarmellosa sodica | 3.9 |
| Stearato di magnesio | 2.0 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 18 per la compressa esemplificativa 1J comprendente 300 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa

esemplificativa 1J (formulata per avere 300 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 18, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712; e nel rivestimento con film – rivestimento con film: Opadry II; cera: Carnauba.

Tabella 18.

| | |
|--|------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 300 |
| Cellulosa microcristallina | 99 |
| Mannitolo | 64.5 |
| Croscarmellosa sodica | 10.5 |
| Polivinilpirrolidone | 19.5 |
| Sodio lauril solfato | 4.5 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 300 mg, immagine da 600 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 498 |
| Cellulosa microcristallina | 84 |
| Croscarmellosa sodica | 12 |
| Stearato di magnesio | 6 |
| Compressa rivestita con film (dose da 300 mg, immagine da 618 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 600 |
| Rivestimento con film | 18 |
| Cera | 0.06 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 19 per la compressa

esemplificativa 1K comprendente 300 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1K (formulata per avere 300 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a elevata forza di taglio a umido. Nella Tabella 19, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a elevata forza di taglio – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; mannitolo: Pearlitol C50; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712; e nel rivestimento con film – rivestimento con film: Opadry II; cera: Carnauba.

Tabella 19.

| | |
|--|-------|
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | mg |
| Forma I del Composto 1 | 300 |
| Cellulosa microcristallina | 100.5 |
| Mannitolo | 67.5 |
| Croscarmellosa sodica | 10.5 |
| Polivinilpirrolidone | 15.6 |
| Sodio lauril solfato | 3.9 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 300 mg, immagine da 600 mg) | mg |
| Miscela di granuli a elevata forza di taglio | 498 |
| Cellulosa microcristallina | 84 |
| Croscarmellosa sodica | 12 |
| Stearato di magnesio | 6 |
| Compressa rivestita con film (dose da 300 mg, immagine da 618 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 600 |
| Rivestimento con film | 18 |
| Cera | 0.06 |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 20 per la compressa esemplificativa 1L comprendente 200 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1L (formulata per avere 200 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granulazione a umido a doppia coclea. Nella Tabella 20, le qualità/i marchi erano le seguenti. Miscela di granuli a doppia coclea – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; croscarmellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscarmellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712; e nel rivestimento con film – rivestimento con film: Opadry II; cera: Carnauba.

Tabella 20.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 200 |
| Cellulosa microcristallina | 34.0 |
| Croscarmellosa sodica | 6.3 |
| Polivinilpirrolidone | 7.8 |
| Sodio lauril solfato | 1.8 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 200 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 249.9 |
| Cellulosa microcristallina | 36.1 |
| Croscarmellosa sodica | 12.0 |
| Stearato di magnesio | 3.0 |
| Compressa rivestita con film (dose da 200 mg, totale 310 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 301 |
| Rivestimento con film | 9.0 |
| Cera | tracce |

Una compressa è stata preparata con i componenti e le quantità elencate nella Tabella 21 per la compressa

esemplificativa 1M comprendente 400 mg di API, ossia la Forma I del Composto 1 cristallina. La compressa esemplificativa 1M (formulata per avere 400 mg di Forma I del Composto 1 cristallina) è preparata usando un procedimento di formulazione di granuli a umido a doppia coclea. Nella Tabella 21, le qualità/i marchi erano i seguenti. Miscela di granuli a doppia coclea – cellulosa microcristallina: Avicel PH101; croscaramellosa sodica: Acdisol; polivinilpirrolidone: Kollidon PVP K30; e nella composizione di compressa di nucleo – cellulosa microcristallina: Avicel PH200; croscaramellosa sodica: Acdisol; e stearato di magnesio: 5712; e nel rivestimento con film – rivestimento con film: Opadry II; cera: Carnauba.

Tabella 21.

| | |
|--|--------|
| Miscela di granuli a doppia coclea | mg |
| Forma I del Composto 1 | 400 |
| Cellulosa microcristallina | 68.0 |
| Croscaramellosa sodica | 12.6 |
| Polivinilpirrolidone | 15.6 |
| Sodio lauril solfato | 3.6 |
| Composizione di compressa di nucleo (dose da 400 mg) | mg |
| Miscela di granuli a doppia coclea | 499.8 |
| Cellulosa microcristallina | 72.2 |
| Croscaramellosa sodica | 24.0 |
| Stearato di magnesio | 6.0 |
| Compressa rivestita con film (dose da 400 mg, totale 620 mg) | mg |
| Composizione di compressa di nucleo | 602 |
| Rivestimento con film | 18.0 |
| Cera | Tracce |

Formazione di compressa da composizione di granuli mediante compattazione a rulli

Attrezzatura/Procedimento

Attrezzatura

Compattatori a rulli: Alexanderwerk WP 120, Vector TF-Mini, o Vector TF-Labo

Vagliatura/Pesata

Il Composto 1 e gli eccipienti possono essere vagliati prima o dopo la pesa. Dimensioni di vagli appropriate sono mesh 20, mesh 40, o mesh 60. Il Composto 1 può essere premiscelato con uno o più degli eccipienti per semplificare la vagliatura.

Miscelazione

Il Composto 1 e gli eccipienti possono essere addizionati al miscelatore in ordine differente. La miscelazione può essere eseguita in un miscelatore Turbula o un miscelatore v-shell. I componenti possono essere miscelati per 10 minuti senza lubrificante con successiva miscelazione aggiuntiva con lubrificante per 3 minuti.

Compattazione a rulli

La miscela può essere compattata a rulli in nastri e macinata in granuli usando un Alexanderwerk WP 120. I rulli usati possono essere rulli da 25 mm usando una pressione di compattazione da 18 a 50 bar, una velocità del rullo da 3 a 12 giri al minuto, e una velocità dell'alimentatore a vite da 20 a 80 giri al minuto. Le dimensioni dei vagli del mulino integrato possono essere 2 mm per il vaglio superiore e 0,8 mm per il vaglio inferiore.

Miscelazione

I granuli compattati a rulli possono essere miscelati con eccipienti extra-granulari come riempitivi e lubrificanti usando un miscelatore V-shell. Il tempo di miscelazione può essere 5, 3 o 1 minuto(i).

Compressione

La miscela di compressione è stata compressa in compresse usando una singola stazione Riva MiniPress con attrezzi da 10 mm. Il peso delle compresse per una dose da 100 mg può essere circa 200, 250 o 300 mg.

Rivestimento con film

Le compresse possono essere rivestite con film usando una patinatrice a tamburo come, ad esempio un O'Hara Labcoat.

Stampa

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

Formazione di compressa da composizione di granuli a elevata forza di taglio

Attrezzatura/procedimento

Attrezzatura

Granulatore: Procept MiPro con una coppa di granulazione da 250 ml o 1 L.

Vagliatura/pesata

Il Composto 1 e gli eccipienti possono essere vagliati prima o dopo la pesata. Possibili dimensioni dei vagli sono mesh 20, mesh 40, o mesh 60. Il Composto 1 può essere premiscelato con uno o più degli eccipienti per semplificare la vagliatura.

Operazione di granulazione

Fluido di granulazione – SLS e legante sono addizionati ad acqua purificata e miscelati fino alla dissoluzione.

Un rapporto adatto è 2,5% p/p SLS e 10,0% p/p PVP K30 in acqua.

Granulazione – Gli eccipienti e il Composto 1 sono addizionati alla coppa di granulazione. L'ordine di aggiunta può essere Composto 1, disintegrante, diluente e riempitivo. I componenti possono essere miscelati nella coppa da 250 ml per 1 minuto a velocità dell'elica di 1000 giri al minuto e velocità della trinciatrice a 1000 giri al minuto. La granulazione può essere eseguita alla velocità dell'elica di 2000 giri al minuto con una velocità della trinciatrice di 4000 giri al minuto addizionando al contempo il fluido di granulazione con una pompa a siringa da 1,5 a 4,5 g/min. Il tempo di addizione di fluido può essere da 4 a 12 minuti. Dopo che il fluido legante richiesto è aggiunto, i granuli possono essere ammassati a umido per un periodo da circa 10 secondi a circa 1 minuto. Un vantaggio evidente del presente procedimento di granulazione a elevata forza di taglio è l'uso di un fluido di granulazione che comprende sia un tensioattivo sia il legante per una migliore granulazione mediante bagnabilità aumentata. In una forma di realizzazione, il tensioattivo è SLS.

Macinazione

I granuli possono essere ridotti di dimensione usando un mulino di setacciatura o un mulino a cono.

Essiccazione

I granuli possono essere essiccati usando un forno sotto vuoto, un essiccatore a ripiani, un essiccatore biconico o un essiccatore a letto fluido. I granuli sono stati essiccati usando un forno sotto vuoto con uno spurgo di azoto.

Miscelazione

I granuli possono essere miscelati con eccipienti extra-granulari. I granuli sono stati miscelati con un disintegrante, un diluente, un riempitivo, e un lubrificante. I granuli sono stati miscelati usando il miscelatore Turbula per 3 minuti prelubrificante e 1 minuto con lubrificante. Un miscelatore su scala più grande come un miscelatore 4-quart V-shell può essere usato.

Compressione

La miscela di compressione è stata compressa in compresse usando una singola stazione Riva MiniPress con strumenti da 8 mm, o 10 mm. Il peso delle compresse per una dose da 100 mg può essere circa 160, 200 o 250 mg.

Rivestimento con film

Le compresse possono essere rivestite con film usando una patinatrice a tamburo, come, ad esempio, un O'Hara Labcoat.

Stampa

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

Formazione di compressa da procedimento di granulazione a umido a doppia coclea continuo

Attrezzatura/procedimento

Attrezzatura

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

Vagliatura/pesata

Il Composto 1 e gli eccipienti possono essere vagliati prima o dopo la pesata. Possibili dimensioni dei vagli sono mesh 20, mesh 40, o mesh 60. Il Composto 1 può essere premiscelato con uno o più degli eccipienti per

semplificare la vagliatura.

Miscelazione

Il Composto 1 e gli eccipienti possono essere addizionati al miscelatore in ordine differente. La miscelazione può essere eseguita in un miscelatore Turbula, un miscelatore v-shell, un miscelatore a cesto, o un miscelatore continuo. I componenti possono essere miscelati per 10 minuti per miscelatori discontinui o in modo continuo per un miscelatore continuo.

Operazione di granulazione

Fluido di granulazione – SLS e legante sono addizionati ad acqua purificata e miscelati fino alla dissoluzione.

Un rapporto adatto è 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 coclea usando un alimentatore a perdita di peso a una velocità di 10 kg/ora. Il fluido di granulazione può essere addizionato usando una pompa peristaltica a una velocità di 3,5 kg/ora. Il granulatore può essere azionato a una velocità di 400' giri al minuto. Un vantaggio importante del presente procedimento di granulazione a umido a doppia coclea è l'uso di un fluido di granulazione che comprende sia un tensioattivo sia il legante per una migliore granulazione tramite bagnabilità aumentata. In una forma di realizzazione, il tensioattivo è SLS. Un altro vantaggio notevole è che poiché il procedimento continuo è in qualsiasi momento soltanto una quantità limitata di materiale è lavorata, il procedimento può essere ben controllato e determina un prodotto a qualità elevata.

Macinazione

I granuli possono essere ridotti di dimensione usando un mulino a vaglio o un mulino a cono.

Essiccazione

I granuli possono essere essiccati usando un forno sotto vuoto, un essiccatore a ripiani, un essiccatore biconico o un essiccatore a letto fluido.

Miscelazione

I granuli possono essere miscelati con eccipienti extra-granulari. I granuli sono stati miscelati usando un

miscelatore a cesto da 300 litri per 60 giri.

Compressione

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

Rivestimento con film

Le compresse possono essere rivestite con film usando una patinatrice a tamburo come, ad esempio, una O'Hara Labcoat.

Stampa

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

Programma di somministrazione di dosaggio

In un altro aspetto, l'invenzione riguarda un metodo di trattamento di una malattia mediata dal CFTR in un individuo comprendente la somministrazione a un individuo che ne ha necessità di una quantità efficace della composizione farmaceutica fornita dall'invenzione. In un'altra forma di realizzazione, la composizione farmaceutica è somministrata all'individuo una volta ogni due settimane. In un'altra forma di realizzazione, la composizione farmaceutica è somministrata all'individuo una volta a settimana. In un'altra forma di realizzazione, la composizione farmaceutica è somministrata all'individuo una volta ogni tre giorni. In un'altra forma di realizzazione, la composizione farmaceutica è somministrata all'individuo una volta al giorno. In una forma di realizzazione, quando la composizione farmaceutica è una compressa secondo la tabella 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, o 19 la somministrazione è una volta al giorno.

SAGGI

Saggi per rivelare e misurare le proprietà di correzione di *F508del*-CFTR dei composti

Metodi ottici di potenziale di membrana per valutare le proprietà di modulazione di *F508del*-CFTR dei composti.

Il saggio del potenziale di membrana ottico utilizzava sensori FRET sensibili alla tensione descritti da Gonzalez e Tsien (*Si veda* Gonzalez, J. E. and 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 di cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" Chem Biol 4(4): 269-77) in combinazione a strumentazione per misurare variazioni di fluorescenza come il lettore di sonda di tensione/ioni (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 alla tensione si basano sulla variazione di trasferimento di energia di risonanza di fluorescenza (FRET) tra il colorante sensibile alla tensione solubile nella membrana, DiSBAC₂(3), e un fosfolipide fluorescente, CC2-DMPE, che è attaccato al foglietto esterno della membrana plasmatica e agisce come donatore FRET. Le variazioni del potenziale di membrana (V_m) causano la redistribuzione del DiSBAC₂(3) caricato negativamente attraverso la membrana plasmatica e la quantità di energia trasferita da CC2-DMPE varia di conseguenza. Le variazioni di emissione di fluorescenza sono state monitorate usando VIPR™ II, che è un rivelatore di fluorescenza e un handler di liquido integrato progettato per condurre screening basati su cellule in piastre microtitolo a 96 o 384 pozzetti.

1. Identificazione dei composti di correzione

Per identificare piccole molecole che correggono i difetti di trafficking associati a *F508del*-CFTR; è stato sviluppato un formato di saggio HTS a singola addizione. Le cellule sono state incubate in terreno privo di siero per 16 ore a 37°C in presenza o in assenza (controllo negativo) di composto di test. Come controllo positivo, le cellule piastrate in piastre a 384 pozzetti sono state incubate per 16 ore a 27°C per “correggere la temperatura” di *F508del*-CFTR. Le cellule sono state successivamente lavate 3X con soluzione di Ringer Krebs e caricate con i coloranti sensibili alla tensione. Per attivare *F508del*-CFTR, 10 µM di forskolina e il potenziatore del CFTR, genisteina (20 µM), sono stati addizionati insieme a terreno privo di Cl⁻ a ciascun pozzetto. L’addizione di terreno privo di Cl⁻ favoriva l’efflusso di Cl⁻ in risposta all’attivazione di *F508del*-CFTR e la risultante depolarizzazione della membrana è stata monitorata otticamente usando i coloranti sensibili alla tensione basati su FRET.

2. Identificazione di composti potenziatori

Per identificare potenziatori di *F508del*-CFTR, è stato sviluppato un formato di saggio HTS a doppia addizione. Durante la prima addizione, un terreno privo di Cl⁻ con o senza composto di test è stato addizionato a ogni pozzetto. Dopo 22 sec, una seconda addizione di terreno privo di Cl⁻ contenente 2 - 10 µM di forskolina è stata addizionata per attivare *F508del*-CFTR. La concentrazione extracellulare di Cl⁻ a seguito di entrambe le addizioni era 28 mM, il che favoriva l'efflusso di Cl⁻ in risposta all'attivazione di *F508del*-CFTR e la risultante depolarizzazione della membrana è stata monitorata otticamente usando coloranti sensibili alla tensione a base di FRET.

3. Soluzioni

Soluzione di bagno n.1: (in mM) NaCl 160, KCl 4,5, CaCl₂ 2, MgCl₂ 1, HEPES 10, pH 7.4 con NaOH.

Soluzione di bagno privo di cloro: i sali cloruro nella soluzione di bagno n.1 sono sostituiti con sali gluconato.

CC2-DMPE: Preparata come una soluzione stock 10 mM in DMSO e conservata a -20°C.

DiSBAC₂(3): Preparata come uno stock 10 mM in DMSO e conservata a -20°C.

4. Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 esprimenti stabilmente *F508del*-CFTR sono usati per le misurazioni ottiche del potenziale di membrana. Le cellule sono mantenute a 37°C in CO₂ al 5% e umidità al 90% in terreno di Eagle modificato da Dulbecco integrato con glutammina 2 mM, siero fetale bovino al 10%, 1 X NEAA, β-ME, 1 X pen/strep, ed HEPES 25 mM in beute di coltura da 175 cm². Per tutti i saggi ottici, le cellule sono state seminate a 30.000/pozzetto in piastre da 384 pozzetti rivestite di matrigel e coltivate per 2 ore a 37°C prima della coltura a 27°C per 24 ore per il saggio del potenziatore. Per i saggi di correzione, le cellule sono coltivate a 27°C o 37°C con e senza composti per 16 - 24 ore.

Saggi elettrofisiologici per valutare le proprietà di modulazione di *F508del*-CFTR dei composti

1. Saggio della camera di Ussing

Gli esperimenti della camera di Ussing sono stati eseguiti su cellule epiteliali polarizzate esprimenti *F508del*-CFTR per caratterizzare ulteriormente i modulatori di *F508del*-CFTR identificati nei saggi ottici. Cellule epiteliali FRT^{ΔF508-CFTR} fatte crescere su inserti di coltura cellulare Costar Snapwell sono state montate in una

camera di Ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), e i monostrati sono stati cortocircuitati in modo continuo usando un sistema Voltage-clamp (Department di Bioengineering, University di Iowa, IA, e, Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA). La resistenza transepiteliale è stata misurata applicando l'impulso da 2-mV. In queste condizioni, gli epitelii FRT dimostravano resistenze di 4 K Ω / cm² o più. Le soluzioni sono state mantenute a 27°C e fatte gorgogliare con aria. Il potenziale offset dell'elettrodo e la resistenza di fluido sono stati corretti usando un inserto privo di cellule. In queste condizioni, la corrente riflette il flusso di Cl⁻ attraverso *F508del*-CFTR espresso nella membrana apicale. L'*I*_{SC} è stata acquisita digitalmente usando un'interfaccia MP100A-CE e il programma AcqKnowledge (v3.2.6; BIOPAC Systems, Santa Barbara, CA).

2. Identificazione dei composti di correzione

Un protocollo tipico utilizza un gradiente di concentrazione di Cl⁻ dalla membrana basolaterale a quella apicale. Per impostare tale gradiente, una 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 fornire un gradiente di concentrazione di Cl⁻ ampio attraverso l'epitelio. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti con monostrati intatti. Per attivare completamente *F508del*-CFTR, forskolina (10 μ M) e l'inibitore di PDE, IBMX (100 μ M), sono stati applicati seguiti dall'aggiunta del potenziatore del CFTR, genisteina (50 μ M).

Come osservato in altri tipi cellulari, l'incubazione a basse temperature delle cellule FRT esprimenti stabilmente *F508del*-CFTR aumenta la densità funzionale del CFTR nella membrana plasmatica. Per determinare l'attività dei composti di correzione, le cellule sono state incubate con 10 μ M del composto di test per 24 ore a 37°C e sono state successivamente lavate 3X prima della registrazione. L'*I*_{SC} mediata dal cAMP e dalla genisteina nelle cellule trattate con il composto è stata normalizzata ai controlli a 27°C e 37°C ed espressa come attività in percentuale. La preincubazione delle cellule con il composto di correzione aumentava significativamente l'*I*_{SC} mediata dal cAMP e della genisteina rispetto ai controlli a 37°C.

3. Identificazione dei composti potenziatori

Il protocollo tipico utilizza un gradiente di concentrazione di Cl⁻ dalla membrana basolaterale alla membrana

apicale. Per impostare questo gradiente, una soluzione di ringer normale è stata usata sulla membrana basolaterale ed è stata permeabilizzata con nistatina (360 µg/ml), mentre NaCl apicale è stato sostituito da gluconato di sodio equimolare (titolato a pH 7.4 con NaOH) per fornire un gradiente di concentrazione di Cl⁻ ampio attraverso l'epitelio. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti 30 min dopo permeabilizzazione con nistatina. Forskolina (10 µM) e tutti i composti di test sono stati aggiunti a entrambi i lati degli inserti di coltura cellulare. L'efficacia dei potenziatori di *F508del*-CFTR putativi è stata paragonata a quella del potenziatore noto, genisteina.

4. Soluzioni

Soluzione basolaterale (in mM): NaCl (135), CaCl₂ (1,2), MgCl₂ (1,2), K₂HPO₄ (2,4), KHPO₄ (0,6), acido N-2-idrossietilpiperazina-N'-2-etansolfonico (HEPES) (10), e destrosio (10). La soluzione è stata titolata a pH 7.4 con NaOH.

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

5. Coltura cellulare

Cellule epiteliali di ratto Fisher (FRT) esprimenti *F508del*-CFTR (FRT^{ΔF508-CFTR}) sono state usate per gli esperimenti nella camera di Ussing per i modulatori di *F508del*-CFTR putativi identificati nei nostri saggi ottici. Le cellule sono state coltivate su inserti per coltura cellulare Costar Snapwell e coltivate per cinque giorni a 37°C e CO₂ al 5% in terreno F-12 di Ham modificato da Coon integrato con siero fetale bovino al 5%, 100 U/ml di penicillina, e 100 µg/ml di streptomina. Prima dell'uso per caratterizzare l'attività potenziatrice dei composti, le cellule sono state incubate a 27°C per 16 - 48 ore per la correzione per *F508del*-CFTR. Per determinare l'attività di correzione dei composti, le cellule sono state incubate a 27°C o 37°C con e senza i composti per 24 ore.

6. Registrazioni a cellula intera

La corrente macroscopica di *F508del*-CFTR ($I_{\Delta F508}$) nelle cellule NIH3T3 corrette per la temperatura e il composto di test esprimenti stabilmente *F508del*-CFTR sono stati monitorati usando la registrazione a cellula intera a patch perforato. In breve, registrazioni voltage-clamp di $I_{\Delta F508}$ sono state eseguite a temperatura ambiente usando un amplificatore patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). Tutte le

registrazioni sono state acquisite a una frequenza di campionamento di 10 kHz e filtrate a passo basso 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 inverso calcolato per Cl⁻(E_{Cl}) a temperatura ambiente era -28 mV. Tutte le registrazioni avevano una resistenza della guarnizione > 20 G Ω e una resistenza delle serie < 15 M Ω . La generazione di impulsi, l'acquisizione dei dati e l'analisi sono state eseguite usando un PC dotato di un'interfaccia Digidata 1320 A/D in associazione a Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Il bagno conteneva < 250 μ l di soluzione salina ed è stato perfuso continuamente a una velocità di 2 ml/min usando un sistema di perfusione azionato da gravità.

7. Identificazione dei composti di correzione

Per determinare l'attività dei composti di correzione per aumentare la densità di *F508del*-CFTR funzionale nella membrana plasmatica, abbiamo usato le tecniche di registrazione a patch perforato descritte sopra per misurare la densità di corrente dopo 24 ore di trattamento con i composti di correzione. Per attivare completamente *F508del*-CFTR, 10 μ M di forskolina e 20 μ M di genisteina sono stati aggiunti alle cellule. In queste nostre condizioni di registrazione, la densità di corrente dopo 24 ore di incubazione a 27°C era superiore a quella osservata dopo 24 ore di incubazione a 37°C. Questi risultati sono coerenti con gli effetti noti dell'incubazione a bassa temperatura sulla densità di *F508del*-CFTR nella membrana plasmatica. Per determinare gli effetti dei composti di correzione sulla densità di corrente del CFTR, le cellule sono state incubate con 10 μ M del composto di test per 24 ore a 37°C e la densità di corrente è stata paragonata ai controlli a 27°C e 37°C (% di attività). Prima della registrazione, le cellule sono state lavate 3X con mezzo di registrazione extracellulare per rimuovere qualsiasi composto di test restante. La preincubazione con 10 μ M dei composti di correzione aumentava significativamente la corrente dipendente dal cAMP e dalla genisteina rispetto ai controlli a 37°C.

8. Identificazione dei composti potenziatori

La capacità dei potenziatori di *F508del*-CFTR di aumentare la corrente di Cl⁻ di *F508del*-CFTR macroscopica (I_{AF508}) nelle cellule NIH3T3 esprimenti stabilmente *F508del*-CFTR è stata anche studiata usando tecniche di

registrazione a patch perforato. I potenziatori identificati dai saggi ottici suscitavano un aumento dose-dipendente di $I_{\Delta F508}$ con potenza ed efficacia simile osservate nei saggi ottici. In tutte le cellule esaminate, il potenziale inverso prima e durante l'applicazione di potenziatore era circa -30 mV, che è l' E_{Cl} calcolata (-28 mV).

9. Soluzioni

Soluzione intracellulare (in mM): Cs-aspartato (90), CsCl (50), MgCl₂ (1), HEPES (10), e 240 µg/ml di anfotericina-B (pH regolato a 7.35 con CsOH).

Soluzione extracellulare (in mM): N-metil-D-glucamina (NMDG)-Cl (150), MgCl₂ (2), CaCl₂ (2), HEPES (10) (pH regolato a 7.35 con HCl).

10. Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 esprimenti stabilmente *F508del*-CFTR sono usati per le registrazioni a cellula intera. Le cellule sono mantenute a 37°C in CO₂ al 5% e umidità al 90% in terreno di Eagle modificato da Dulbecco integrato con 2 mM di glutammina, 10% di siero fetale bovino, 1 X NEAA, β-ME, 1 X pen/strep, e HEPES 25 mM in beute da coltura da 175 cm². Per le registrazioni a cellula intera, 2.500 – 5.000 cellule sono state seminate su coprivetrini in vetro rivestito di poli-L-lisina e coltivate per 24 - 48 ore a 27°C prima dell'uso per testare l'attività dei potenziatori; e incubate con o senza il composto di correzione a 37°C per misurare l'attività dei correttori.

11. Registrazioni a singolo canale

L'attività a singolo canale del *F508del*-CFTR corretto per la temperatura stabilmente espresso nelle cellule NIH3T3 e le attività dei composti potenziatori sono state osservate usando patch di membrana escissa al rovescio. In breve, le registrazioni voltage-clamp dell'attività a singolo canale sono state eseguite a temperatura ambiente con un amplificatore patch-clamp Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). Tutte le registrazioni sono state acquisite a una frequenza di campionamento di 10 kHz e filtrate a passo basso a 400 Hz. Le pipette per il patch 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 della soluzione extracellulare. Il *F508del*-CFTR è

stato attivato dopo l'escissione aggiungendo 1 mM Mg-ATP, e 75 nM della protein chinasi dipendente da cAMP, subunità catalitica (PKA; Promega Corp. Madison, WI). Dopo che l'attività del canale si è stabilizzata, il patch è stato perfuso usando un sistema di microperfusione azionato dalla gravità. Il flusso in entrata è stato posizionato adiacente al patch, determinando scambio completo della soluzione entro 1 - 2 sec. Per mantenere l'attività del *F508del*-CFTR durante la rapida perfusione, l'inibitore della fosfatasi aspecifico F⁻ (10 mM NaF) è stato aggiunto alla soluzione del bagno. In queste condizioni di registrazione, l'attività del canale rimaneva costante durante tutta la durata della registrazione patch (fino a 60 min). Le correnti prodotte dalla carica positiva che si sposta dalla soluzione intracellulare alla soluzione extracellulare (gli anioni si spostano nella direzione opposta) sono mostrate come correnti positive. Il potenziale della pipetta (V_p) è stato mantenuto a 80 mV.

L'attività del canale è stata analizzata dai patches di membrana contenenti ≤ 2 di canali attivi. Il numero massimo di aperture simultanee era determinato dal numero di canali attivi durante il corso di un esperimento. Per determinare l'ampiezza di corrente del singolo canale, i dati registrati da 120 sec di attività di *F508del*-CFTR sono stati filtrati "off-line" a 100 Hz e quindi usati per costruire istogrammi di ampiezza di tutti i punti che sono stati adattati con funzioni multigaussiane usando il programma Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. Francia). La corrente microscopica totale e la probabilità di apertura (P_o) sono state determinate da 120 sec di attività del canale. La P_o è stata determinata usando il programma Bio-Patch o dalla relazione $P_o = I/i(N)$, in cui I = corrente media, i = ampiezza di corrente del singolo canale, e N = numero di canale attivi nel patch.

12. Soluzioni

Soluzione extracellulare (in mM): NMDG (150), acido aspartico (150), CaCl₂ (5), MgCl₂ (2), e HEPES (10) (pH regolato a 7.35 con base Tris).

Soluzione intracellulare (in mM): NMDG-Cl (150), MgCl₂ (2), EGTA (5), TES (10), e base Tris (14) (pH regolato a 7.35 con HCl).

13. Coltura cellulare

Fibroblasti di topo NIH3T3 esprimenti stabilmente *F508del*-CFTR sono usati per registrazioni patch-clamp di membrana escissa. Le cellule sono mantenute a 37°C in CO₂ al 5% e umidità al 90% in terreno di Eagle

modificato da Dulbecco integrato con 2 mM glutammina, 10% di siero fetale bovino, 1 X NEAA, β -ME, 1 X pen/strep, HEPES e 25 mM in beute da coltura da 175 cm². Per le registrazioni del singolo canale, 2.500 – 5.000 cellule sono state seminate su coprivetrini in vetro rivestiti di poli-L-lisina e coltivate per 24 - 48 ore a 27°C prima dell'uso.

Usando le procedure descritte sopra, l'attività, ossia le EC50, del Composto 1 è stata misurata ed è mostrato nella Tabella 20.

Tabella 20.

| IC50/EC50 Bins: +++ <= 2.0 <= 5.0 < + | | |
|---|-------------|--------------------------|
| Percentuale di attività Bins: + <= 25.0 < ++ <= 100.0 < +++ | | |
| Comp. No. | EC50 Binned | Efficacia massima Binned |
| 1 | +++ | +++ |

RIVENDICAZIONI

1. Procedimento continuo per preparare una compressa comprendente il Composto 1 comprendente i passaggi di:

- a) miscelare il Composto 1, un riempitivo, e un disintegrante in un miscelatore per formare una miscela;
- b) preparare una soluzione di granulazione con acqua, un legante, e un tensioattivo;
- c) alimentare la miscela dal passaggio a) in un granulatore continuo a doppia coclea aggiungendo al contempo la soluzione di granulazione dal passaggio b) per produrre granuli;
- d) essiccare i granuli dal passaggio c) e macinarli;
- e) miscelare i granuli macinati dal passaggio d) con un riempitivo, un disintegrante, e un lubrificante per formare una miscela; e
- f) comprimere la miscela dal passaggio e) in una compressa;

in cui il Composto 1 è acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico.

2. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il procedimento comprende inoltre il passaggio di rivestire la compressa del passaggio f).

3. Procedimento secondo la rivendicazione 2, in cui la compressa è rivestita con un film o un colorante.

4. Procedimento secondo la rivendicazione 1, la rivendicazione 2, o la rivendicazione 3, in cui il Composto 1 (acido 3-(6-(1-(2,2-difluorobenzod[1,3]diossol-5-il) ciclopropancarbrossammido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico) è nella forma I, in cui la Forma I è caratterizzata da uno o più picchi da 15,2 a 15,6 gradi, da 16,1 a 16,5 gradi, e da 14,3 a 14,7 gradi in una diffrazione ai raggi X delle polveri ottenuta usando radiazione Cu K alfa.

5. Procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, in cui la compressa comprende inoltre N-(5-idrossi-2,4-diterz-butil-fenil)-4-osso-1H-chinolin-3-carbossammide.

Figure 1

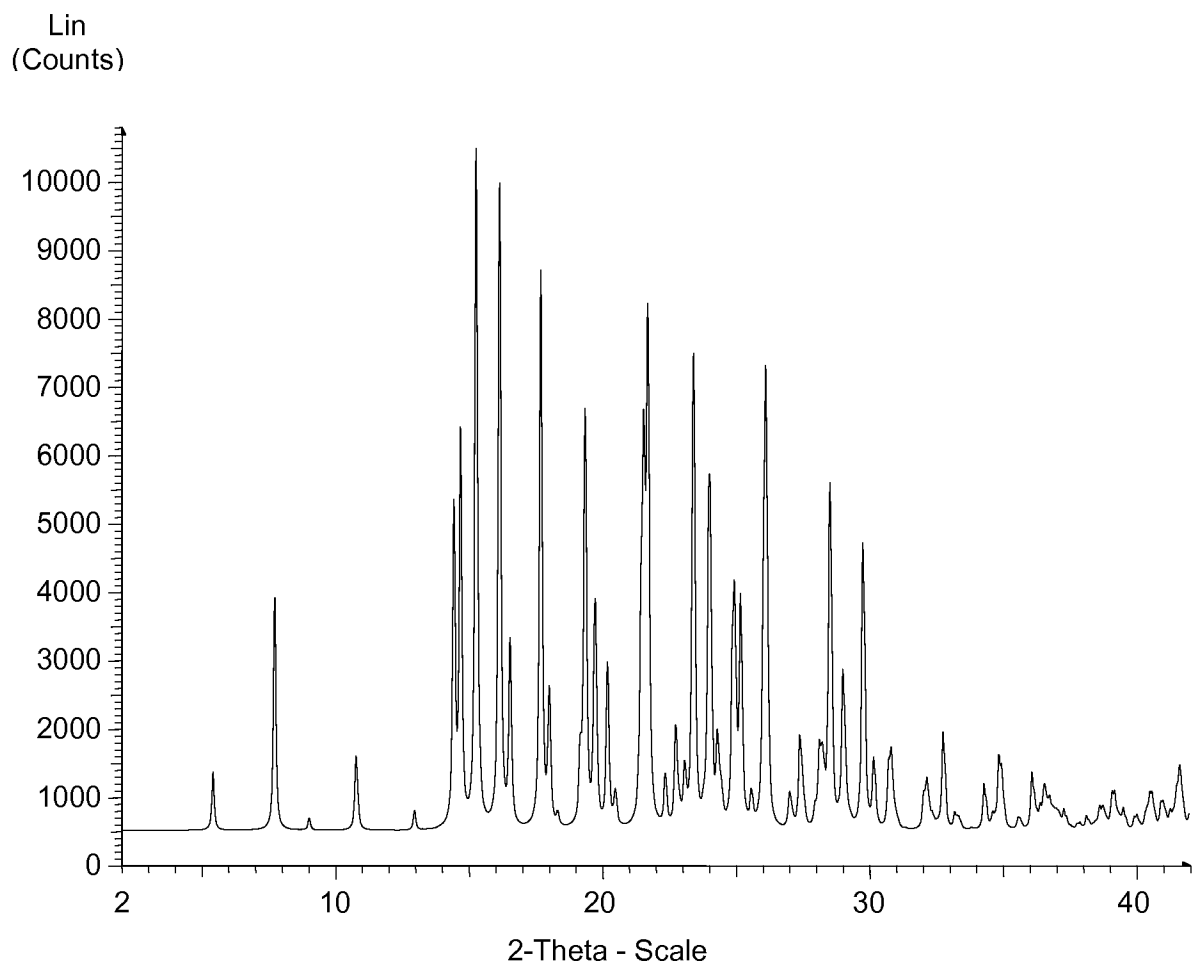


Figure 2

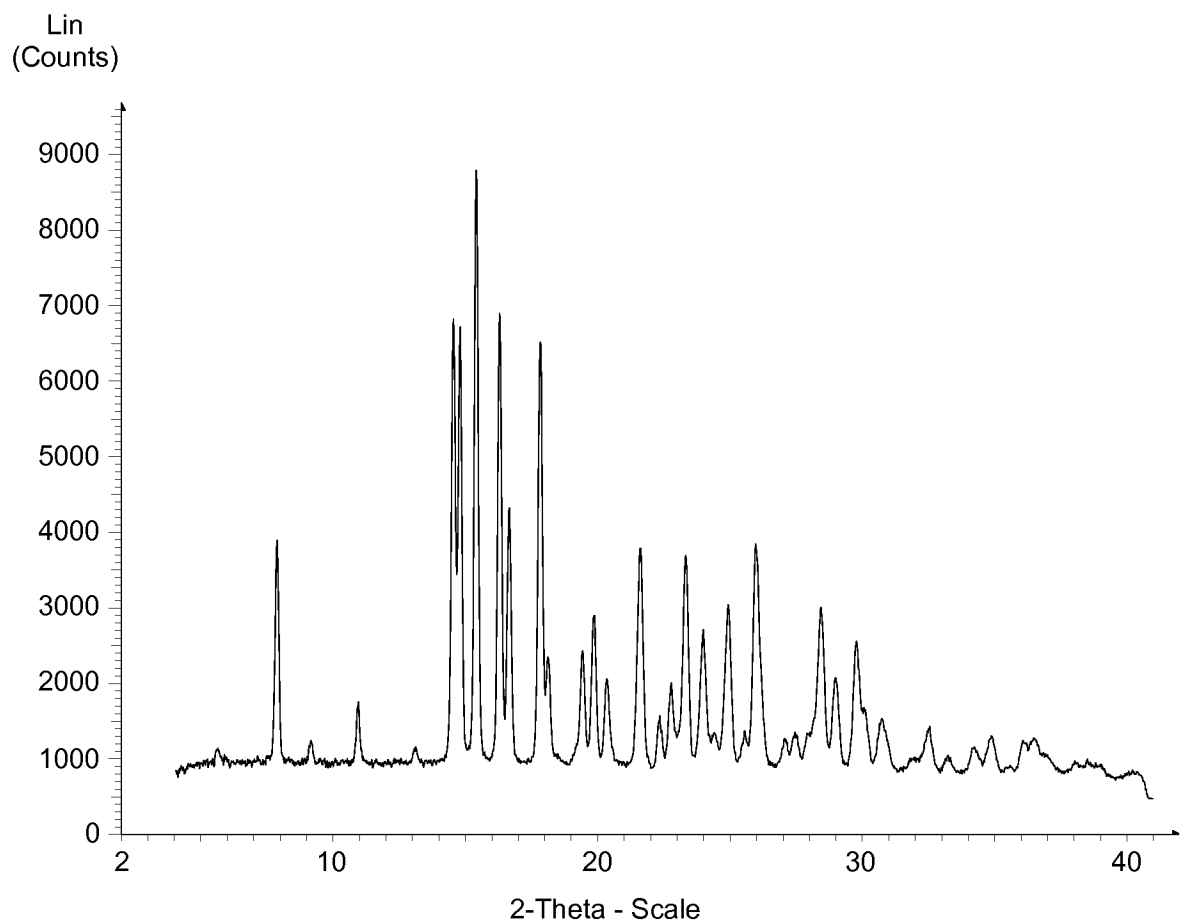


Figure 3

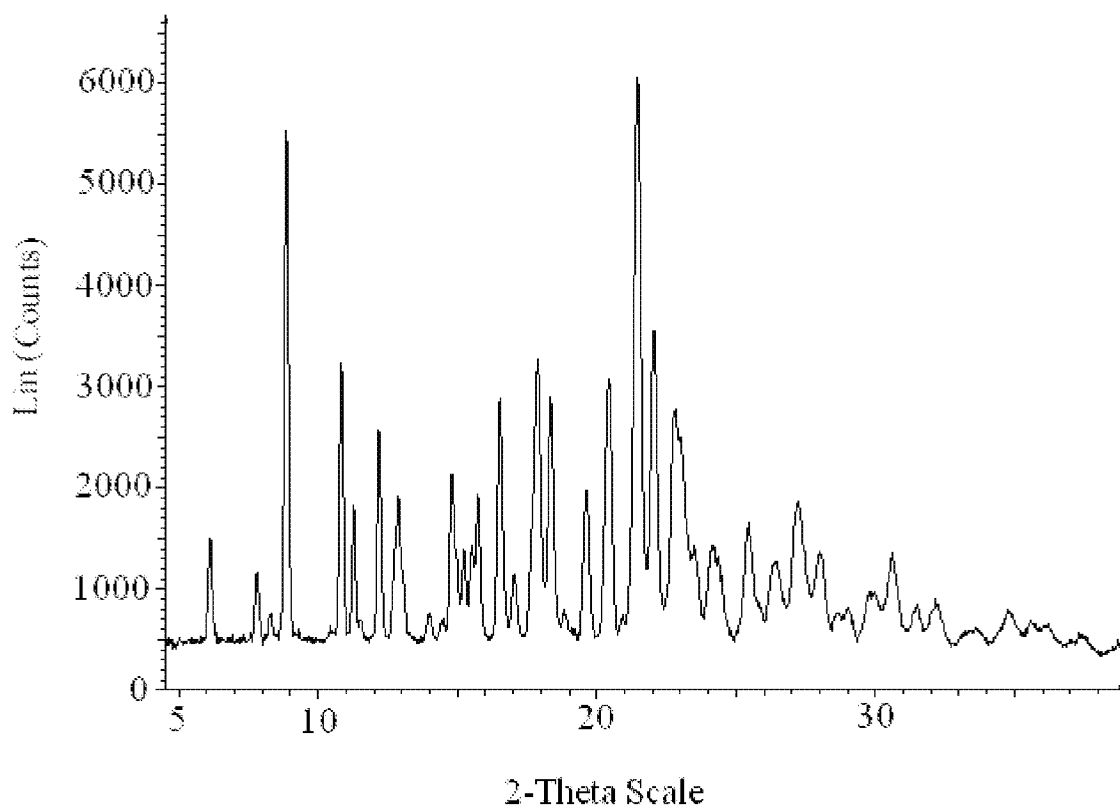


Figure 4

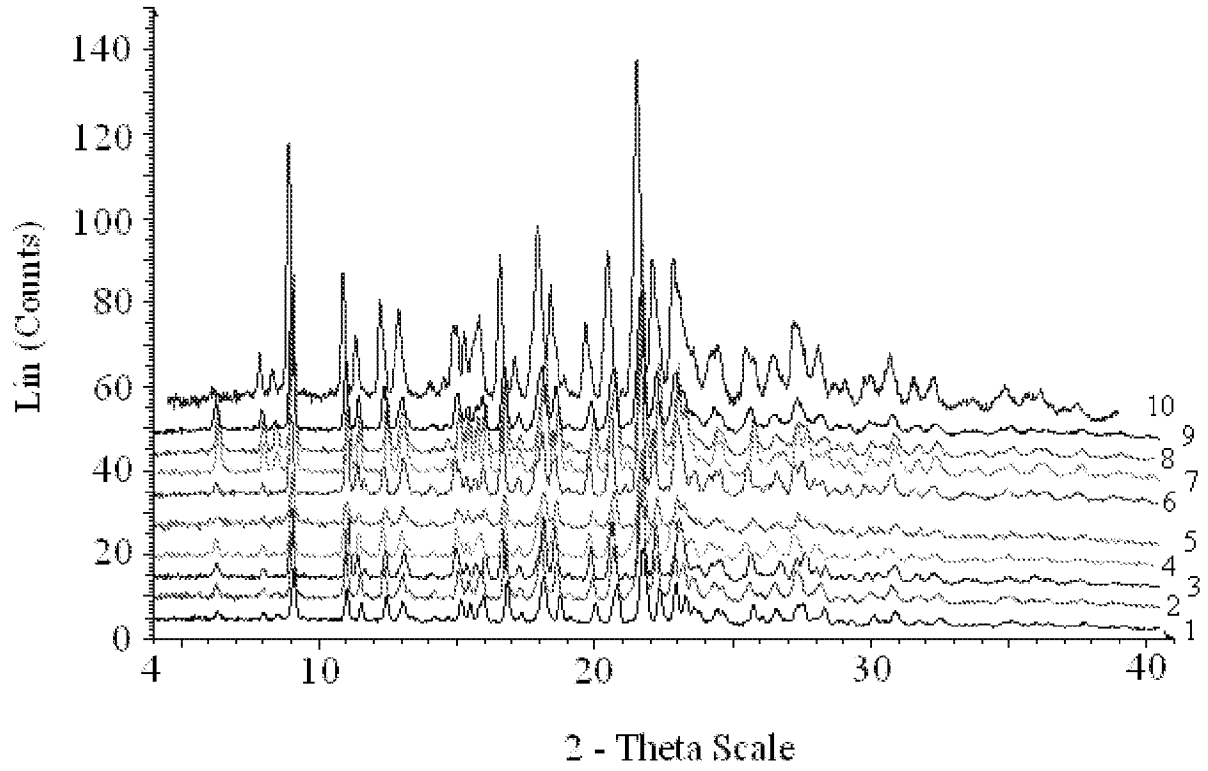


Figure 5

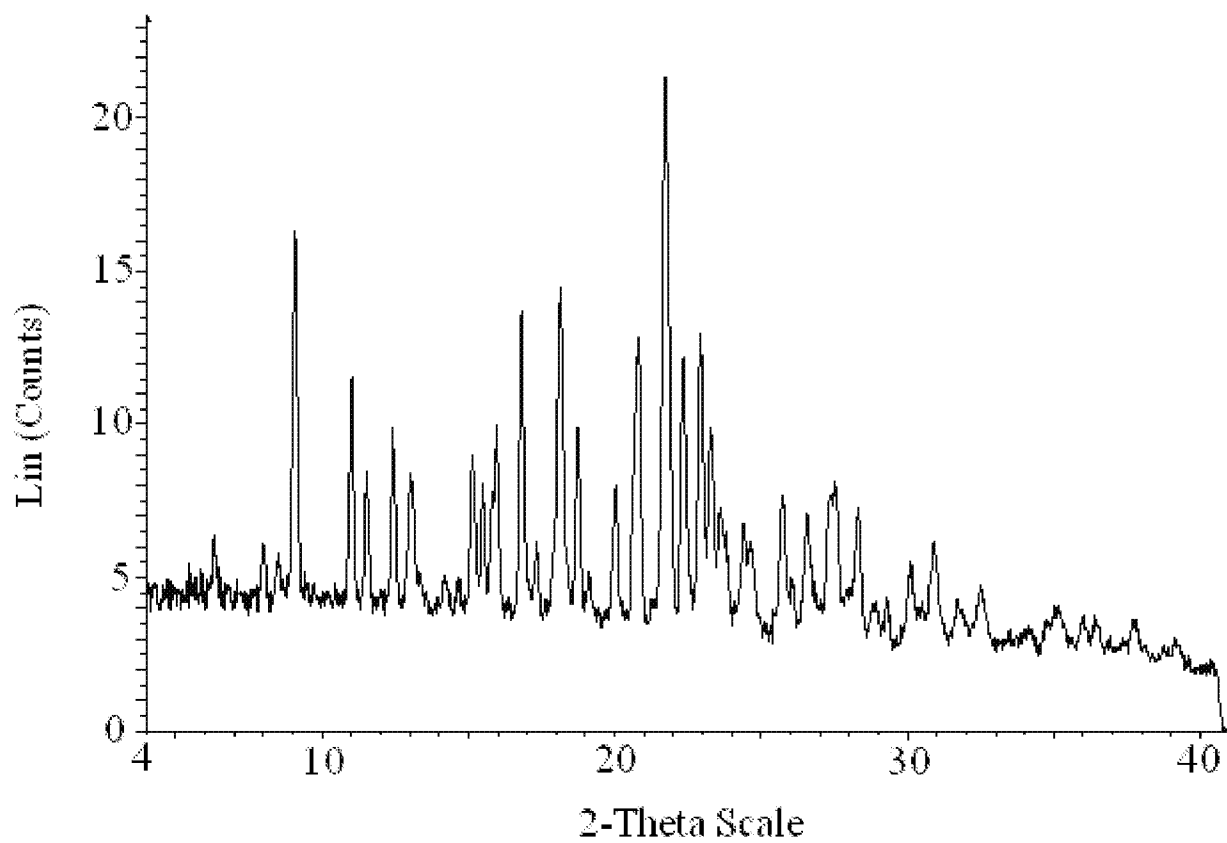


Figure 6

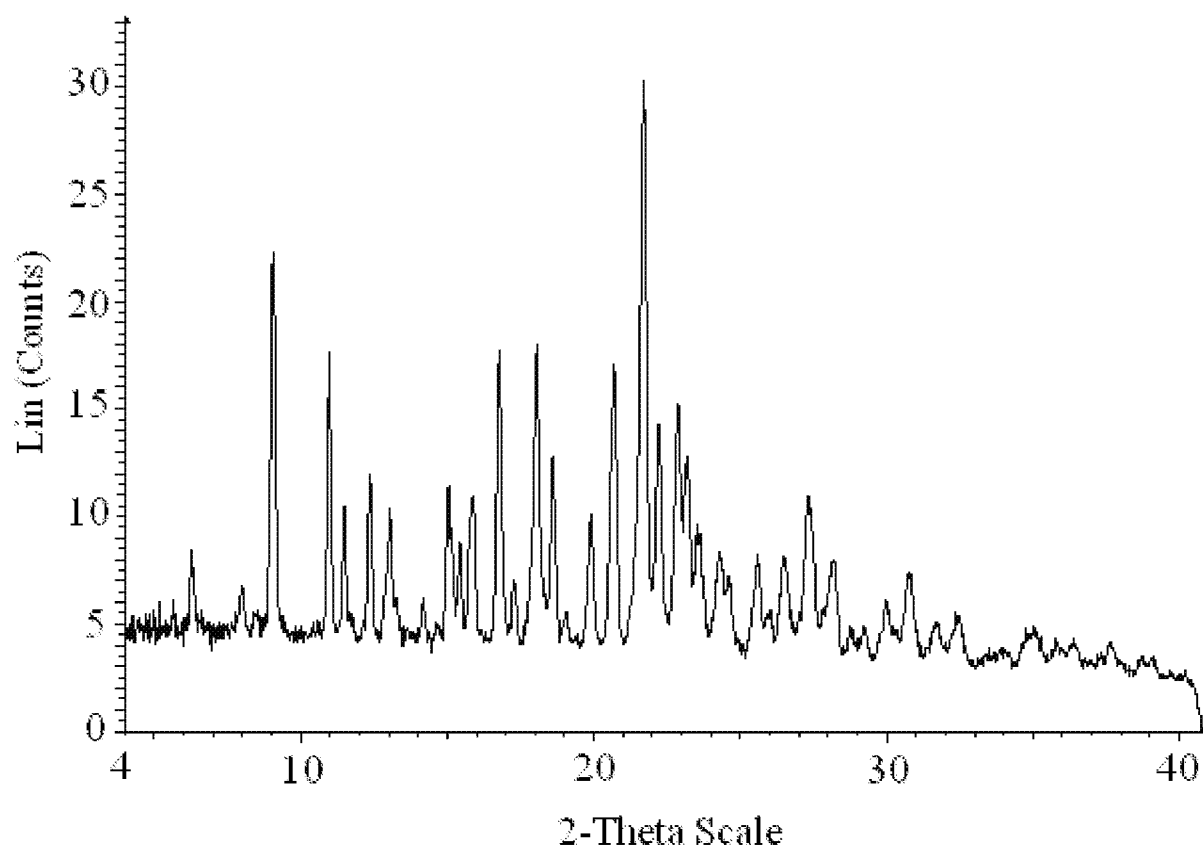


Figure 7

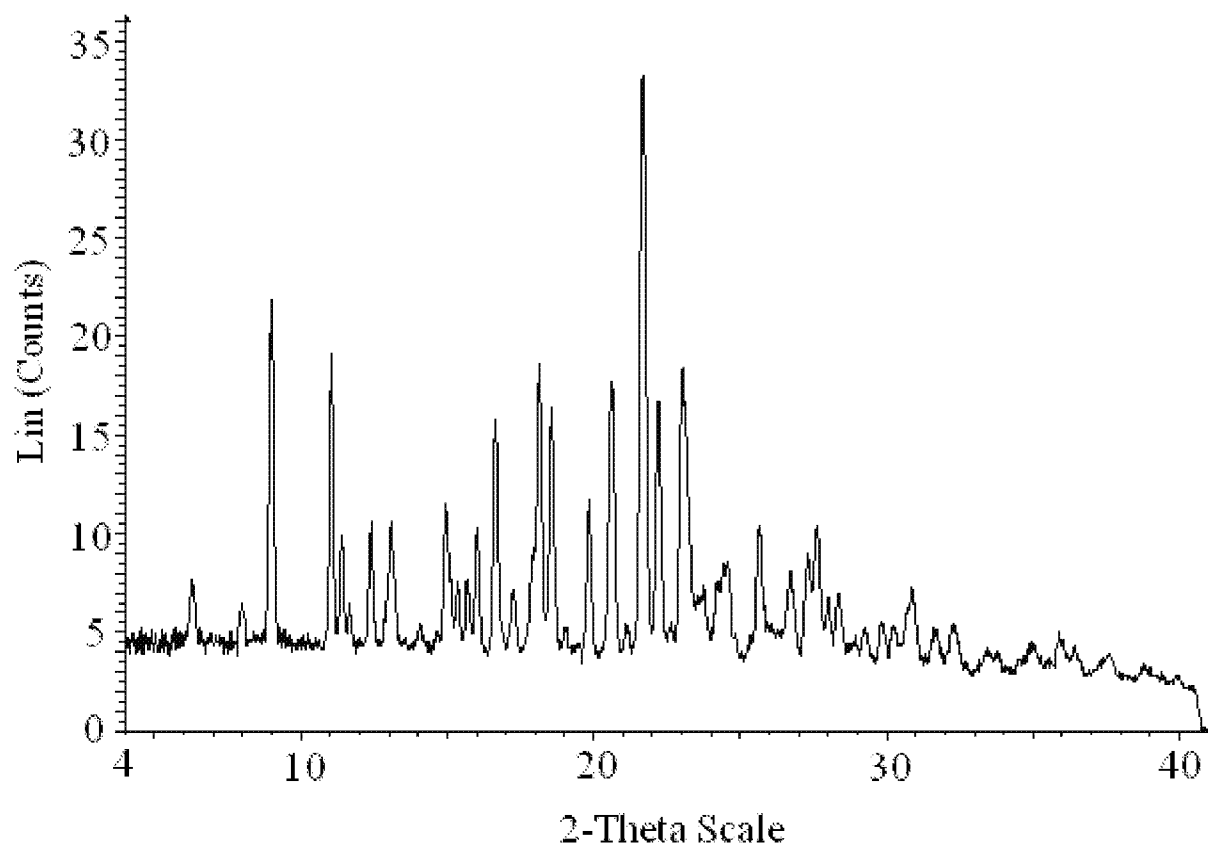


Figure 8

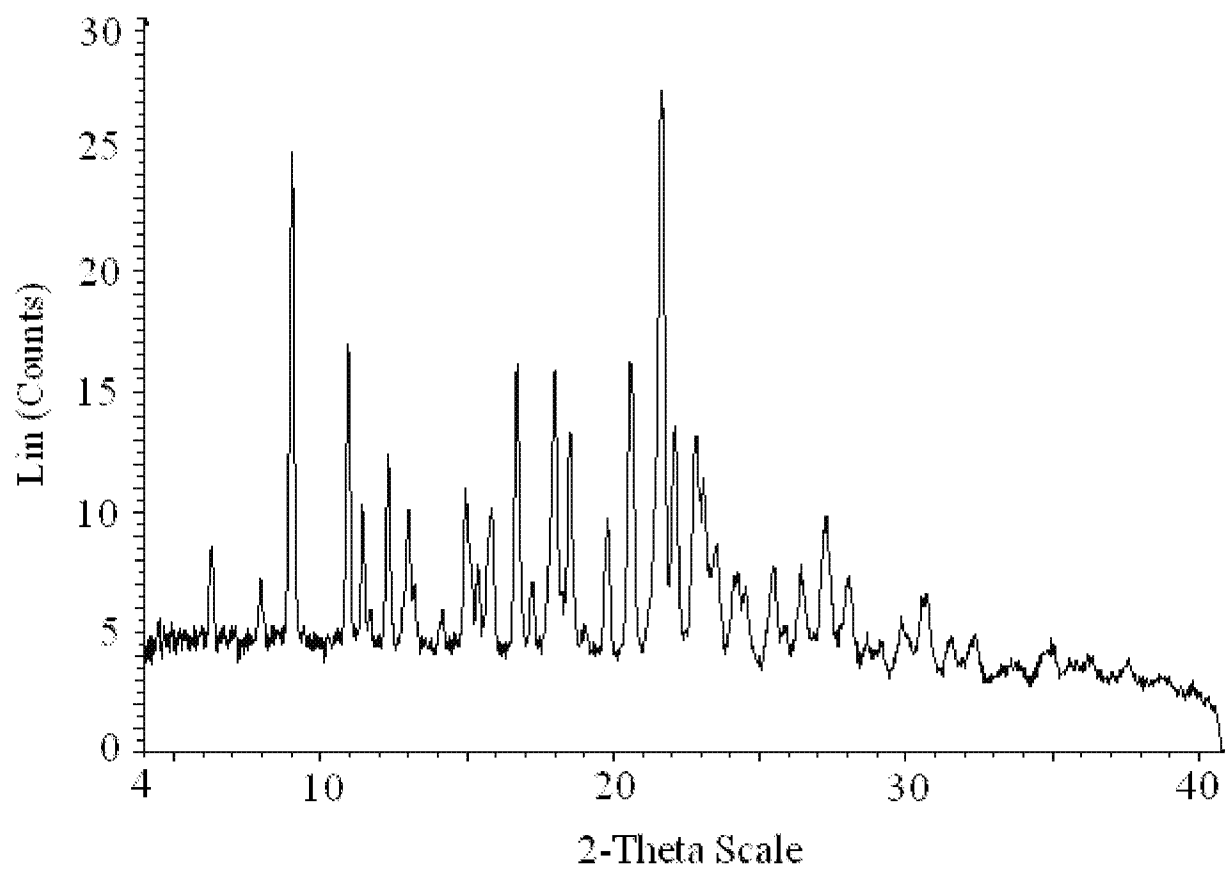


Figure 9

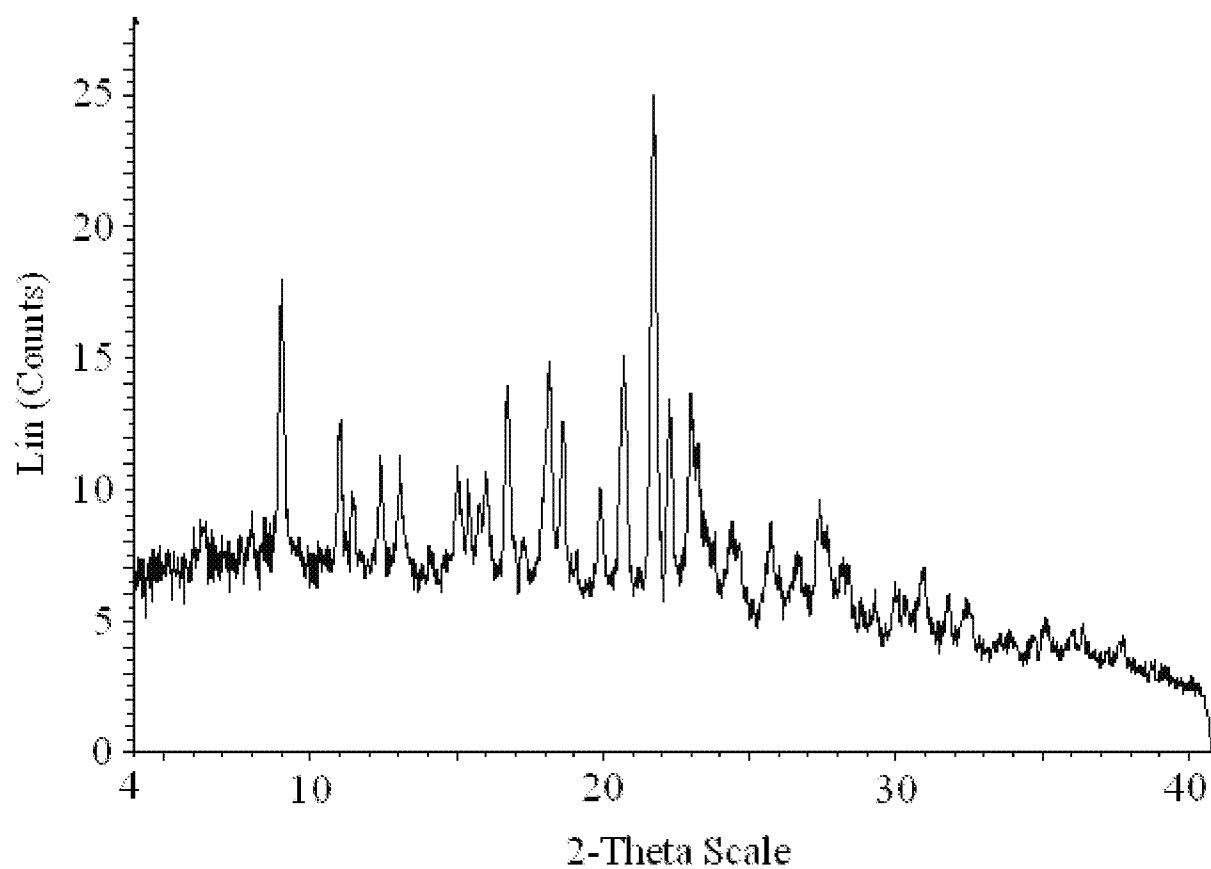


Figure 10

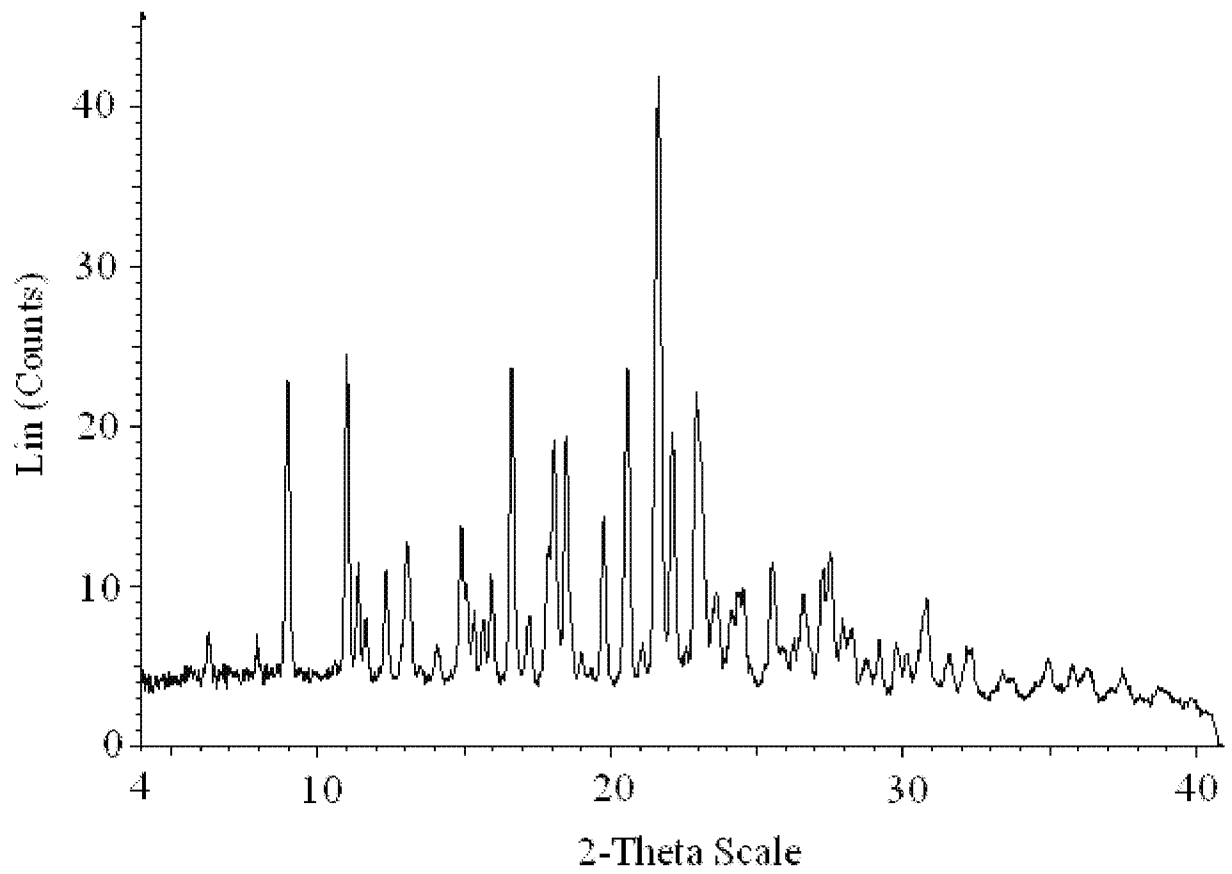


Figure 11

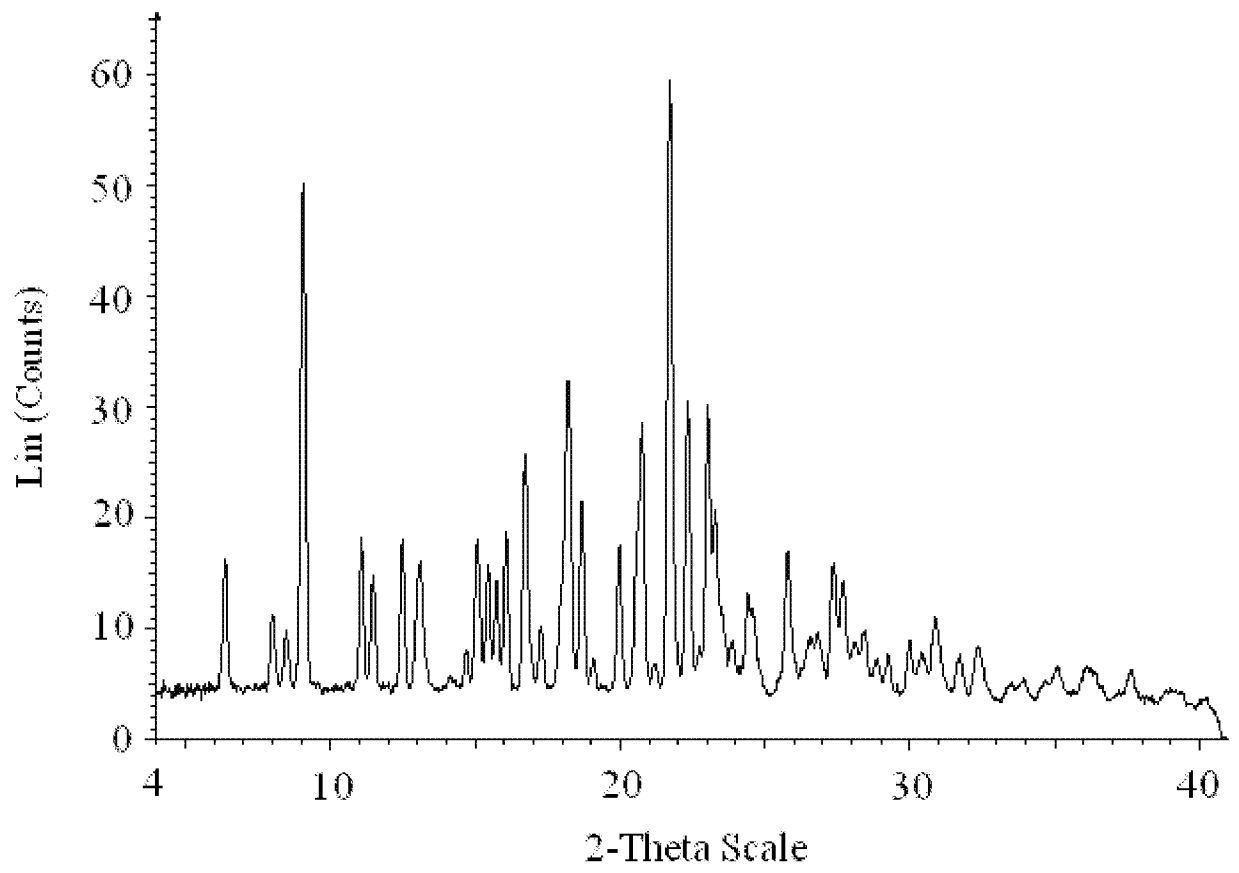


Figure 12

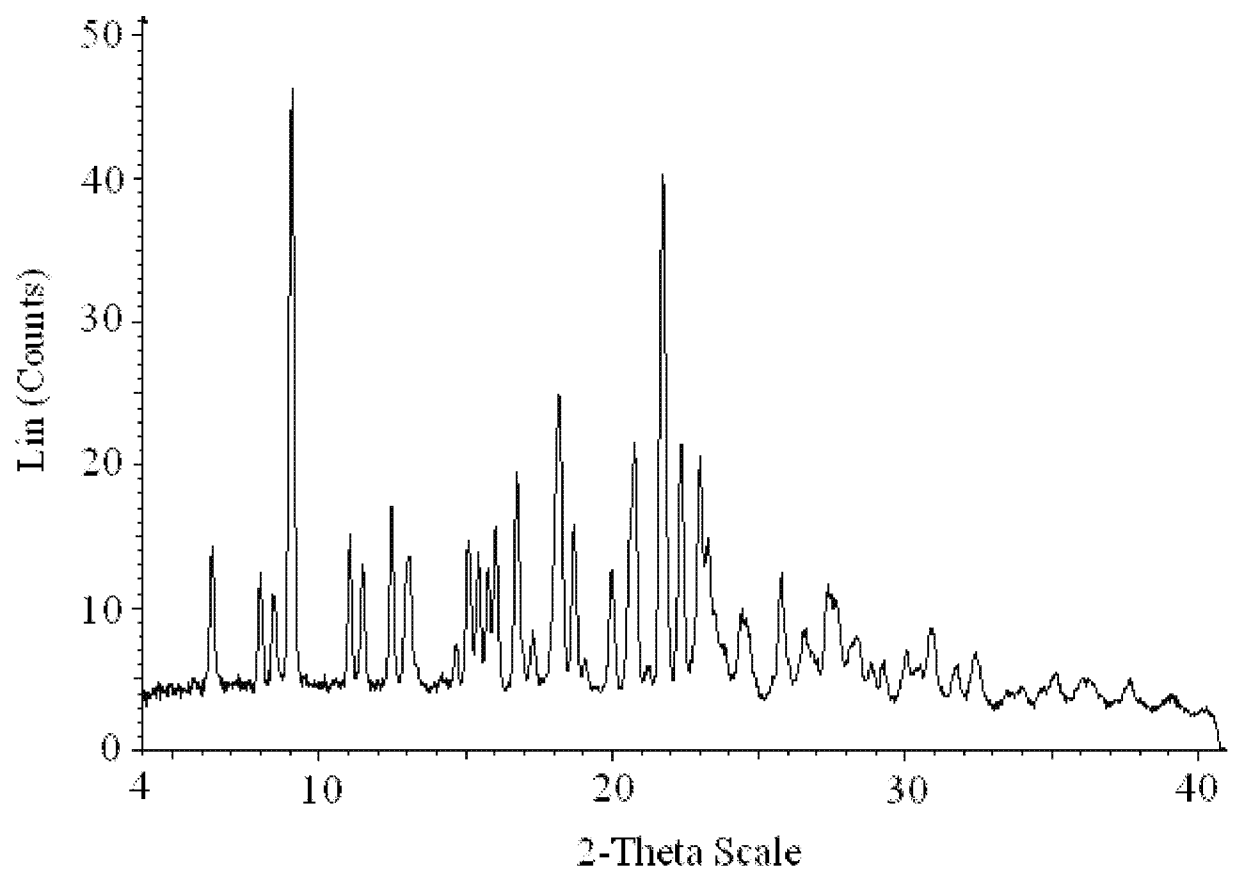


Figure 13

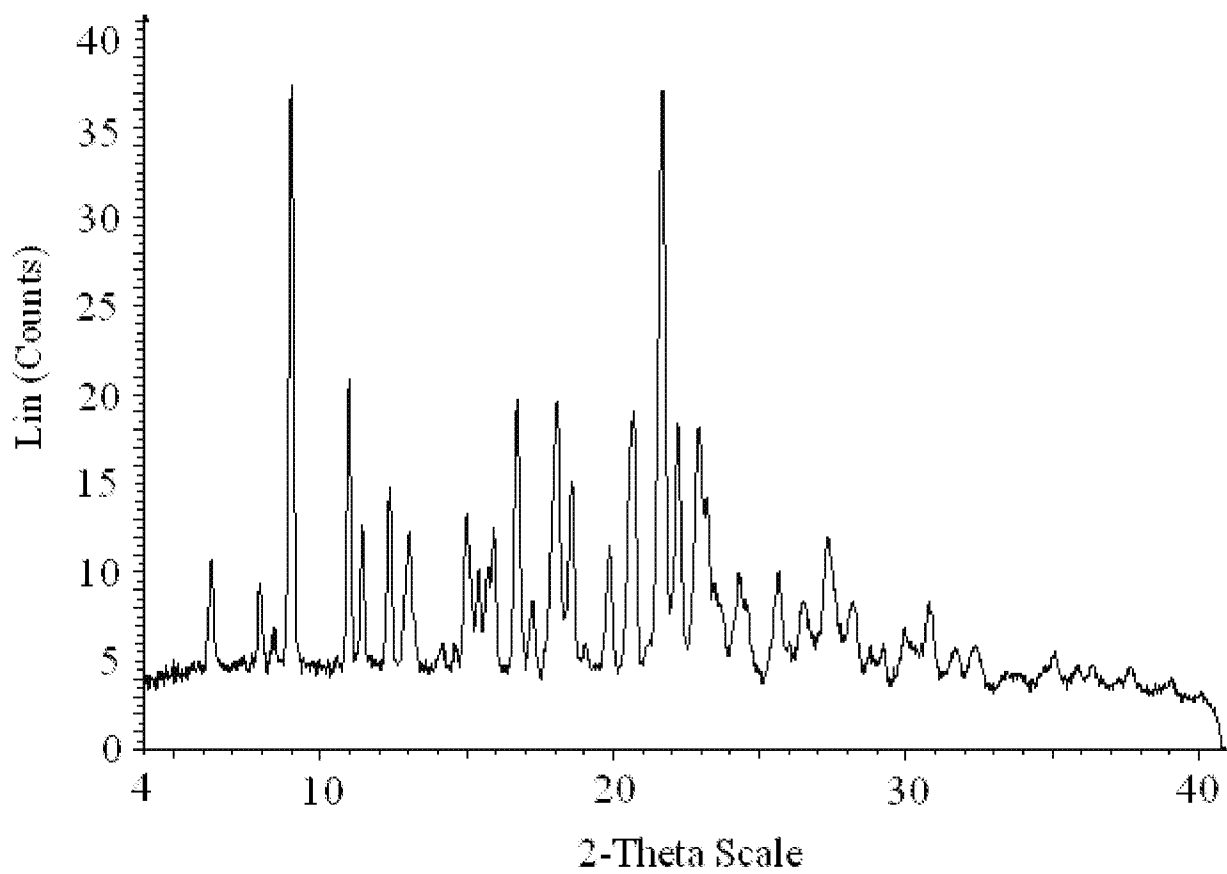


Figure 14

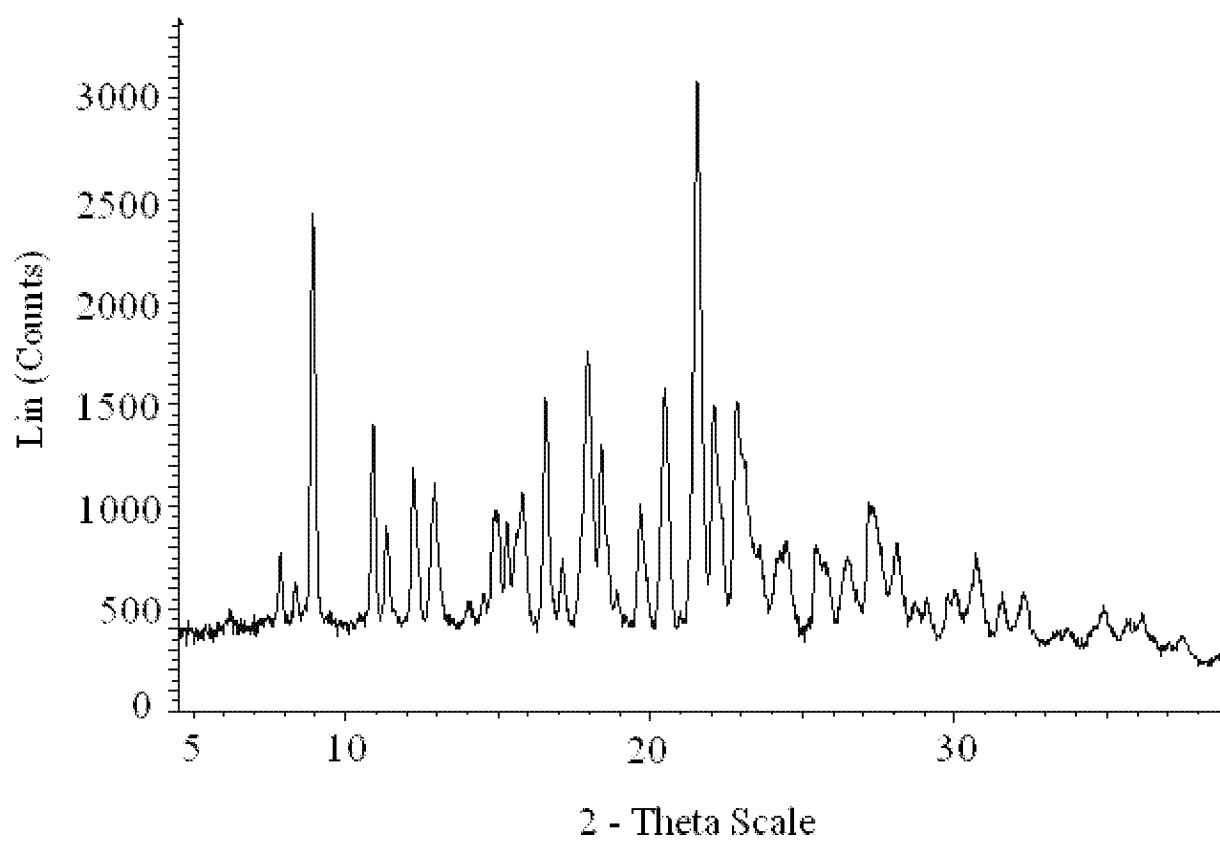


Figure 15

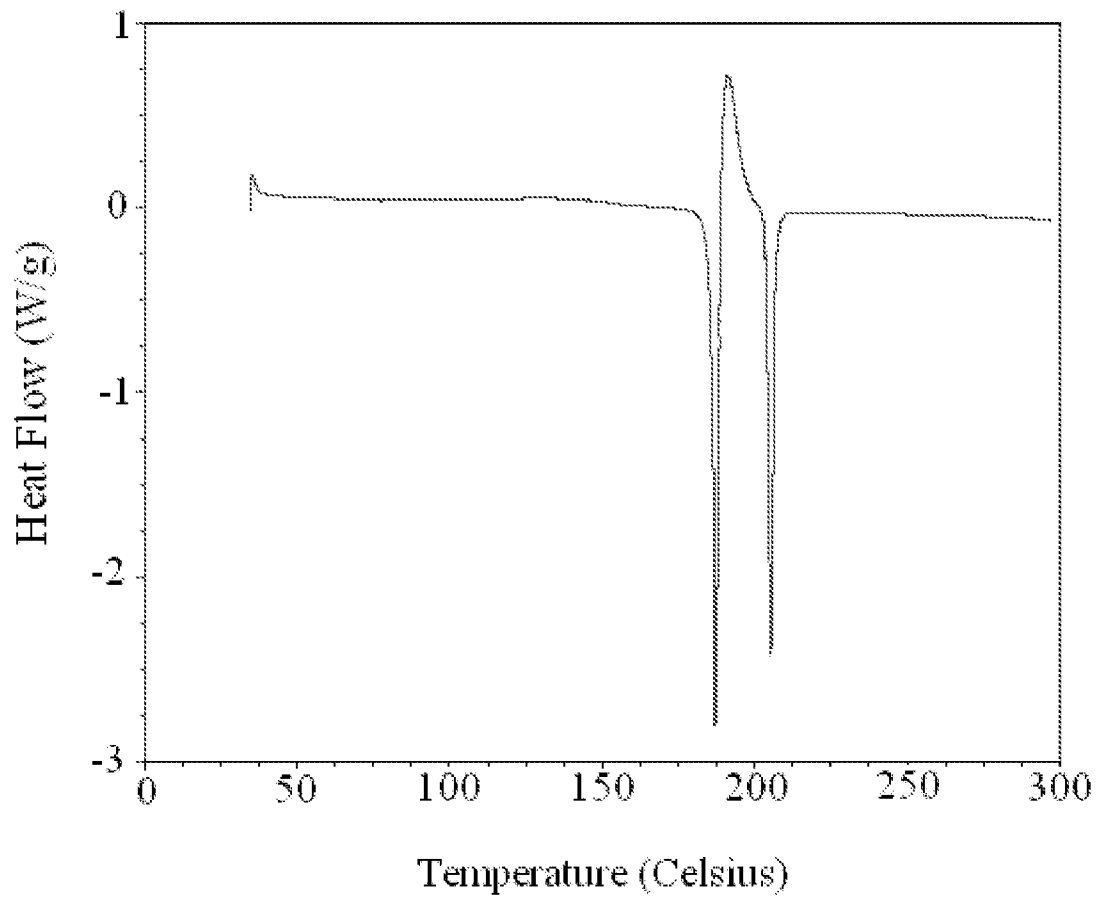


Figure 16

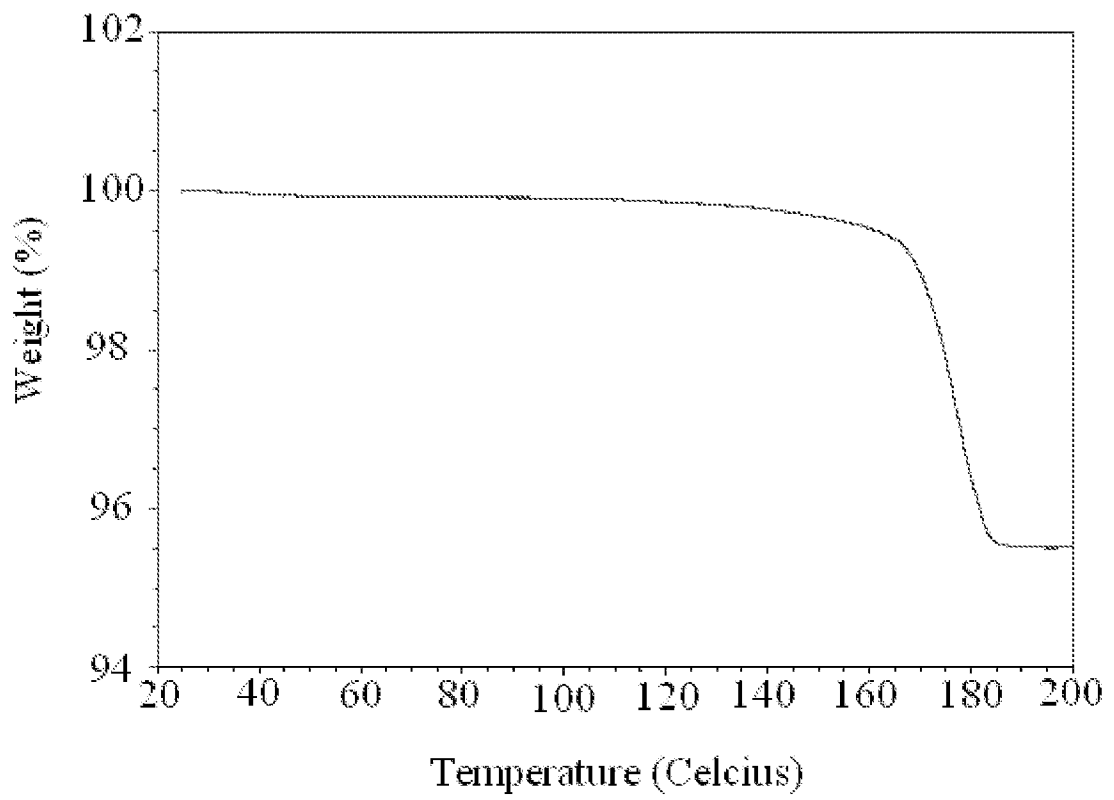


Figure 17

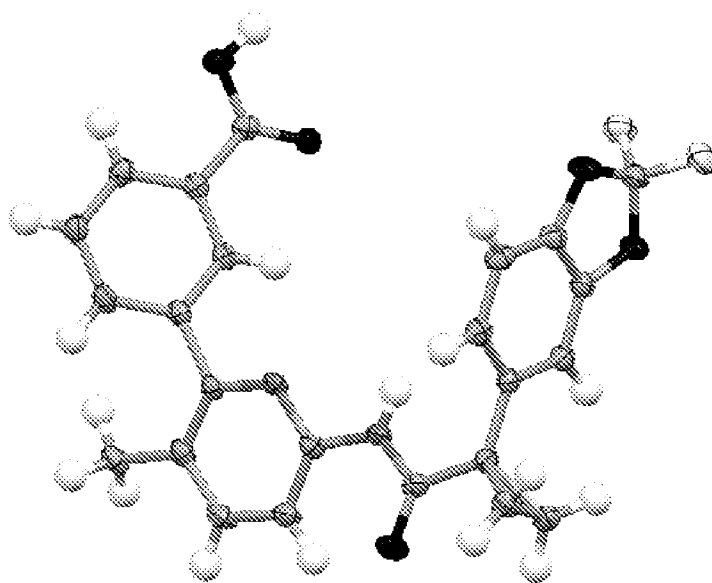


Figure 18

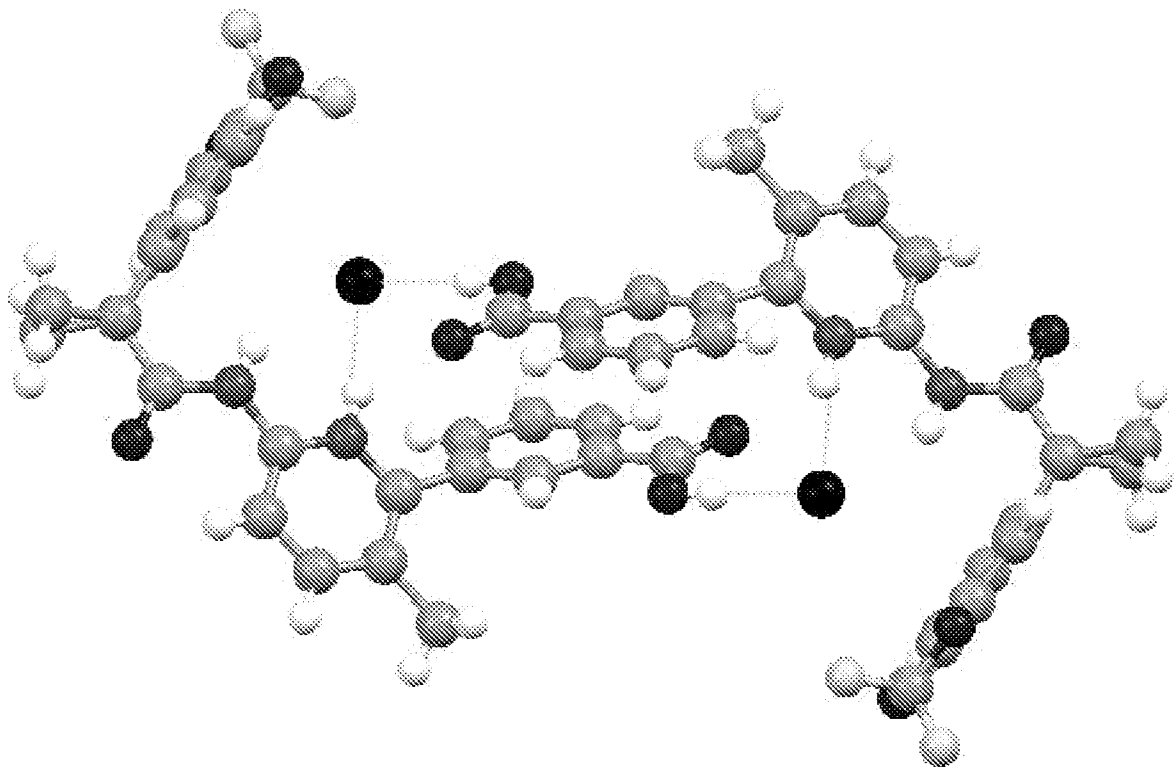


Figure 19

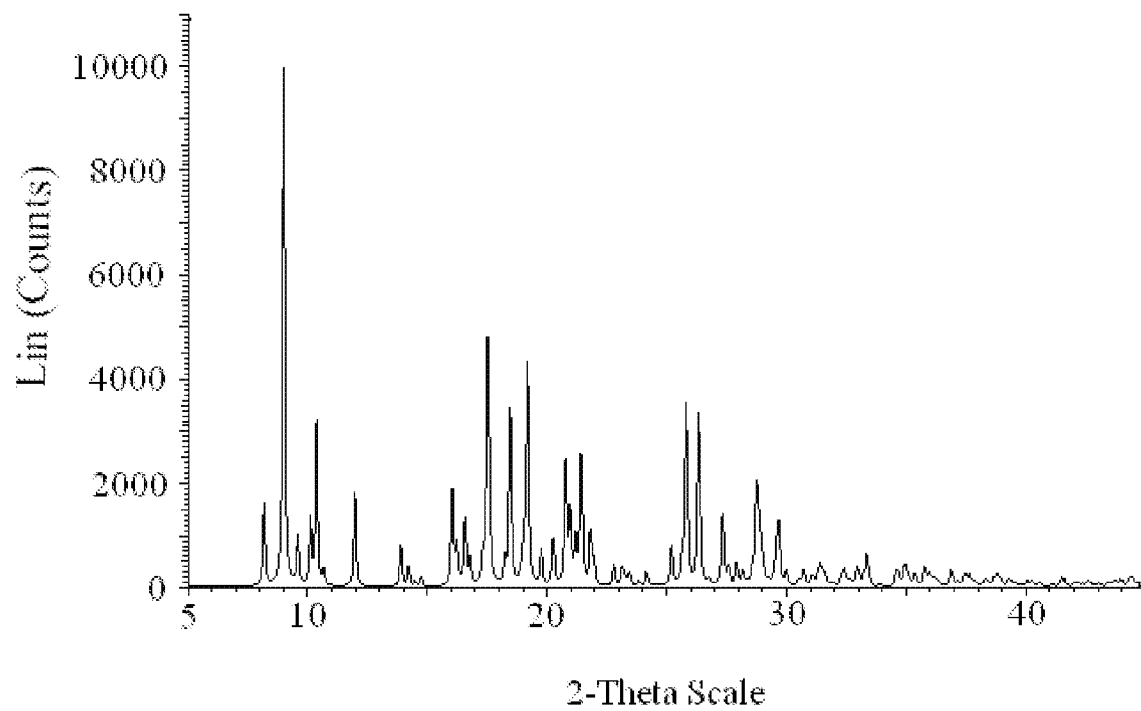


Figure 20

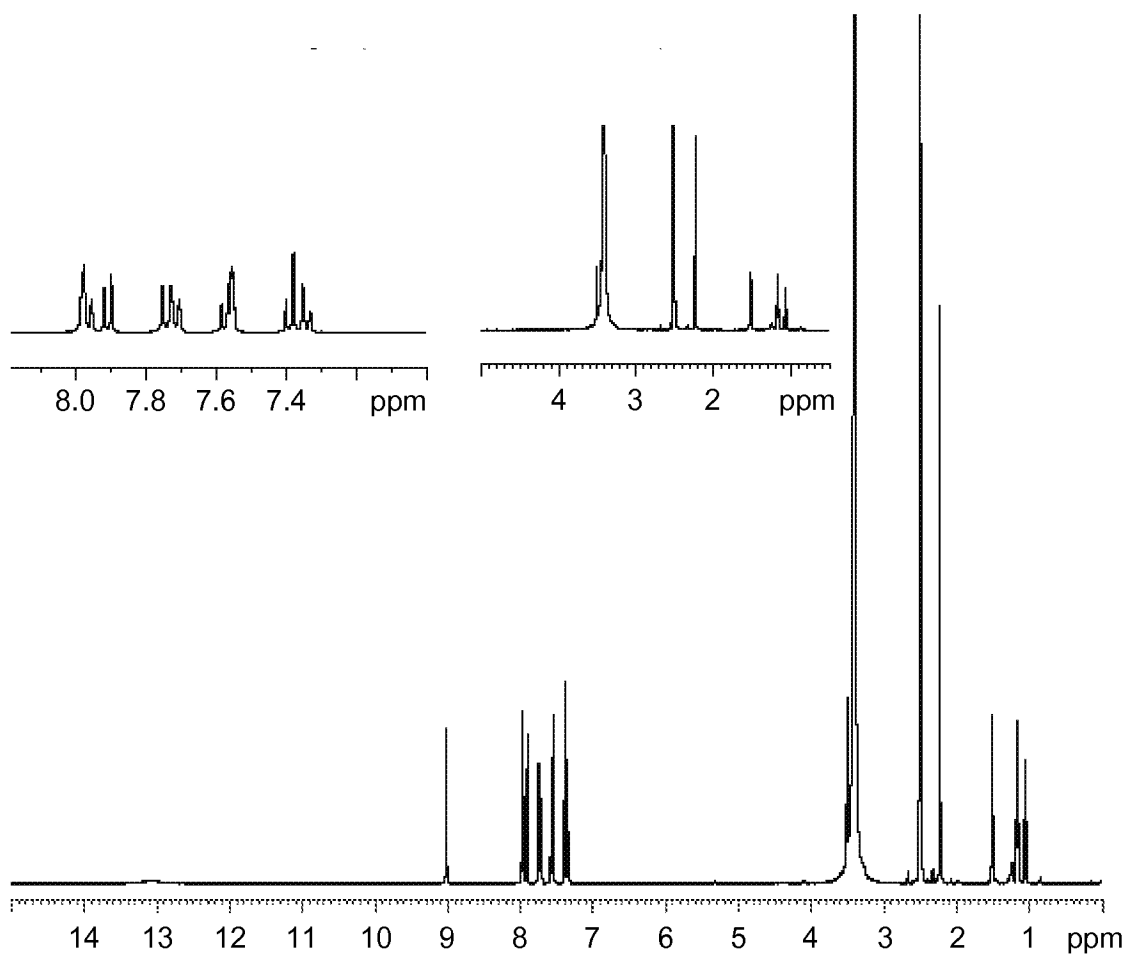


Figure 21

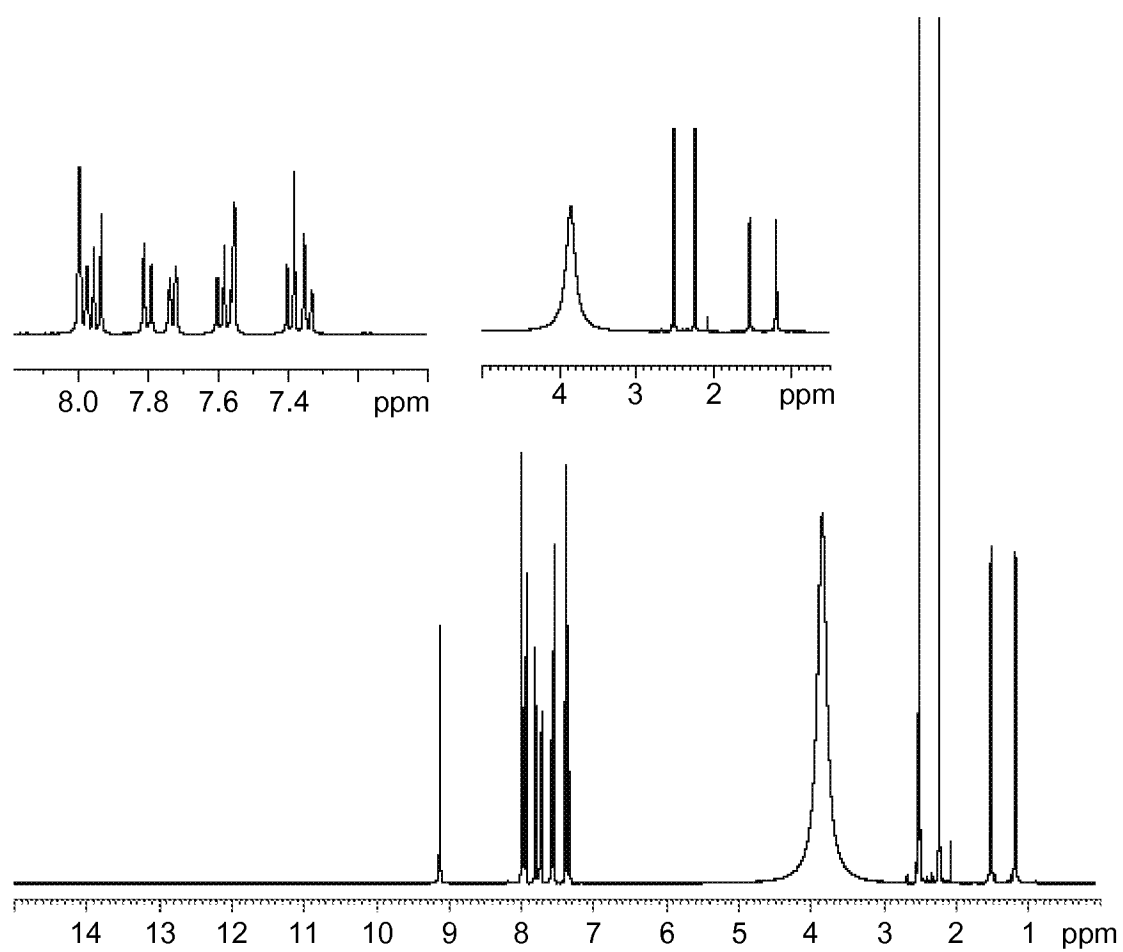


Figure 22

Heat Flow (W/g)

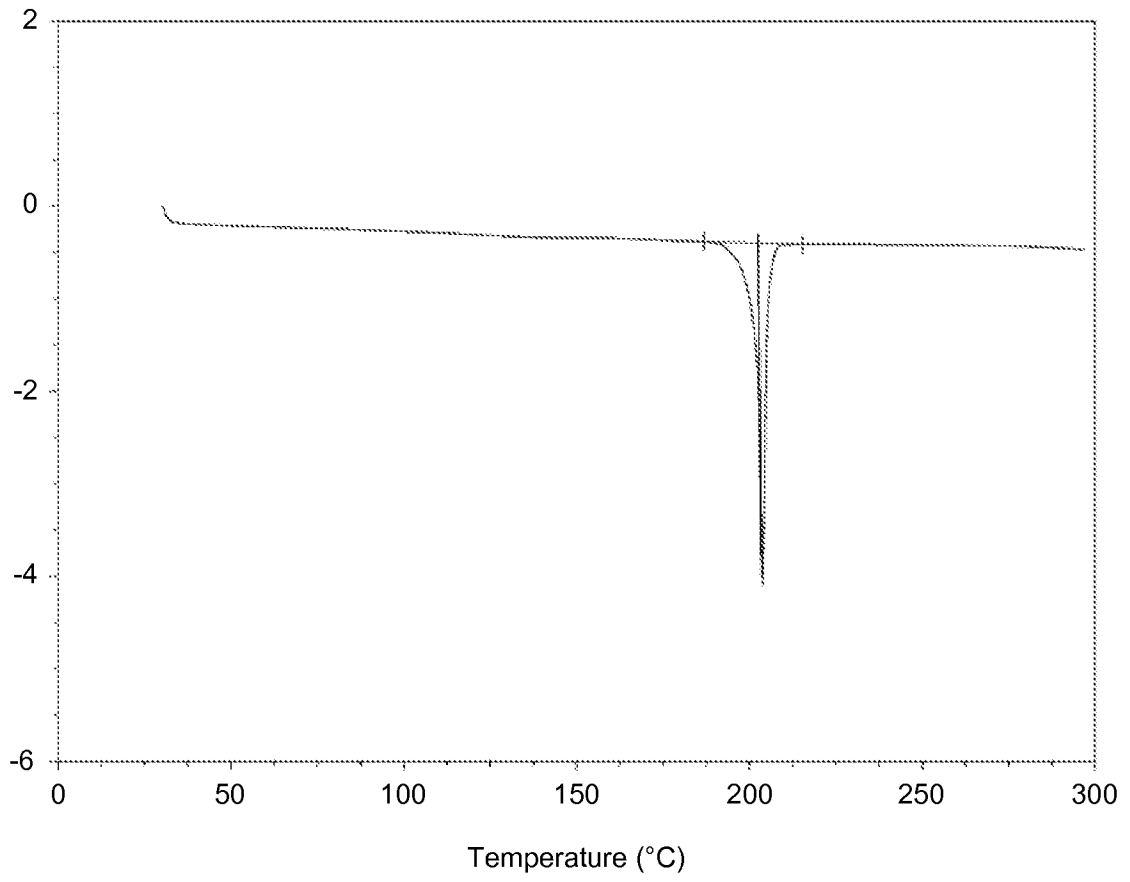


Figure 23

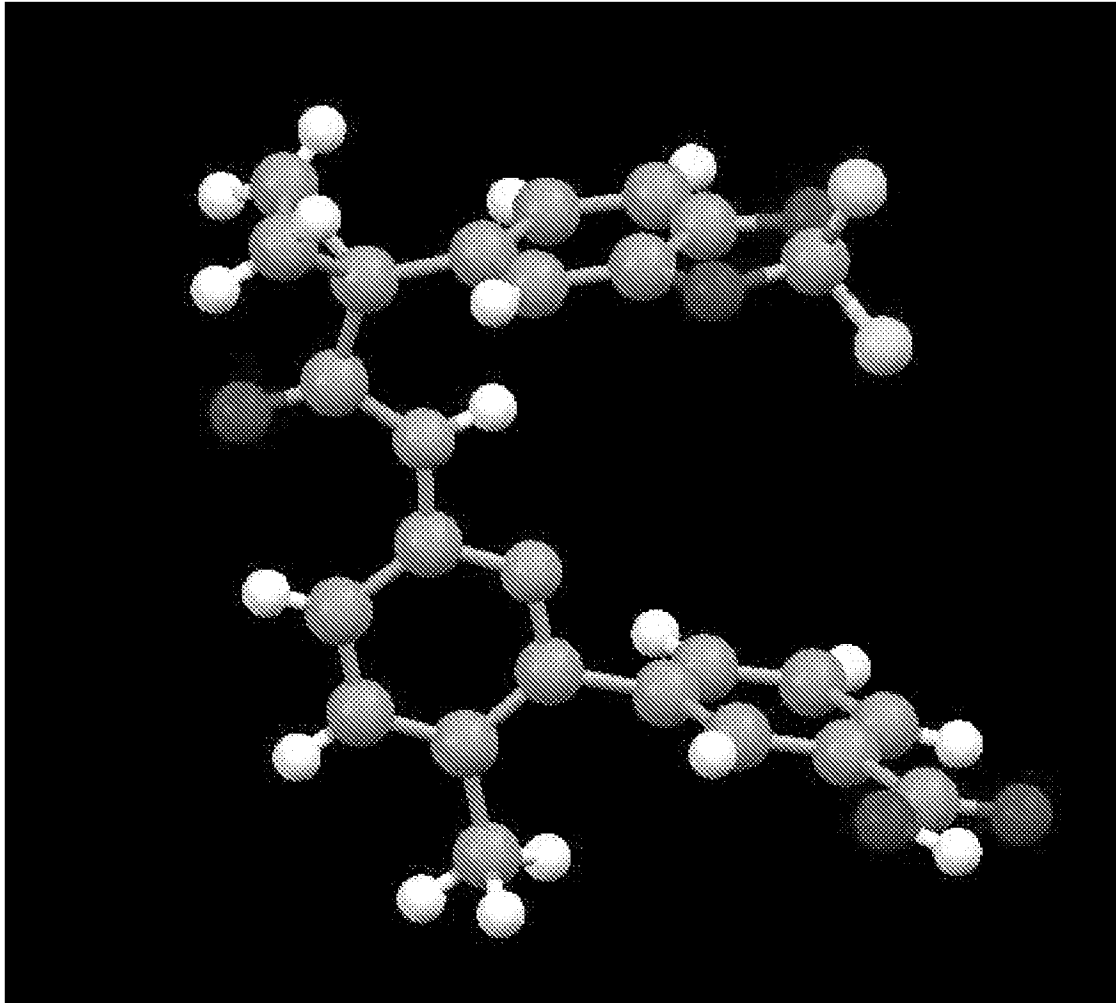


Figure 24

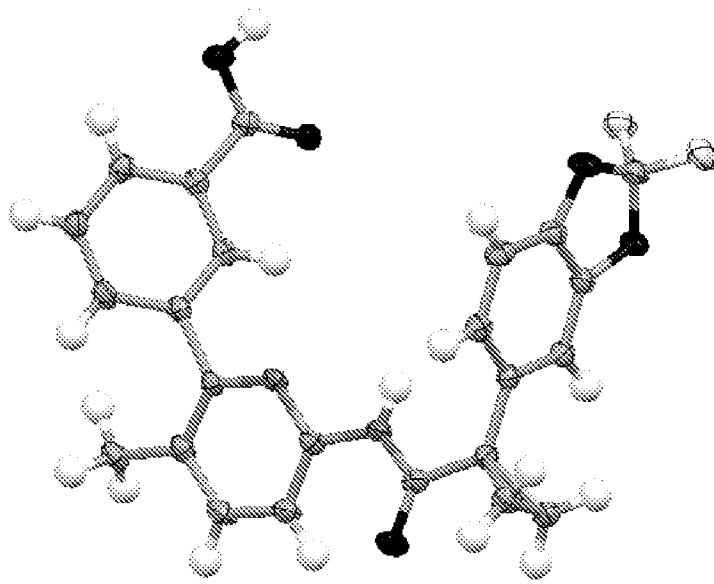


Figure 25

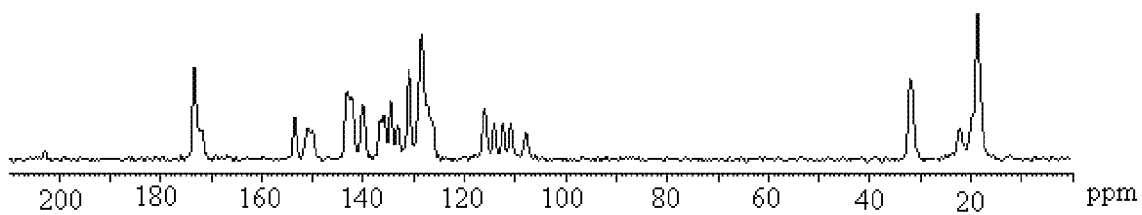


Figure 26

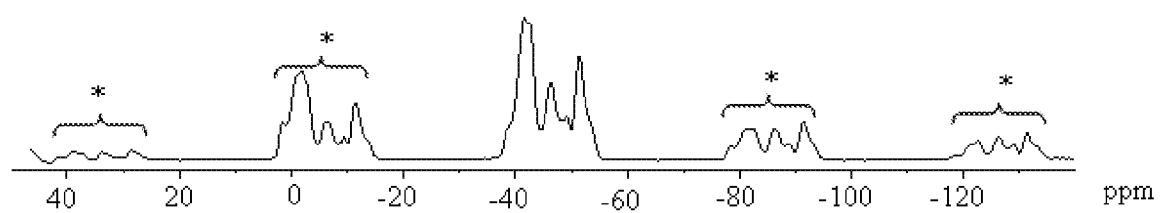


Figure 27

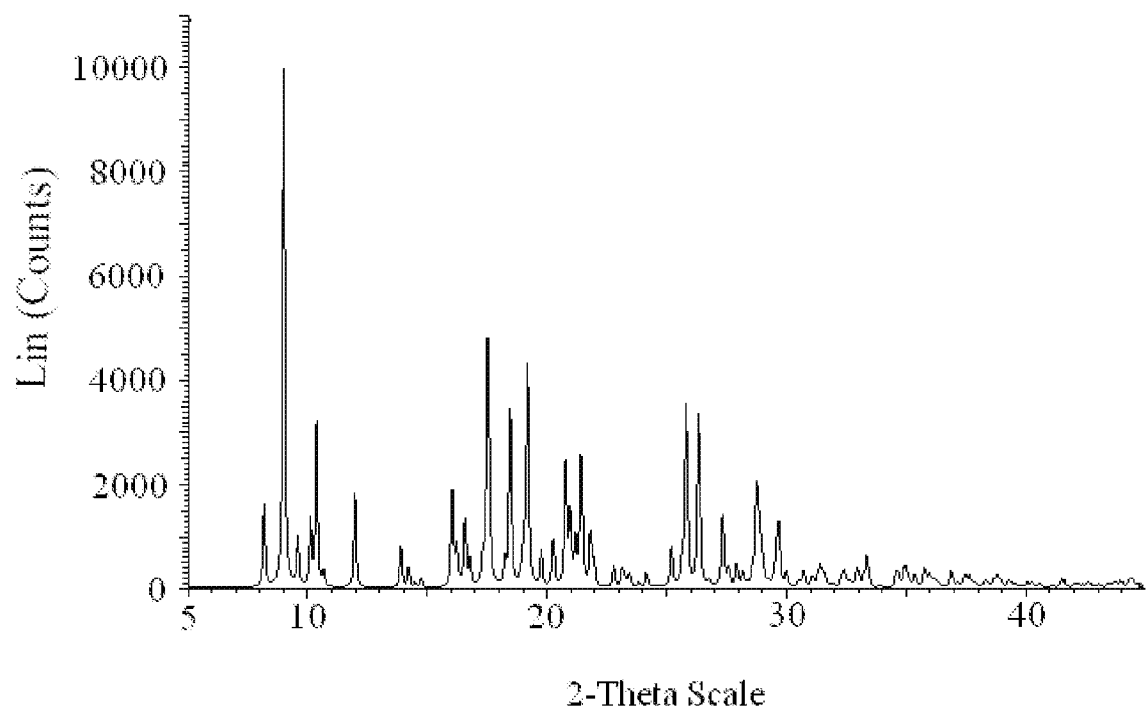
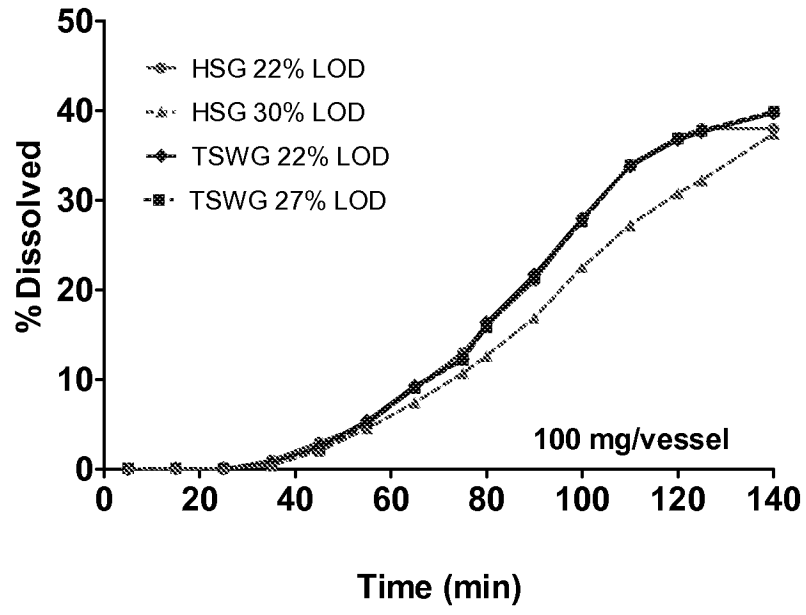


Figure 28



EX5314R - TRADUZIONE DELLE FIGURE

Figure 1-28

Figure: figura

| | |
|-----------------|---------------|
| FIG. 1 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 2 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 3 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 4 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 5 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 6 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 7 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 8 | |
| Counts | Impulsi |

| | |
|-----------------------|------------------------|
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 9 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 10 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 11 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 12 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 13 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 14 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 15 | |
| Heat Flow (W/g) | Flusso di calore (W/g) |
| Temperature (Celsius) | Temperatura (Celsius) |
| FIG. 16 | |
| Weight (%) | Peso (%) |
| Temperature (Celsius) | Temperatura (Celsius) |

| | |
|------------------|------------------------|
| FIG. 19 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 22 | |
| Heat Flow (W/g) | Flusso di calore (W/g) |
| Temperature (°C) | Temperatura (°C) |
| FIG. 27 | |
| Counts | Impulsi |
| 2-Theta - Scale | Scala 2-Theta |
| FIG. 28 | |
| % Dissolved | % dissolto |
| 100 mg/vessel | 100 mg/recipiente |
| Time (min) | Tempo (min) |