



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123631** (13) **C2**
(51) МПК (2021.01)**A61K 9/20** (2006.01)**A61K 31/443** (2006.01)**A61K 31/47** (2006.01)

A61P 11/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД****(21)** Номер заявки: **а 2018 03746****(22)** Дата подання
заявки: **01.11.2013****(24)** Дата, з якої є
чинними права
інтелектуальної
власності: **06.05.2021****(31)** Номер
попередньої
заявки відповідно
до Паризької
конвенції: **61/721,622,
61/728,328,
61/770,668,
61/824,005,
61/840,668****(32)** Дата подання
попередньої
заявки відповідно
до Паризької
конвенції: **02.11.2012,
20.11.2012,
28.02.2013,
16.05.2013,
28.06.2013****(33)** Код держави-
учасниці **US,**
Паризької
конвенції, до якої
подано
попередню
заявку: **US,**
US,
US,
US**(41)** Публікація
відомостей про
заявку: **25.09.2018, Бюл.№
18****(46)** Публікація
відомостей про
державну
реєстрацію: **05.05.2021, Бюл.№
18****(62)** Номер та дата
подання
попередньої
заявки, з якої
виділено заявку,
позначену кодом
(21): **,
а201505319,
01.11.2013****(72)** Винахідник(и):
**Вервейс Марінус Якобус (US),
Каркаре Радхіка (US),
Мур Майкл Дуглас (US)****(73)** Володілець (володільці):
**ВЕРТЕКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ ІНКОРПОРЕЙТЕД,
50 Northen Avenue, Boston, MA 02210, USA (US)****(74)** Представник:
Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367**(56)** Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2010/019239 A2 (VERTEX PHARMA [US]; ROWE
WILLIAM [US]; HURTER PATRICIA [US]), 18.02.2010
WO 2009/073757 A1 (VERTEX PHARMA [US];
KESHAVARZ-SHOKRI ALI [US]; ZHANG BEILI [US]),
11.06.2009
WO 2013/112804 A1 (VERTEX PHARMA [US];
VERWIJIS MARINUS JACOBUS [US]), 01.08.2013
BOYLE, MP ET AL., "VX-809, an investigational CFTR
corrector, in combination with VX-770, an investigational
CFTR potentiator, in subjects with CF and homozygous
for the F508del-CFTR mutation", PEDIATRIC
PULMONOLOGY, (20111001), vol. 46, no. S34, ISSN
1099-0496, page 287
"Study of VX-809 Alone and in Combination With VX-770
in Cystic Fibrosis (CF) Patients Homozygous for the
F508del-CFTR Mutation", INTERNET CITATION,
(201103), pages 1 - 4, URL:
http://clinicaltrials.gov/archive/NCT01225211/2011_03_01,
(20120726)
UA a201202733 C2, 11.06.2012**(54) ФАРМАЦЕВТИЧНІ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ОПОСЕРЕДКОВАНИХ
ТРАНСМЕМБРАННИМ РЕГУЛЯТОРОМ МУКОВІСЦИДОЗУ CFTR****(57) Реферат:**

Розкрито фармацевтичну композицію, яка включає 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойну кислоту (Сполука 1) у Формі I і

UA 123631 C2

тверду дисперсію, що включає в основному аморфний N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1H-хінолін-3-карбоксамід (Сполука 2), способи лікування, зменшення тяжкості або симптоматичне лікування захворювань, опосередкованих CFTR, таких як муковісцидоз, способи виробництва, способи введення і їхні набори.

Перехресне посилання на споріднені заявки

Дана заявка вимагає пріоритет за попередніми заявками на: патент США № 61/721,622, поданою 2 листопада 2012 р., № 61/728,328, поданою 20 листопада 2012 р.; № 61/770,668, поданою 28 лютого 2013 р.; № 61/824,005, поданою 16 травня 2013 р., і № 61/840,668, поданою 28 червня 2013 р., зміст усіх заявок цілком включено в дану заявку за допомогою посилання.

Галузь техніки, до якої належить даний винахід

Винахід стосується фармацевтичних композицій, що включають 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойну кислоту (Сполука 1) Форми I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфний N-(5-гідрокси-2,4-двотретинний-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксамід (Сполука 2), способів лікування, способів виробництва, способів введення і їхніх наборів.

Попередній рівень техніки

Муковісцидоз являє собою рецесивне генетичне захворювання, що уражає приблизно 30000 дітей і дорослих у США і приблизно 30000 дітей і дорослих у Європі. Незважаючи на прогрес у лікуванні муковісцидозу, виликувати захворювання не вдається.

У пацієнтів із муковісцидозом мутація в CFTR (трансмембранний регулятор муковісцидозу), що ендемогенно експресується в дихальному епітелії, приводить до зниження апікальної секреції аніонів, викликаючи порушення балансу транспорту іонів і рідини. Зниження транспорту аніонів у результаті цього сприяє збільшенню накопичення слизу в легенях і супутніх мікробних інфекцій, що неминуче приводять до смерті пацієнтів із муковісцидозом. Поряд з респіраторними захворюваннями пацієнти з муковісцидозом звичайно страждають від проблем із шлунково-кишковим трактом і недостатності підшлункової залози, що без лікування приводять до смерті. Крім того, більшість чоловіків з муковісцидозом є стерильними, а фертильність жінок з муковісцидозом знижена. На відміну від важких ефектів наявності двох копій гена, асоційованого з муковісцидозом, у людей з однією копією гена, асоційованого з муковісцидозом, спостерігається підвищена стійкість до холери і дегідратації через діарею, що, можливо, пояснює відносно високу частоту гена муковісцидозу у популяції.

Аналіз послідовності гена CFTR на хромосомах муковісцидозу виявив безліч мутацій, що викликають захворювання (Cutting, G. R. et al. (1990) Nature 346:366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61:863:870; і Kerem, B-S. et al. (1989) Science 245:1073-1080; Kerem, B-S et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8447-8451). На сьогоднішній день було ідентифіковано більше 1000 мутацій у гені муковісцидозу, що викликають захворювання (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/app>). Мутацією, що зустрічається найбільш часто, є делеція фенілаланіну в положенні 508 амінокислотної послідовності CFTR, що звичайно позначається ΔF508-CFTR. Дана мутація зустрічається приблизно в 70 % випадках муковісцидозу й асоціюється з важкою формою захворювання.

Делеція залишку 508 у ΔF508-CFTR перешкоджає правильному згортанню білка, що утворюється. Це приводить до нездатності мутантного білка залишити ЕР (ендоплазматичний ретикулум) і транспортуватися до плазматичної мембрани. У результаті кількість каналів, що знаходяться в мембрані, набагато нижче такої, що спостерігається в клітинах, що експресують CFTR дикого типу. Поряд з порушенням транспортом мутація викликає дефекти ворітного механізму каналу. Разом зменшена кількість каналів у мембрані і дефект ворітного механізму приводять до зниження аніонного транспорту через епітелій, приводячи до порушення транспорту іонів і рідини. (Quinton, P. M. (1990), FASEB J. 4: 2709-2727). Однак дослідження показали, що знижені кількості ΔF508-CFTR у мембрані є функціональними, хоча і менш функціональними, ніж CFTR дикого типу. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Denning et al., supra; Pasyk and Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). Крім ΔF508-CFTR інше захворювання, що викликає мутації в CFTR, що приведе до порушеного транспорту, синтезу і /або ворітного механізму каналу, можна було б регулювати або шляхом активації, або інгібування для зміни аніонної секреції і модифікації прогресування і/або важкості захворювання.

Сполука 1 у формі солі розкрита в Міжнародній публікації PCT WO 2007056341 і в патенті США № 7,741,321 як індуктор активності CFTR і, таким чином, як придатне лікування захворювань, опосередкованих CFTR, таких як муковісцидоз. Сполука 1 Форма 1, що головним чином являє собою кристалічну і знесолену форму, розкрита в Міжнародній публікації PCT WO 2009073757 і в патенті США № 8,507,534. Сполука 2 розкрита в Міжнародній публікації PCT WO 2006002421 і в патенті США № 7,495,103 як індуктор активності CFTR і, таким чином, як придатне лікування захворювань, опосередкованих CFTR, таких як муковісцидоз. Тверда дисперсія, що включає в основному аморфну Сполуку 2, розкрита в Міжнародній публікації PCT WO 2010019239 і в опублікованій патентній заявці США № US 20100074949. Усі перераховані

вище заявки і патенти цілком включені в даний документ за допомогою посилання.

Незалежно було показано, що сполуки, які потенціюють CFTR, такі як Сполука 2, і сполуки, що коректують CFTR, такі як Сполука 1, застосовні в лікуванні пов'язаних з CFTR захворювань, таких як муковісцидоз.

Відповідно, існує необхідність у новому лікуванні CFTR-опосередкованих захворювань, що включають коригувальні і потенціюючі сполуки.

Зокрема, існує необхідність у комбінованій терапії для лікування CFTR-опосередкованих захворювань, таких як муковісцидоз, що включають коригувальні і потенціюючі сполуки.

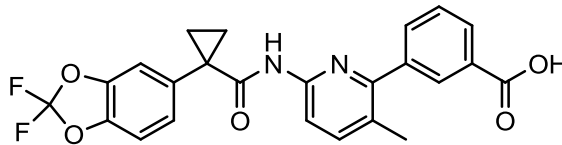
У більш окремому випадку, існує необхідність у комбінованій терапії для лікування CFTR-опосередкованих захворювань, таких як муковісцидоз, що включають потенціюючі сполуки, такі як в основному аморфна Сполука 2, у комбінації з коригувальними сполуками, такими як Сполука 1 Форми I.

Сполуку 1 як частину комбінації зі Сполукою 2 було відзначено Визнанням нового препарату як терапію прориву Керівництвом по контролю якості харчових продуктів, медикаментів і косметичних засобів (FDA, Food and Drug Administration) для лікування муковісцидозу, одним з усього лише двох таких грантів на момент подачі даної заявки (другий був для Сполуки 2). Це показує, що існує значна незадоволена потреба в ефективному лікуванні причини муковісцидозу, а не в симптоматичному лікуванні. Крім того, основною складністю, пов'язаною зі схваленими FDA лікарськими препаратами, є недоступність лікарського препарату для пацієнтів, які потребують його, що виникає час від часу. Відповідно, існує незадоволена потреба в розкритих тут лікарських формах Сполуки 1 і Сполуки 2 і процесі їхнього приготування безперервним і контрольованим способом.

Крім того, здатність пацієнта дотримуватися графіків лікування і величини дози в основному залежить від простоти введення лікарського препарату. Фармацевтична композиція, що включає фіксовані величини доз речовини, що коригує і потенціює CFTR, у якій тверді форми названої коригувального і потенціюючої речовини стабільні, є значимим проривом у лікуванні CFTR-опосередкованих захворювань, таких як муковісцидоз.

Короткий зміст винаходу

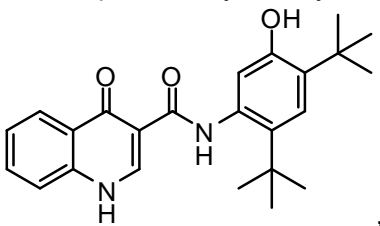
Винахід належить до фармацевтичних композицій, що включають 3-(6-(1-(2,2-дифторбензол[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойну кислоту, Сполуку 1 Форми I, зі структурою, наведеною нижче:



Сполука 1

i

тверду дисперсію в основному аморфного N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксаміду, Сполука 2, зі структурою, наведеною нижче:



Сполука 2

та способів лікування, способів виробництва, способів введення і наборів реактивів з ними.

В одному аспекті даний винахід містить фармацевтичну композицію, що включає:

а) Сполуку 1 Форми I;

б) тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2;

в) наповнювач;

г) розпушувач;

д) сурфактант; і

е) зв'язувальну речовину; називану PC-I.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, включають від 30 до 55 відсотків по вазі Сполуки 1 Форми I і від 10 до 45 відсотків по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2.

В одному варіанті застосування винаходу наповнювач вибирають з целюлози, модифікованої целюлози, натрієвої карбоксиметилцелюлози, етилцелюлози, гідроксиметилцелюлози, гідроксипропілцелюлози, ацетату целюлози, мікрокристалічної целюлози, двозаміщеного фосфату кальцію, сахарози, лактози, кукурудзяного крохмалю, картопляного крохмалю або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу наповнювач є мікрокристалічною целюлозою і є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 10 до 20 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу розпушувач вибирають з агар-агару, альгінів, карбонату кальцію, карбоксиметилцелюлози, целюлози, гідроксипропілцелюлози, гідроксипропілцелюлози з низьким ступенем заміщення, глини, кроскармелози натрію, кросповідону, камедей, алюмосилікату магнію, метилцелюлози, полакриліну калію, альгілату натрію, натрію крохмальгліколяту, кукурудзяного крохмалю, картопляного крохмалю, тапіокового крохмалю або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу розпушувач є кроскармелозою натрію і є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 1 до 3 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу сурфактант вибирають з лаурилсульфату натрію, стеарилфумарату натрію, поліоксіетилен 20 сорбітан моноолеату або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу сурфактант є лаурилсульфатом натрію і є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 0,5 до 2 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу зв'язувальну речовину вибирають з полівінілпіролідону, двозаміщеного фосфату кальцію, сахарози, кукурудзяного крохмалю, модифікованої целюлози або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу зв'язувальна речовина є полівінілпіролідонем і є присутньою у кількості, що варіює в інтервалі від 0 до 5 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу даний винахід містить фармацевтичну композицію наступного складу:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 35-50 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 25-40 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 10-20 |
| Кроскармелоза натрію | 1-3 |
| Лаурилсульфат натрію | 0,5-2 |
| Полівінілпіролідон | 0-5 |

називану РС-II.

В іншому аспекті даний винахід містить фармацевтичну композицію, що включає:

а) Сполуку 1 Форми I;

б) тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2;

в) наповнювач;

м) розпушувач;

д) сурфактант;

е) зв'язувальну речовину; і

ж) змашувальну речовину;

називану РС-III.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, включають приблизно від 100 до 250 мг Сполуки 1 Форми I і приблизно від 100 до 150 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, включають близько 200 мг Сполуки 1 Форми I і близько 125 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, включають близько 150 мг Сполуки 1 Форми I і близько 125 мг в основному аморфної Сполуки 2.

В одному з варіантів застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, включають від 25 до 50 відсотків по вазі Сполуки 1 Форми I і від 15 до 35 відсотків по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2.

В одному варіанті застосування винаходу наповнювач вибирають з целюлози,

модифікованої целюлози, натрієвої карбоксиметилцелюлози, етилцелюлози, гідроксиметилцелюлози, гідроксипропілцелюлози, ацетату целюлози, мікрокристалічної целюлози, двозаміщеного фосфату кальцію, сахарози, лактози, кукурудзяного крохмалю, картопляного крохмалю або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу наповнювач є мікрокристалічною целюлозою і є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 20 до 30 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу розпушувач вибирають з агар-агару, альгінів, карбонату кальцію, карбоксиметилцелюлози, целюлози, гідроксипропілцелюлози, гідроксипропілцелюлози з низьким ступенем заміщення, глини, кроскармелози натрію, кросповідону, камедей, алюмосилікату магнію, метилцелюлози, полакриліну калію, альгілату натрію, натрію крохмальгліколяту, кукурудзяного крохмалю, картопляного крохмалю, тапіокового крохмалю або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу розпушувач є кроскармелозою натрію і є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 3 до 10 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу сурфактант вибирають з лаурилсульфату натрію, стеарилфумарату натрію, поліоксіетилен 20 сорбітан моноолеату або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу сурфактант є лаурилсульфатом натрію і є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 0,5 до 2 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу зв'язувальну речовину вибирають з полівінілпіролідону, двозаміщеного фосфату кальцію, сахарози, кукурудзяного крохмалю, модифікованої целюлози або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу зв'язувальна речовина є полівінілпіролідонем і є присутньою у кількості, що варіює в інтервалі від 0 до 5 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу змащувальну речовину вибирають зі стеарату магнію, стеарату кальцію, стеарату цинку, стеарату натрію, стеаринової кислоти, стеарату алюмінію, лейцину, гліцерилбегенату, гідрогенізованої рослинної олії або будь-якої їхньої комбінації. В іншому варіанті застосування винаходу змащувальна речовина є стеаратом магнію і є присутньою у кількості, що варіює в інтервалі від 0,5 до 2 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу даний винахід містить фармацевтичну композицію наступного складу:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 25-50 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 15-35 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 20-30 |
| Кроскармелоза натрію | 3-10 |
| Лаурилсульфат натрію | 0,5-2 |
| Полівінілпіролідон | 0-5 |
| Стеарат магнію | 0,5-2 |

називану PC-IV.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, далі включають барвник або, при бажанні, віск. В іншому варіанті застосування винаходу барвник присутній у кількості, що варіює в інтервалі від 2 до 4 відсотків по вазі. В іншому варіанті застосування винаходу віск є карнаубським воском, що є присутнім у кількості, що варіює в інтервалі від 0 до 0,020 відсотків по вазі.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, є твердими пероральними фармацевтичними композиціями. В іншому варіанті застосування винаходу тверді пероральні фармацевтичні композиції є гранулярною фармацевтичною композицією або таблеткою.

В одному варіанті застосування винаходу гранулярні фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 43 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 34 |

| | |
|---------------------------|----|
| Мікрокристалічна целюлоза | 17 |
| Кроскармелоза натрію | 2 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |

і називаються PC-V.

- 5 В одному варіанті застосування винаходу гранулярні фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | |
|---|-----------|
| | % по вазі |
| Сполука 1 Форма I | 38 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 40 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 16 |
| Кроскармелоза натрію | 2 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |

і називаються PC-VI.

- 10 В одному варіанті застосування винаходу гранулярні фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | |
|---|-----------|
| | % по вазі |
| Сполука 1 Форма I | 51 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 27 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 16 |
| Кроскармелоза натрію | 2 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |

і називаються PC-VII.

15

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | |
|---|-----------|
| | % по вазі |
| Сполука 1 Форма I | 35 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 28 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 26 |
| Кроскармелоза натрію | 6 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |
| Стеарат магнію | 1 |

20

і називаються PC-VIII.

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | |
|---|-----------|
| | % по вазі |
| Сполука 1 Форма I | 31 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 32 |

| | |
|---------------------------|----|
| Мікрокристалічна целюлоза | 26 |
| Кроскармелоза натрію | 6 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |
| Стеарат магнію | 1 |

і називаються PC-IX.

- 5 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 41 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 22 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 26 |
| Кроскармелоза натрію | 6 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |
| Стеарат магнію | 1 |

і називаються PC-X.

- 10 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | мг |
|---|-----|
| Сполука 1 Форма I | 200 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 150 |
| Кроскармелоза натрію | 34 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 15 |
| Стеарат магнію | 6 |

і називаються PC-XI.

- 15 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | мг |
|---|-----|
| Сполука 1 Форма I | 150 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 129 |
| Кроскармелоза натрію | 30 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 13 |
| Стеарат магнію | 5 |

- 20 і називаються PC-XII.

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | мг |
|-------------------|-----|
| Сполука 1 Форма I | 200 |

| | |
|---|-----|
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 104 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 128 |
| Кроскармелоза натрію | 29 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 13 |
| Стеарат магнію | 5 |

і називаються PC-XIII.

- 5 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 34 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 27 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 25 |
| Кроскармелоза натрію | 6 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |
| Стеарат магнію | 1 |
| Барвник | 3 |

і називаються PC-XIV.

- 10 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 30 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 31 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 25 |
| Кроскармелоза натрію | 6 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |
| Стеарат магнію | 1 |
| Барвник | 3 |

і називаються PC-XV.

15

- В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | % по вазі |
|---|-----------|
| Сполука 1 Форма I | 40 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 21 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 25 |
| Кроскармелоза натрію | 6 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 |
| Полівінілпіролідон | 3 |
| Стеарат магнію | 1 |
| Барвник | 3 |

і називаються PC-XVI.

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

5

| | мг |
|---|-----|
| Сполука 1 Форма I | 200 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 150 |
| Кроскармелоза натрію | 34 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 15 |
| Стеарат магнію | 6 |
| Барвник | 17 |

і називаються PC-XVII.

10

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | мг |
|---|-----|
| Сполука 1 Форма I | 200 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 125 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 150 |
| Кроскармелоза натрію | 34 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 15 |
| Стеарат магнію | 6 |
| Барвник | 17 |

і називаються PC-XVIII.

15

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | мг |
|---|-----|
| Сполука 1 Форма I | 150 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 129 |
| Кроскармелоза натрію | 29 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 13 |
| Стеарат магнію | 5 |
| Барвник | 15 |

і називаються PC-XIX.

20

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | мг |
|---|-----|
| Сполука 1 Форма I | 200 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 104 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 128 |
| Кроскармелоза натрію | 29 |

| | |
|----------------------|----|
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 13 |
| Стеарат магнію | 5 |
| Барвник | 14 |

і називаються PC-XX.

- 5 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | |
|---|-----|
| | мг |
| Сполука 1 Форма I | 200 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 83 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 128 |
| Кроскармелоза натрію | 29 |
| Лаурилсульфат натрію | 4 |
| Полівінілпіролідон | 13 |
| Стеарат магнію | 5 |
| Барвник | 14 |

і називаються PC-XXI.

- 10 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| | |
|---|-----------|
| Компонент | % по вазі |
| Сполука 1 Форма I | 20-40 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 30-40 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 20-30 |
| Кроскармелоза натрію | 1-10 |
| Полівінілпіролідон | 1-5 |
| Лаурилсульфат натрію | 0,1-1 |
| Стеарат магнію | 0,5-1,5 |

і називаються PC-XXII.

- 15 В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| Сполука 1/Сполука 2-100 мг/125 мг | | | |
|---|-------------|--------------|-------------|
| Компонент | % у гранулі | % у таблетці | мг/таблетку |
| Сполука 1 Форма I | 30 | 25 | 100 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 47 | 38 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 17 | 13 | 55 |
| Кроскармелоза натрію | 2 | 2 | 7 |
| Полівінілпіролідон | 3 | 3 | 11 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 | 1 | 3 |
| Усього в гранулі | 100 | 82 | 332 |
| Кроскармелоза натрію | | 4 | 18 |
| Мікрокристалічна целюлоза | | 13 | 53 |
| Стеарат магнію | | 1 | 4 |
| Усього в таблетці | | 100 | 407 |

- 20 і називаються PC-XXIII.

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу,

мають наступний склад:

| Сполука 1/Сполука 2-150 мг/125 мг | | | |
|---|-------------|--------------|-------------|
| Компонент | % у гранулі | % у таблетці | мг/таблетку |
| Сполука 1 Форма I | 38 | 31 | 150 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 40 | 32 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 16 | 13 | 65 |
| Кроскармелоза натрію | 2 | 2 | 8 |
| Полівінілпіролідон | 3 | 3 | 13 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 | 1 | 4 |
| Усього в гранулі | 100 | 82 | 396 |
| Кроскармелоза натрію | | 4 | 22 |
| Мікрокристалічна целюлоза | | 13 | 64 |
| Стеарат магнію | | 1 | 5 |
| Усього в таблетці | | 100 | 487 |

і називаються PC-XXIV.

5

В одному варіанті застосування винаходу таблетки, що є предметом даного винаходу, мають наступний склад:

| Сполука 1/ Сполука 2 75 мг/125 мг | | | |
|---|-------------|--------------|-------------|
| Компонент | % у гранулі | % у таблетці | мг/таблетку |
| Сполука 1 Форма I | 25 | 20 | 75 |
| Тверда дисперсія в основному аморфної Сполуки 2 | 52 | 43 | 156 |
| Мікрокристалічна целюлоза | 17 | 13 | 49 |
| Кроскармелоза натрію | 2 | 2 | 6 |
| Полівінілпіролідон | 3 | 3 | 10 |
| Лаурилсульфат натрію | 1 | 1 | 3 |
| Усього в гранулі | 100 | 82 | 299 |
| Кроскармелоза натрію | | 4 | 17 |
| Мікрокристалічна целюлоза | | 13 | 48 |
| Стеарат магнію | | 1 | 4 |
| Ядро таблетки | | 100 | 368 |
| Рожевий опадрай | | 3 | 11 |
| Таблетка, покрита оболонкою | | | 379 |

10

і називаються PC-XXV.

В одному аспекті даний винахід включає спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, включаючи введення пацієнту ефективної кількості фармацевтичної композиції, гранулярної фармацевтичної композиції або таблеток, що є предметом даного винаходу.

15

У варіанті застосування винаходу даний винахід включає спосіб лікування, зменшення важкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, включаючи введення пацієнту ефективної кількості фармацевтичної композиції, гранулярної фармацевтичної композиції або таблеток будь-якої сполуки від PC-I до PC-XXV.

20

В одному варіанті застосування винаходу в пацієнта є $\Delta F508$ мутація CFTR. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнт гомозиготний по $\Delta F508$. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнт гетерозиготний по $\Delta F508$. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнту вводять дві таблетки в день.

25

В одному аспекті даний винахід включає спосіб виготовлення гранулярної фармацевтичної композиції, що включає вологе гранулювання наступних компонентів:

- а) Сполуки 1 Форми I;
- б) твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2;
- в) наповнювача;

- г) розпушувача;
- д) сурфактанта; і
- е) зв'язувальної речовини.

В одному аспекті даний винахід включає спосіб виготовлення таблетки, що включає пресування:

1. і) множини гранулярних фармацевтичних композицій, що включають наступні компоненти:

- а) Сполуку 1 Форми І;
- б) тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2;
- в) наповнювач;
- г) розпушувач;
- д) сурфактант; і
- е) зв'язувальну речовину;

2. ii) розпушувач;

3. iii) наповнювач; і

4. iv) змащувальну речовину.

В одному аспекті даний винахід містить набір реактивів, що включає фармацевтичні композиції, гранулярні фармацевтичні композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, і окремий терапевтичний агент або його фармацевтичну композицію.

В одному варіанті застосування фармацевтичні композиції, гранулярні фармацевтичні композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, і окремий терапевтичний агент або його фармацевтична композиція знаходяться в окремих контейнерах. В іншому варіанті застосування винаходу окремі контейнери є суліями. В іншому варіанті застосування винаходу окремі контейнери є флаконами. В іншому варіанті застосування винаходу окремі контейнери є блістерними упаковками.

В іншому аспекті винахід представляє безперервний або напівбезперервний процес виготовлення фармацевтичних композицій, описаних тут, за допомогою двошнекового процесу вологої грануляції, що включає стадії скринінгу і зважування Сполуки 1, Сполуки 2 і допоміжних речовин, змішування Сполуки 1, Сполуки 2 і допоміжних речовин у змішувачі і подачі суміші в безперервний гранулятор при додаванні рідини, що гранулює, що включає сурфактант і зв'язувальну речовину, при додатній швидкості протягом додатної кількості часу і перемелювання суміші в гранули; сушіння гранул; перемішування гранул з екстрагранулярними допоміжними речовинами протягом прийнятної кількості часу; пресування суміші в таблетки; покриття таблеток оболонкою; і, при бажанні, друкування монограми на одній або двох сторонах таблетки.

Короткий опис креслень

Фігура 1 є дифракційною рентгенограмою, розрахованою за монокристалічною структурою Сполуки 1 Форми І.

Фігура 2 є порошковою дифракційною рентгенограмою Сполуки 1 Форми І.

Фігура 3 є графіком, що показує профілі розчинності в градієнті рН Сполуки 1 для таблеток, виготовлених за допомогою процесу грануляції з великим зусиллям зрушення (HSG, high shear granulation) і двошнекового процесу вологої грануляції (TSWG, twin screw wet granulation) (LOD відповідає втраті при сушінні, ступеню визначення кількості води в порошок/гранулі).

Фігура 4 є графіком, що показує стабільність в основному аморфної форми Сполуки 2 у формі таблеток PC-XVII при 50 °C після попереднього зрівноважування при 60 % відносній вологості, демонструючи лише невисокий ступінь кристалізації протягом часу.

Фігура 5 є графіком, що показує стабільність в основному аморфної форми Сполуки 2 у формі таблеток PC-XVII при 60 °C після попереднього зрівноважування при 60 % відносній вологості, демонструючи лише невисокий ступінь кристалізації з часом.

Фігура 6 є графіком, що показує стабільність в основному аморфної форми Сполуки 2 у формі таблеток PC-XX при 60 °C після попереднього зрівноважування при 60 % відносній вологості, демонструючи лише невисокий ступінь кристалізації з часом.

Фігура 7 є графіком, що показує стабільність в основному аморфної форми Сполуки 2 у формі таблеток PC-XX при 50 °C після попереднього зрівноважування при 60 % відносній вологості, демонструючи лише невисокий ступінь кристалізації з часом.

Фігура 8 є ¹H-ЯМР спектром Сполуки 1.

Фігура 9 є ¹H-ЯМР спектром HCl солі Сполуки 1.

Фігура 10 є кривою диференціальної скануючої калориметрії Сполуки 1 Форми І.

Фігура 11 є конформаційним зображенням Сполуки 1 Форми І на основі монокристалічного рентгенографічного аналізу.

Докладний опис винаходу

ВИЗНАЧЕННЯ

"CFTR" у даній заявці означає регулятор трансмембранної провідності муковісцидозу.

"ΔF508 мутація" або "F508-del мутація" у даній заявці є специфічною мутацією в білку CFTR.

5 Ця мутація являє собою делецію трьох нуклеотидів, що включають кодон амінокислоти фенілаланіну в положенні 508, що приводить до недостачі цього залишку фенілаланіну в білку CFTR.

У даній заявці пацієнт, "гомозиготний" за специфічною мутацією, напр., ΔF508, має однакову мутацію в кожній алелі.

10 У даній заявці пацієнт, "гетерозиготний" за специфічною мутацією, напр., ΔF508, має цю мутацію в одній алелі й іншу мутацію в іншій алелі.

У даній заявці термін "речовина, яка коригує CFTR" стосується сполуки, що збільшує кількість функціонального білка CFTR на поверхні клітини, приводячи до збільшення іонного транспорту.

15 У даній заявці термін "речовина, що потенціює CFTR" стосується сполуки, що збільшує каналну активність білка CFTR, розташованого на поверхні клітини, приводячи до збільшення іонного транспорту.

У даній заявці термін "активний фармацевтичний інгредієнт" або "АФІ" стосується біологічно активної сполуки.

20 Термін "тверда форма", "тверді форми" і зв'язані терміни в даній заявці стосуються Сполуки 1 або Сполуки 2, у спеціальній твердій формі, напр., кристалах, аморфних станах і подібному.

У даній заявці термін "в основному аморфний" стосується твердого матеріалу, що має малий або не дальній порядок розташування молекул. Наприклад, в основному аморфні матеріали мають ступінь кристалізації менше 15 % (напр., ступінь кристалізації менше 10 % або ступінь кристалізації менше 5 %). Також відзначається, що термін "в основному аморфний" включає визначення "аморфний", що стосується матеріалу без кристалічної структури (ступінь кристалізації 0 %).

30 У даній заявці термін "в основному кристалічний" (як у фразі "в основному кристалічну Сполуку 1 Форми І") стосується твердого матеріалу, що має в основному дальній порядок розташування молекул. Наприклад, в основному кристалічні матеріали мають ступінь кристалізації більше 85 % (напр., ступінь кристалізації більше 90 % або ступінь кристалізації більше 95 %). Також відзначається, що термін "в основному кристалічний" включає визначення "кристалічний", що стосується матеріалу зі ступенем кристалізації 100 %.

35 Термін "кристалічний" і зв'язані терміни в даній заявці при застосуванні для опису речовини, компонента, продукту або форми, означає, що речовина, компонент або продукт є в основному кристалічним, відповідно до визначення за допомогою рентгенодифракції (Див., напр., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003); The United States Pharmacopeia, 23rd ed., 1843-1844 (1995)).

40 У даній заявці термін "допоміжна речовина" включає функціональні і нефункціональні інгредієнти фармацевтичної композиції.

У даній заявці термін "розпушувач" є допоміжною речовиною, що гідратує фармацевтичну композицію і сприяє диспергуванню таблетки. У даній заявці "розчинник" або "наповнювач" є допоміжною речовиною, що надає об'ємності фармацевтичній композиції.

45 У даній заявці термін "сурфактант" є допоміжною речовиною, що надає фармацевтичним композиціям підвищеної розчинності і/або здатності до зволоження.

У даній заявці термін "зв'язувальна речовина" є допоміжною речовиною, що надає фармацевтичній композиції підвищеної когезійної міцності і підвищеної границі міцності на розрив (напр., твердість).

50 У даній заявці термін "речовина, що сприяє ковзанню" є допоміжною речовиною, що надає фармацевтичним композиціям властивості підвищеної текучості.

У даній заявці термін "барвник" є допоміжною речовиною, що надає фармацевтичній композиції, напр., таблетці, бажаного кольору. Приклади барвників включають комерційно доступні пігменти, такі як FD&C Blue # 1 Aluminum Lake, FD&C Blue #2, інші барвники FD&C Blue, оксид титану, оксид заліза і/або їхні комбінації. В одному варіанті застосування винаходу 55 таблетка, що представляється винаходом, рожева.

У даній заявці термін "змащувальна речовина" є допоміжною речовиною, яку додають у фармацевтичні композиції, що пресують у таблетки. Змащувальна речовина сприяє компактизації гранул у таблетки і виходу таблетки фармацевтичної композиції зі штампувального преса.

60 У даній заявці "кубічний сантиметр" і "см³" є взаємозамінними і застосовуються для

представлення одиниці об'єму. Слід зазначити, що $1 \text{ см}^3 = 1 \text{ мл}$.

У даній заявці "кілоПонд" і "кП" є взаємозамінними і застосовуються для вимірювання сили, де $\text{кП} = \text{приблизно } 9,8 \text{ Ньютонів}$.

У даній заявці "міцність таблеток на стирання" стосується властивості таблетки залишатися інтактною і зберігати форму під тиском зовнішньої сили. Міцність таблеток на стирання можна оцінити кількісно, застосовуючи математичну формулу, представлену в рівнянні 1

$$\% \text{ міцності на стирання} = 100 \times \frac{W_0 - W_f}{W_0}, (1)$$

де W_0 є вихідною вагою таблетки і W_f є кінцевою вагою таблетки після пропущення через фриабілятор. Міцність таблеток на стирання вимірюють за допомогою апарату для стандартного тесту Фармакопеї США, що випробує експериментальні таблетки в барабані при 100 або 400 оборотах. У деяких таблеток, що є предметом винаходу, міцність на стирання менше 5,0 %. В іншому варіанті застосування винаходу міцність на стирання менше 2,0 %. В іншому варіанті застосування винаходу цільова міцність на стирання менше 1,0 % після 400 оборотів.

У даній заявці "середній діаметр частинок" є середнім діаметром частинок, вимірюваним за допомогою таких технік, як розсіювання лазерного випромінювання, аналіз зображень або ситовий аналіз. В одному варіанті застосування винаходу середній розмір частинок гранул, застосовуваних для приготування фармацевтичних композицій, представлених винаходом, складає менше 1,0 мм.

У даній заявці "насіпна густина" є масою частинок матеріалу, діленою на загальний об'єм, займаний частинками. Загальний об'єм включає об'єм частинок, вільний об'єм між частинками й об'єм внутрішніх пор. Насіпний об'єм не є внутрішньою властивістю матеріалу; він може змінюватися в залежності від обробки матеріалу. В одному варіанті застосування винаходу насіпна густина гранул, застосовуваних для виготовлення фармацевтичних композицій, представлених винаходом, складає близько $0,5\text{-}0,7 \text{ г/см}^3$.

"Ефективна кількість" або "терапевтично ефективна кількість" сполуки, що є предметом винаходу, може варіювати відповідно до таких факторів, як стан, вік і вага суб'єкта, і зі здатністю сполуки, що є предметом винаходу, викликати бажану відповідь у суб'єкта. Режимми дозування можна підлаштовувати для забезпечення оптимальної терапевтичної відповіді. Ефективна кількість також є кількістю, при якій позитивні терапевтичні ефекти перевершують будь-які токсичні або негативні ефекти (напр., побічні ефекти) сполуки, що є предметом даного винаходу.

У даній заявці і якщо інше не обговорено, терміни "терапевтично ефективна кількість" і "ефективна кількість" сполуки означають кількість, достатню для забезпечення терапевтичної користі при лікуванні або контролі захворювання або для відстрочки або мінімізації одного або більше симптомів, асоційованих з захворюванням або порушенням. У даній заявці і якщо інше не обговорено, терміни "терапевтично ефективна кількість" і "ефективна кількість" сполуки означають кількість терапевтичного агента, в індивідуальному виді або в комбінації з одним або більше іншими агентами, що забезпечує терапевтичну користь при лікуванні або контролі захворювання або порушення. Терміни "терапевтично ефективна кількість" і "ефективна кількість" можуть включати кількість, що поліпшує терапію в цілому, знижує або запобігає симптомам або причині захворювання або порушення, або підсилює терапевтичну ефективність іншого терапевтичного агента.

"В основному чистий" як застосовується у фразі "в основному чисту Сполуку 1 Форми I" означає більш ніж 90 % чистоту. В іншому варіанті застосування винаходу "в основному чистий" стосується більш ніж 95 % чистоти. В іншому варіанті застосування винаходу "в основному чистий" стосується більш ніж 98 % чистоти. В іншому варіанті застосування винаходу "в основному чистий" стосується більш ніж 99 % чистоти.

Відносно Сполуки 1 Форми I або твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 терміни "близько" і "приблизно", застосовувані відносно відсотка дози, кількості або ваги інгредієнтів композиції або лікарської форми, означають відсоток дози, кількості або ваги, що, на думку середнього фахівця в даній галузі техніки, забезпечує фармакологічний ефект, еквівалентний ефекту від спеціально установленого відсотка дози, кількості або ваги. Зокрема, термін "близько" і "приблизно" означає прийнятну помилку для певного значення, обумовлену середнім фахівцем у даній галузі техніки, що частково залежить від того, як вимірюють або визначають значення. У певних варіантах застосування винаходу термін "близько" і "приблизно" означає в межах 1, 2, 3 або 4 стандартних відхилень. У певних варіантах застосування винаходу термін "близько" і "приблизно" означає всередині 30, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,1 або 0,05 % заданого значення або інтервалу.

ФАРМАЦЕВТИЧНІ КОМПОЗИЦІЇ

Винахід представляє фармацевтичні композиції, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті кількість Сполуки 1 Форми I, що присутня у фармацевтичній композиції, складає 100 мг, 125 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг або 400 мг. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті відсоток по вазі Сполуки 1 Форми I, що присутня у фармацевтичній композиції, складає від 10 до 75 відсотків. У цих і інших варіантах застосування винаходу Сполука 1 Форми I є присутньою у вигляді в основному чистої Сполуки 1 Форми I. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті кількість в основному аморфної Сполуки 2, що є присутньою у фармацевтичній композиції, складає 100, 125, 150, 200 або 250 мг. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті відсоток по вазі в основному аморфної Сполуки 2, що є присутньою у фармацевтичній композиції, складає від 10 до 75 відсотків. У цих і інших варіантах застосування винаходу в основному аморфна Сполука 2 є присутньою у вигляді в основному чистої й аморфної Сполуки 2. "В основному чисте" означає більш чисте більш, ніж на дев'яносто відсотків; переважно більш, ніж 95 % чисте; більш переважно 99,5 % чисте.

Таким чином, в одному аспекті винахід представляє фармацевтичну композицію, що включає:

- а) Сполуку 1 Форми I;
- б) тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2;
- в) наповнювач;
- г) розпушувач;
- д) сурфактант; і
- е) зв'язувальну речовину.

В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 25 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 50 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 100 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 125 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 150 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 200 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 250 мг Сполуки 1 Форми I. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 400 мг Сполуки 1 Форми I.

В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 25 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 50 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 100 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 125 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 150 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 200 мг в основному аморфної Сполуки 2. В іншому варіанті застосування винаходу в даному аспекті фармацевтична композиція включає 250 мг в основному аморфної Сполуки 2.

У деяких варіантах застосування винаходу фармацевтична композиція включає Сполуку 1 Форми I, де Сполука 1 Форми I є присутньою у кількості, що складає щонайменше 15 % по вазі від композиції (напр., щонайменше 20 % по вазі, щонайменше 30 % по вазі, щонайменше 40 % по вазі, щонайменше 50 % по вазі або щонайменше 60 % по вазі).

У деяких варіантах застосування винаходу фармацевтична композиція включає в основному аморфну Сполуку 2, де в основному аморфна Сполука 2 є присутньою у кількості, що складає щонайменше 15 % по вазі від композиції (напр., щонайменше 20 % по вазі, щонайменше 30 % по вазі, щонайменше 40 % по вазі, щонайменше 50 % по вазі або щонайменше 60 % по вазі).

У деяких варіантах застосування винаходу фармацевтична композиція включає Сполуку 1 Форми I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, наповнювач, розпушувач, сурфактант і зв'язувальну речовину. У даному варіанті застосування винаходу композиція включає приблизно від 25 % по вазі до 55 % по вазі (напр., близько 30-50 % по вазі) Сполуки 1 Форми I по вазі композиції, і більш часто, від 40 % по вазі приблизно до 45 % по вазі Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції. У даному варіанті застосування винаходу

фармацевтична композиція включає приблизно від 15 % по вазі приблизно до 40 % по вазі (напр., близько 20-35 % по вазі) в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції, і більш часто, від 25 % по вазі приблизно до 30 % по вазі в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції.

5 Концентрація Сполуки 1 Форми I і в основному аморфної Сполуки 2 у композиції залежить від декількох факторів, таких як кількість фармацевтичної композиції, необхідна для забезпечення бажаної кількості Сполуки 1 Форми I і в основному аморфної Сполуки 2, і бажаного профілю розчинності фармацевтичної композиції.

10 В іншому варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає Сполуку 1 Форми I, у якій Сполука 1 Форми I у твердій формі має середній діаметр частинок, вимірюваний за допомогою світлового розсіювання (напр., за допомогою Malvern Mastersizer виробництва Malvern Instruments в Англії), що дорівнює від 0,1 мікрона до 10 мікронів. В іншому варіанті застосування винаходу розмір частинок Сполуки 1 Форми I складає від 1 мікрона до 5 мікронів. В іншому варіанті застосування винаходу розмір частинок D50 Сполуки 1 Форми I складає 2,0 мікрони.

15 Як зазначено, на додаток до Сполуки 1 Форми I і твердої дисперсії в основному аморфної Сполуки 2 у деяких варіантах застосування винаходу фармацевтичної композиції у формі для перорального застосування також включають одну або більше допоміжних речовин, такі як наповнювачі, розпушувачі, сурфактанти, розчинники, зв'язувальні речовини, речовини, що сприяють ковзанню, змащувальні речовини, барвники або ароматизатори і будь-які їхні комбінації.

20 Наповнювачі, що підходять для винаходу, сумісні з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі розчинність, твердість, хімічну стабільність, фізичну стабільність або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади наповнювачів включають: целюлози, модифіковані целюлози (напр., натрієву карбоксиметилцелюлозу, етилцелюлозу, гідроксиметилцелюлозу, гідроксипропілцелюлозу), ацетат целюлози, мікрокристалічну целюлозу, фосфат кальцію, двозаміщений фосфат кальцію, крохмалі (напр., кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль), цукри (напр., сорбітол, лактозу, сахарозу або подібні) або будь-яку їхню комбінацію.

30 Таким чином, в одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає щонайменше один наповнювач у кількості, що дорівнює щонайменше 5 % по вазі від композиції (напр., щонайменше 20 % по вазі, щонайменше 30 % по вазі або щонайменше 40 % по вазі). Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 10 % по вазі приблизно до 60 % по вазі наповнювача (напр., приблизно від 20 % по вазі приблизно до 55 % по вазі, приблизно від 25 % по вазі приблизно до 50 % по вазі або приблизно від 27 % по вазі приблизно до 45 % по вазі), по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає щонайменше близько 20 % по вазі (напр., щонайменше 30 % по вазі або щонайменше 40 % по вазі) мікрокристалічної целюлози, наприклад MCC Avicel PH102, по вазі від композиції. У ще одному прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 10 % по вазі приблизно до 60 % по вазі (напр., приблизно від 20 % по вазі приблизно до 55 % по вазі до або приблизно від 25 % по вазі приблизно до 45 % по вазі) мікроцелюлози по вазі від композиції.

40 Розпушувачі, що підходять для винаходу, підсилюють дисперсність фармацевтичної композиції і є сумісними з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі хімічну стабільність, фізичну стабільність, твердість або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади розпушувачів включають кроскармелозу натрію, натрію крохмальгліколят або їхню комбінацію.

45 Таким чином, в одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає розпушувач у кількості близько 10 % по вазі або менше (напр., близько 7 % по вазі або менше, близько 6 % по вазі або менше, або близько 5 % по вазі або менше) по вазі від композиції. 50 Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 1 % по вазі приблизно до 10 % по вазі (напр., приблизно від 1,5 % по вазі приблизно до 7,5 % по вазі або приблизно від 2,5 % по вазі приблизно до 6 % по вазі) розпушувача, по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 10 % по вазі або менше (напр., 7 % по вазі або менше, 6 % по вазі або менше або 5 % по вазі або менше) кроскармелози натрію, по вазі від композиції. 55 У ще одному прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 1 % по вазі приблизно до 10 % по вазі (напр., приблизно від 1,5 % по вазі приблизно до 7,5 % по вазі або приблизно від 2,5 % по вазі приблизно до 6 % по вазі) кроскармелози натрію, по вазі від композиції. У деяких прикладах фармацевтична композиція включає приблизно від 0,1 % по вазі приблизно до 10 % по вазі (напр., приблизно від 0,5 % по вазі приблизно до 7,5 % по вазі або 60 приблизно від 1,5 % по вазі приблизно до 6 % по вазі) розпушувача, по вазі від композиції. В

інших прикладах фармацевтична композиція включає приблизно від 0,5 % по вазі приблизно до 10 % по вазі (напр., приблизно від 1,5 % по вазі приблизно до 7,5 % по вазі або приблизно від 2,5 % по вазі приблизно до 6 % по вазі) розпушувача, по вазі від композиції.

Сурфактанти, що підходять для винаходу, підсилюють здатність до зволоження фармацевтичної композиції і є сумісними з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі хімічну стабільність, фізичну стабільність, твердість або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади сурфактантів включають лаурилсульфат натрію, стеарилфумарат натрію, поліоксіетилен 20, сорбітан моноолеат (напр., Tween™), будь-яку їхню комбінацію або подібні.

Таким чином, в одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає сурфактант у кількості близько 10 % по вазі або менше (напр., близько 5 % по вазі або менше, близько 2 % по вазі або менше, близько 1 % по вазі або менше, близько 0,8 % по вазі або менше або близько 0,6 % по вазі або менше) по вазі від композиції. Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 10 % по вазі приблизно до 0,1 % по вазі (напр., приблизно від 5 % по вазі приблизно до 0,2 % по вазі або приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,3 % по вазі) сурфактанта, по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 10 % по вазі або менше (напр., близько 5 % по вазі або менше, близько 2 % по вазі або менше, близько 1 % по вазі або менше, близько 0,8 % по вазі або менше або близько 0,6 % по вазі або менше) лаурилсульфату натрію, по вазі від композиції. У ще одному прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 10 % по вазі приблизно до 0,1 % по вазі (напр., приблизно від 5 % по вазі приблизно до 0,2 % по вазі або приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,3 % по вазі) лаурилсульфату натрію, по вазі від композиції.

Зв'язувальні речовини, що підходять для винаходу, підсилюють силу дії таблеток фармацевтичної композиції і є сумісними з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі хімічну стабільність, фізичну стабільність або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади сурфактантів включають полівінілпіролідон, двозаміщений фосфат кальцію, сахарозу, кукурудзяний (маїсовий) крохмаль, модифіковану целюлозу (напр., гідроксиметилцелюлозу) або будь-яку їхню комбінацію.

Таким чином, в одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає зв'язувальну речовину в кількості щонайменше близько 0,1 % по вазі (напр., щонайменше близько 1 % по вазі, щонайменше близько 3 % по вазі, щонайменше близько 4 % по вазі або щонайменше близько 5 % по вазі) по вазі від композиції. Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 0,1 % по вазі приблизно до 10 % по вазі (напр., приблизно від 1 % по вазі приблизно до 10 % по вазі або приблизно від 2 % по вазі приблизно до 7 % по вазі) зв'язувальної речовини, по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає щонайменше близько 0,1 % по вазі (напр., щонайменше близько 1 % по вазі, щонайменше близько 2 % по вазі, щонайменше близько 3 % по вазі або щонайменше близько 4 % по вазі) полівінілпіролідону, по вазі від композиції. У ще одному прикладі фармацевтична композиція включає речовину, що сприяє ковзанню, у кількості, що варіює приблизно від 0,1 % по вазі приблизно до 10 % по вазі (напр., приблизно від 1 % по вазі приблизно до 8 % по вазі або приблизно від 2 % по вазі приблизно до 5 % по вазі) полівінілпіролідону, по вазі від композиції.

Розчинники, що підходять для винаходу, можуть додавати необхідний об'єм сполуці для виготовлення таблеток бажаного розміру і є в цілому сумісними з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі розчинність, твердість, хімічну стабільність, фізичну стабільність або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади розчинників включають цукри, наприклад, кондитерський цукор, пресований цукор, декстрати, декстрин, декстрозу, лактозу, манітол, сорбітол, целюлозу і модифіковані целюлози, наприклад, порошкову целюлозу, тальк, фосфат кальцію, крохмаль або будь-яку їхню комбінацію.

Таким чином, в одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає розчинник у кількості 40 % по вазі або менше (напр., 35 % по вазі або менше, 30 % по вазі або менше або 25 % по вазі або менше або 20 % по вазі або менше чи 15 % по вазі або менше чи 10 % по вазі або менше) по вазі від композиції. Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 40 % по вазі приблизно до 1 % по вазі (напр., приблизно від 35 % по вазі приблизно до 5 % по вазі або приблизно від 30 % по вазі приблизно до 7 % по вазі, приблизно від 25 % по вазі приблизно до 10 % по вазі або приблизно від 20 % по вазі приблизно до 15 % по вазі) розчинника, по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає приблизно 40 % по вазі або менше (напр., 35 % по вазі або менше, 25 % по вазі або менше чи 15 % по вазі або менше) манітолу, по вазі від композиції. У ще одному прикладі

фармацевтична композиція включає приблизно від 35 % по вазі приблизно до 1 % по вазі (напр., приблизно від 30 % по вазі приблизно до 5 % по вазі або приблизно від 25 % по вазі приблизно до 10 % по вазі) манітолу, по вазі від композиції.

Речовини, що сприяють ковзанню, що підходять для винаходу, підсилюють властивості текучості фармацевтичної композиції і є сумісними з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі розчинність, твердість, хімічну стабільність, фізичну стабільність або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади речовин, що сприяють ковзанню, включають колоїдний діоксид кремнію, тальк або їхню комбінацію.

Таким чином, в одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає речовину, що сприяє ковзанню, у кількості 2 % по вазі або менше (напр., 1,75 % по вазі, 1,25 % по вазі або менше або 1,00 % по вазі або менше) по вазі від композиції. Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,05 % по вазі (напр., приблизно від 1,5 % по вазі приблизно до 0,07 % по вазі або приблизно від 1,0 % по вазі приблизно до 0,09 % по вазі) речовини, що сприяє ковзанню, по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає приблизно 2 % по вазі або менше (напр., 1,75 % по вазі, 1,25 % по вазі або менше 1,00 % по вазі або менше) колоїдного діоксиду кремнію по вазі від композиції. У ще одному прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,05 % по вазі (напр., приблизно від 1,5 % по вазі приблизно до 0,07 % по вазі або приблизно від 1,0 % по вазі приблизно до 0,09 % по вазі) колоїдного діоксиду кремнію по вазі від композиції.

У деяких варіантах застосування винаходу фармацевтична композиція може включати пероральну тверду фармацевтичну форму випуску, що може включати змащувальну речовину, що може запобігати зв'язуванню суміші гранул і кульок з поверхнею (напр., з поверхнею посуду для змішування, форми або пуансона). Змащувальна речовина також може знижувати тертя між частинками усередині грануляту і поліпшувати пресування і вивільнення пресованих фармацевтичних композицій зі штампувального преса. Змащувальна речовина також є сумісною з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі розчинність, твердість або біологічну активність фармацевтичної композиції. Приклади розчинників включають стеарат магнію, стеарат кальцію, стеарат цинку, стеарат натрію, стеаринову кислоту, стеарат алюмінію, лейцин, гліцерилбегенат, гідрогенізовану рослинну олію або будь-яку їхню комбінацію. В одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає змащувальну речовину, у кількості 5 % по вазі або менше (напр., 4,75 % по вазі, 4,0 % по вазі або менше або 3,00 % по вазі або менше, чи 2,0 % по вазі або менше) по вазі від композиції. Наприклад, фармацевтична композиція включає приблизно від 5 % по вазі приблизно до 0,10 % по вазі (напр., приблизно від 4,5 % по вазі приблизно до 0,5 % по вазі або приблизно від 3 % по вазі приблизно до 1 % по вазі) змащувальної речовини по вазі від композиції. В іншому прикладі фармацевтична композиція включає приблизно 5 % по вазі або менше (напр., 4,0 % по вазі або менше, 3,0 % по вазі або менше, або 2,0 % по вазі або менше, або 1,0 % по вазі або менше) стеарату магнію по вазі від композиції. У ще одному прикладі фармацевтична композиція включає приблизно від 5 % по вазі приблизно до 0,10 % по вазі (напр., приблизно від 4,5 % по вазі приблизно до 0,15 % по вазі або приблизно від 3,0 % по вазі приблизно до 0,50 % по вазі) стеарату магнію по вазі від композиції.

Фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, можуть, при бажанні, включати один або більше барвників, смакових і/або ароматичних добавок для поліпшення зовнішнього вигляду, посилення смаку і/або запаху композиції. Придатні барвники, смакові або ароматичні добавки сумісні з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі розчинність, хімічну стабільність, фізичну стабільність, твердість або біологічну активність фармацевтичної композиції. В одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція включає барвник, смакову і/або ароматичну добавку. В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, представлені винаходом, пурпурного кольору.

У деяких варіантах застосування винаходу фармацевтична композиція включає або може вироблятися у виді таблеток, і таблетки можуть бути покриті барвником і, при бажанні, відзначені логотипом, іншим зображенням і/або текстом за допомогою придатної фарби. Придатні барвники і фарби сумісні з інгредієнтами фармацевтичної композиції, тобто вони не знижують у значній мірі розчинність, хімічну стабільність, фізичну стабільність, твердість або біологічну активність фармацевтичної композиції. Придатні барвники і фарби можуть бути будь-якого кольору, на водній основі або на основі розчинника. В одному варіанті застосування винаходу таблетки, зроблені з фармацевтичної композиції, покриті барвником, а потім відзначені логотипом, іншим зображенням і/або текстом за допомогою придатної фарби.

Наприклад, таблетки, що включають фармацевтичну композицію, як описано в даній заявці, можуть бути покриті 3 % по вазі (напр., менш ніж приблизно 6 % по вазі або менш, ніж приблизно 4 % по вазі) плівковим покриттям, що містить барвник. Кольорові таблетки можуть бути відзначені логотипом і текстом, що показує силу діючої речовини в таблетці, за допомогою придатної фарби. В іншому прикладі таблетки, що включають фармацевтичну композицію, як описано в даній заявці, можуть бути покриті 3 % по вазі (напр., менш, ніж приблизно 6 % по вазі або менш, ніж приблизно 4 % по вазі) плівковим покриттям, що містить барвник.

В іншому варіанті застосування винаходу таблетки, зроблені з фармацевтичної композиції, покриті барвником, воском і потім відзначені логотипом, іншим зображенням і/або текстом за допомогою придатної фарби. Наприклад, таблетки, що включають фармацевтичну композицію, як описано в даній заявці, можуть бути покриті 3 % по вазі (напр., менш, ніж приблизно 6 % по вазі або менш, ніж приблизно 4 % по вазі) плівковим покриттям, що містить барвник. Пофарбовані таблетки можуть бути покриті воском за допомогою порошку карнаубського воску, зваженого в кількості, що складає близько 0,01 % вага/вага від вихідної ваги ядра таблетки. Покриті воском таблетки можуть бути відзначені логотипом і текстом, що показує силу діючої речовини в таблетці, за допомогою придатної фарби. В іншому прикладі таблетки, що включають фармацевтичну композицію, як описано в даній заявці, можуть бути покриті 3 % по вазі (напр., менш, ніж приблизно 6 % по вазі або менш, ніж приблизно 4 % по вазі) плівковим покриттям, що містить барвник. Пофарбовані таблетки можуть бути покриті воском за допомогою порошку карнаубського воску, зваженого в кількості, що складає близько 0,01 % вага/вага від вихідної ваги ядра таблетки. Покриті воском таблетки можуть бути відзначені логотипом і текстом, що показує силу діючої речовини в таблетці, за допомогою фарби фармацевтичної якості, такої як чорна фарба (напр., Opacode® S-1-17823, фарба на основі розчинника, комерційно доступного в Colorcon, Inc. Вест Пойнт, штат Філадельфія).

Один приклад фармацевтичної композиції включає приблизно від 15 % по вазі приблизно до 70 % по вазі (напр., приблизно від 15 % по вазі приблизно до 60 % по вазі, приблизно від 15 % по вазі приблизно до 50 % по вазі, або приблизно від 20 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 30 % по вазі приблизно до 70 % по вазі) Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції; і приблизно від 15 % приблизно до 40 % по вазі (напр., приблизно 20-35 % по вазі) в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції, і частіше від 25 % по вазі приблизно до 30 % по вазі в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції. Вищезгадані композиції також можуть включати одну або більше фармацевтично прийнятних допоміжних речовин, наприклад, приблизно від 20 % по вазі приблизно до 50 % по вазі наповнювача; приблизно від 1 % по вазі приблизно до 5 % по вазі розпушувача; приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,3 % по вазі сурфактанта; і приблизно від 0,1 % по вазі приблизно до 5 % по вазі зв'язувальної речовини.

Інший приклад фармацевтичної композиції включає приблизно від 15 % по вазі приблизно до 70 % по вазі (напр., приблизно від 15 % по вазі приблизно до 60 % по вазі, приблизно від 15 % по вазі приблизно до 50 % по вазі, або приблизно від 15 % по вазі приблизно до 40 % по вазі, або приблизно від 20 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 30 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 40 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 50 % по вазі приблизно до 70 % по вазі) Сполуки 1 Форми I, по вазі від композиції; приблизно від 15 % по вазі до 40 % по вазі (напр., близько 20-35 % по вазі) в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції, і частіше від 25 % по вазі приблизно до 30 % по вазі в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції й одну або більше допоміжних речовин, наприклад, приблизно від 20 % по вазі до 50 % по вазі наповнювача, від 1 % по вазі приблизно до 5 % по вазі розпушувача; приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,3 % по вазі сурфактанта; приблизно від 0,1 % по вазі приблизно до 5 % по вазі зв'язувальної речовини; і приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,1 % по вазі змащувальної речовини.

Інший приклад фармацевтичної композиції включає приблизно від 15 % по вазі приблизно до 70 % по вазі (напр., приблизно від 15 % по вазі приблизно до 60 % по вазі, приблизно від 15 % по вазі приблизно до 50 % по вазі, або приблизно від 15 % по вазі приблизно до 40 % по вазі, або приблизно від 20 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 30 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 40 % по вазі приблизно до 70 % по вазі, або приблизно від 50 % по вазі приблизно до 70 % по вазі) Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції, приблизно від 15 % по вазі приблизно до 40 % по вазі (напр., близько 20-35 % по вазі) в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції, і частіше від 25 % по вазі приблизно до 30 % по вазі в основному аморфної Сполуки 2 по вазі від композиції й одну або більше допоміжних речовин, наприклад, приблизно від 20 % по вазі приблизно до 50 % по вазі наповнювача, від 1 % по вазі приблизно до 5 % по вазі розпушувача; приблизно від 2 % по вазі

приблизно до 0,3 % по вазі сурфактанта; приблизно від 0,1 % по вазі приблизно до 5 % по вазі зв'язувальної речовини; і приблизно від 2 % по вазі приблизно до 0,1 % по вазі змащувальної речовини; приблизно від 2 % по вазі приблизно до 4 % по вазі барвника; і приблизно від 0,005 % по вазі приблизно до 0,015 % по вазі воску.

5 В одному варіанті застосування винахід є гранулярною фармацевтичною композицією, що включає:

а) близько 43 % по вазі Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції;

б) близько 34 % по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 по вазі від композиції;

10 в) близько 17 % по вазі мікрокристалічної целюлози по вазі від композиції;

г) близько 2 % по вазі кроскармелози натрію по вазі від композиції;

д) близько 1 % по вазі лаурилсульфату натрію по вазі від композиції; і

е) близько 3 % по вазі полівінілпіролідону по вазі від композиції.

В одному варіанті застосування винахід є таблеткою, що включає:

15 а) близько 35 % по вазі Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції;

б) близько 28 % по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 по вазі від композиції;

в) близько 26 % по вазі мікрокристалічної целюлози по вазі від композиції;

г) близько 6 % по вазі кроскармелози натрію по вазі від композиції;

20 д) близько 3 % по вазі полівінілпіролідону по вазі від композиції;

е) близько 1 % по вазі лаурилсульфату натрію по вазі від композиції; і

ж) близько 1 % по вазі стеарату магнію по вазі від композиції.

В одному варіанті застосування винахід є таблеткою, що включає:

а) близько 34 % по вазі Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції;

25 б) близько 27 % по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 по вазі від композиції;

в) близько 26 % по вазі мікрокристалічної целюлози по вазі від композиції;

г) близько 6 % по вазі кроскармелози натрію по вазі від композиції;

30 д) близько 2 % по вазі полівінілпіролідону по вазі від композиції

е) близько 1 % по вазі лаурилсульфату натрію по вазі від композиції;

ж) близько 1 % по вазі стеарату магнію по вазі від композиції;

з) близько 3 % по вазі барвника по вазі від композиції; і

и) близько 0,010 % по вазі воску по вазі від композиції.

Інша таблетка, що є предметом винаходу, включає:

35 а) близько 150 до 250 мг Сполуки 1 Форми I;

б) близько 100 до 150 мг в основному аморфної Сполуки 2;

в) близько 125 до 175 мг мікрокристалічної целюлози;

г) близько 20 до 40 мг кроскармелози натрію;

д) близько 10 до 20 мг полівінілпіролідону;

40 е) близько 2 до 6 мг лаурилсульфату натрію; і

ж) близько 3 до 7 мг стеарату магнію.

Інша таблетка, що є предметом винаходу, включає:

а) близько 200 мг Сполуки 1 Форми I;

б) близько 125 мг в основному аморфної Сполуки 2;

45 в) близько 150 мг мікрокристалічної целюлози;

г) близько 34 мг кроскармелози натрію;

д) близько 15 мг полівінілпіролідону;

е) близько 4 мг лаурилсульфату натрію; і

ж) близько 6 мг стеарату магнію.

50 Інша таблетка, що є предметом винаходу, включає:

а) близько 200 мг Сполуки 1 Форми I;

б) близько 125 мг в основному аморфної Сполуки 2;

в) близько 150 мг мікрокристалічної целюлози;

г) близько 34 мг кроскармелози натрію;

55 д) близько 15 мг полівінілпіролідону;

е) близько 4 мг лаурилсульфату натрію;

ж) близько 6 мг стеарату магнію;

з) близько 17 мг барвника; і

и) близько 0,06 мг воску.

60 В одному варіанті застосування винахід є гранулярною фармацевтичною композицією, що

включає:

- а) близько 38 % по вазі Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції;
- б) близько 40 % по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 по вазі від композиції;

- 5 в) близько 16 % по вазі мікрокристалічної целюлози по вазі від композиції;
- г) близько 2 % по вазі кроскармелози натрію по вазі від композиції;
- д) близько 1 % по вазі лаурилсульфату натрію по вазі від композиції; і
- е) близько 3 % по вазі полівінілпіролідону по вазі від композиції.

В одному варіанті застосування винахід є таблеткою, що включає:

- 10 а) близько 31 % по вазі Сполуки 1 Форми I по вазі від композиції;
- б) близько 32 % по вазі твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 по вазі від композиції;

- в) близько 26 % по вазі мікрокристалічної целюлози по вазі від композиції;
- г) близько 6 % по вазі кроскармелози натрію по вазі від композиції;
- 15 д) близько 3 % по вазі полівінілпіролідону по вазі від композиції
- е) близько 1 % по вазі лаурилсульфату натрію по вазі від композиції;
- ж) близько 1 % по вазі стеарату магнію по вазі від композиції; і
- з) близько 3 % по вазі барвника по вазі від композиції.

Інша таблетка, що є предметом винаходу, включає:

- 20 а) близько 100 до 200 мг Сполуки 1 Форми I;
- б) близько 100 до 150 мг в основному аморфної Сполуки 2;
- в) близько 100 до 150 мг мікрокристалічної целюлози;
- г) близько 20 до 40 мг кроскармелози натрію;
- д) близько 10 до 20 мг полівінілпіролідону;
- 25 е) близько 2 до 6 мг лаурилсульфату натрію; і
- ж) близько 3 до 7 мг стеарату магнію.

Інша таблетка, що є предметом винаходу, включає:

- а) близько 150 мг Сполуки 1 Форми I;
- б) близько 125 мг в основному аморфної Сполуки 2;
- 30 в) близько 129 мг мікрокристалічної целюлози;
- г) близько 29 мг кроскармелози натрію;
- д) близько 13 мг полівінілпіролідону;
- е) близько 4 мг лаурилсульфату натрію;
- ж) близько 5 мг стеарату магнію; і
- 35 з) близько 15 мг барвника.

Фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, можна робити у формі таблеток, у формі капсул, у формі саше, у формі пастилок для розсмоктування або в іншій твердій формі, що підходить для перорального введення. Таким чином, у деяких варіантах застосування винаходу фармацевтичні композиції випускають у формі таблеток.

- 40 Інший аспект винаходу представляє фармацевтичну композицію, що складається з таблеток, що включають Сполуку 1 Форми I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і допоміжні речовини (напр., наповнювач, розпушувач, сурфактант, зв'язувальну речовину, барвник, змашувальну речовину або будь-яку їхню комбінацію), кожна з
- 45 який описана вище й у Прикладах нижче, де розчинність таблетки складає щонайменше близько 50 % (напр., по меншій мірі близько 60 %, щонайменше близько 70 %, щонайменше близько 80 %, щонайменше близько 90 % або щонайменше близько 99 %) протягом приблизно 30 хвилин.

- В одному прикладі фармацевтична композиція складається з таблеток, що включають Сполуку 1 Форми I у кількості, що варіює від 25 до 400 мг, наприклад 25 або 50 мг, або 75, 100
- 50 або 150, 200, 250, 300 або 400 мг, в основному аморфну Сполуку 2 у кількості, що варіює від 25 до 250 мг, наприклад 25 або 50 мг, або 75, або 100, або 150, 200, 250 мг і одну або більше допоміжних речовин (напр., наповнювач, розпушувач, сурфактант, зв'язувальну речовину, барвник, змашувальну речовину або будь-яку їхню комбінацію) кожна з яких описана вище й у Прикладах нижче, де розчинність таблетки складає щонайменше приблизно від 50 % приблизно
- 55 до 100 % (напр., приблизно від 55 % приблизно до 95 % або приблизно від 60 % приблизно до 90 %) протягом приблизно 30 хвилин.

- Розчинність можна виміряти за допомогою стандартного апарату Фармакопеї США типу II, у якому застосовують середовище для розчинення, що складається з 0,1 % СТАВ (цетилтриметиламоній бромід), розчинене в 900 мл деіонізованої води, у буфері з 50 мМ
- 60 однозаміщеного фосфату кальцію рН 6,8, при перемішуванні при 50-75 об./хв. при температурі

близько 37 °С. Одну експериментальну таблетку тестують у кожній експериментальній посудині апарату. Розчинність також можна виміряти за допомогою стандартного апарату Фармакопеї США типу II, у якому застосовують середовище для розчинення, що складається з 0,7 % лаурилсульфату натрію, розчиненого в 900 мл 50 мМ натрійфосфатного буфера (рН 6,8), при перемішуванні при 65 об./хв. при температурі близько 37 °С. Одну експериментальну таблетку тестують у кожній експериментальній посудині апарату. Розчинність також можна виміряти за допомогою стандартного апарату Фармакопеї США типу II, у якому застосовують середовище для розчинення, що складається з 0,5 % лаурилсульфату натрію, розчиненого в 900 мл 50 мМ натрійфосфатного буфера (рН 6,8), при перемішуванні при 65 об./хв. при температурі близько 37 °С. Одну експериментальну таблетку тестують у кожній експериментальній посудині апарату.

СПОСОБИ ВИГОТОВЛЕННЯ СПОЛУКИ 1 ФОРМИ І І ТВЕРДОЇ ДИСПЕРСИЇ, ЩО ВКЛЮЧАЄ В ОСНОВНОМУ АМОРФНУ СПОЛУКУ 2

Сполука 1

Сполуку 1 застосовують як вихідну речовину для Сполуки 1 Форми І, і її можна приготувати за допомогою зв'язування функціональної групи хлорангідриду з функціональною групою аміну у відповідності зі Схемами 1-4.

Схема 1. Синтез функціональної групи хлорангідриду.

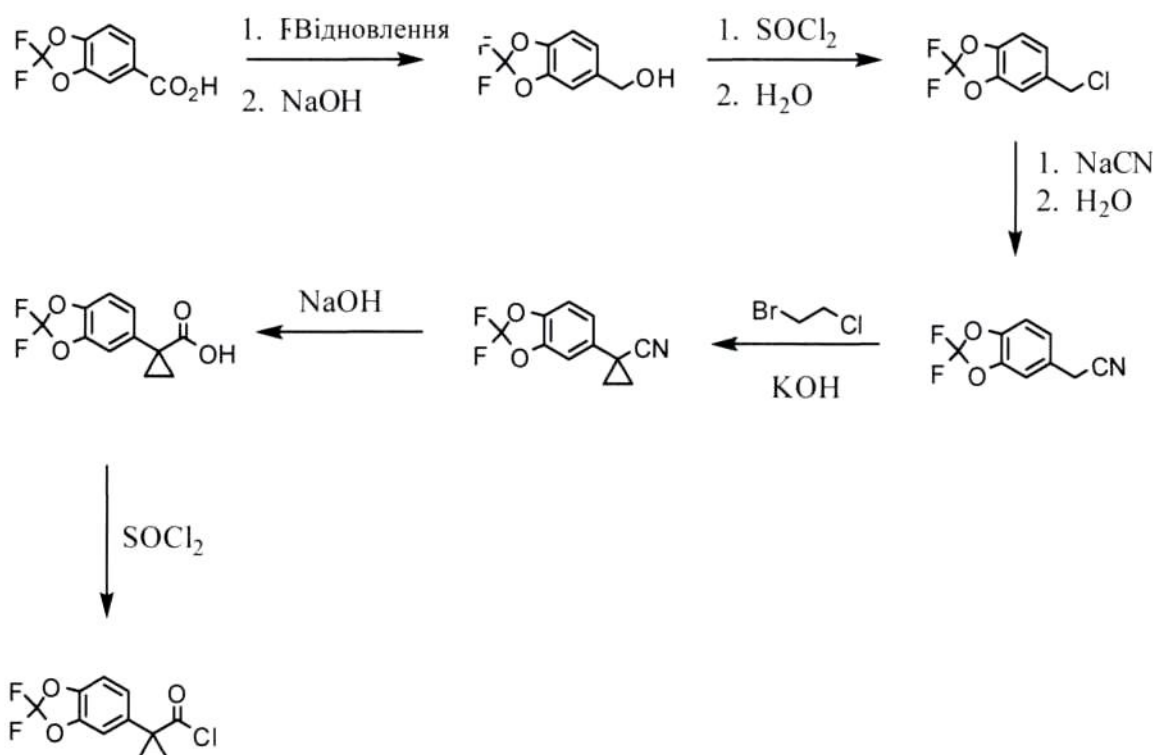


Схема 1 ілюструє одержання 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонілхлориду, що застосовують у Схемі 3 для утворення амідного зв'язку Сполуки 1.

Вихідний матеріал, 2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-карбонова кислота, є комерційно доступною в Saltigo (дочірнє підприємство Lanxess Corporation). Відновлення функціональної групи карбонової кислоти в 2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-карбоновій кислоті в первинному спирті з наступним перетворенням у відповідний хлорид за допомогою тіонілхлориду (SOCl₂) утворює 5-(хлорметил)-2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол, що згодом перетворюється в 2-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)ацетонітрил за допомогою ціаніду натрію. Обробка 2-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)ацетонітрилу основою і 1-бром-2-хлоретаном утворює 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонітрил. Нітрильна функціональна група в 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонітрилі перетворюється в карбоксильну групу за допомогою основи з утворенням 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонової кислоти, що перетворюється в шуканий хлорангідрид за допомогою тіонілхлориду.

Схема 2. Альтернативний синтез функціональної групи хлорангідриду.

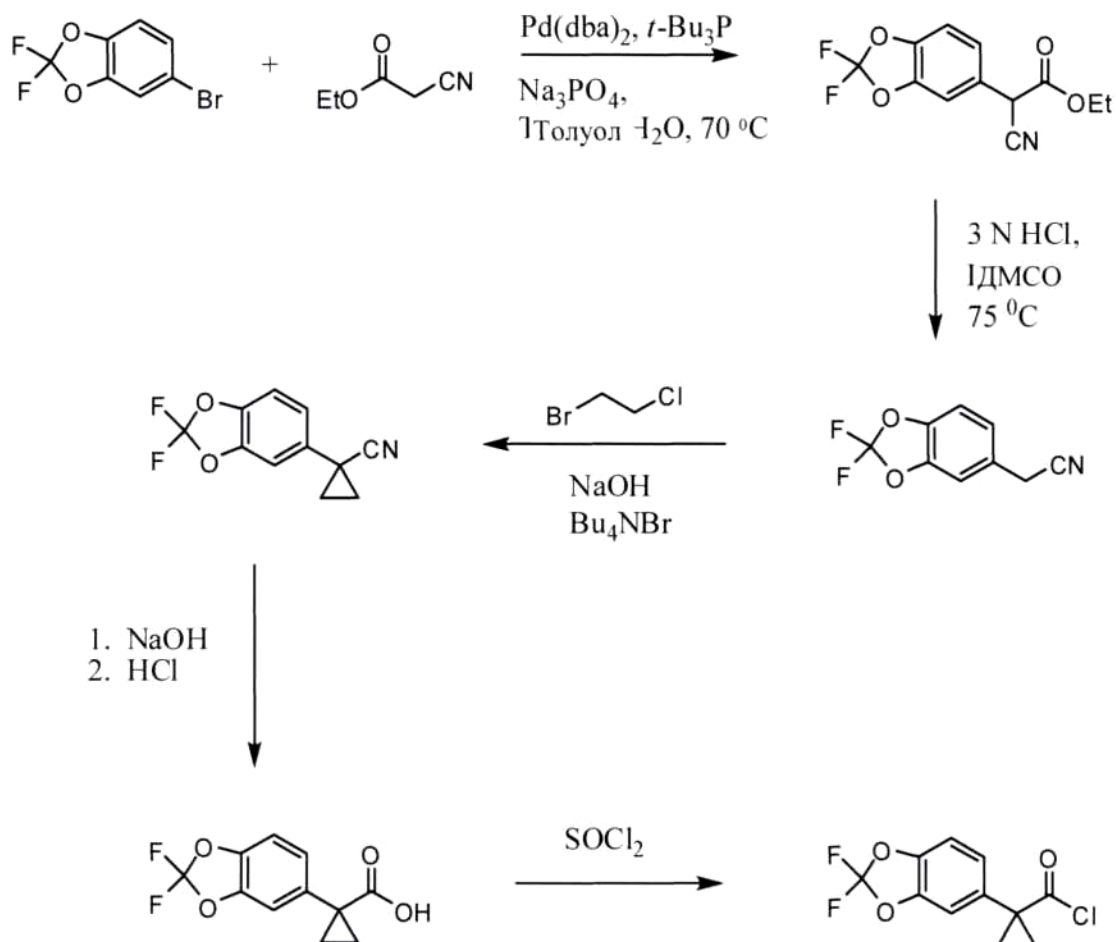


Схема 2 показує альтернативний синтез необхідного хлорангідриду. 5-бромметил-2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол зв'язують з етилціаноацетатом у присутності паладієвого каталізатора для утворення відповідного альфа-ціаноетилового ефіру. Омилення ефірної групи до карбонової кислоти приводить до утворення ціаноетилової сполуки. Алкілування ціаноетилової сполуки 1-бром-2-хлоретаном у присутності основи приводить до утворення ціаноциклопропілової сполуки. Обробка ціаноциклопропілової сполуки основою приводить до утворення солі карбонової кислоти, що перетворюється в карбонову кислоту при обробці кислотою. Перетворення карбонової кислоти в хлорангідрид згодом завершується за допомогою хлоруючого агента, такого як тіонілхлорид або подібних.

Схема 3. Синтез функціональної аміногрупи.

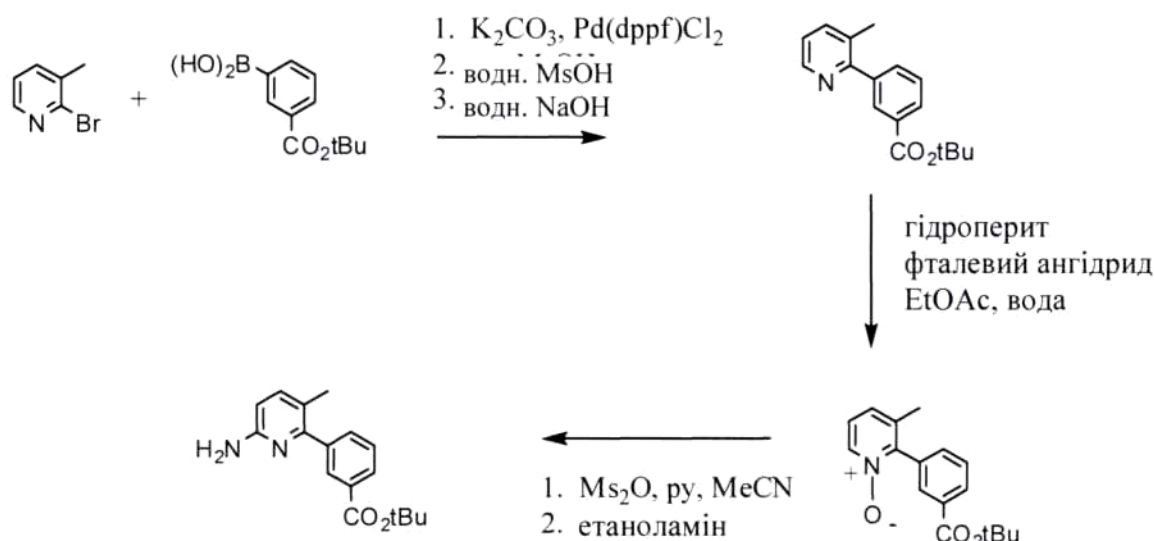
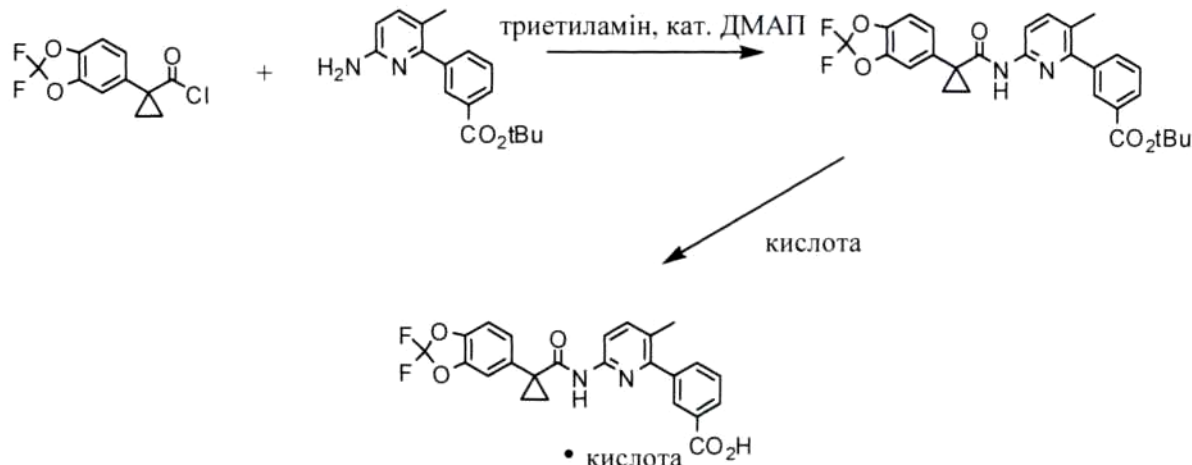


Схема 3 показує приготування необхідного третбутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоату, що зв'язують з 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонілхлоридом на Схемі 3 для утворення Сполуки 1. Каталізоване паладієм зв'язування 2-бром-3-метилпіридину з 3-(третбутоксикарбоніл)фенілбороною кислотою

5

приводить до утворення третбутил-3-(3-метилпіридин-2-іл)бензоату, що потім перетворюється в шукану сполуку.

Схема 4. Утворення кислоти солі 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти.



10

Схема 4 показує зв'язування 1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбонілхлориду з третбутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоатом за допомогою триетиламіну і 4-диметиламінопіридину для утворення третбутилового ефіру Сполуки 1.

Сполука 1 Форма I

15

Сполуку 1 Форми I готують за допомогою диспергування або розчинення сольової форми, такої як солі HCl, Сполуки 1 у придатному розчиннику протягом ефективної кількості часу. Сполуку 1 Форму I також можна приготувати прямо з t-бутилефірного попередника за допомогою обробки відповідною кислотою, такою як мурашина кислота.

HCl сіль 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-

20

метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти можна застосовувати для утворення Форми I за допомогою диспергування або розчинення HCl солі 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти в придатному розчиннику протягом ефективної кількості часу. Можна застосовувати інші солі 3-(6-(1-(2,2-

25

дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти, такі як, наприклад, солі, отримані з інших неорганічних або органічних кислот. Інші солі утворюються в результаті кислотного гідролізу функціональної групи t-бутилового ефіру. Солі, отримані з інших кислот, можуть включати, наприклад, солі азотної, сірчаної, фосфорної, борної, оцтової, бензойної і маленової кислот. Ці сольові форми 3-(6-(1-(2,2-

30

дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти можуть бути або не бути розчинними в залежності від застосовуваного розчинника, але відсутність розчинності не перешкоджає утворенню Сполуки 1 Форми I. Наприклад, в одному варіанті застосування винаходу придатний розчинник може бути водою або сумішшю спирту/води, такою як суміш 50 % метанолу/води, хоча форма HCl солі 3-(6-(1-(2,2-

35

дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти слабо розчинна у воді. В одному варіанті застосування винаходу придатним розчинником є вода.

Ефективна кількість часу для утворення Сполуки 1 Форми I із солі 3-(6-(1-(2,2-

40

дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти може бути будь-яким часом від 2 до 24 годин або більше. Визнано, що необхідна кількість часу зворотнопропорційна температурі. Тобто чим вище температура, тим менше потрібно часу для дисоціації кислоти з утворенням Сполуки 1 Форми I. Коли розчинником є вода, перемішування дисперсії протягом приблизно 24 годин при кімнатній температурі приводить до утворення Сполуки 1 Форми I із приблизно 98 % виходом. Якщо для технологічних потреб потрібен розчин солі 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти, можна застосовувати

45

підвищену температуру. Після перемішування розчину протягом ефективної кількості часу при

підвищеній температурі перекристалізація при охолодженні приводить до утворення в основному чистої Сполуки 1 Форми І. В одному варіанті застосування винаходу "в основному чистий" як застосовують у фразі "в основному чисту Сполуку 1 Форми І" означає більш ніж 90 % чистоту. В іншому варіанті застосування винаходу "в основному чистий" стосується більш ніж 95 % чистоти. В іншому варіанті застосування винаходу "в основному чистий" стосується більш ніж 98 % чистоти. В іншому варіанті застосування винаходу "в основному чистий" стосується більш ніж 99 % чистоти. Вибрана температура частково залежить від застосовуваного розчинника і знаходиться в межах можливостей визначення середнього фахівця в даній галузі техніки. В одному варіанті застосування винаходу температура знаходиться в межах від кімнатної температури приблизно до 80 °С. В іншому варіанті застосування винаходу температура знаходиться в межах від кімнатної температури приблизно до 40 °С. В іншому варіанті застосування винаходу температура знаходиться в межах від 40 °С і приблизно до 60 °С. В іншому варіанті застосування винаходу температура знаходиться в межах від 60 °С і приблизно до 80 °С.

Сполука 1 Форма І також може бути утворена прямо з 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату (порівн. зі Схемою 3), що є попередником солі Сполуки 1. Таким чином, 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоат може реагувати з відповідною кислотою, такою як, наприклад, мурашина кислота, у придатних умовах реакції з утворенням Сполуки 1 Форми І.

Сполуку 1 Форму І можна далі очистити за допомогою перекристалізації з органічного розчинника. Приклади органічних розчинників включають, але не обмежуються толуолом, кумолом, анізолом, 1-бутанолом, ізопропілацетатом, бутилацетатом, ізобутилацетатом, метил t-бутиловим ефіром, метилізобутилкетоні і сумішами 1-пропанол-вода. Температура може бути такою, як описана вище. Наприклад, Сполука 1 Форма І розчиняється в 1-бутанолі при 75 °С до повного розчинення. Охолодження розчину до 10 °С зі швидкістю 0,2 °С/хв. приводить до утворення кристалів Сполуки 1 Форми І, які можна виділити фільтрацією.

В одному варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І характеризується одним або більше піками в інтервалі від 15,2 до 15,6 градусів, від 16,1 до 16,5 градусів і від 14,3 до 14,7 градусів рентгенівської порошкової дифрактометрії, отриманої за допомогою Cu K альфа випромінювання. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І характеризується одним або більше піками при 15,4, 16,3 і 14,5 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 14,6 до 15,0 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 14,8 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 17,6 до 18,0 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 17,8 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 16,4 до 16,8 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 16,4 до 16,8 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 16,6 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 7,6 до 8,0 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 7,8 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 25,8 до 26,2 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 26,0 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 21,4 до 21,8 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 21,6 градусах. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком в інтервалі від 23,1 до 23,5 градусів. В іншому варіанті застосування винаходу Сполука 1 Форма І далі характеризується піком при 23,3 градусах. У деяких варіантах застосування винаходу Сполука 1 Форма І характеризується дифракційною картиною в основному схожою з такою на Фігурі 1. У деяких варіантах застосування винаходу Сполука 1 Форма І характеризується дифракційною картиною в основному схожою з такою на Фігурі 2.

У деяких варіантах застосування винаходу розподіл розміру частинок D90 складає близько 82 мкм або менше для Сполуки 1 Форми І. У деяких варіантах застосування винаходу розподіл розміру частинок D50 складає близько 30 мкм або менше для Сполуки 1 Форми І.

Сполука 2

Сполука 2 є вихідною сполукою для твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і може бути приготовлена при зв'язуванні функціональної групи 4-оксо-

дигідрохінолінкарбонової кислоти з аміногрупою у відповідності зі Схемами 5-7.

Схема 5: Синтез функціональної групи 4-оксо-дигідрохінолінкарбонової кислоти.

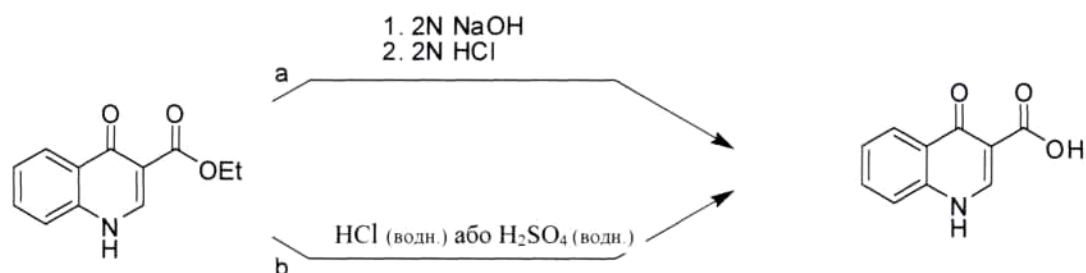
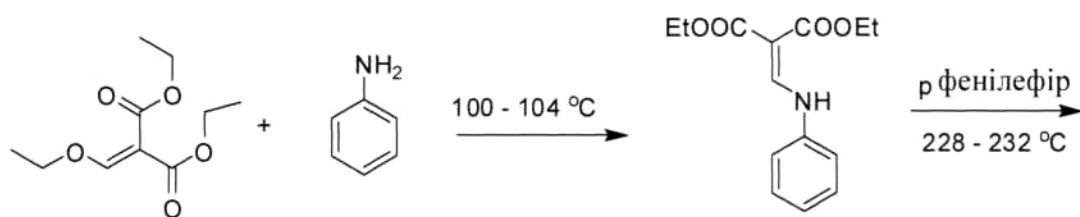
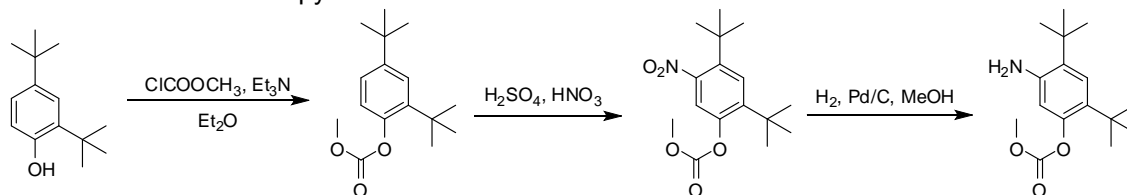
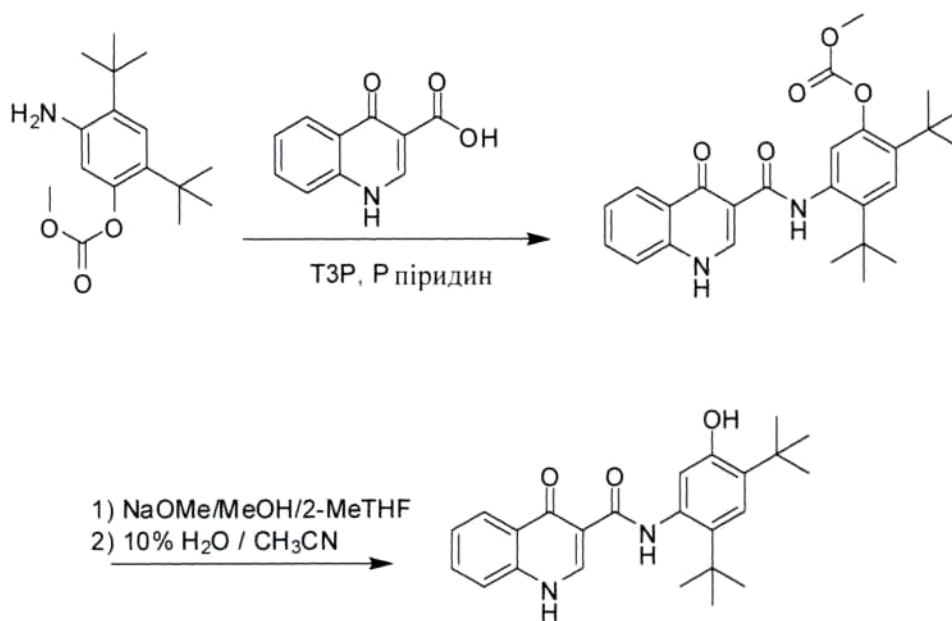


Схема 6: Синтез аміногрупи.



5

Схема 7: Зв'язування функціональної групи 4-оксо-дигідрохінолінкарбонової кислоти з аміногрупою.



с Сполука 2

Тверда дисперсія, що включає в основному аморфну Сполуку 2

10

Виходячи зі Сполуки 2, аморфну форму Сполуки 2 можна приготувати за допомогою способу висушування розпиленням. Висушування розпиленням являє собою процес, що перетворює рідку сировину у форму сухих мікрочастинок. При бажанні можна застосовувати процес вторинного висушування, такого як висушування в псевдозрідженому шарі або вакуумне висушування, для зниження залишкового вмісту розчинників до фармацевтично прийнятних рівнів. Звичайне висушування розпиленням включає контакт високодисперсної рідкої суспензії або розчину з достатнім об'ємом гарячого повітря для утворення і висушування крапель рідини.

15

Препарат, призначений для висушування розпиленням, може бути будь-яким розчином, грубою суспензією, суспензією, колоїдною дисперсією або пастою, яку можна роздрібнити за допомогою обраного апарату для висушування розпиленням. У стандартній процедурі препарат розпорошують у потоці теплого фільтрованого повітря, що випаровує розчинник і подає висушений продукт у колектор (напр., циклонний уловлювач). Відпрацьоване повітря потім виходить разом із розчинником або, як альтернатива, відпрацьоване повітря відправляють у конденсатор для збору і можливої рециркуляції розчинника. Комерційно доступні типи апаратів можна застосовувати для проведення висушування розпиленням. Наприклад, комерційні прилади для висушування розпиленням роблять Buchi Ltd. і Niro (напр., приладів для висушування розпиленням лінії PSD виробництва Niro) (див., US 2004/0105820; US 2003/0144257).

У висушуванні розпиленням звичайно застосовують навантаження твердими частинками матеріалу, що дорівнює приблизно від 3 % приблизно до 30 % по вазі, (тобто, лікарського препарату і допоміжних речовин), наприклад, приблизно від 4 % приблизно до 20 % по вазі, переважно щонайменше близько 10 %. У загальному випадку верхня межа навантаження твердими частинками визначається в'язкістю (напр., здатністю до нагнітання) розчину, що утвориться в результаті, і розчинністю компонентів у розчині. У загальному випадку в'язкість розчину може визначати розмір частинок у порошковому продукті, що утвориться в результаті.

Техніки і способи висушування розпиленням можна знайти в Perry's Chemical Engineering Handbook, 6th Ed., R. H. Perry, D. W. Green & J. O. Maloney, eds., McGraw-Hill book co. (1984); і Marshall "Atomization and Spray-Drying" 50, Chem. Eng. Prog. Monogr. Series 2 (1954). У загальному випадку висушування розпиленням проводять при температурі на вході приблизно від 60 °C приблизно до 200 °C, наприклад, приблизно від 95 °C приблизно до 185 °C, приблизно від 110 °C приблизно до 182 °C, приблизно від 96 °C приблизно до 180 °C, напр., близько 145 °C. Висушування розпиленням звичайно проводять при температурі на виході приблизно від 30 °C приблизно до 90 °C, наприклад, приблизно від 40 °C приблизно до 80 °C, приблизно від 45 °C приблизно до 80 °C напр., близько 75 °C. Швидкість потоку розпилення звичайно складає приблизно від 4 кг/год. приблизно до 12 кг/год., наприклад, приблизно від 4,3 кг/год. приблизно до 10,5 кг/год., напр., близько 6 кг/год. або близько 10,5 кг/год. Швидкість подаваного потоку звичайно складає приблизно від 3 кг/год. приблизно до 10 кг/год., наприклад, приблизно від 3,5 кг/год. приблизно до 9,0 кг/год., наприклад, приблизно 8 кг/год. або приблизно 7,1 кг/год. Ступінь розпилення звичайно складає приблизно від 0,3 до 1,7, напр., приблизно від 0,5 до 1,5, напр., близько 0,8 або приблизно 1,5.

Видалення розчинника може вимагати наступної стадії висушування, такої як висушування на підкладці, висушування в псевдозрізженому шарі (напр., приблизно від кімнатної температури приблизно до 100 °C), вакуумне висушування, мікрохвильове висушування, висушування в обертовому барабані або біконічне вакуумне висушування (напр., приблизно від кімнатної температури приблизно до 200 °C).

В одному варіанті застосування винаходу висушена розпиленням дисперсія є висушеною в псевдозрізженому шарі.

В одному процесі розчинник включає леткий розчинник, наприклад, розчинник із точкою кипіння приблизно менше 100 °C. У деяких варіантах застосування винаходу розчинник включає суміш розчинників, наприклад, суміш летких розчинників або суміш летких і нелетких розчинників. При застосуванні розчинників суміш може включати один або більше нелетких розчинників, наприклад, де нелеткий розчинник присутній у суміші в кількості менше приблизно 15 %, напр., менше приблизно 12 %, менше приблизно 10 %, менше приблизно 8 %, менше приблизно 5 %, менше приблизно 3 % або менше приблизно 2 %.

Переважними розчинниками є розчинники, у яких Сполука 2 має розчинність, що дорівнює щонайменше приблизно 10 мг/мл (напр., щонайменше приблизно 15 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 30 мг/мл, 35 мг/мл, 40 мг/мл, 45 мг/мл, 50 мг/мл або більше). Більш переважні розчинники включають такі розчинники, у яких Сполука 2 має розчинність, що дорівнює щонайменше приблизно 20 мг/мл.

Приклади розчинників, які можна досліджувати, включають ацетон, циклогексан, дихлорметан, N, N-диметилацетамід (ДМА), N, N-диметилформамід (ДМФ), 1,3-диметил-2-імідазолідион (ДМІ), диметилсульфоксид (ДМСО), діоксан, етилацетат, етиловий ефір, крижану оцтову кислоту, метилетилкетон (МЕК), N-метил-2-піролідон (NMP), метил-трет-бутиловий ефір (МТБЕ), тетрагідрофуран (ТГФ), пентан, ацетонітрил, метанол, етанол, ізопропіловий спирт, ізопропілацетат і толуол. Приклади допоміжних розчинників включають ацетон/ДМСО, ацетон/ДМФ, ацетон/воду, МЕК/воду, ТГФ/воду, діоксан/воду. У системі двох розчинників розчинники можуть бути присутніми у кількості приблизно від 0,1 % приблизно до

99,9 %. У деяких варіантах застосування винаходу вода є допоміжним розчинником разом з ацетоном, де вода присутня в кількості приблизно від 0,1 % приблизно до 15 %, наприклад, приблизно від 9 % приблизно до 11 %, напр., близько 10 %. У деяких переважних варіантах застосування винаходу вода є допоміжним розчинником разом з МЕК, де вода присутня в кількості приблизно від 0,1 % приблизно до 15 %, наприклад, приблизно від 9 % приблизно до 11 %, напр., близько 10 %. У деяких варіантах застосування винаходу розчин розчинника включає три розчинники. Наприклад, ацетон і вода можуть бути змішані з третім розчинником, таким як ДМА, ДМФ, ДМІ, ДМСО або з крижаною оцтовою кислотою. У випадках, коли в основному аморфна Сполука 2 є компонентом твердої дисперсії, переважні розчинники розчиняють як Сполуку 2, так і полімер. Придатні розчинники включають описані вище, наприклад, МЕК, ацетон, воду, метанол і їхні суміші.

Розмір частинок і температурний інтервал висушування можна модифікувати для приготування оптимальної висушеної розпиленням дисперсії. Фахівцям у даній галузі техніки ясно, що частинки малого розміру будуть забезпечувати поліпшене видалення розчинника. Однак заявники знайшли, що частинки меншого розміру будуть приводити до утворення пухких частинок, що у визначених умовах не можуть забезпечити утворення висушеної розпиленням дисперсії оптимальної для наступної обробки, такої як таблетування. При більш високих температурах може відбутися кристалізація або хімічна деградація в основному аморфної Сполуки 2. При більш низьких температурах може бути вилучена недостатня кількість розчинника. Способи в даній заявці представляють оптимальний розмір частинок і оптимальну температуру висушування.

У загальному випадку розмір частинок такий, що D10 (мкм) складає приблизно менше 5, напр., приблизно менше 4,5, приблизно менше 4,0 або приблизно менше 3,5, D50 (мкм) у загальному випадку складає приблизно менше 17, напр., приблизно менше 16, приблизно менше 15, приблизно менше 14, приблизно менше 13, і D90 (мкм) у загальному випадку складає приблизно менше 175, напр., приблизно менше 170, приблизно менше 170, приблизно менше 150, приблизно менше 125, приблизно менше 100, приблизно менше 90, приблизно менше 80, приблизно менше 70, приблизно менше 60 або приблизно менше 50. У загальному випадку об'ємна площа висушених розпиленням частинок складає приблизно від 0,08 г/см³ приблизно до 0,20 г/см³, напр., приблизно від 0,10 приблизно до 0,15 г/см³, напр., приблизно 0,11 г/см³ або приблизно 0,14 г/см³. Густина утрясання висушених розпиленням частинок складає приблизно від 0,08 г/см³ приблизно до 0,20 г/см³, напр., приблизно від 0,10 приблизно до 0,15 г/см³, напр., приблизно 0,11 г/см³ або приблизно 0,14 г/см³ для 10 струшувань; 0,10 г/см³ приблизно до 0,25 м/см³, напр., приблизно від 0,11 приблизно до 0,21 г/см³, напр., приблизно 0,15 г/см³, приблизно 0,19 г/см³ або приблизно 0,21 г/см³ для 500 струшувань; 0,15 г/см³ приблизно до 0,27 г/см³, напр., приблизно від 0,18 приблизно до 0,24 г/см³, напр., приблизно 0,18 г/см³, приблизно 0,19 г/см³, приблизно 0,20 г/см³ або приблизно 0,24 г/см³ для 1250 струшувань; і 0,15 г/см³ приблизно до 0,27 г/см³, напр., приблизно від 0,18 приблизно до 0,24 г/см³, напр., приблизно 0,18 г/см³, приблизно 0,21 г/см³, приблизно 0,23 г/см³ або приблизно 0,24 г/см³ для 2500 струшувань.

Полімери

Висушені розпиленням дисперсії, включаючи аморфну Сполуку 2 і полімер (або твердий носій), також включені в дану заявку. Наприклад, Сполука 2 є присутньою у вигляді аморфної сполуки як компонент твердої аморфної дисперсії. Тверда аморфна дисперсія в загальному випадку включає в основному аморфну Сполуку 2 і полімер. Приклади полімерів включають целюлозні полімери, такі як гідроксипропілметилцелюлоза (HPMC) або ацетат сукцинат гідроксипропілметилцелюлози (HPMCAS) і полімери, що містять піролідон, такі як полівінілпіролідон/вінілацетат (PVP/VA). У деяких варіантах застосування винаходу тверда аморфна дисперсія включає одну або більше допоміжних речовин, таких як сурфактант.

В одному варіанті застосування винаходу полімер здатний розчинятися у водному середовищі. Розчинність полімерів може бути рН-незалежною або рН-залежною. Останні включають один або більше розчинних в кишечнику полімерів. Термін "розчинний у кишечнику полімер" стосується полімеру, що переважно розчиняється в менш кислому середовищі кишечника в порівнянні з більш кислим середовищем шлунка, наприклад, полімер, не розчинний у кислому водному середовищі, але розчинний при рН вище 5-6. Придатний полімер повинен бути хімічно і біологічно інертним. Для поліпшення фізичної стабільності висушених розпиленням дисперсій температура склування (T_c) полімеру повинна бути максимально можливою. Наприклад, переважні полімери мають температуру склування, що щонайменше дорівнює або перевищує температуру склування лікарського препарату (тобто Сполуки 2). Інші переважні полімери мають температуру склування в інтервалі приблизно від 10 приблизно до 15 °C лікарського препарату (тобто, Сполуки 2). Приклади придатних температур склування

полімерів включають щонайменше приблизно 90 °С, щонайменше приблизно 95 °С, щонайменше приблизно 100 °С, щонайменше приблизно 105 °С, щонайменше приблизно 110 °С, щонайменше приблизно 115 °С, щонайменше приблизно 120 °С, щонайменше приблизно 125 °С, щонайменше приблизно 130 °С, щонайменше приблизно 135 °С, щонайменше приблизно 140 °С, щонайменше приблизно 145 °С, щонайменше приблизно 150 °С, щонайменше приблизно 155 °С, щонайменше приблизно 160 °С, щонайменше приблизно 165 °С, щонайменше приблизно 170 °С або щонайменше приблизно 175 °С (при вимірюванні в сухих умовах). Не бажаючи бути пов'язаними відповідністю якій-небудь теорії, автори вважають, механізм, що лежить в основі, полягає в тому, що полімер з більш високою T_c у загальному випадку має меншу молекулярну рухливість при кімнатній температурі, що може бути найважливішим фактором у стабілізації фізичної стабільності аморфної висушеної розпиленням дисперсії.

Крім того, гігроскопічність полімерів повинна бути якнайнижче, напр., приблизно менше 10 %. З метою порівняння в даній заявці гігроскопічність полімеру або композиції характеризується приблизно 60 % відносною вологістю. У деяких переважних варіантах застосування винаходу полімер має приблизно менше 10 % гігроскопічність, наприклад, приблизно менше 9 %, приблизно менше 8 %, приблизно менше 7 %, приблизно менше 6 %, приблизно менше 5 %, приблизно менше 4 %, приблизно менше 3 % або приблизно менше 2 % гігроскопічність. Гігроскопічність також може впливати на фізичну стабільність висушених розпиленням дисперсій. У загальному випадку волога, адсорбована полімерами, може значно знизити T_c полімерів, а також висушених розпиленням дисперсій, що утворюються в результаті, що може далі знижувати фізичну стабільність висушених розпиленням дисперсій, як описано вище.

В одному варіанті застосування винаходу полімер є одним або більше водорозчинними полімерами або частково водорозчинними полімерами. Водорозчинні або частково водорозчинні полімери включають, але не обмежуються похідними целюлози (напр., гідроксипропілметилцелюлозою (HPMC), гідроксипропілцелюлозою (HPC)) або етилцелюлозою; полівінілпіролідонами (PVP); поліетиленгліколями (ПЕГ); полівініловими спиртами (PVA); акрилатами, такими як поліметакрилат (напр., Eudragit® E); циклодекстринами (напр., β -циклодекстрином) і їх співполімерами і похідними, включаючи, наприклад PVP-VA (полівінілпіролідонвінілацетат).

У деяких варіантах застосування винаходу полімер є гідроксипропілметилцелюлозою (HPMC), такою як HPMCAS, HPMC E50, HPMCE15 або HPMC60SH50.

Як обговорюється до даної заявки, полімер може бути рН-залежним розчинним у кишечнику полімером. Такі рН-залежні розчинні в кишечнику полімери включають, але не обмежуються похідними целюлози (напр., ацетатфталатом целюлози (CAP)), фталатами гідроксипропілметилцелюлози (HPMCP), ацетатсукцинатом гідроксипропілметилцелюлози (HPMCAS), карбоксиметилцелюлозою (CMC) або їх солями (напр., натрієвою сіллю, такою як CMC-Na); ацетаттримелітатом целюлози (CAT), ацетатфталатом гідроксипропілцелюлози (HPCAP), ацетатфталатом гідроксипропілметилцелюлози (HPMCAP) і ацетатфталатом метилцелюлози (MCAP) або поліметакрилатами (напр., Eudragit® S). У деяких варіантах застосування винаходу полімер є ацетатсукцинатом гідроксипропілметилцелюлози (HPMCAS). У деяких варіантах застосування винаходу полімер є ацетатсукцинатом гідроксипропілметилцелюлози марки HG (у вигляді гранул, що розчиняються при високому рН)(HPMCAS-HG).

У ще одному варіанті застосування винаходу полімер є полівінілпіролідонним співполімером, наприклад, авінілпіролідон/вінілацетатним співполімером (PVP/VA).

У варіантах застосування винаходу, де Сполука 2 утворює висушену розпиленням дисперсію з полімером, наприклад, з HPMC, HPMCAS або PVP/VA полімером, кількість полімеру щодо загальної ваги висушеної розпиленням дисперсії варіює приблизно від 0,1 % до 99 % по вазі. Якщо інше не обговорене, процентний вміст лікарського препарату, полімеру й інших допоміжних речовин у дисперсії даний як процентний вміст по вазі. Кількість полімеру звичайно складає щонайменше приблизно 20 % і переважно приблизно щонайменше приблизно 30 %, наприклад, щонайменше приблизно 35 %, щонайменше приблизно 40 %, щонайменше приблизно 45 % або приблизно 50 % (напр., 49,5 %). Кількість звичайно складає близько 99 % або менше, і переважно близько 80 % або менше, наприклад, близько 75 % або менше, близько 70 % або менше, близько 65 % або менше, близько 60 % або менше або близько 55 % або менше. В одному варіанті застосування винаходу полімер присутній у кількості, що складає аж до приблизно 50 % від загальної ваги дисперсії (і точніше приблизно між 40 і 50 %, зокрема близько 49 %, близько 49,5 % або близько 50 %). HPMC і HPMCAS

доступні у вигляді різних марок виробництва ShinEtsu, наприклад, HPMCAS доступна у вигляді декількох різновидів, включаючи AS-LF (ацетатсукцинат у вигляді дрібнозернистого порошку, що розчиняється при низькому pH), AS-MF (ацетатсукцинат у вигляді дрібнозернистого порошку, що розчиняється при середньому pH), AS-HF (ацетатсукцинат у вигляді дрібнозернистого порошку, що розчиняється при високому pH), AS-LG (ацетатсукцинат у вигляді гранул, що розчиняються при низькому pH), AS-MG (ацетатсукцинат у вигляді гранул, що розчиняються при середньому pH), AS-HG (ацетатсукцинат у вигляді гранул, що розчиняються при високому pH). Кожна з цих марок відрізняється по відсотку заміщення ацетату і сукцинату.

У деяких варіантах застосування винаходу аморфна Сполука 2 і полімер присутні в приблизно рівних кількостях, наприклад, і полімер, і лікарський препарат складають близько половини процентного вмісту (по вазі) дисперсії. Наприклад, полімер присутній у кількості близько 49,5 %, а лікарський препарат присутній у кількості близько 50 %.

У деяких варіантах застосування винаходу комбінація в основному аморфної Сполуки 2 і полімеру складає від 1 до 20 % вага/вага від загального твердого вмісту не висушеної розпиленням дисперсії перед висушуванням розпиленням. У деяких варіантах застосування винаходу комбінація в основному аморфної Сполуки 2 і полімеру складає від 5 до 15 % вага/вага від загального твердого вмісту не висушеної розпиленням дисперсії перед висушуванням розпиленням. У деяких варіантах застосування винаходу комбінація в основному аморфної Сполуки 2 і полімеру складає близько 11 % вага/вага від загального твердого вмісту не висушеної розпиленням дисперсії перед висушуванням розпиленням.

У деяких варіантах застосування винаходу дисперсія далі включає інші присутні в незначній кількості інгредієнти, такі як сурфактант (напр., лаурилсульфат натрію). У деяких варіантах застосування винаходу сурфактант є присутнім у кількості, що складає приблизно менше 10 % дисперсії, наприклад, приблизно менше 9 %, приблизно менше 8 %, приблизно менше 7 %, приблизно менше 6 %, приблизно менше 5 %, приблизно менше 4 %, приблизно менше 3 %, приблизно менше 2 %, приблизно 1 % або приблизно 0,5 %.

У варіантах застосування винаходу, що включають полімер, полімер повинен бути присутнім в ефективній кількості для стабілізації висушеної розпиленням дисперсії. Стабілізація включає інгібування або запобігання кристалізації в основному аморфної Сполуки 2. Така стабілізація інгібує перетворення Сполуки 2 з аморфної в кристалічну форму. Наприклад, полімер буде перешкоджати перетворенню щонайменше частини (напр., приблизно 5 %, приблизно 10 %, приблизно 15 %, приблизно 20 %, приблизно 25 %, приблизно 30 %, приблизно 35 %, приблизно 40 %, приблизно 45 %, приблизно 50 %, приблизно 55 %, приблизно 60 %, приблизно 65 %, приблизно 70 %, приблизно 75 % або більше) Сполуки 2 з аморфної форми в кристалічну. Стабілізацію можна виміряти, наприклад, вимірюючи температуру склування висушеної розпиленням дисперсії, вимірюючи рівень релаксації аморфного матеріалу, вимірюючи або розчинність, або біодоступність Сполуки 2.

Придатні полімери для застосування в комбінації зі Сполукою 2, наприклад, для утворення висушеної розпиленням дисперсії, такої як аморфної висушеної розпиленням дисперсії, повинні мати одну або більше наступних властивостей:

Температура склування полімеру повинна бути приблизно не менше, ніж на 10-15 °C нижче температури склування в основному аморфної Сполуки 2. Переважно, щоб температура склування полімеру була вище температури склування в основному аморфної Сполуки 2 і в загальному випадку була щонайменше на 50 °C більше, ніж бажана температура збереження лікарського препарату. Наприклад, щонайменше близько 100 °C, щонайменше близько 105 °C, щонайменше близько 105 °C, щонайменше близько 110 °C, щонайменше близько 120 °C, щонайменше близько 130 °C, щонайменше близько 140 °C, щонайменше близько 150 °C, щонайменше близько 160 °C, щонайменше близько 160 °C або більше.

Полімер повинен бути відносно негігроскопічним. Наприклад, полімер при збереженні в стандартних умовах повинен адсорбувати приблизно менше 10 % води, наприклад, приблизно менше 9 %, приблизно менше 8 %, приблизно менше 7 %, приблизно менше 6 % або приблизно менше 5 %, приблизно менше 4 % або приблизно менше 3 % води. Переважно, щоб полімер при збереженні в стандартних умовах був в основному вільним від адсорбованої води.

Полімер повинен мати схожу або кращу розчинність у розчинниках, що підходять для процесів висушування розпиленням, у порівнянні зі Сполукою 2. У переважних варіантах застосування винаходу полімер буде розчинятися в одному або більше таких же розчинниках або системах розчинників, як і Сполука 2. Переважно, щоб полімер розчинявся щонайменше в одному розчиннику, що не містить гідрокси-групу, такому як хлорид метилену, ацетон або їхні комбінації.

Полімер при комбінації з в основному аморфною Сполукою 2, наприклад, у висушеній

розпиленням дисперсії або в рідкій суспензії, повинен підвищувати розчинність Сполуки 2 у водному і фізіологічно спорідненому середовищі щодо розчинності Сполуки 2 під час відсутності полімеру або щодо розчинності Сполуки 2 у комбінації з полімером порівняння. Наприклад, полімер може збільшувати розчинність аморфної Сполуки 2 за допомогою зниження кількості аморфної Сполуки 2, що перетворюється в кристалічну Сполуку 2 або з твердої аморфної дисперсії, або з рідкої суспензії.

Полімер повинен знижувати рівень релаксації аморфної речовини.

Полімер повинен підвищувати фізичну і/або хімічну стабільність в основному аморфної Сполуки 2.

Полімер повинен поліпшувати можливості виробництва в основному аморфної Сполуки 2.

Полімер повинен поліпшувати одну або більше властивостей поведінки, введення або зберігання в основному аморфної Сполуки 2.

Полімер не повинен вступати в небажані взаємодії з іншими фармацевтичними компонентами, наприклад, допоміжними речовинами.

Придатність кандидатного полімеру (або іншого компонента) для утворення аморфної композиції можна перевірити за допомогою способів висушування розпиленням (або інших способів), описаних у даній заявці. Кандидатну композицію можна порівнювати з погляду стабільності, опору утворенню кристалів або інших властивостей і порівнювати з препаратом порівняння, напр., препаратом строго аморфної Сполуки 2 або кристалічної Сполуки 2. Наприклад, кандидатну композицію можна досліджувати, щоб визначити, чи сповільнює вона час до початку опосередкованої розчинником кристалізації, або зменшує відсоток конверсії в заданий час у контрольованих умовах, на щонайменше 50 %, 75 %, 100 % або 110 %, так само як і препарат порівняння, або кандидатну композицію можна досліджувати, щоб визначити, чи має вона підвищену біодоступність або розчинність щодо кристалічної Сполуки 2.

Сурфактанти

Висушена розпиленням дисперсія може включати сурфактант. Сурфактант або суміш сурфактантів буде в загальному випадку знижувати натяг на границі розділу висушеної розпиленням дисперсії і водного середовища. Відповідний сурфактант або суміш сурфактантів може також підсилювати водорозчинність і біодоступність Сполуки 2 з висушеної розпиленням дисперсії. Сурфактанти для застосування в зв'язку з даним винаходом включають, але не обмежуються ефірами сорбітану і жирної кислоти (напр., Spans®), поліоксіетиленовими ефірами сорбітану і жирної кислоти (напр., Tweens®), лаурилсульфатом натрію (SLS), додецилбензенсульфонатом натрію (SDBS), сульфосукцинатом діоктилнатрію (Docusate), натрієвою сіллю діоксихолінової кислоти (DOSS), сорбітанмоностеаратом, сорбітантристеаратом, гексадецилтриметиламонійбромідом (HTAB), N-лауроїлсаркозином натрію, олеатом натрію, міристатом натрію, стеаратом натрію, пальміатом натрію, Gelucire 44/14, етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА), поліетиленгліколь 1000 сукцинатом вітаміну Е d-альфа токоферолу (TPGS), лецитином, мол. вага 677-692, мононатрієвим моногідратом глютамінової кислоти, Labrasol, ПЕГ 8 каприловими/каприновими гліцеридами, Transcutol, моноетиловим ефіром діетиленгліколю, Solutol HS-15, поліетилгліколь/гідроксистеаратом, таурохолевою кислотою, Pluronic F68, Pluronic F108 і Pluronic F127 (або іншими поліоксіетилен-поліоксипропіленовими співполімерами (Pluronic®) або насиченими поліглікозильованими гліцеридами (Gelucirs®)). Специфічні приклади таких сурфактантів, які можна застосовувати в зв'язку з даним винаходом, включають, але не обмежуються Span 65, Span 25, Tween 20, Carpyol 90, Pluronic F108, лаурилсульфатом натрію (SLS), поліетиленгліколь 1000 сукцинатом вітаміну Е d-альфа токоферолу, плуроніками і співполімерами. У загальному випадку лаурилсульфат натрію є переважним.

Кількість сурфактанту (напр., лаурилсульфату натрію) щодо загальної ваги висушеної розпиленням дисперсії може бути в межах 0,1-15 %. Переважно, щоб вона складала приблизно від 0,5 % приблизно до 10 %, більш переважно, приблизно від 0,5 % приблизно до 5 %, напр., приблизно від 0,5 до 4 %, приблизно від 0,5 до 3 %, приблизно від 0,5 до 2 %, приблизно від 0,5 до 1 % або приблизно 0,5 %.

У певних варіантах застосування винаходу кількість сурфактанту щодо загальної ваги висушеної розпиленням дисперсії складає щонайменше приблизно 0,1 %, переважно близько 0,5 %. У даних варіантах застосування винаходу сурфактант буде присутній у кількості, що не перевищує приблизно 15 %, і переважно, що не перевищує приблизно 12 %, приблизно 11 %, приблизно 10 %, приблизно 9 %, приблизно 8 %, приблизно 7 %, приблизно 6 %, приблизно 5 %, приблизно 4 %, приблизно 3 %, приблизно 2 % або приблизно 1 %. Варіант застосування винаходу, у якому сурфактант міститься в кількості, що дорівнює приблизно 0,5 % по вазі, є переважним.

Кандидатні сурфактанти (або інші компоненти) можна досліджувати на відповідність застосуванню у винаході способом, схожим з описаним для дослідження полімерів.

СПОСОБИ СТВОРЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ КОМПОЗИЦІЙ

Фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, можна робити за допомогою вологої грануляції, компактизації або пресування суміші або композиції, наприклад, порошку або гранул, під тиском для утворення сталеної тривимірної форми (напр., таблетки). Як застосовується в даній заявці, "таблетка" включає спресовані фармацевтичні стандартні лікарські форми усіх форм і розмірів, покриті оболонкою або ні.

Термін "таблетка", як застосовується в даній заявці, стосується фізично дискретної одиниці агента, що підходить для пацієнта, якому потрібне лікування. У загальному випадку компактизована суміш має більшу густину, ніж густина суміші перед компактизацією. Доза у формі таблетки, що є предметом даного винаходу, може мати практично будь-яку форму, включаючи увігнуту і/або опуклу сторони, закруглені або гострі кути й округлу або пряму форму. У деяких варіантах застосування винаходу спресовані таблетки, що є предметом винаходу, включають округлу таблетку з плоскими сторонами. Таблетки, що є предметом винаходу, можна приготувати будь-яким способом компактизації і пресування, відомим середньому фахівцю в даній галузі техніки як спосіб утворення пресованих твердих фармацевтичних лікарських форм. В окремих випадках застосування винаходу форми випуску, представлені в даній заявці, можна приготувати за допомогою традиційних способів, відомих фахівцям в галузі техніки, що стосується фармацевтичної сполуки, як описано, напр., у підручниках на відповідну тему. Див., напр., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. (2003); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms And Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, (1999); The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4th edition, Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003); Gibson, Pharmaceutical Preformulation And Formulation, CRC Press (2001), ці посилання в повному об'ємі включені в дану заявку за допомогою посилання.

Грануляція і пресування

У деяких варіантах застосування винаходу інгредієнти зважують згідно із заданою тут формулою. Потім усі інтрагранулярні інгредієнти просівають і ретельно перемішують. Інгредієнти можна змазати придатною змащувальною речовиною, наприклад, стеаратом магнію. Наступна стадія може включати компактизацію/брикетування порошкової суміші і відкаліброваних по розміру інгредієнтів. Потім компактизовані або брикетовані суміші перемелюють у гранули і просівають для одержання бажаного розміру. Потім гранули можна далі змазати, наприклад, за допомогою стеарату магнію. Потім гранулярну композицію, що є предметом винаходу, можна спресувати за допомогою придатних пуансонів у різні фармацевтичні форми відповідно до винаходу. При бажанні таблетки можна покрити плівковою оболонкою, барвником або іншим покриттям.

Інший аспект винаходу представляє спосіб виробництва фармацевтичної композиції, що включає утворення суміші композиції, що включає Сполуку 1 Форми I, твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і один або більше допоміжних речовин, вибраних з: наповнювача, розчинника, зв'язувальної речовини, сурфактанту, змащувальної речовини, розпушувача, і пресування композиції в таблетки з розчинністю, що дорівнює щонайменше близько 50 % протягом 30 хвилин.

В іншому варіанті застосування винаходу процес вологої грануляції проводять для одержання фармацевтичної форми, що є предметом даного винаходу, із суміші порошкових і рідких інгредієнтів. Наприклад, фармацевтичну композицію, що включає суміш композиції, що включає Сполуку 1 Форми I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2 і один або більше допоміжних речовин, вибрані з: наповнювача, зв'язувальної речовини, сурфактанту або розпушувача, зважують відповідно до заданої тут формули. Потім інтрагранулярні інгредієнти просівають і перемішують у грануляторі з великим або малим зусиллям зрушення за допомогою води або води із сурфактантом, або води з зв'язувальною речовиною, або води із сурфактантом і з зв'язувальною речовиною для грануляції порошкової суміші. Також можна застосовувати рідину, що відрізняється від води, що містить або не містить сурфактант і/або зв'язувальну речовину, для грануляції порошкової суміші. Потім вологі гранули можна при бажанні перемолоти за допомогою придатного подрібнювача. Потім при бажанні із суміші можна видалити воду за допомогою висушування інгредієнтів будь-яким придатним способом. Потім висушені гранули при бажанні можна перемолоти до заданого розміру. Потім за допомогою перемішування можна додати екстрагранулярні допоміжні речовини (наприклад, наповнювач, розчинник і розпушувач). Потім відкалібровані по розміру гранули можна далі змазати стеаратом магнію і розпушувачем, наприклад, кроскармелозою натрію. Потім

гранулярну композицію, що є предметом даного винаходу, можна просіяти протягом достатньої кількості часу для одержання правильного розміру і потім спресувати за допомогою придатних пуансонів у різні фармацевтичні форми відповідно до винаходу. При бажанні таблетки можна покрити плівковим покриттям, барвником або іншим покриттям. Несподівано виявилось, що

5 вологу грануляцію можна провести без значної втрати твердих форм Сполуки 1 Форми I або в основному аморфної Сполуки 2.

В особливо переважному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, готують за допомогою безперервного двошнекового процесу вологої грануляції (TSWG). Безперервне виробництво забезпечує виготовлення високоякісного й

10 уніфікованого продукту з поточним спостереженням і контролем. Безперервне виробництво також поліпшує якість за рахунок розробки плану з щільною мережею даних проектного поля і полегшеним розумінням внеску перемінних, що стоять вище, у наступні процеси і якість кінцевого продукту. Крім того, фармацевтичні композиції, що є предметом даного винаходу, можна випустити в остаточному вигляді на ранній стадії за допомогою устаткування

15 промислового масштабу, що рятує від масштабних ризиків і зміни сполуки на пізніх стадіях розробки. Нарешті, безперервне виробництво має комерційні переваги виробництва, такі як поліпшений процес контролю, скорочений час переміщення продукту й ефективність випуску в реальному часі. Загальним результатом є більш налагоджений, контрольований і масштабований процес з меншим числом функціональних перевірок, що забезпечує в

20 результаті підвищену якість продукту і, отже, велику безпеку для пацієнта. Ці переваги поширюються на питання Janet Woodcock (директора Центра Оцінки і дослідження Лікарських препаратів (Center for Drug Evaluation and Research (CDER))) про те, що хімічні властивості, виробництво і контроль не зможуть відповідати швидкому клінічному розвитку високоефективних видів терапії ("What we are seeing is that often the rate limiting step is going to be manufacturing," July 24, 2013 Friends of Cancer hosted congressional briefing "Answering a Compelling Need: Expediting Life-Saving Treatments to Patients" to discuss the Food and Drug Administration's Breakthrough Therapy Designation).

25

Наприклад, відомо, що грануляція з великим зусиллям зрушення (HSG, high shear granulation), що є звичайною технікою грануляції, характеризується ризиком надмірної

30 грануляції і поганим контролем процесу. Масштабування даного процесу дуже складне і включає значний ризик. Заміна процесу HSG безперервним процесом двошнекової вологої грануляції (TSWG, twin screw wet granulation) дозволяє масштабувати за допомогою того ж устаткування для виробництва партій різного об'єму за рахунок проведення процесу протягом більш тривалого часу. Це усуває ризик масштабування, звичайно пов'язаний з іншими

35 процесами грануляції. Крім того, було виявлено, що процес TSWG є більш ґрунтовним, будучи менш чутливим до надмірної грануляції. Як можна бачити на Фігурі 3 для таблетки Сполуки 1, процес HSG демонстрував значне уповільнення розчинності зі збільшенням вмісту води, у той час як процес TSWG не показував зміни в тому ж діапазоні додавання води. Несподівано не були виявлені зміни робочих характеристик форм випуску у вигляді таблеток, що включають

40 Сполуку 1 в інтервалі 45-55 відсотків по вазі, і форм випуску у вигляді таблеток, що включають Сполуку 1 в інтервалі 60-70 відсотків по вазі, при застосуванні двошнекового процесу вологої грануляції. Такого не спостерігали в процесі HSG. Крім того, даний безперервний процес виробництва продукту підвищеної якості вирішує претензію Керівництва по контролю якості харчових продуктів, медикаментів і косметичних засобів (FDA) відносно неприступності

45 лікарського препарату для пацієнтів, що його потребують.

В одному варіанті застосування винаходу безперервний процес починається з заповнення послідовно розташованого змішувача індивідуальними допоміжними речовинами, Сполукою 1 і Сполукою 2 через ваговий живильник безперервної дії. З цього змішувача матеріал безперервно передають і обробляють за допомогою процесу двошнекової вологої грануляції,

50 висушування, перемелювання, додавання екстрагранулярної допоміжної речовини, перемішування, компресії і покриття плівковою оболонкою.

Наприклад, в одному варіанті застосування винаходу таблетку, що включає Сполуку 1 і Сполуку 2, можна приготувати безперервно відповідно до карти виробничого процесу, розташованої нижче.

55 Кожен інгредієнт даного прикладу суміші описаний вище й у Прикладах нижче. Більш того, суміш може включати необов'язкові добавки, такі як один або більше барвників, один або більше підсилювачів смаку і/або один або більше ароматизаторів, як описано вище й у Прикладах нижче. У деяких варіантах застосування винаходу відносні концентрації (напр., % по вазі) кожного з цих інгредієнтів (і будь-яких необов'язкових добавок) у суміші також представлені

60 вище й у Прикладах нижче. Інгредієнти, що входять до складу суміші, можуть бути представлені

послідовно або в будь-якій комбінації з добавками; і інгредієнти або комбінації інгредієнтів можуть бути представлені в будь-якому порядку. В одному варіанті застосування винаходу змащувальна речовина є останнім компонентом, доданим до суміші.

В іншому варіанті застосування винаходу суміш включає композицію зі Сполуки 1 Форми I, твердої дисперсії в основному аморфної Сполуки 2 і будь-якої однієї або більше допоміжних речовин; зв'язувальної речовини, сурфактанту, розчинника, змащувальної речовини, розпушувача і наповнювача, де кожний з цих інгредієнтів представлений у формі порошку (напр., представлений у вигляді частинок, що мають середній або усереднений діаметр, вимірюваний за допомогою світлорозсіювання, що дорівнює 250 мкм або менше (напр., 150 мкм або менше, 100 мкм або менше, 50 мкм або менше, 45 мкм або менше, 40 мкм або менше чи 35 мкм або менше)).

В іншому варіанті застосування винаходу пресування суміші в таблетки проводять, наповнюючи форму (напр., прес-форму) сумішшю і створюючи тиск на суміш. Це можна здійснити за допомогою штампувального преса або іншого схожого апарату. У деяких варіантах застосування винаходу суміш, що складається зі Сполуки 1 Форми I, твердої дисперсії в основному аморфної Сполуки 2 і допоміжних речовин, спочатку можна перетворити в гранулярну форму. Можна відкалібрувати гранули по розміру і спресувати їх у таблетки або випустити у формі капсул у відповідності до способів, відомих в галузі фармацевтики. Також було помічено, що тиск на суміш у формі можна повторити, застосовуючи той же тиск при кожному пресуванні або різний тиск під час пресування. В іншому прикладі суміш порошкових інгредієнтів або гранул можна спресувати за допомогою штампувального преса, що прикладає достатній тиск для формування таблетки з розчинністю близько 50 % або більше протягом приблизно 30 хвилин (напр., близько 55 % або більше протягом 30 хвилин або близько 60 % або більше протягом 30 хвилин). Наприклад, суміш пресують за допомогою штампувального преса для одержання таблетки з твердістю, що дорівнює щонайменше приблизно 5 кП (щонайменше приблизно 5,5 кП, щонайменше приблизно 6 кП, щонайменше приблизно 7 кП, щонайменше приблизно 10 кП або щонайменше 15 кП). У ряді випадків суміш пресують для одержання таблетки з твердістю в інтервалі приблизно від 5 до 20 кП.

У деяких варіантах застосування винаходу таблетки, що включають фармацевтичну композицію, як описано в даній заявці, можуть бути покриті плівковим покриттям, що складає 3,0 % по вазі, що включає барвник по вазі від таблетки. У певних випадках суспензія або розчин барвника, застосовувана для покриття таблеток, включає близько 20 % вага/вага твердої фази суспензії або розчину барвника по вазі. В інших випадках покриті таблетки можна позначити логотипом, іншим зображенням або текстом.

В іншому варіанті застосування винаходу спосіб виробництва фармацевтичної композиції включає виробництво суміші твердих форм, напр., суміші порошкових і/або рідких інгредієнтів, суміші, що включає Сполуку 1 Форми I, твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2 і одну або більше допоміжних речовин, вибрані з: зв'язувальної речовини, розчинника, сурфактанту, змащувальної речовини, розпушувача і наповнювача; перемішування суміші, поки суміш не стане в основному гомогенною, і пресування або компактизацію суміші в гранулярну форму. Потім гранулярну композицію, що включає Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, можна спресувати в таблетки або випустити у вигляді капсул, як описано вище в Прикладах або нижче. Як альтернатива способи виробництва фармацевтичної композиції включають виробництво суміші Сполуки 1 Форми I, твердої дисперсії в основному аморфної Сполуки 2 і однієї або більше допоміжних речовин, напр., зв'язувальної речовини, розчинника, сурфактанту, змащувальної речовини, розпушувача і наповнювача; перемішування суміші, поки суміш не стане в основному гомогенною, і пресування/компактизацію суміші в гранулярну форму за допомогою процесу вологої грануляції з великим зусиллям зрушення, як викладено в Прикладах нижче. Фармацевтичні форми випуску, наприклад, таблетки, як описано в даній заявці, можна зробити за допомогою приготування гранул, що включають Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2 на додаток до обраних допоміжних речовин, описаних тут.

У деяких варіантах застосування винаходу суміш перемішують за допомогою збовтування, змішування, струшування або подібного за допомогою перемішування вручну, міксер, змішувача, будь-якої їхньої комбінації або подібного. При послідовному додаванні інгредієнтів або комбінацій інгредієнтів перемішування можна здійснити між послідовними додаваннями, безперервно протягом додавання інгредієнтів, після додавання всіх інгредієнтів або комбінацій інгредієнтів або будь-якої з комбінацій. Суміш перемішують, поки композиція не стане в основному гомогенною.

В іншому варіанті застосування винаходу даний винахід включає розмелювання на

струминному млині фармацевтичної композиції, що включає Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, у придатному стандартному приладі для розмелювання за допомогою тиску повітрям, що підходить для виробництва частинок, значна фракція яких має розмір між 0,1 мікрон і 50 мікронів. В іншому варіанті застосування винаходу розмір частинок складає від 0,1 мікрон до 20 мікронів. В іншому варіанті застосування винаходу розмір частинок складає від 0,1 мікрон до 10 мікронів. В іншому варіанті застосування винаходу розмір частинок складає від 1,0 мікрон до 5 мікронів. У ще одному варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція має розмір частинок D50, що дорівнює 2,0 мікрон.

Форми випуску, що є предметом даного винаходу, представляють фіксовану величину дози двох активних фармацевтичних інгредієнтів для ефективного лікування муковісцидозу, комбінації, що була відзначена одним з усього лише двох Визнань нового препарату як терапії прориву Керівництва по контролю якості харчових продуктів, медикаментів і косметичних засобів (FDA), і відповідає цьому з дивною стабільністю, про що свідчать вимірювання малих втрат аморфної твердої форми Сполуки 2. Фігура 4 показує малий ступінь кристалізації Сполуки 2 з часом в PC-XVII при 50 °C після попереднього зрівноважування при 60 % відносній вологості. Навіть після наближення до 1000 годин у цих умовах, менше 5 % по вазі Сполуки 2 кристалізувалося. Фігура 5 показує для PC-XVII, що навіть при підвищеній температурі, яка дорівнює 60 °C, після попереднього зрівноважування при 60 % відносній вологості при наближенні часу до 1000 годин у цих умовах, менше 10 % по вазі Сполуки 2 кристалізувалося. Фігури 6 і 7 показують схожі результати для PC-XIX. Дані форми випуску, таким чином, представляють зручність фіксованого дозування двох інноваційних активних фармацевтичних інгредієнтів у дивно стабільній фармацевтичній композиції. Такі форми випуску збільшують здатність пацієнта слідувати схемі лікування, що прямо зв'язано з ефективним лікуванням захворювань.

Готові лікарські форми, приготовлені, як описано вище, можна піддати оцінці розчинності *in vitro* відповідно до Тесту 711 "Розчинення" Фармакопеї США 29, Фармакопейна конвенція США (United States Pharmacopeial Convention, Inc.), Роквіл, штат Медисон, 2005 ("USP"), щоб визначити швидкість, з якою діюча речовина вивільняється з готових лікарських форм. Вміст діючої речовини і рівні домішок звичайно вимірюють за допомогою таких технік, як високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).

У деяких варіантах застосування винахід включає застосування пакувальних матеріалів, таких як контейнери і кришки з поліетилену високої щільності, поліетилену низької щільності і/або поліпропілену і/або скла, гласинової фольги, алюмінієвого саше і блістерів або стрипів, що складаються з алюмінію або полівінілхлориду високої щільності (ПВХ), що, при бажанні, включають речовину, що висушує, поліетилен (ПЕ), полівініліденхлорид (ПВДХ), ПВХ/ПЕ/ПВДХ і подібні. Ці пакувальні матеріали можна застосовувати для стерильного збереження різних фармацевтичних композицій і сполук після відповідної стерилізації упаковки і її вмісту за допомогою технік хімічної або фізичної стерилізації, звичайно застосовуваних у фармацевтичній галузі техніки.

СПОСОБИ ВВЕДЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНИХ КОМПОЗИЦІЙ

В одному аспекті фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, можна вводити пацієнту один раз на день або приблизно раз у двадцять чотири години. Як альтернатива фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, можна вводити пацієнту два рази на день. Як альтернатива фармацевтичні композиції, що є предметом винаходу, можна вводити кожні дванадцять годин. Ці фармацевтичні композиції вводять у формі для перорального введення, що містять близько 25 мг, 50 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг, 300 мг або 400 мг Сполуки 1 Форми I; і близько 25 мг, 50 мг, 100 мг, 125 мг, 150 мг, 200 мг або 250 мг в основному аморфної Сполуки 2. У цьому аспекті на додаток до Сполуки 1 Форми I і в основному аморфної Сполуки 2 фармацевтичні композиції включають наповнювач, розпушувач, сурфактант, зв'язувальну речовину і змащувальну речовину (в залежності від того, чи є фармацевтична композиція гранулою або таблеткою). Наприклад, доза 400 мг Сполуки 1 Форми I може включати дві таблетки, що є предметом винаходу, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми I. Доза 250 мг в основному аморфної Сполуки 2 може включати дві таблетки, які є предметом винаходу, кожна з яких містить 125 мг в основному аморфної Сполуки 2.

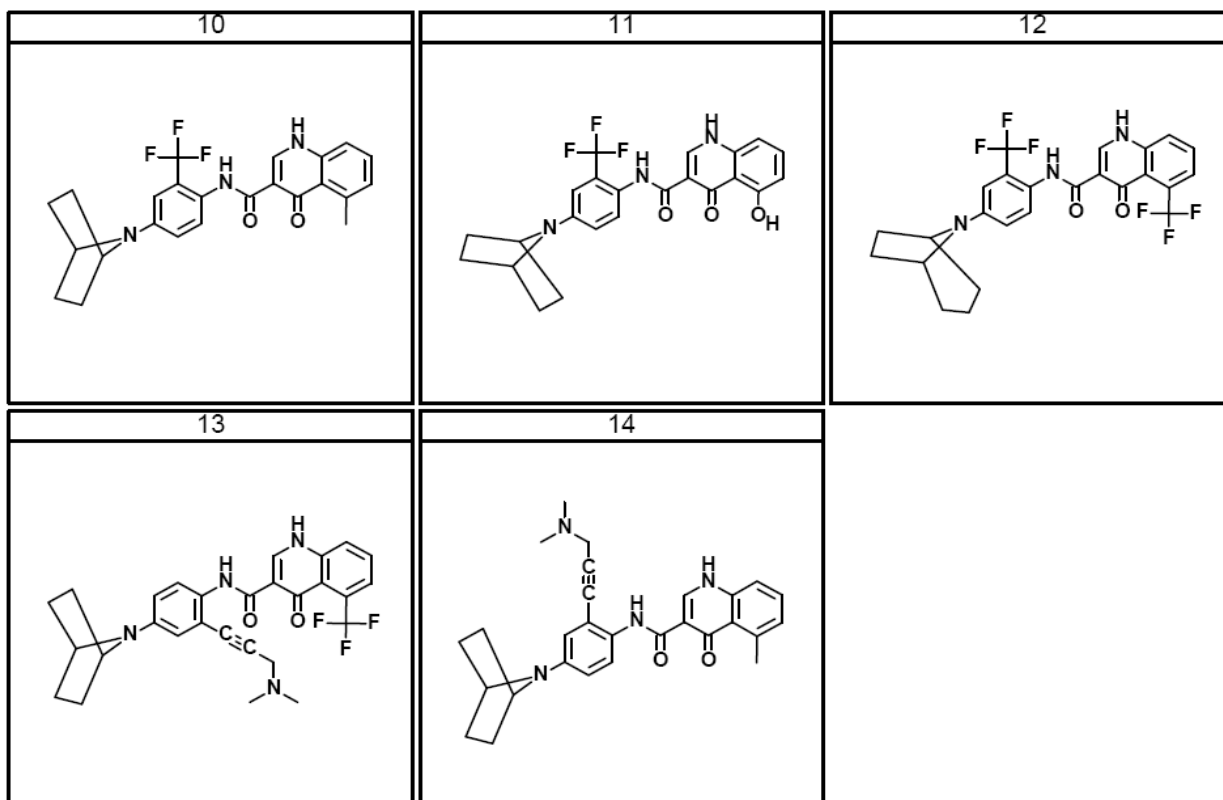
Варто брати до уваги, що сполуку і фармацевтично прийнятні композиції і сполуки, що є предметом винаходу, можна застосовувати в комбінації терапій; іншими словами Сполуку 1 Форма I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2 і їхні фармацевтично прийнятні композиції можна вводити разом з, перед або після одного або більше інших необхідних терапевтичних засобів або медичних процедур.

В одному варіанті застосування винаходу додатковий терапевтичний агент вибирають з муколітичного агента, бронходилататора, антибіотика, протиінфекційного агента, протизапального агента, сполуки, що індукує активність CFTR, що відрізняється від Сполуки 1 Форми І і в основному аморфної Сполуки 2, або поживної речовини.

- 5 В одному варіанті застосування винаходу додатковий агент є (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамідом. В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є 4-(3-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)ізохінолін-1-іл)бензойною кислотою. В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент вибирають з Таблиці 1:

Таблиця 1

| 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|
| | | |
| 4 | 5 | 6 |
| | | |
| 7 | 8 | 9 |
| | | |



В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є будь-якою комбінацією вищезгаданих агентів. Наприклад, комбінація може включати фармацевтичну композицію або таблетку, що є предметом даного винаходу, що включає Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2, а додатковий терапевтичний агент є (R)-1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-N-(1-(2,3-дигідроксипропіл)-6-фтор-2-(1-гідрокси-2-метилпропан-2-іл)-1H-індол-5-іл)циклопропанкарбоксамідом. В іншому прикладі комбінація може включати фармацевтичну композицію або таблетку, що є предметом даного винаходу, що включає Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2, а додатковий терапевтичний агент є 4-(3-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)ізохінолін-1-іл)бензойною кислотою. В іншому прикладі комбінація може включати фармацевтичну композицію або таблетку, що є предметом даного винаходу, що включає Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2, а додатковий терапевтичний агент є будь-якою сполукою з Таблиці 1, тобто сполуками від 1 до 14 з Таблиці 1 або будь-якою їхньою комбінацією.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент вибирають з Таблиці 1:

Таблиця 1

| |
|---|
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,407,976 (Стовпчик 13, рядок 35- Стовпчик 66, рядок 67; Сполуки 1-100 в Таблиці 1 в стовпчику 67, рядок 1 - Стовпчик 127, рядок 42) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,645,789 (Стовпчик 16, рядок 52- Стовпчик 50, рядок 22; Сполуки 1-322 в Таблиці 1 в стовпчику 50, рядок 24 - Стовпчик 167, рядок 42) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,659,268 (Стовпчик 16, рядок 20 - Стовпчик 70, рядок 52; Сполуки 1-528 в Таблиці 1 в стовпчику 1 70, рядок 53-Стовпчик 331, рядок 34) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,671,221 (Стовпчик 16, рядок 12 - Стовпчик 54, рядок 48; Сполуки 1-1216 в Таблиці 1 в стовпчику 54, рядок 49 - Стовпчик 699, рядок 27) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,691,902 (Стовпчик 16, рядок 11 - Стовпчик 54, рядок 29; Сполуки 1-959 в Таблиці 1 в стовпчику 54, рядок 29 - Стовпчик 683, рядок 44) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,741,321 (Стовпчик 16, рядок 25 - Стовпчик 72, рядок 17; Сполуки 1-422 в Таблиці 1 в стовпчику 72, рядок 20 - Стовпчик 279, рядок 15) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,754,739 (Стовпчик 16, рядок 1 - Стовпчик 22, рядок 47; Сполуки 1-2 в Таблиці 1 в стовпчику 18, рядок 26-65) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,776,905 (Стовпчик 16, рядок 23 - Стовпчик 38, рядок 40; |

| |
|---|
| Сполуки 1-306 в Таблиці 1 в стовпчику 38, рядок 45 - Стовпчик 96, рядок 40) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,973,169 (Стовпчик 9, рядок 16 - Стовпчик 40, рядок 40; Сполуки 1-289 в Таблиці 1 в стовпчику 40, рядок 41-Стовпчик 289, рядок 39) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,977,322 (Стовпчик 6, рядок 26-Стовпчик 37, рядок 47; Сполуки 1-498 в Таблиці 1 в стовпчику 37, рядок 50-Стовпчик 141, рядок 40) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 7,999,113 (Стовпчик 6, рядок 13 - Стовпчик 10, рядок 67; Сполуки 1-13 в Таблиці 1 в стовпчику 11, рядок 5 - Стовпчик 13, рядок 65) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 8,227,615 (Стовпчик 6, рядок 10 - Стовпчик 29, рядок 66; Сполуки 1-78 в Таблиці 1 в стовпчику 30, рядок 1 - Стовпчик 46, рядок 48) |
| Сполуки, розкриті в Патенті США № 8,299,099 (Стовпчик 6, рядок 10-Стовпчик 34, рядок 18; Сполуки 1-47 в Таблиці 1 в стовпчику 34, рядок 20 - Стовпчик 42, рядок 35) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2006-0052358 (Параграфи [0034]-[0056]; [0077]-[0240]; Сполуки 1-320 в Таблиці 1 в параграфі [0241]) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2009-0143381 (Параграфи [0102]-[0263]; Сполуки 1-28 в Таблиці 1 в параграфі [0264]) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2009-0170905 (Параграфи [0012]-[0013]; [0030]-[0051]) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2009-0253736 (Параграфи [0031]-[0162]; Сполуки 1-15 в Таблиці 1 в параграфі [0163]) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2011-0263654 (Параграфи [0012]-[0013]; [0066]-[0141]) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2011-0251253 (Параграфи [0012]-[0013]; [0054]-[0079]) |
| Сполуки, розкриті в заявці РСТ WO 2008141119 (Параграфи [0100]-[0339]; Сполуки 1-117 в Таблиці 1 в параграфі [0340]) |
| Сполуки, розкриті в заявці США № 11/047,361 |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2013-0116238 (Параграфи [0028]-[0044]; [0117]-[0128]) або їх комбінації. |

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент вибирають з Таблиці 2:

Таблиця 2

| |
|--|
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2005-0113423 (Параграф [00146]; Сполуки 1A-1-1A-136 і Сполуки 1-1-1-21 в Таблицях 1 і 2 в параграфах [0391]-[0392]) |
| Сполуки, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2005-0059687 (Параграфи [00100]-[00101]; Сполуки 1-405 в Таблиці 1 в параграфі [0169]) |
| Сполуки 1-108, розкриті в Патенті США № 7,598,412 (Стовпчик 22, рядок 14 - Стовпчик 79, рядок 20; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-485, розкриті в Патенті США № 7,495,103 (Стовпчик 51, рядок 1 - Стовпчик 63, рядок 43; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-718, розкриті в Патенті США №. 8,354,427 (Стовпчик 51, рядок 3 - Стовпчик 71, рядок 46; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-233, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2007-0105833 (Параграф [00145]; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-26, розкриті в Патенті США № 8,242,149 (Стовпчик 46, рядок 47 - Стовпчик 57, рядок 37; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-18, розкриті в Патенті США № 8,314,256 (Стовпчик 21, рядок 1 - Стовпчик 26, рядок 19) |
| Сполуки 1-14, розкриті в Патенті США №. 8,399,479 (Стовпчик 36, рядок 20 - Стовпчик 38, рядок 40; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-18, розкриті в Патенті США № 8,188,283 (Стовпчик 38, рядок 43 - Стовпчик 43, рядок 36; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-16, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2010-0249180 (Параграф [0173]; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-19, розкриті в Оpubлікованій патентній заявці США № 2011-0008259 (Параграф [0172]; Таблиця 1) |
| Сполуки 1-129, розкриті в Патенті США № 8,367,660 (Стовпчик 57, рядок 31 - Стовпчик 81, рядок 24; Таблиця) |

В одному варіанті застосування винаходу додатковий терапевтичний агент є антибіотиком. Приклади антибіотиків, застосованих в даній заявці, включають тобраміцин, включаючи тобраміцин у вигляді інгаляційного порошку, азитроміцин, кайстон, азтреонам, включаючи аерозольну форму азтреонаму, амікацин, включаючи його ліпосомні форми, цiproфлосаксин, включаючи його форми, що підходять для введення за допомогою інгаляції, левофлосаксин, включаючи його аерозольні форми, і комбінації двох антибіотиків, напр., фосфоміцин і тобраміцин.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є муколітиком. Приклади муколітиків, застосованих в даній заявці, включають Pulmozyme®.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є бронходилататором. Приклади бронходилататорів включають альбутерол, метапротенеролсульфат, пірбутеролацетат, сальметерол або тетрабулінсульфат.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є ефективним відносно відновлення рідини на поверхні дихальних шляхів у легенях. Такі агенти поліпшують рух солі усередині клітини і назовні, забезпечуючи посилену гідратацію слизу в дихальних шляхах у легенях і в такий спосіб їх полегшене очищення. Приклади таких агентів включають гіпертонічний сольовий розчин, денуфузол тетраатрію ([[(3S, 5R)-5-(4-аміно-2-оксопіримідин-1-іл)-3-гідроксіоксолан-2-іл]метокси-гідроксифосфорил] [[[(2R, 3S, 4R, 5R)-5-(2,4-діоксопіримідин-1-іл)-3, 4-дигідроксіоксолан-2-іл]метокси-гідроксифосфорил]окси-гідроксифосфорил]гідрофосфат) або бронхітол (інгаляційну форму манітолу).

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є протизапальним агентом, тобто агентом, що може зменшувати запалення в легенях. Приклади таких агентів, застосованих у даній заявці, включають ібупрофен, докосагексанову кислоту (ДГА), силденафіл, інгаляційний глутатіон, піоглітазон, гідроксипрохін або симавастанін.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є сполукою, що збільшує або індукує активність CFTR, що відрізняється від Сполуки 1 Форми I або твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2, тобто агентом, що робить ефект індукції або збільшення активності CFTR. Приклади таких агентів включають аталурен ("PTC124®"; 3-[5-(2-фторфеніл)-1,2,4-оксадіазол-3-іл]бензойну кислоту), синапудид, ланковудид, депелестат (людський рекомбінантний інгібітор еластази нейтрофілів) і кобіпростон (7-[(2R, 4a, 5R, 7a)-2-[(3S)-1,1-дифтор-3-метилпентил]-2-гідроксі-6-оксооктагідроциклопента[b]піран-5-іл]гептанова кислота).

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є поживною речовиною. Приклади поживних речовин включають панкреліпазу (замісник панкреатичного ферменту), включаючи Pancrease®, Pancreacarb®, Ultrase® або Creon®, Liprotomase® (раніше відомий як Trizyte®), Aquadeks® або глутатіон у формі для інгаляції. В одному варіанті застосування винаходу додаткова поживна речовина є панкреліпазою.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є сполукою, вибраною з гентаміцину, куркуміну, циклофосфаміду, 4-фенілбутирату, міглустату, фелодипіну, німодипіну, Філоксину В, генестейну, Апігеніну, цАМФ/цГМФ або підсилювачів індукторів, таких як роліпрам, силденафіл, мілринон, тадалафіл, амринон, ізопротеренол, альбутерол і алметерол, дезоксипергуалін, інгібіторів HSP 90, інгібіторів HSP 70, протеасомних інгібіторів, таких як епоксоміцин, лактацистин і т. п.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є сполукою, вибраною з (3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-(4-фторфеніл)-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; (3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 5-аміно-6'-метил-3-трифторметил-[2,3]біпіридиніл-6-карбонової кислоти; 3-аміно-6-циклопропіл-N-(3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-5-трифторметилпіколінамід; 3-аміно-6-метокси-N-(3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-(трифторметил)пропіл)-5-(трифторметил)піколінамід; ((S)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-(4-фторфеніл)-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((S)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-метокси-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((R)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-метокси-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((S)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-(2,4-дихлорфеніл)-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((R)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-(2,4-дихлорфеніл)-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; (2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-(4-фторфеніл)-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((S)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-5,6-біс-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((R)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-5,6-біс-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; (S)-3-аміно-6-

етокси-N-(3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-5-(трифторметил)піколінамід; ((S)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-метокси-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((R)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-метокси-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; (3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-6-(4-фторфеніл)-5-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((S)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-5,6-біс-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти; ((R)-3,3,3-трифтор-2-гідрокси-2-метилпропіл)-аміду 3-аміно-5,6-біс-трифторметилпіридин-2-карбонової кислоти або їх фармацевтично прийнятної солі. В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є сполукою, розкритою у Патенті США № 8,247,436 і в Міжнародній публікації згідно PCT WO 2011113894, цілком включених у даний документ за допомогою посилання.

В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент може бути регулятором епітеліального натрієвого каналу (ENaC), розкритим у публікаціях згідно PCT WO2012035158, WO2009074575, WO 2011028740, WO 2009150137, WO 2011079087 або WO 2008135557, цілком включених у даний документ за допомогою посилання.

В інших варіантах застосування винаходу додатковий агент є сполукою, розкритою у WO 2004028480, WO 2004110352, WO 2005094374, WO 2005120497 або WO 2006101740, цілком включених у даний документ за допомогою посилання. В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є похідним бензо[с]хінолізину, що має активність, що індукує або посилює CFTR, або похідним бензопірану, що має активність, що індукує або посилює CFTR. В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є сполукою, розкритою у Патенті США № 7,202,262, у Патенті США № 6,992,096, US 20060148864, US 20060148863, US 20060035943, US 20050164973, WO 2006110483, WO 2006044456, WO 2006044682, WO 2006044505, WO 2006044503, WO 2006044502 або WO 2004091502, цілком включених у даний документ за допомогою посилання. В іншому варіанті застосування винаходу додатковий агент є сполукою, розкритою у WO 2004080972, WO 2004111014, WO 2005035514, WO 2005049018, WO 2006099256, WO 2006127588 або WO 2007044560, цілком включених у даний документ за допомогою посилання.

В одному варіанті застосування винаходу 400 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг в основному аморфної Сполуки 2 можна вводити суб'єкту, що цього потребує. У даних варіантах застосування винаходу величини дози можна досягти за допомогою введення однієї або більше таблеток, що є предметом винаходу. Наприклад, введення 400 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг в основному аморфної Сполуки 2 можна досягти за допомогою введення двох таблеток, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг в основному аморфної Сполуки 2. Введення можна продовжувати до поліпшення стану при захворюванні або до поради терапевта суб'єкта, напр., тривалість введення може складати менше тижня, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, чотири тижні (28 днів) або місяць, або більше. В одному варіанті застосування винаходу в день пацієнту можна вводити дві таблетки, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг в основному аморфної Сполуки 2. В подальшому варіанті застосування винаходу можна вводити дві таблетки у той самий час або у різний час протягом дня. В подальшому варіанті застосування винаходу вводять одну таблетку кожні 12 годин.

В одному варіанті застосування винаходу 400 мг Сполуки 1 Форми І і 500 мг в основному аморфної Сполуки 2 можна вводити суб'єкту, що потребує цього. У даних варіантах застосування винаходу величини дози можна досягти за допомогою введення двох таблеток, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг в основному аморфної Сполуки 2. В одному варіанті застосування винаходу одну таблетку вводять раз у 12 годин. В іншому варіанті застосування винаходу величини дози можна досягти за допомогою введення двох таблеток, кожна з яких містить 100 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг в основному аморфної Сполуки 2, кожні 12 годин. В іншому варіанті застосування винаходу величину дози також можна досягти за допомогою введення Сполуки 1 Форми І в основному аморфної Сполуки 2 у вигляді окремих таблеток. Наприклад, величини дози можна досягти за допомогою введення двох таблеток, що містять 200 мг Сполуки 1 Форми І, і чотирьох таблеток, що містять 125 мг в основному аморфної Сполуки 2, або двох таблеток, що містять 150 мг в основному аморфної Сполуки 2, і двох таблеток, що містять 100 мг в основному аморфної Сполуки 2. Введення можна продовжувати до поліпшення стану при захворюванні або до поради терапевта суб'єкта, напр., тривалість введення може складати менше тижня, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, чотири тижні (28 днів) або місяць, або більше. В одному варіанті застосування винаходу в день пацієнту можна вводити дві таблетки, що містять 200 мг Сполуки 1 Форми І, і чотири таблетки, що містять 125 мг в основному аморфної Сполуки 2. В одному варіанті застосування винаходу в день пацієнту можна вводити дві таблетки, що містять 200 мг Сполуки 1 Форми І, і двічі на день пацієнту

вводити три таблетки в той самий час або у різний час протягом дня. В подальшому варіанті застосування винаходу вводять три таблетки в той самий час.

В одному варіанті застосування винаходу 600 мг Сполуки 1 Форми I і 500 мг в основному аморфної Сполуки 2 можна вводити суб'єкту, що потребує цього. У даних варіантах застосування винаходу величини дози можна досягти за допомогою введення однієї або більше таблеток, що є предметом даного винаходу. Наприклад, введення 600 мг Сполуки 1 Форми I і 500 мг в основному аморфної Сполуки 2 можна досягти за допомогою введення трьох таблеток, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми I і 83,3 мг в основному аморфної Сполуки 2, а потім двох додаткових таблеток, кожна з яких містить 125 мг Сполуки 2. Введення можна продовжувати до поліпшення стану при захворюванні або до поради терапевта суб'єкта, напр., тривалість введення може становити менш тижня, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, чотири тижні (28 днів) або місяць, або більше. В одному варіанті застосування винаходу 600 мг Сполуки 1 можна вводити щодня і 250 мг Сполуки 2 можна вводити двічі на день за допомогою введення трьох таблеток, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми I і 83,3 мг в основному аморфної Сполуки 2, щодня і двох таблеток, кожна з яких містить 125 мг Сполуки 2, кожні 12 годин. В одному варіанті застосування винаходу 600 мг Сполуки 1 можна вводити щодня і 250 мг Сполуки 2 вводити кожні 12 годин за допомогою введення трьох таблеток, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми I і 83,3 мг в основному аморфної Сполуки 2, щодня і двох таблеток, кожна з яких містить 125 мг Сполуки 2, кожні 12 годин.

Ці комбінації корисні для лікування захворювань, описаних у даній заявці, включаючи муковісцидоз. Ці комбінації також корисні в наборах реактивів, описаних у даній заявці. В іншому аспекті даний винахід містить набір реактивів, що включає фармацевтичну композицію або таблетку, що є предметом даного винаходу, що включає Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і окремий додатковий терапевтичний агент або його фармацевтичну композицію. В іншому варіанті застосування винаходу фармацевтична композиція або таблетка, що є предметом даного винаходу, окремий додатковий терапевтичний агент або його фармацевтична композиція знаходяться в окремих контейнерах. В іншому варіанті застосування винаходу окремі контейнери є суліями. В іншому варіанті застосування винаходу окремі контейнери є флаконами. В іншому варіанті застосування винаходу окремі контейнери є блистерними упаковками.

Кількість додаткового терапевтичного агента, що присутній у композиціях, що є предметом даного винаходу, не перевищить кількість, що звичайно вводять у складі композиції, що включає терапевтичний агент як єдиний активний агент. Переважно, щоб кількість додаткового терапевтичного агента в розкритих тут композиціях варіювала в інтервалі приблизно від 50 до 100 % кількості звичайно присутнього в композиції, що містить цей агент як єдиний терапевтичний агент.

ТЕРАПЕВТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ КОМПОЗИЦІЇ

В одному аспекті винахід також представляє спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичне лікування захворювання пацієнта, спосіб, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому захворювання вибирають з муковісцидозу, астми, викликаного палінням ХОЗЛ, хронічного бронхіту, риносинуситу, запору, панкреатиту, недостатності підшлункової залози, чоловічого безпліддя, викликаного вродженою білатеральною відсутністю сім'явивідної протоки, помірно вираженої хвороби легень, ідіопатичного панкреатиту, алергійного бронхолегеневого аспергільозу, захворювання печінки, спадкової емфіземи, спадкового гемохроматозу, порушень коагуляції і фібринолізу, таких як недостатність протеїну С, спадкового ангіоневротичного набряку типу 1, порушень переробки ліпідів, таких як сімейна гіперхолестеролемія, хіломікронемія типу 1, абеталіпопротеїнемія, лізосомних хвороб накопичення, таких як хвороба І-клітин/хвороба Дері, мукополісахаридозів, хвороби Сандхоффа/Тай-Сахса, хвороби Кріглера-Найяра типу II, поліендокринопатій/гіперінсулінемії, цукрового діабету, карликовості Ларона, мієлопероксидазної недостатності, первинної недостатності функції навколощитовидних залоз, меланоми, гліканозу CDG типу 1, вродженого гіпертиреозу, недосконалого остеогенезу, спадкової гіперфібриногенемії, недостатності АСТ (альфа 1-антихимотрипсину), нецукрового діабету, нецукрового нейрогіпофізарного діабету, нецукрового ниркового діабету, хвороби Шарко-Марі-Тута, хвороби Пеліцеуса-Мерцбахера, нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, боковий аміотрофічний склероз, прогресуючий над'ядерний параліч, хвороба Піка, деяких поліглутаматних неврологічних порушень, таких як хвороба Хантингтона, спінально-церебелярна атаксія типу I, спінальна і бульбарна м'язова атрофія, дентато-рубро-палідо-льоїсова атрофія і міотонічна дистрофія, а також губчатої енцефалопатії, такої як спадкова

хвороба Крейцфельда-Якоба (через порушення процесингу пріонового білка), хвороби Фабрі, синдрому Штреусслера-Шейнкера, ХОЗЛ, сухості очей, синдрому Шегрена, остеопорозу, остеопенії, зрощення перелому і росту кістки (включаючи відновлення кістки, регенерацію кістки, зменшення резорбції кістки і збільшення відкладення кісткової тканини), синдрому Горема, порушень хлорних каналів, таких як вроджена міотонія (форм Томсона і Беккера), синдрому Бартера типу III, хвороби Дента, гіперексплексії, епілепсії, лізосомних хвороб накопичення, синдрому Ангельмана і первинної ціліарної дискінезії, терміну, що позначає спадкові захворювання структури і/або функцій війок, включаючи первинну ціліарну дискінезію з транспозицією внутрішніх органів (також відому як синдром Картагенера), первинну ціліарну дискінезію без транспозиції внутрішніх органів і ціліарну аплазію.

В одному аспекті винахід також представляє спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування захворювання пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому захворювання вибирають з генералізованої епілепсії з фебрильними й афебрильними судомами, міотонії, вродженої параміотонії, міотонії, посиленої калієм, сімейного гіперкаліємічного періодичного паралічу, синдрому подовженого інтервалу QT/синдрому Бругада, аутосомно-домінантного синдрому подовженого інтервалу QT із глухотою, аутосомно-рецесивного синдрому подовженого інтервалу QT, синдрому подовженого інтервалу QT з дизморфічними ознаками, вродженого або набутого синдрому подовженого інтервалу QT, синдрому Тимоті, персистуючої гіперінсулінемічної гіпоглікемії немовлят, дилатаційної кардіоміопатії, аутосомно-домінантного синдрому подовженого інтервалу QT, хвороби Дента, остеопорозу, синдрому Бартера типу III, хвороби центральних волокон, злякисної гіпертермії і катехоламінергічної поліморфної тахікардії.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR N1303K, ΔI507 або R560T.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR G551D. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнт гомозиготний по G551D. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнт гетерозиготний по G551D, і інша генетична мутація CFTR є будь-якою з ΔF508, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G→A, 621+1G→T, 2789+5G→A, 3849+10kbC→T, R1162X, G85E, 3120+1G→A, ΔI507, 1898+1G→A, 3659delC, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184delA або 711+1G→T.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR ΔF508. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнт гомозиготний по ΔF508. В іншому варіанті застосування винаходу пацієнт гетерозиготний по ΔF508, і інша генетична мутація CFTR є будь-якою з G551D, G542X, N1303K, W1282X, R117H, R553X, 1717-1G→A, 621+1G→T, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, R1162X, G85E, 3120+1G→A, ΔI507, 1898+1G→A, 3659del, R347P, R560T, R334W, A455E, 2184del або 711+1G→T.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, в якому у пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної

кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V і G1069R. В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті винахід представляє спосіб лікування CFTR, що включає введення Сполуки 1 пацієнту з мутацією людського CFTR, вибраної з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R і S1251N. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з E193K, F1052V і G1069R. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до більш ніж 10-кратного збільшення транспорту хлориду щодо вихідного рівня транспорту хлориду.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N і D1152H. В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до збільшення транспорту хлориду, що перевищує вихідний рівень транспорту хлориду на 10 % або більше.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 1811+1.6kb→G, 2789+5G→A, 3272-26A→G і 3849+10kb→T. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 2789+5G→A і 3272-26A→G.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V і G1069R, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в

пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R і S1251N, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної

5 кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з E193K, F1052V і G1069R, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до більш ніж 10-кратного збільшення транспорту хлориду щодо вихідного рівня транспорту хлориду.

10 В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E,

15 D1270N і D1152H, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D. В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до збільшення транспорту хлориду, що перевищує вихідний рівень транспорту хлорид на 10 % або більше.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної

20 кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A,

25 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і 551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної

30 композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 1811+1.6kb→G, 2789+5G→A, 3272-26A→G і 3849+10kb→T, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної

35 кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 2789+5G→A і 3272-26A→G, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної

40 кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T,

45 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і

50 G551D.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної

кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S,

55 G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V і G1069R. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S,

60 G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R і S1251N. В одному аспекті даний винахід

спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з E193K, F1052V і G1069R. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до більш ніж 10-кратного збільшення транспорту хлориду щодо вихідного рівня транспорту хлориду.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N і D1152H. В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до збільшення транспорту хлориду, що перевищує вихідний рівень транспорту хлориду на 10 % або більше.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 1811+1.6kb→G, 2789+5G→A, 3272-26A→G і 3849+10kb→T. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 2789+5G→A і 3272-26A→G.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V, G1069R, R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N, D1152H, 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G, і мутація людського CFTR, вибрана з ΔF508, R117H і G551D, і одна або більш мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R, S1251N, E193K, F1052V і G1069R, і одна або більше мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з G178R, G551S, G970R, G1244E, S1255P, G1349D, S549N, S549R і S1251N, і одна або більше мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з E193K,

F1052V і G1069R, і одна або більш мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D. У деяких варіантах застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до більш ніж 10-кратного збільшення транспорту хлориду щодо вихідного рівня транспорту хлориду.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з R117C, D110H, R347H, R352Q, E56K, P67L, L206W, A455E, D579G, S1235R, S945L, R1070W, F1074L, D110E, D1270N і D1152H, і одна або більше мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D.

В одному варіанті застосування винаходу в даному аспекті спосіб приводить до збільшення транспорту хлориду, що перевищує вихідний рівень транспорту хлорид на 10 % або більше.

В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 621+1G→T, 3120+1G→A, 1898+1G→A, 711+1G→T, 2622+1G→A, 405+1G→A, 406-1G→A, 4005+1G→A, 1812-1G→A, 1525-1G→A, 712-1G→T, 1248+1G→A, 1341+1G→A, 3121-1G→A, 4374+1G→T, 3850-1G→A, 2789+5G→A, 3849+10kb→T, 3272-26A→G, 711+5G→A, 3120G→A, 1811+1.6kb→G, 711+3A→G, 1898+3A→G, 1717-8G→A, 1342-2A→C, 405+3A→C, 1716G/A, 1811+1G→C, 1898+5G→T, 3850-3T→G, IVS14b+5G→A, 1898+1G→T, 4005+2T→C і 621+3A→G, і одна або більше мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 1717-1G→A, 1811+1.6kb→G, 2789+5G→A, 3272-26A→G і 3849+10kb→T, і одна або більше мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D. В одному аспекті даний винахід спрямований на спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнта, що включає введення ефективної кількості фармацевтичної композиції або таблетки, що є предметом винаходу, пацієнту, переважно ссавцю, у якому в пацієнта є генетична мутація CFTR, вибрана з 2789+5G→A і 3272-26A→G і одна або більше мутацій людського CFTR, вибрані з ΔF508, R117H і G551D.

У деяких варіантах застосування винаходу фармацевтично прийнятна композиція або таблетка, що є предметом даного винаходу, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2, застосовні для лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнтів із залишковою активністю CFTR в апікальній мембрані респіраторного і нереспіраторного епітелію. Наявність залишкової активності CFTR на поверхні епітелію можна легко детектувати за допомогою способів, відомих у даній галузі техніки, напр., стандартних електрофізіологічних, біохімічних або гістохімічних технік. Такі способи визначають активність CFTR за допомогою *in vivo* або *ex vivo* електрофізіологічних технік, виміри концентрацій Cl⁻ у потовій рідині або в слині або *ex vivo* біохімічних або гістохімічних технік для визначення поверхневої густини клітин. Застосовуючи такі способи, можна легко визначити залишкову активність CFTR у пацієнтів, гетерозиготних або гомозиготних по множині різних мутацій, включаючи пацієнтів, гомозиготних або гетерозиготних по найбільш частій мутації ΔF508, а також по інших мутаціях, таких як мутація G551D або мутація R117H. У певних варіантах застосування винаходу фармацевтично прийнятні композиції або таблетки, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2, застосовні для лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнтів з малою залишковою активністю CFTR або без залишкової активності CFTR. У певних варіантах застосування винаходу фармацевтично прийнятні композиції або таблетки, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію в основному аморфної Сполуки 2, застосовні для лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнтів без залишкової активності CFTR в апікальній мембрані респіраторного епітелію.

В іншому варіанті застосування винаходу сполуки і композиції, що є предметом даного винаходу, застосовні для лікування або зменшення тяжкості муковісцидозу в пацієнтів, у яких залишкова активність CFTR була індукована або збільшена за допомогою фармакологічних способів. В іншому варіанті застосування винаходу сполуки і композиції, що є предметом даного винаходу, застосовні для лікування або зменшення тяжкості муковісцидозу в пацієнтів, у яких залишкова активність CFTR була індукована або збільшена за допомогою генної терапії. Такі способи збільшують кількість присутнього на клітинній поверхні CFTR, індукуючи в такий спосіб

відсутню до цього активність CFTR у пацієнта або підвищуючи наявний рівень залишкової активності CFTR у пацієнта.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, як описано в даній заявці, застосовні для лікування або зменшення тяжкості муковісцидозу в пацієнтів з певним генотипом, із залишковою активністю CFTR, напр., з мутаціями класу I (відсутність синтезу), мутацією класу II (неправильне згортання), мутаціями класу III (порушення регуляції або ворітного механізму каналу), мутаціями класу IV (зміна провідності) або мутаціями класу V (знижений рівень синтезу).

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, що включають Сполуку 1 Форму I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, як описано в даній заявці, застосовні для лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування муковісцидозу в пацієнтів з певним клінічним фенотипом, напр., від слабо до помірно вираженого клінічного фенотипу, що звичайно корелює з кількістю залишкової активності CFTR в апікальній мембрані епітелію. Такі фенотипи включають пацієнтів з нормальною функцією підшлункової залози.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, як описано в даній заявці, застосовні для лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування пацієнтів з нормальною функцією підшлункової залози, ідіопатичним панкреатитом і вродженою білатеральною відсутністю сім'явивідної протоки або з помірно вираженою хворобою легень, коли пацієнт має залишкову активність CFTR.

В одному варіанті застосування винаходу фармацевтичні композиції або таблетки, що є предметом даного винаходу, що включають Сполуку 1 Форми I і тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, як описано в даній заявці, застосовні для лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування пацієнтів з нормальною функцією підшлункової залози, ідіопатичним панкреатитом і вродженою білатеральною відсутністю сім'явивідної протоки або з помірно вираженою хворобою легень, коли в пацієнта є CFTR дикого типу.

На додаток до муковісцидозу регуляція активності CFTR може бути корисною при інших захворюваннях, що прямо не викликаються мутаціями в CFTR, таких як секреторні хвороби й інші хвороби, пов'язані з порушенням згортання білка, опосередковані CFTR. Такі захворювання включають, але не обмежуються, хронічну обструктивну хворобу легень (ХОЗЛ), сухість очей, синдром Шегрена. ХОЗЛ характеризується зниженням надходження повітря, що прогресує і не є цілком оборотним. Зниження надходження повітря відбувається через гіперсекрецію слизу, емфізему і бронхіоліт. Активатори мутантного CFTR або CFTR дикого типу являють собою потенційне лікування гіперсекреції слизу і порушеного мукоцільярного кліренсу, звичайних при ХОЗЛ. Зокрема, секреція аніонів, що збільшується через CFTR, може сприяти виходу рідини в рідину на поверхні дихальних шляхів для гідратації слизу і поліпшення в'язкості перичільярної рідини. Це приведе до поліпшення мукоцільярного кліренсу і зменшення симптомів, пов'язаних з ХОЗЛ. Сухість очей характеризується зменшенням утворення слізної рідини і порушеними ліпідними, білковими і муциновими профілями слізної плівки. Існує безліч причин сухості ока, деякі з яких включають вік, лазерну кератопластику *in situ*, артрит, лікарські препарати, хімічні/термічні опіки, алергії і захворювання, такі як муковісцидоз і синдром Шегрена. Секреція аніонів, що збільшується через CFTR, збільшить транспорт рідини з корнеальних ендотеліоцитів і секреторних залоз, що оточують очі, для посилення гідратації рогівки. Це допоможе зменшити симптоми, асоційовані із сухістю очей. Синдром Шегрена є аутоімунним захворюванням, при якому імунна система атакує зволожувальні залози у всьому тілі, включаючи око, рот, шкіру, респіраторну тканину, печінку, піхву і кишечник. Симптоми включають сухість очей, рота і піхви, а також хворобу легень. Захворювання також асоційоване з ревматоїдним артритом, системним вовчаком, системним склерозом і поліміозитом/дерматоміозитом. Вважається, що порушений транспорт білків викликає захворювання, можливості лікування якого обмежені. Підсилювачі або індуктори активності CFTR можуть гідратувати різні органи, уражені захворюванням, і сприяти поліпшенню асоційованих симптомів.

В одному варіанті застосування винахід стосується способу збільшення або індукції активності аніонного каналу *in vitro* або *in vivo*, що включає контакт каналу з будь-якою з фармацевтичних композицій з PC-I по PC-XXV. В іншому варіанті застосування винаходу аніонний канал є хлоридним каналом або бікарбонатним каналом. В іншому варіанті

застосування винаходу аніонний канал є хлоридним каналом.

Точна необхідна кількість буде варіювати від суб'єкта до суб'єкта в залежності від видової приналежності, віку і загального стану суб'єкта, ступеня важкості інфекції, конкретного агента, способу його введення і подібного. Сполуки, що є предметом винаходу, переважно випускати у вигляді дозованої лікарської форми для полегшеного введення й однорідності одиниць дозування. Вираз "дозована лікарська форма" у даній заявці стосується фізично дискретної одиниці агента, що підходить для пацієнта, що має потребу в лікуванні. Однак варто мати на увазі, що загальне добове споживання сполук і композицій, що є предметом винаходу, буде визначати терапевт, що спостерігає, за результатами медичної оцінки. Специфічна ефективна величина дози для будь-якого окремого пацієнта або організму буде залежати від безлічі факторів, включаючи захворювання, що підлягає лікуванню, і ступінь тяжкості захворювання; активність конкретної застосовуваної сполуки; конкретної застосовуваної композиції; віку, ваги тіла, загального стану здоров'я, статі і дієти пацієнта; часу введення, способу введення і швидкості виведення конкретної застосовуваної сполуки; тривалості лікування; лікарських препаратів, застосовуваних у комбінації або разом з конкретною застосовуваною сполукою і подібними факторами, добре відомих у медичних галузях техніки. Термін "пацієнт" у даній заявці позначає тварину, переважно ссавця і найбільш переважно людину.

У будь-якому місці даної заявки, де назва сполуки може некоректно описувати структуру сполуки, структура замінює назву і має переважне значення.

ПРИКЛАДИ

XRPD (рентгенівська порошкова дифрактометрія)

Дані рентгенівської дифракції (XRD) Сполуки 1 Форми I одержували на порошковому дифрактометрі Bruker D8 DISCOVER з 2-мірним детектором HI-STAR і плоским графітовим монохроматором. Запаяну Cu трубку з K α випромінюванням застосовували при 40 кВ, 35 мА. Зразки поміщали на кремнієві пластини з нульовим фоном при 25 °С. Для кожного зразка знімали дві рамки даних, кожную за 120 секунд при 2 різних кутах θ_2 : 8° і 26°. Дані інтегрували за допомогою програмного забезпечення GADDS і проводили накладання за допомогою програмного забезпечення DIFFRACT^{plus}EVA. Погрішність положень піків складає $\pm 0,2$ градуси.

Диференціальна скануюча калориметрія (ДСК)

Дані диференціальної скануючої калориметрії Сполуки 1 Форми I збирали за допомогою DSC Q100 V9.6 Build 290 (TA Instruments, Нью-Касл, штату Делавер). Температуру калібрували за допомогою індію, а теплоємність калібрували сапфіром. Зразки по 3-6 мг зважували в алюмінієвих чашах, закритих кришками з 1 точковим отвором. Зразки сканували в діапазоні від 25 °С до 350 °С при швидкості нагрівання, що дорівнювала 1,0 °С/хв. і з продуванням азотом при 50 мл/хв. Дані збирали за допомогою програмного забезпечення Thermal Advantage Q SeriesTM версії 2.2.0.248 і аналізували за допомогою програмного забезпечення Universal Analysis версії 4.1D (TA Instruments, Нью-Касл, штату Делавер). Показані числа представляють одиничні аналізи.

Визначення монокристалічної структури Сполуки 1 Форми I

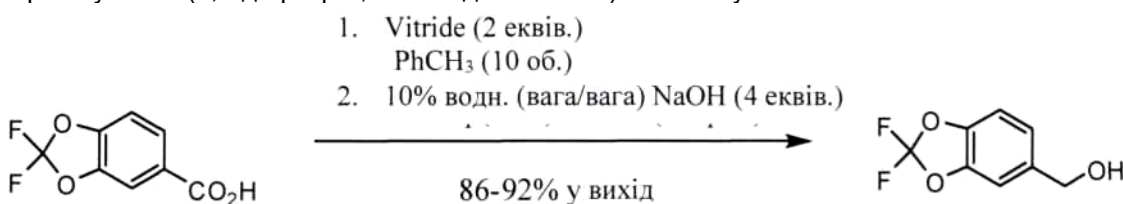
Дифракційні дані одержували на дифрактометрі Bruker Apex II, постаченому К-альфа джерелом у запаяній Cu трубці і ПЗС-детектором Apex II. Розрізнення і уточнення структури проводили за допомогою програми SHELX (Sheldrick, G.M., Acta Cryst., (2008) A64, 112-122). На підставі статистики систематичної відсутності сигналу й інтенсивності сигналу розрізняли й уточнювали структуру в P2₁/n групі симетрії.

Vitride® (біс(2-метоксіетоксі)алюмогідрид натрію [або NaAl₂(OCH₂CH₂OCH₃)₂], 65 % по вазі розчину в толуолі) купували в Aldrich Chemicals.

2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-карбонову кислоту купували в Saltigo (дочірнє підприємство Lanxess Corporation).

Приготування Сполуки 1

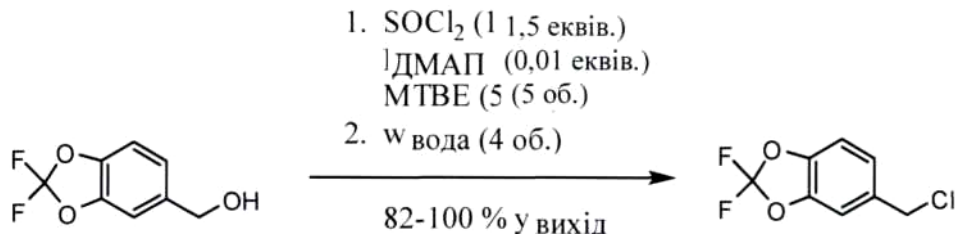
Приготування (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-метанолу.



Комерційно доступну 2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-карбонову кислоту (1,0 екв.) суспендували в толуолі (10 об.). Vitride® (2 екв.) додавали через краплинну лійку зі швидкістю, що підтримує температуру на рівні 15-25 °С. Наприкінці додавання температуру підвищували до

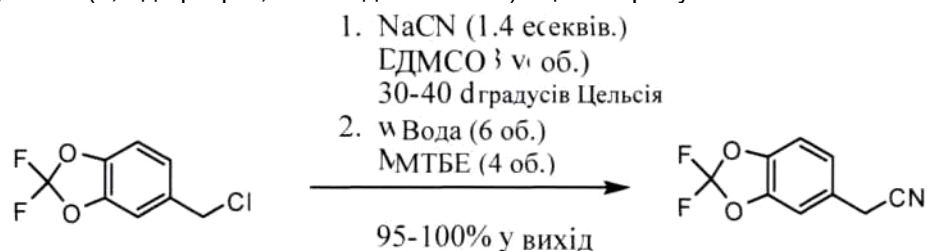
40 °C протягом 2 годин (год.), потім акуратно додавали 10 % (вага/вага) водний (водн.) NaOH (4,0 екв.) через краплинну лійку, підтримуючи температуру на рівні 40-50 °C. Після перемішування протягом додаткових 30 хвилин (хв.) давали шарам розділитися при 40 °C. Органічну фазу охолоджували до 20 °C, потім промивали водою (2 × 1,5 об.), висушували (Na₂SO₄), фільтрували і концентрували до одержання неочищеного (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-метанолу, що застосовували прямо на наступній стадії.

Приготування 5-хлорметил-2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолу.



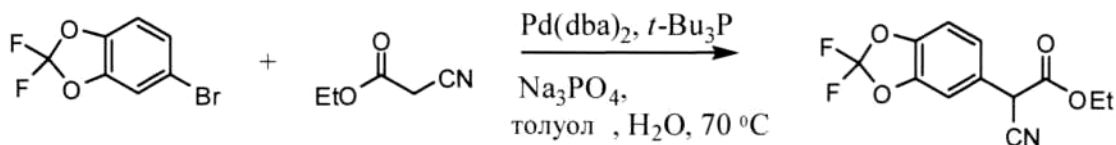
(2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-метанол (1,0 екв.) розчиняли в MTBE (5 об.). Додавали каталітичну кількість 4-(N, N-диметил)амінопіридину (ДМАП) (1 молярний %) і додавали SOCl₂ (1,2 екв.) через краплинну лійку. SOCl₂ додавали зі швидкістю, що підтримує температуру в реакторі на рівні 15-25 °C. Температуру підвищували до 30 °C протягом 1 год., а потім охолоджували до 20 °C. Воду (4 об.) додавали через краплинну лійку, підтримуючи температуру нижче 30 °C. Після перемішування протягом додаткових 30 хв. давали шарам розділитися. Органічний шар перемішували і додавали 10 % (вага/об'єм) водн. NaOH (4,4 об.). Після перемішування протягом від 15 до 20 хв., давали шарам розділитися. Потім органічну фазу висушували (Na₂SO₄), фільтрували і концентрували до одержання неочищеного 5-хлорметил-2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолу, що застосовували прямо на наступній стадії.

Приготування (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-ацетонітрилу.



Розчин 5-хлорметил-2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолу (1 екв.) у ДМСО (1,25 об.) додавали до суспензії NaCN (1,4 екв.) у ДМСО (3 об.), підтримуючи температуру між 30-40 °C. Потім перемішували суміш протягом 1 год., а потім додавали воду (6 об.), а потім метил-трет-бутиловий ефір (МТБЕ) (4 об.). Після перемішування протягом 30 хв. шари розділялися. Водний шар екстрагували МТБЕ (1,8 об.). Об'єднані органічні шари промивали водою (1,8 об.), висушували (Na₂SO₄), фільтрували і концентрували до одержання неочищеного (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-ацетонітрилу (95 %), що застосовували прямо на наступній стадії.

Синтез (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-1-етилацетатацетонітрилу

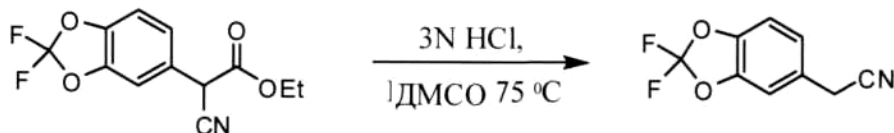


Реактор продували азотом і заповнювали 900 мл толуолу. Розчинник дегазували розпиленням азоту протягом не менше 16 год. Потім заповнювали реактор Na₃PO₄ (155,7 г, 949,5 ммоль), а потім - біс(добензиліденацетон) паладієм (0) (7,28 г, 12,66 ммоль). 10 % вага/вага розчином трет-бутилфосфіну в гексані (51,23 г, 25,32 ммоль) заповнювали протягом 10 хв. при 23 °C із краплинної лійки, продуктої азотом. Потім суміш перемішували протягом 50 хв., після чого додавали 5-бром-2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол (75 г, 316,5 ммоль) протягом 1 хв. Після перемішування протягом додаткових 50 хв. у суміш додавали етилціаноацетат (71,6 г, 633,0 ммоль) протягом 5 хв., а потім воду (4,5 мл) однією порцією. Суміш нагрівали до 70 °C протягом 40 хв. і аналізували за допомогою ВЕРХ кожні 1-2 год. на предмет відсотка перетворення реагуючої речовини в продукт. Після повного перетворення (звичайно 100 % перетворення після 5-8 год.), суміш охолоджували до 20-25 °C і фільтрували через целітну підкладку. Целітну підкладку споліскували толуолом (2 × 450 мл), об'єднані органічні речовини

концентрували до 300 мл у вакуумі при 60-65 °С. У концентрат додавали 225 мл ДМСО і концентрували у вакуумі при 70-80 °С до припинення активної ректифікації розчинника. Розчин охолоджували до 20-25 °С і розбавляли до 900 мл за допомогою ДМСО в рамках підготовки до стадії 2. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7,16-7,10 (m, 2H), 7,03 (d, J=8,2 Гц, 1H), 4,63 (s, 1H), 4.19 (m, 2H), 1,23 (t, J=7,1 Гц, 3H).

5

Синтез (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-ацетонітрилу.



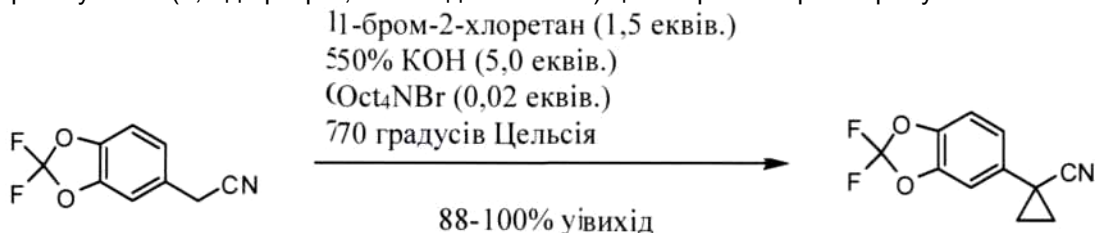
У розчин (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-1-етилацетат-ацетонітрилу в ДМСО, описаний вище додавали 3 N HCl (617,3 мл, 1,85 моль) протягом 20 хв., підтримуючи внутрішню температуру <40 °С. Потім суміш нагрівали до 75 °С протягом 1 год. і аналізували за допомогою ВЕРХ кожні 1-2 год. для визначення % перетворення. При перетворенні > 99 % (звичайно після 5-6 год.) реакцію охолоджували до 20-25 °С і екстрагували МТБЕ (2 × 525 мл) протягом часу, достатнього для завершення поділу фаз при екстракції. Об'єднані органічні екстракти промивали 5 % NaCl (2 × 375 мл). Потім розчин переносили в прилад, що підходить для вакуумної перегонки при 1,5-2,5 торр, постачений охолоджуваною колбою-приймачем. Розчин концентрували у вакуумі при <60 °С для видалення розчинників. (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-ацетонітрил потім очищали від олії, що утворюється, при 125-130 °С (температура печі) і 1,5-2,0 торр. (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-ацетонітрил виділяли у вигляді чистого масла з 66 % виходом з 5-бром-2,2-дифтор-1,3-бензодіоксолу (2 стадії) і з ВЕРХ чистотою, що дорівнює 91,5 % AUC (відповідає 95 % вага/вага). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 7,44 (br s, 1H), 7,43 (d, J=8,4 Гц, 1H), 7,22 (dd, J=8,2, 1,8 Гц, 1H), 4,07 (s, 2H).

10

15

20

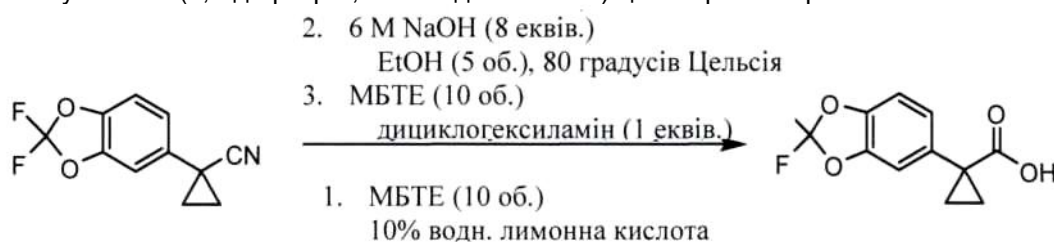
Приготування (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонітрилу.



Суміш з (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-ацетонітрилу (1,0 екв.), 50 % по вазі водного КОН (5,0 екв.) 1-бром-2-хлоретану (1,5 екв.) і Oct4NBr (0.02 екв.) нагрівали при 70 °С протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджували, потім обробляли МТБЕ і водою. Органічну фазу промивали водою і сольовим розчином. Розчинник видаляли для одержання (2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонітрилу.

25

Приготування 1-(2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонової кислоти.



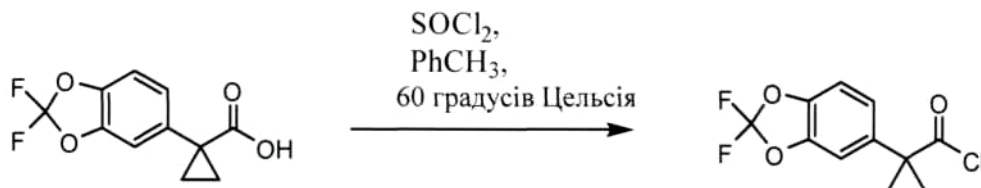
30

(2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонітрил гідролізували за допомогою 6 M NaOH (8 екв.) в етанолі (5 об.) при 80 °С протягом ночі. Суміш охолоджували до кімнатної температури і випаровували етанол у вакуумі. До залишку додавали воду і МТБЕ, 1 M HCl і розділяли шари. Шар МТБЕ потім обробляли дициклогексиламіном (ДЦГА) (0,97 екв.). Суспензію охолоджували до 0 °С, фільтрували і промивали гептаном для одержання відповідної солі ДЦГА. Сіль занурювали в МТБЕ і 10 % лимонну кислоту і перемішували до розчинення твердих частинок. Шари розділяли і шар МТБЕ промивали водою і сольовим розчином. Заміщення розчинника гептаном і наступне фільтрування приводили до утворення 1-(2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонової кислоти після висушування у вакуумній сушильній шафі при 50 °С протягом ночі.

35

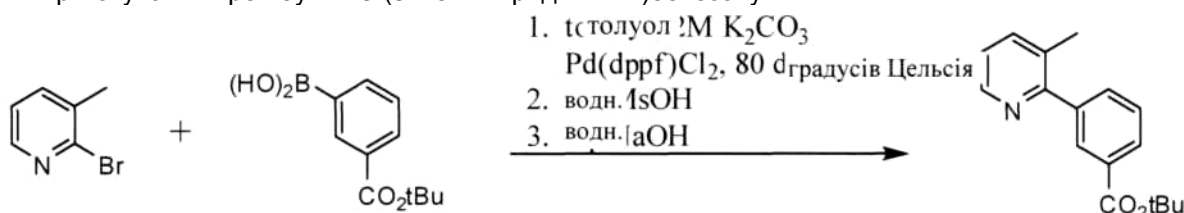
40

Приготування 1-(2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонілхлориду.



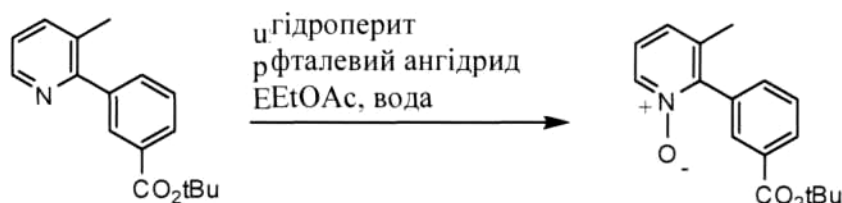
1-(2,2-дифтор-1,3-бензодіоксол-5-іл)-циклопропанкарбонову кислоту (1,2 екв.) суспендували в толуолі (2,5 об.), і суміш нагрівали до 60 °C. SOCl_2 (1,4 екв.) додавали через краплинну ліжку. Толуол і SOCl_2 видаляли з реакційної суміші перегонкою через 30 хвилин. Додатково додавали толуол (2,5 об.) і суміш, що утворювалася в результаті, знову переганяли, одержуючи продукт хлорангідрид у вигляді масла, що застосовували без подальшого очищення.

Приготування трет-бутил-3-(3-метилпіридин-2-іл)бензоату.



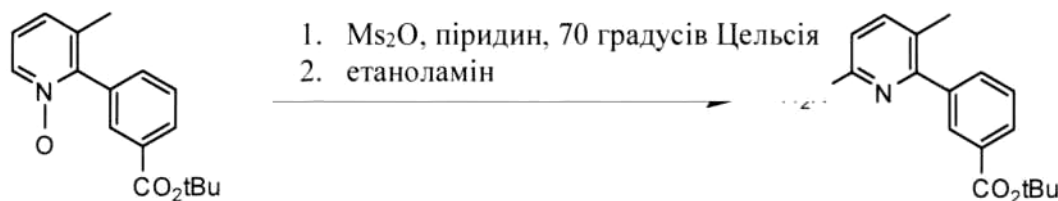
2-бром-3-метилпіридин (1,0 екв.) розчиняли в толуолі (12 об.). Додавали K_2CO_3 (4,8 екв.), потім воду (3,5 об.). Утворену в результаті суміш нагрівали до 65 °C у потоці N_2 протягом 1 години. Потім додавали 3-(t-бутоксикарбоніл)фенілборонову кислоту (1,05 екв.) і $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0,015 екв.) і суміш нагрівали до 80 °C. Через 2 години нагрівання виключали, додавали воду (3,5 об.) і давали шарам розділитися. Потім органічну фазу промивали водою (3,5 об.) і екстрагували 10 % водною метансульфоною кислотою (2 екв. MsOH, 7,7 об.). Водну фазу залужували 50 % водним NaOH (2 екв.) і екстрагували EtOAc (8 об.). Органічний шар концентрували для одержання неочищеного трет-бутил-3-(3-метилпіридин-2-іл)бензоату (82 %), що прямо застосовували на наступній стадії.

Приготування 2-(3-(трет-бутоксикарбоніл)феніл)-3-метилпіридин-1-оксиду.



Трет-бутил-3-(3-метилпіридин-2-іл)бензоат (1,0 екв.) розчиняли в EtOAc (6 об.). Додавали воду (0,3 об.), а потім гідроперит (3 екв.). Потім до суміші порційно додавали фталевий ангідрид (3 екв.) у твердому виді зі швидкістю, що підтримує температуру в реакторі нижче 45 °C. Після завершення додавання фталевого ангідриду суміш нагрівали до 45 °C. Після перемішування протягом додаткових 4 годин нагрівання виключали. 10 % вага/вага водний Na_2SO_3 (1,5 екв.) додавали через краплинну ліжку. Після завершення додавання Na_2SO_3 суміш перемішували протягом додаткових 30 хв., і шари розділялися. Органічний шар перемішували і додавали 10 % вага/вага водн. Na_2CO_3 (2 екв.). Після перемішування протягом 30 хвилин давали шарам розділитися. Органічну фазу промивали 13 % вага/об. водн. NaCl. Потім органічну фазу фільтрували і концентрували для одержання неочищеного 2-(3-(трет-бутоксикарбоніл)феніл)-3-метилпіридин-1-оксиду (95 %), що прямо застосовували на наступній стадії.

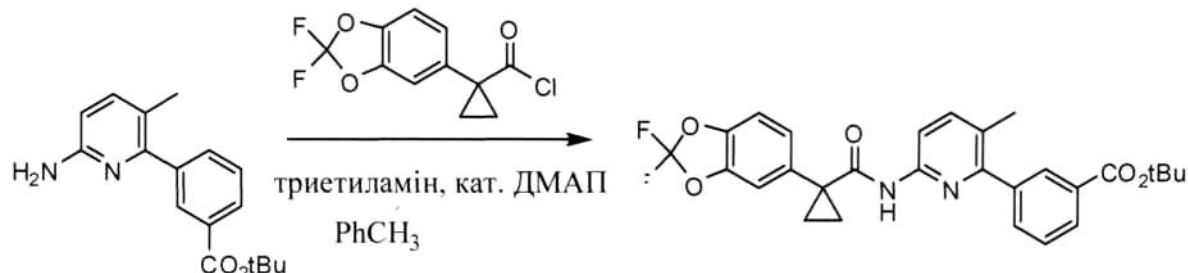
Приготування трет-бутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоату.



Розчин 2-(3-(трет-бутоксикарбоніл)феніл)-3-метилпіридин-1-оксиду (1 екв.) і піридину (4 екв.)

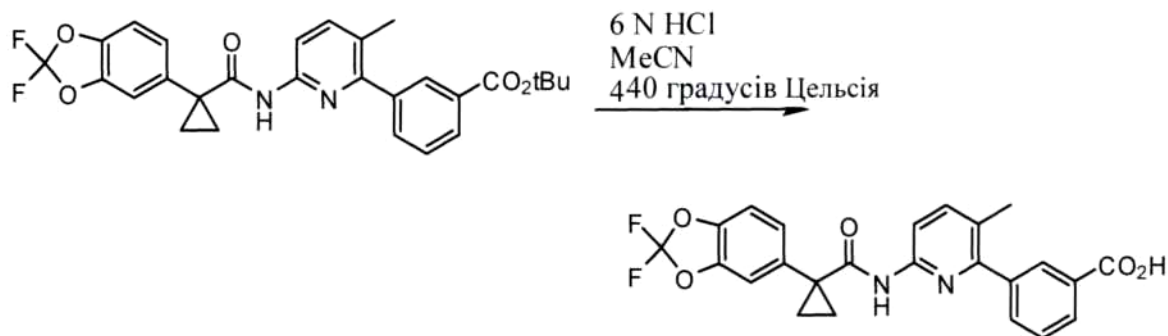
в ацетонітрилі (8 об.) нагрівали до 70 °С. Додавали розчин метансульфонового ангідриду (1,5 екв.) у MeCN (2 об.) протягом 50 хв. через краплинну ліжку, підтримуючи температуру нижче 75 °С. Суміш перемішували протягом додаткових 0,5 години після завершення додавання. Потім суміш залишали остигати до кімнатної температури. Додавали етаноламін (10 екв.) через краплинну ліжку. Після перемішування протягом 2 годин, додавали воду (6 об.) і охолоджували суміш до 10 °С. Після перемішування протягом 3 годин, тверду частину збирали фільтрацією і промивали водою (3 об.), 2:1 ацетонітрил/вода (3 об.), і ацетонітрилом (2 × 1,5 об.). Тверду частину висушували до постійної ваги (<1 % відмінність) у вакуумній сушильній шафі при 50 °С при слабкому пропусканні N₂ для одержання трет-бутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоату у вигляді червоно-жовтих твердих частинок (53 % вихід).

Приготування 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату.



Неочищений хлорангідрид, описаний вище, розчиняли в толуолі (2,5 об. на основі хлорангідриду) і додавали через краплинну ліжку до суміші трет-бутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоату (1 екв.), ДМАП, (0,02 екв.) і триетиламіну (3,0 екв.) у толуолі (4 об. на основі трет-бутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоату). Через 2 години до реакційної суміші додавали воду (4 об. на основі трет-бутил-3-(6-аміно-3-метилпіридин-2-іл)бензоату). Після перемішування протягом 30 хвилин шари розділялися. Органічну фазу потім фільтрували і концентрували для одержання 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату (кількісний вихід неочищеного продукту) у вигляді в'язкого масла. Додавали ацетонітрил (3 об. на основі неочищеного продукту) і переганяли до кристалізації. Додавали воду (2 об. на основі неочищеного продукту) і перемішували суміш протягом 2 год. Тверду частину збирали фільтрацією і промивали 1:1 (за об'ємом) ацетонітрилом/водою (2 × 1 об'єми на основі неочищеного продукту) і частково висушували на фільтрі у вакуумі. Тверду частину висушували до постійної ваги (<1 % відмінність) у вакуумній сушильній шафі при 60 °С при слабкому пропусканні N₂ для одержання 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату у вигляді коричневих твердих частинок.

Приготування солі 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти • HCl.



• HCl

До суспензії 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)-циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату (1,0 екв.) у MeCN (3,0 об.) додавали воду (0,83 об.), а потім концентровану водну HCl (0,83 об.). Суміш нагрівали до 45±5 °С. Після перемішування протягом від 24 до 48 год. реакція завершувалася, і суміш залишали остигати до кімнатної температури. Додавали воду (1,33 об.) і перемішували суміш. Тверду частину збирали фільтрацією і промивали водою (2 × 0,3 об.) і частково висушували на фільтрі у вакуумі. Тверду частину

висушували до постійної ваги (<1 % відмінність) у вакуумній сушильній шафі при 60 °С при слабкому пропусканні N₂ для одержання солі 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти • HCL у вигляді білуватих твердих частинок.

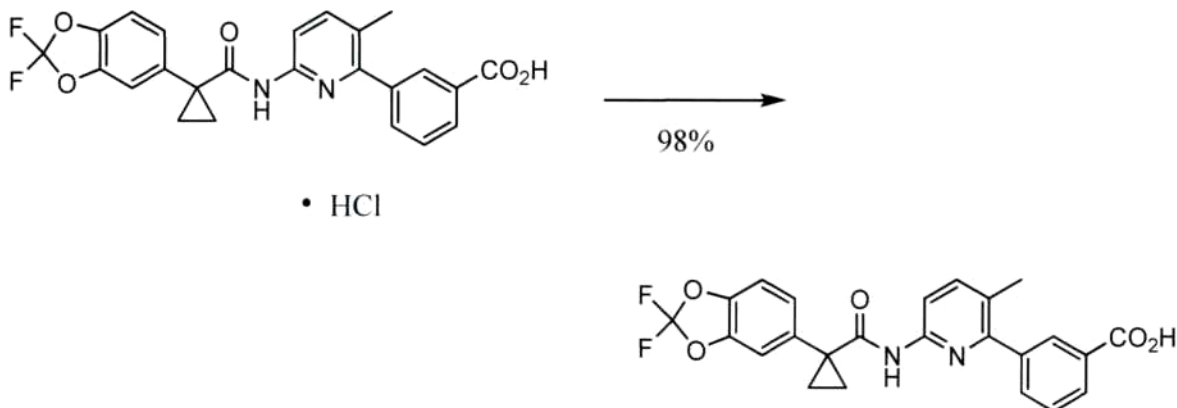
- 5 ¹H ЯМР спектр Сполуки 1, показаний на Фігурі 8 і Фігурі 9, зображує ¹H ЯМР спектр Сполуки 1 у вигляді солі HCl.

Таблиця 2 нижче описує дані ¹H ЯМР Сполуки I.

Таблиця 2

| № сполуки | Рідинна хроматографія з мас-спектрометрією M+1 | Рідинна хроматографія /час утримування хвилини | ЯМР |
|-----------|--|--|---|
| 1 | 453,3 | 1,93 | ¹ H ЯМР (400 МГц, 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), |

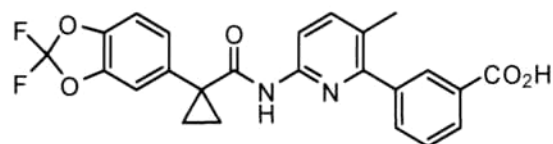
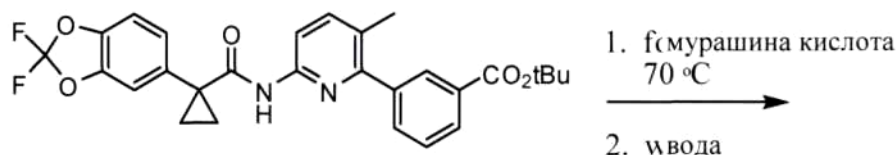
- 10 Приготування Сполуки 1 Форми I
Приготування Сполуки 1 Форми I, Спосіб A.



Форма I

- 15 Суспензію 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти • HCL (1 екв.) у воді (10 об.) перемішували при кімнатній температурі. Після перемішування протягом 24 годин відбирали зразок. Зразок фільтрували і тверду частину промивали водою (2 рази). Твердий зразок аналізували за допомогою диференціальної скануючої калориметрії. Коли аналіз за допомогою диференціальної скануючої калориметрії показував повне перетворення у Форму I, тверду частину збирали фільтрацією і промивали водою (2 × 1,0 об.) і частково висушували на фільтрі у вакуумі. Потім
- 20 тверду частину висушували до постійної ваги (<1 % відмінність) у вакуумній сушильній шафі при 60 °С при слабкому пропусканні N₂ для одержання Сполуки 1 Форми I у вигляді білуватих твердих частинок (98 % вихід). ¹H ЯМР (400 МГц, 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).

- 25 Приготування Сполуки 1 Форми I, Спосіб B.



Форма I

Розчин 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату (1,0 екв.) у мурашиній кислоті (3,0 об.) нагрівали при помішуванні до 70 ± 10 °C протягом 8 год. Реакцію вважали завершеною, коли залишалося не більше 1,0 % AUC при визначенні хроматографічними способами 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату. Суміш залишали остигати до кімнатної температури. Розчин додавали у воду (6 об.), нагрівали при 50 °C і суміш перемішували. Потім суміш нагрівали до 70 ± 10 °C, поки рівень 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)-t-бутилбензоату не перевищував 0,8 % (AUC). Тверду частину збирали фільтрацією і промивали водою (2×3 об.) і частково висушували на фільтрі у вакуумі. Тверду частину висушували до постійної ваги (<1 % відмінність) у вакуумній сушильній шафі при 60 °C при слабкому пропусканні N_2 для одержання Сполуки 1 Форми I у виді білуватих твердих частинок.

Слід Сполуки 1 Форми I, отриманий за допомогою диференціальної скануючої калориметрії, показаний на Фігурі 10. Плавлення Сполуки 1 Форми I відбувається приблизно при 204 °C.

Дифракційну рентгенограму розраховували по монокристалічній структурі Сполуки 1 Форми I і показували на Фігурі 1. У Таблиці 3 перераховані розраховані піки для Фігури 1.

Таблиця 3

| Положення піка | 2 θ кут [градуси] | Відносна інтенсивність [%] |
|----------------|--------------------------|----------------------------|
| 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 |

Дана дифракційна порошкова рентгенограма Сполуки 1 Форми I показана на Фігурі 2. У Таблиці 4 перераховані дані піки для Фігури 2.

Таблиця 4

| Положення піка | 2 θ кут [градуси] | Відносна інтенсивність [%] |
|----------------|--------------------------|----------------------------|
| 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 |

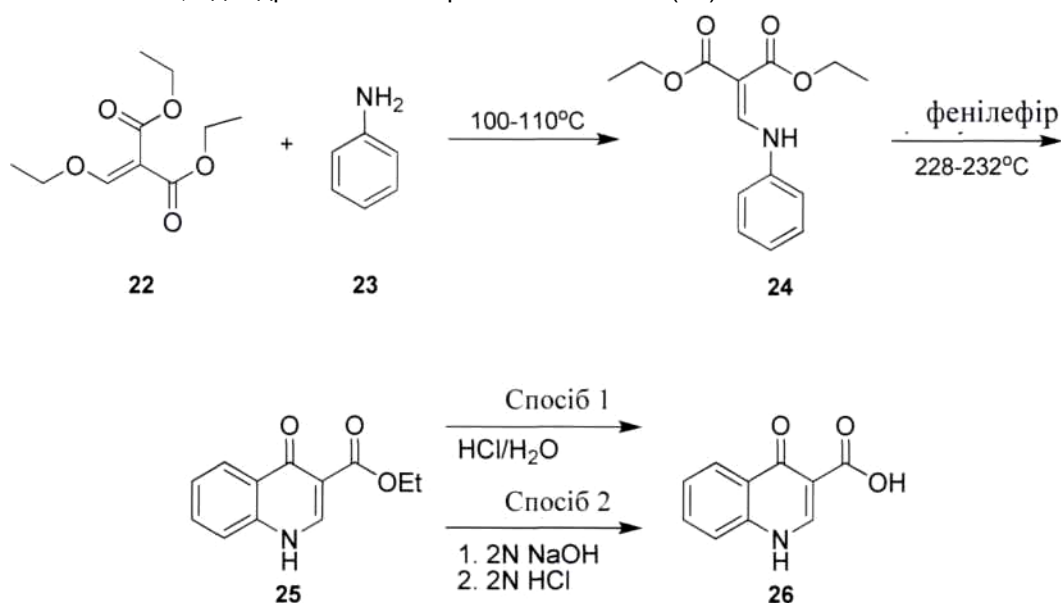
Безбарвні кристали Сполуки 1 Форми I одержували охолодженням концентрованого розчину 1-бутанолу з 75 до 10 °C зі швидкістю, що дорівнює 0,2 °C/хв. Відбирали кристал із трьома вимірами рівними 0,50×0,08×0,03 мм, очищали мінеральним маслом, приклеювали на MicroMount і центрували в системі Bruker APEX II. Одержували три партії з 40 рамок, розділених зворотним простором, для створення матриці орієнтації і вихідних параметрів ямок. Кінцеві параметри ямок одержували й уточнювали на підставі повного набору даних.

Набір дифракційних даних зворотного простору одержували з розрізненням 0,82 Å за допомогою кроків 0,5° за допомогою 30 з експозиції для кожної рамки. Дані збирали при 100 (2) К. Інтеграцію інтенсивностей і уточнення параметрів ямок проводили в допомогою програмного забезпечення APEXII. Спостереження за кристалом після збору даних не виявило ознак розпаду.

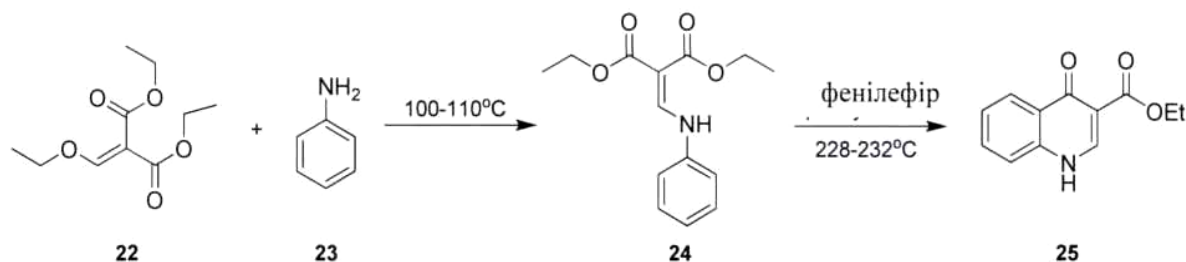
Конформаційна картина Сполуки 1 Форми I на основі монокристалічного рентгенівського аналізу показана на Фігурі 11. Сполука 1 Форми I є моноклінним, P_21/n , з наступними сталими решітки: $a=4,9626(7)$ Å, $b=12,299(2)$ Å, $c=33,075(4)$ Å, $\beta=93,938(9)^\circ$, $V=2014,0$ Å³, $Z=4$. Густина Сполуки 1 Форми I, розрахована на підставі структурних даних, становить 1,492 г/см³ при 100 К.

Приготування Сполуки 2

Синтез 4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (26)

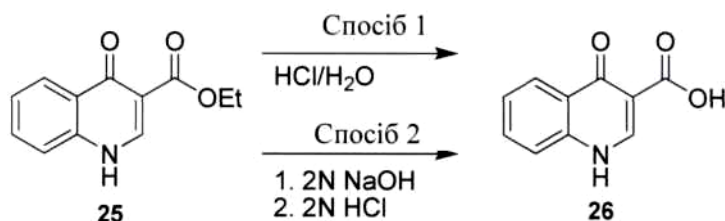


Процедура приготування етил-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксилату (25)



Сполуку 23 (4,77 г, 47,7 ммоль) додавали по краплях до сполуки 22 (10 г, 46,3 ммоль) при підповерхневому потоці N_2 для видалення етанолу при температурі нижче 30°C протягом 0,5 години. Потім розчин нагрівали до $100-110^{\circ}\text{C}$ і перемішували протягом 2,5 годин. Після охолодження суміші до температури нижче 60°C додавали дифенілефір. Розчин, що утворився в результаті, по краплях додавали до дифенілового ефіру, нагрітого до $228-232^{\circ}\text{C}$ протягом 1,5 години при підповерхневому потоці N_2 для видалення етанолу. Суміш перемішували при $228-232^{\circ}\text{C}$ протягом ще 2 годин, охолоджували до температури нижче 100°C і потім додавали гептан для осадження продукту. Суспензію, що утворюється в результаті, перемішували при 30°C протягом 0,5 години. Потім тверді частинки фільтрували й ущільнений осад на фільтрі промивали гептаном і висушували *in vacuo* для одержання сполуки 25 у вигляді коричневих твердих частинок. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$; 400 МГц) δ 12,25 (s), δ 8,49 (d), δ 8,10 (m), δ 7,64 (m), δ 7,55 (m), δ 7,34 (m), δ 4,16 (q), δ 1,23 (t).

Процедура приготування 4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (26)



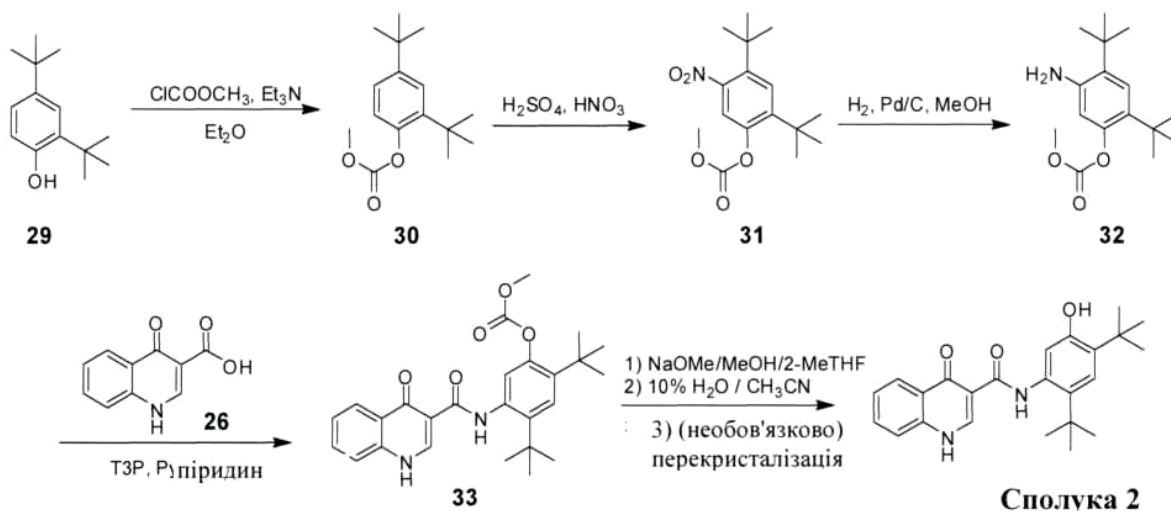
Спосіб 1

Сполуку 25 (1,0 екв.) суспендували в розчині HCl (10,0 екв.) і H_2O (11,6 об.). Суспензію нагрівали до $85-90^{\circ}\text{C}$, хоча альтернативні температури також підходять для даної стадії гідролізу. Наприклад, як альтернатива, гідроліз можна проводити при температурі приблизно від 75 приблизно до 100°C . У деяких випадках гідроліз проводять при температурі приблизно від 80 приблизно до 95°C . В інших випадках стадію гідролізу проводять при температурі приблизно від 82 приблизно до 93°C (напр., приблизно від $82,5$ приблизно до $92,5^{\circ}\text{C}$ або приблизно від 86 приблизно до 89°C). Після перемішування при $85-90^{\circ}\text{C}$ протягом приблизно 6,5 годин, відбирали пробу для визначення завершеності реакції. Перемішування можна проводити при будь-якій температурі, що підходить для гідролізу. Потім розчин охолоджували до $20-25^{\circ}\text{C}$ і фільтрували. Реактор/ущільнений осад на фільтрі споліскували H_2O (2 об. \times 2). Потім ущільнений осад на фільтрі промивали 2 об. H_2O до досягнення рівня $\text{pH} \geq 3.0$. Потім ущільнений осад на фільтрі висушували у вакуумі при 60°C для одержання сполуки 26.

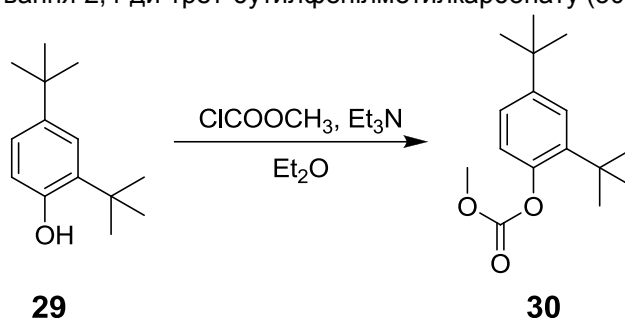
Спосіб 2

Сполуку 25 (11,3 г, 52 ммоль) додавали до суміші 10 % NaOH (водн.) (10 мл) і етанолу (100 мл). Розчин нагрівали для дефлегмації протягом 16 годин, охолоджували до $20-25^{\circ}\text{C}$, а потім підводили pH до 2-3 за допомогою 8 % HCl . Потім суміш перемішували протягом 0,5 години і фільтрували. Ущільнений осад на фільтрі промивали водою (50 мл), а потім висушували *in vacuo* для одержання сполуки 26 у вигляді коричневих твердих частинок. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$; 400 МГц) δ 15,33 (s), δ 13,39 (s), δ 8,87 (s), δ 8,26 (m), δ 7,87 (m), δ 7,80 (m), δ 7,56 (m).

Весь синтез N-(2,4-ди-трет-бутил-5-гідроксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксаміду (Сполуки 2)



Процедура приготування 2,4-ди-трет-бутилфенілметилкарбонату (30)



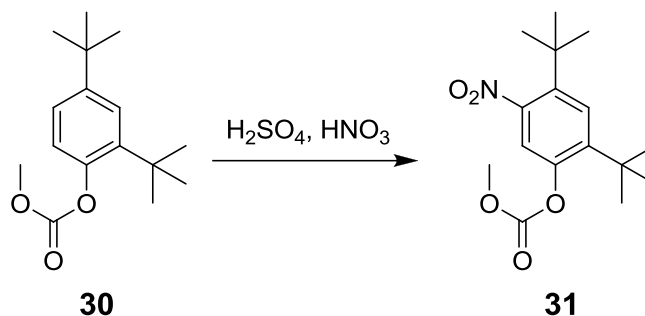
Спосіб 1

5 До розчину 2,4-ди-трет-бутилфенолу, 29, (10 г, 48,5 ммоль) у діетиловому ефірі (100 мл) і триетиламіні (10,1 мл, 72,8 ммоль) по краплях додавали метилхлорформіат (7,46 мл, 97 ммоль) при 0 °С. Потім суміш залишали нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом додаткових 2 годин. Потім додавали додаткові 5 мл триетиламіну і 3,7 мл метилхлорформіату і перемішували реакційну суміш протягом ночі. Потім реакційну суміш фільтрували, фільтрат охолоджували до 0 °С і потім додавали додаткові 5 мл триетиламіну і 3,7 мл метилхлорформіату і суміш залишали нагріватися до кімнатної температури, а потім перемішували протягом додаткової 1 години. На цій стадії реакція була майже цілком довершена, і її зупиняли фільтруванням, потім промиванням водою (2х), а потім - сольовим розчином. Потім розчин концентрували для одержання жовтого масла й очищали за допомогою колонкової хроматографії для одержання сполуки 30. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,35 (d, J=2,4 Гц, 1H), 7,29 (dd, J=8,4, 2,4 Гц, 1H), 7,06 (d, J=8,4 Гц, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H),

Спосіб 2

20 У реакційну посудину, заповнену 4-диметиламінопіридином (ДМАП, 3,16 г, 25,7 ммоль) і 2,4-ди-трет-бутилфенолом (сполука 29, 103,5 г, 501,6 ммоль), додавали хлорид метилену (415 г, 313 мл) і перемішували розчин до повного розчинення твердих частинок. Потім додавали триетиламін (76 г, 751 ммоль) і розчин охолоджували до 0-5 °С. Потім по краплях додавали метилхлорформіат (52 г, 550,3 ммоль) протягом 2,5-4 годин, підтримуючи температуру розчину в інтервалі 0-5 °С. Потім реакційну суміш повільно нагрівали до 23-28 °С і перемішували протягом 20 годин. Потім реакційну суміш охолоджували до 10-15 °С і додавали 150 мл води. Суміш перемішували при 15-20 °С протягом 35-45 хвилин і потім відокремлювали водний шар і екстрагували 150 мл хлориду метилену. Органічні шари поєднували і нейтралізували 2,5 % HCl (водн.) при температурі 5-20 °С для одержання кінцевого рН 5-6. Потім органічний шар промивали водою і концентрували in vacuo при температурі нижче 20 °С до 150 мл для одержання сполуки 30 у хлориді метилену.

Процедура приготування 5-нітро-2,4-ди-трет-бутилфенілметилкарбонату (31)



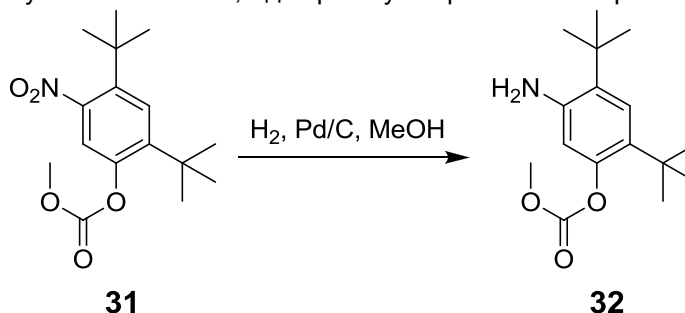
Спосіб 1

До перемішаного розчину сполуки 30 (6,77 г, 25,6 ммоль) по краплях додавали 6 мл суміші 1:1 сірчаної кислоти й азотної кислоти при 0 °С. Потім суміш залишали нагріватися до кімнатної температури і перемішували протягом додаткової 1 години. Продукт очищали за допомогою рідинної хроматографії (ISCO, 120 г, 0-7 % EtOAc/гексани, 38 хв.) з утворенням приблизно 8:1-10:1 суміші регіоізомерів сполуки 31 у вигляді білих твердих частинок. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,63 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 1,36 (s, 9H), 1,32 (s, 9H), ВЕРХ час утримання 3,92 хв. 10-99 % CH₃CN, 5 хв. пробіг; ESI-MS 310 m/z (MH)⁺.

Спосіб 2

До сполуки 30 (100 г, 378 ммоль) додавали дихлорметан (540 г, 408 мл). Суміш перемішували до повного розчинення твердих частинок, потім охолоджували до -5-0 °С. Потім по краплях додавали концентровану сірчану кислоту (163 г), підтримуючи вихідну температуру реакційної суміші, і перемішували суміш протягом 4,5 годин. Потім по краплях додавали азотну кислоту (62 г) протягом 2-4 годин, підтримуючи вихідну температуру реакційної суміші, і потім перемішували суміш при цій температурі протягом додаткових 4,5 годин. Потім реакційну суміш повільно додавали в холодну воду, підтримуючи температуру нижче 5 °С. Охолоджену реакційну суміш потім нагрівали до 25 °С і видаляли водний шар і екстрагували хлоридом метилену. Об'єднані органічні шари промивали водою, висушували за допомогою Na₂SO₄ і концентрували до 124-155 мл. Додавали гексан (48 г) і суміш, що утворилася в результаті, знову концентрували до 124-155 мл. Згодом до суміші ще додавали гексан (160 г). Потім суміш перемішували при 23-27 °С протягом 15,5 годин, а потім фільтрували. До ущільненого осаду на фільтрі додавали гексан (115 г), що утворився в результаті, суміш нагрівали до дефлегмації і перемішували протягом 2-2,5 годин. Потім суміш охолоджували до 3-7 °С, перемішували протягом додаткових 1-1,5 годин і фільтрували для одержання сполуки 31 у вигляді блідо-жовтих твердих частинок.

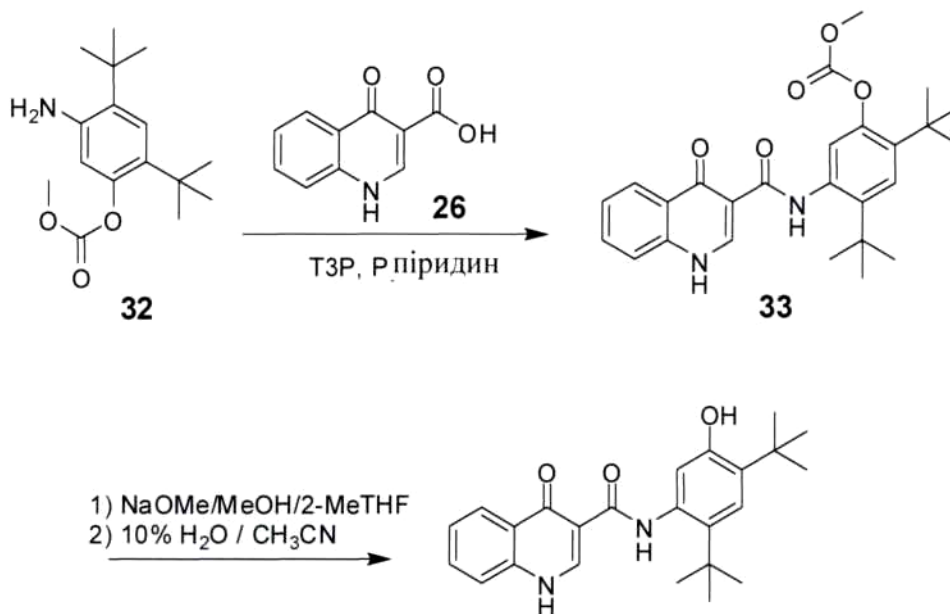
Процедура приготування 5-аміно-2,4-ди-трет-бутилфенілметилкарбонату (32)



Прийнятний реактор для гідрогенізації наповнювали 2,4-ди-трет-бутил-5-нітрофенілметилкарбонатом (1,00 екв.), а потім 5 % Pd/C (2,50 % по вазі сухої речовини, Johnson-Matthey Type 37). MeOH (15,0 об.) заповнювали реактор і закривали систему. Систему продували N₂ (г) і нагнітали тиск до 2,0 бар H₂ (г). Реакцію проводили при температурі реакції 25 °С +/- 5 °С. Після завершення реакційну суміш фільтрували, реактор/ущільнений осад на фільтрі промивали MeOH (4,00 об.). Фільтрат, що утворився в результаті, переганяли у вакуумі при температурі не вище 50 °С до 8,00 об. Додавали воду (2,00 об.) при t 45 °С +/- 5 °С. Суспензію, що утворилася в результаті, охолоджували до 0 °С +/- 5 °С. Суспензію тримали при 0 °С +/- 5 °С протягом не менш, ніж 1 годину, а потім фільтрували. Ущільнений осад на фільтрі промивали однократно за допомогою 0 °С +/- 5 °С MeOH/H₂O (8:2) (2,00 об.). Ущільнений осад на фільтрі висушували у вакуумі (-0,90 бар і -0,86 бар) при 35 °С-40 °С для одержання сполуки 32. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,05 (s, 1H), 6,39 (s, 1H), 4,80 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,23 (s, 9H).

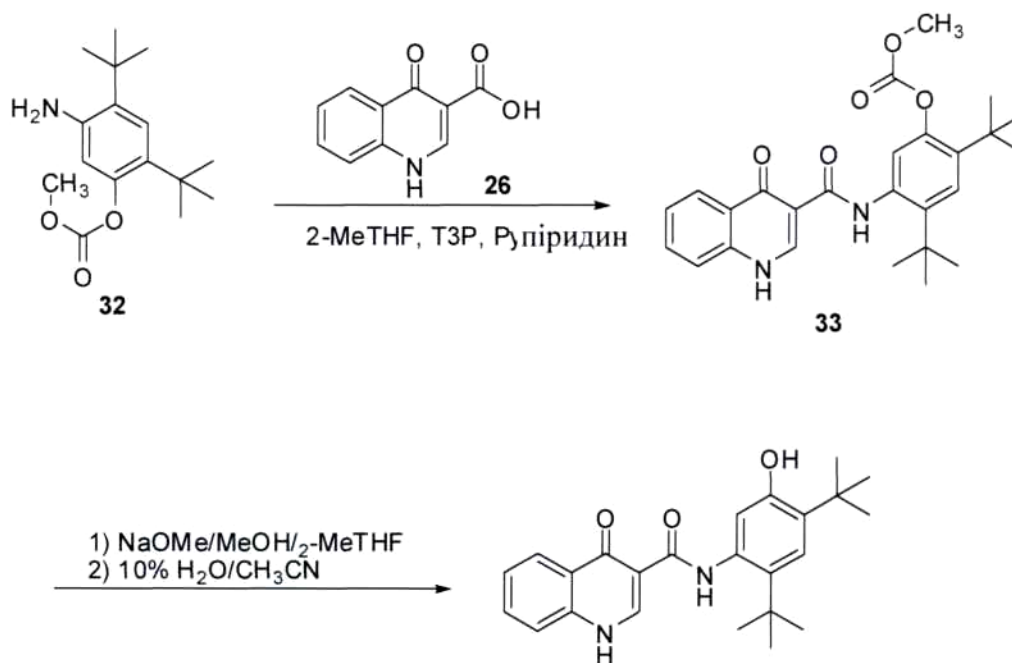
Відразу після закінчення реакції суміш, що утворилася в результаті, розводили за допомогою від 5 до 10 об'ємів MeOH (напр., приблизно від 6 до 9 об'ємів MeOH, приблизно від 7 до 8,5 об'ємів MeOH, приблизно від 7,5 до 8 об'ємів MeOH або приблизно 7,7 об'ємів MeOH), нагрівали до температури близько $35^{\circ}\pm 5^{\circ}\text{C}$, фільтрували, промивали і висушували, як описано вище.

Процедура приготування N-(2,4-ди-трет-бутил-5-гідроксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксаміду (Сполуки 2).



Реактор заповнювали 4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоною кислотою, 26, (1,0 екв.) і 5-аміно-2,4-ди-трет-бутилфенідметилкарбонатом, 32, (1,1 екв.). Додавали 2-МеТНФ (4,0 об., відносно кислоти), а потім - 50 % розчин ТЗР® у 2-МеТНФ (1,7 екв.). Заповнену ТЗР посудину промивали 2-МеТНФ (0,6 об.). Потім додавали піридин (2,0 екв.) і нагрівали суспензію, що утворилася в результаті, до $47,5^{\circ}\pm 5,0^{\circ}\text{C}$ і тримали при цій температурі протягом 8 годин. Відбирали зразок і перевіряли ступінь завершеності реакції за допомогою ВЕРХ. Після закінчення реакції суміш, що утворилася в результаті, охолоджували до $25,0^{\circ}\pm 2,5^{\circ}\text{C}$. Для розведення суміші додавали 2-МеТНФ (12,5 об.). Реакційну суміш двічі промивали водою (10,0 об.). 2-МеТНФ додавали, щоб довести загальний об'єм реакції до 40,0 об. (~16,5 завантаженого об.). До цього розчину додавали NaOMe/MeOH (1,7 екв.) для проведення метанолізу. Реакцію перемішували протягом не менш, ніж 1,0 година і перевіряли ступінь завершеності реакції за допомогою ВЕРХ. Після завершення реакції реакцію зупиняли 1 N HCl (10,0 об.) і промивали 0,1 N HCl (10,0 об.). Органічний розчин освітлювали фільтруванням для видалення будь-яких твердих частинок і поміщали в другий реактор. Відфільтрований розчин концентрували при температурі не вище 35°C (температура в сорочці) і не нижче $8,0^{\circ}\text{C}$ (температура внутрішньої реакції) під зниженим тиском до 20 об. CH₃CN додавали до 40 об. і концентрували розчин при температурі не вище 35°C (температура в сорочці) і не нижче $8,0^{\circ}\text{C}$ (температура внутрішньої реакції) до 20 об. Цикл додавання CH₃CN і концентрації повторювали ще 2 рази, тобто всього 3 додавання CH₃CN і 4 концентрації до 20 об. Після кінцевої концентрації до 20 об. додавали 16,0 об. CH₃CN, а потім 4,0 об. H₂O для одержання кінцевої концентрації, що складає 40 об. 10 % H₂O/CH₃CN відносно вихідної кількості кислоти. Цю суспензію нагрівали до $78,0^{\circ}\text{C}\pm 5,0^{\circ}\text{C}$ (дефлегмація). Потім перемішували суспензію протягом не менше 5 годин. Суспензію охолоджували до $0,0^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ протягом 5 годин і фільтрували. Ущільнений осад на фільтрі промивали $0,0^{\circ}\text{C}\pm 5,0^{\circ}\text{C}$ CH₃CN (5 об.) 4 рази. Тверду речовину, що утворилася в результаті, (Сполука 2) висушували у вакуумній сушильній шафі при $50,0^{\circ}\text{C}\pm 5,0^{\circ}\text{C}$. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,8 (s, 1H), 11,8 (s, 1H), 9,2 (s, 1H), 8,9 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 7,2 (s, 1H), 7,9 (t, 1H), 7,8 (d, 1H), 7,5 (t, 1H), 7,1 (s, 1H), 1,4 (s, 9H), 1,4 (s, 9H).

Альтернативне приготування N-(2,4-ди-трет-бутил-5-гідроксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксаміду (Сполуки 2).

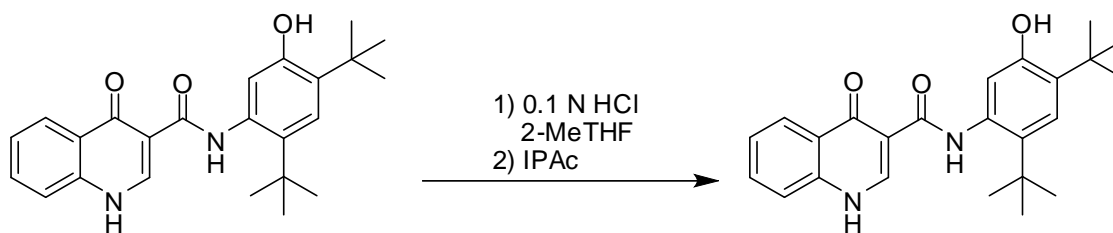


Сполука 2

4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоною кислотою, 26, (1,0 екв.) і 5-аміно-2,4-ди-трет-бутилфенілметилкарбонатом, 32, (1,1 екв.) заповнювали реактор. Додавали 2-МеТНФ (4,0 об., відносно кислоти), а потім 50 % розчин ТЗР® у 2-МеТНФ (1,7 екв.). Заповнену ТЗР посудину промивали 2-МеТНФ (0,6 об.). Потім додавали піридин (2,0 екв.) і нагрівали суспензію, що утворилася в результаті, до 47,5+/-5,0 °С і тримали при цій температурі протягом 8 годин. Відбирали зразок і перевіряли ступінь завершеності реакції за допомогою ВЕРХ. Після закінчення реакції суміш, що утворилася в результаті, охолоджували до 25,0 °С+/-2,5 °С. Для розведення суміші додавали 2-МеТНФ (12,5 об.). Реакційну суміш двічі промивали водою (10,0 об.) і додавали в реактор 2-МеТНФ (16,5 об.). До цього розчину додавали 30 % вага/вага NaOMe/MeOH (1,7 екв.) для проведення метанолізу. Реакцію перемішували при 25,0 °С+/-5,0 °С протягом не менш, ніж 1,0 години і перевіряли ступінь завершеності реакції за допомогою ВЕРХ. Після завершення реакції реакцію зупиняли 1,2 N HCl/H₂O (10,0 об.) і промивали 0,1 N HCl/H₂O (10,0 об.). Органічний розчин освітлювали фільтруванням для видалення будь-яких твердих частинок і поміщали в другий реактор.

Відфільтрований розчин концентрували при температурі не вище 35 °С (температура в сорочці) і не нижче 8,0 °С (температура внутрішньої реакції) під зниженим тиском до 20 об. CH₃CN додавали до 40 об. і концентрували розчин при температурі не вище 35 °С (температура в сорочці) і не нижче 8,0 °С (температура внутрішньої реакції) до 20 об. Цикл додавання CH₃CN і концентрації повторювали ще 2 рази, тобто всього 3 додавання CH₃CN і 4 концентрації до 20 об. Після кінцевої концентрації до 20 об. додавали 16,0 об. CH₃CN, а потім 4,0 об. H₂O для одержання кінцевої концентрації, що складає 40 об. 10 % H₂O/CH₃CN відносно вихідної кількості кислоти. Цю суспензію нагрівали до 78,0 °С+/-5,0 °С (дефлегмація). Потім перемішували суспензію протягом не менше 5 годин. Суспензію охолоджували до температури від 20 до 25 °С протягом 5 годин і фільтрували. Ущільнений осад на фільтрі 4 рази промивали CH₃CN (5 об.), нагрітим до температури від 20 до 25 °С. Тверду речовину, що утворилася в результаті (Сполука 2), висушували у вакуумній сушильній шафі при 50,0+/-5,0 °С. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,8 (s, 1H), 11,8 (s, 1H), 9,2 (s, 1H), 8,9 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 7,2 (s, 1H), 7,9 (t, 1H), 7,8 (d, 1H), 7,5 (t, 1H), 7,1 (s, 1H), 1,4 (s, 9H), 1,4 (s, 9H).

Процедура перекристалізації N-(2,4-ди-трет-бутил-5-гідроксифеніл)-4-оксо-1,4-дигідрохінолін-3-карбоксаміду (Сполука 2)



Реактор заповнювали сполукою 2 (1,0 екв.). Додавали 2-MeTHF (20,0 об., а потім додавали 0,1N HCl (5,0 об.). Двофазний розчин перемішували і розділяли, а верхню органічну фазу ще два рази промивали 0,1N HCl (5,0 об.). Органічний розчин освітлювали фільтруванням для видалення будь-яких твердих частинок і поміщали в другий реактор. Відфільтрований розчин концентрували при температурі не вище 35 °C (температура в сорочці) і не нижче 8,0 °C (температура внутрішньої реакції) під зниженим тиском до 10 об. Додавали ізопропілацетат (IPAc) (10 об.) і концентрували розчин при температурі не вище 35 °C (температура в сорочці) і не нижче 8,0 °C (температура внутрішньої реакції) до 10 об. Додавання IPAc і концентрацію повторювали ще 2 рази, тобто всього 3 додавання IPAc і 4 концентрації до 10 об. Після кінцевої концентрації додавали 10 об. IPAc і суспензію нагрівали для дефлегмації і тримали при цій температурі протягом 5 годин. Суспензію охолоджували до 0,0+/-5 °C протягом 5 годин і фільтрували. Ущільнений осад на фільтрі один раз промивали IPAc (5 об.). Тверду речовину, що утворилася в результаті, висушували у вакуумній сушильній шафі при 50,0+/-5,0 °C.

Приготування твердої дисперсії, що включає в основному аморфну Сполуку 2

Систему розчинників з MEK і деіонізованої води, складену відповідно до співвідношення 90 % по вазі MEK/10 % по вазі деіонізованої води, нагрівали до температури 20-30 °C у реакторі, постаченому магнітною мішалкою і системою підігріву. У цю систему розчинників додавали полімер гіпромелозаацетатсукцинату (HPMCAS) (у вигляді гранул, що розчиняються при високому pH), лаурилсульфат натрію і Сполуку 2 відповідно до співвідношення 19,5 % по вазі гіпромелозаацетатсукцинату/0,5 % по вазі лаурилсульфату натрію/80 % Сполуки 2. Суміш, що утворилася в результаті, містила 10,5 % по вазі твердих частинок. Фактична кількість інгредієнтів і розчинників, застосовуваних для одержання цієї суміші, зазначена в Таблиці 5 нижче:

Таблиця 5

Інгредієнти твердої висушеної розпиленням дисперсії для Інтермедіату F

| | Одиниці | Партія |
|-----------------------------------|---------|--------|
| Сполука 2 | кг | 70,0 |
| HPMCAS | кг | 17,1 |
| Лаурилсульфат натрію | кг | 0,438 |
| Усього твердих речовин | кг | 87,5 |
| MEK | кг | 671 |
| Вода | кг | 74,6 |
| Усього розчинників | кг | 746 |
| Загальна вага розпиленого розчину | кг | 833 |

Температуру суміші регулювали в інтервалі 20-45 °C і перемішували доти, поки суміш не ставала в основному гомогенною, а усі компоненти в основному не розчинялися.

Прилад для висушування розпиленням, комерційний прилад для висушування розпиленням Niro PSD4, з форсункою (Spray Systems Maximum Passage серії SK-MFP з розміром сопла/ядра 54/21), постаченою насадкою, що не забивається, (anti-bearding cap), застосовували в нормальному режимі висушування розпиленням відповідно до параметрів процесу висушування розпиленням, перерахованими в Таблиці 6 нижче.

Таблиця 6

Параметри процесу висушування розпиленням для одержання Інтермедіату F

| Параметр | Значення |
|-------------------------------|--|
| Тиск на вході | 20 бар |
| Швидкість потоку на вході | 92-100 кг/год. |
| Температура на вході | 93-99 °C |
| Температура на виході | 53-57 °C |
| Температура сушарки вакуумної | 80 °C протягом 2 годин, потім 110(+/-5 °C) |
| Час висушування розпиленням | 20-24 годин |

- 5 Високоєфективний циклонний уловлювач відокремлював вологий продукт від розпиленого газу і парів розчинника. Вологий продукт містив 8,5-9,7 % MEK і 0,56-0,83 % води, і середній розмір його частинок складав 17-19 мкм, а об'ємна густина складала 0,27-0,33 г/см³. Вологий продукт перенесли в 4000-літрову подвійну конічну сушарку з нержавіючої сталі для зниження залишкової кількості розчинників до рівня приблизно менш 5000 м. ч. для утворення висушеної розпиленням дисперсії аморфної Сполуки 2, що містить <0,03 % MEK і 0,3 % води.
- 10 Утворення таблеток у процесі цілком безперервної вологої грануляції
Устаткування/Процес
Устаткування
Цілком безперервна установка розробки і запуску (DLR) або устаткування схожого типу.
Скринінг
- 15 Сполуку 1 Форму I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і допоміжні речовини можна диспергувати в окремих проміжних бункерних контейнерах (IBC). Ці матеріали можна скринувати за допомогою операції просівання "з контейнера в контейнер". Придатними розмірами ямки є ямки 20, ямки 40 або ямки 60.
Змішування
- 20 Контейнери IBC, що містять відкалібровану Сполуку 1 Форму I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і допоміжні речовини можна приєднати до системи подачі, що може подавати матеріали контрольованим способом, напр., за допомогою об'ємного або гравіметричного вагового живильника, у змішувач, що безперервно працює. Швидкість подачі індивідуальних компонентів визначають по сполучі композиції і загальній пропускній
- 25 здатності. Пропускна здатність може складати від 8 кг/год. до 30 кг/год. Змішувач, що безперервно працює, може мати різну конфігурацію лез для забезпечення належного змішування, а швидкість обертання цих лез може бути між 80 об./хв. і 300 об./хв.
Волога грануляція
- 30 Грануляційний розчин можна приготувати за допомогою розчинення 48 год. лаурилсульфату натрію і 159 г полівінілпіролідону в 1,626 г води в контейнері з нержавіючої сталі за допомогою верхньопривідної мішалки із швидкістю перемішування, що дорівнює 700 об./хв. Грануляційний розчин можна помістити в контейнер, з якого розчин можна нагнітати в двошнековий гранулятор за допомогою перистальтичного насоса з масовим витратоміром і регулятором, застосовуючи
- 35 придатну для процесу швидкість потоку. Суміш можна гранулювати за допомогою двошнекового гранулятора, такого як гранулятор, що є частиною DLR. Суміш можна додати в двошнековий гранулятор за допомогою вагового живильника, такого як живильник K-Trop у DLR, зі швидкістю подачі від 8 кг/год. до 24 кг/год. Двошнековий гранулятор може працювати при температурі ємності, що дорівнює 25 градусів Цельсія і швидкості обертання шнеків від 200 до 950 об./хв. Процес грануляції можна проводити протягом трьох хвилин для партій невеликого розміру і
- 40 протягом декількох годин для партій великого розміру.
Висушування
- Вологі гранули можна прямо подавати в сушарку з псевдозрідженим шаром, таку як сегментована сушарка з псевдозрідженим шаром у DLR. Кінцеву точку висушування можна вибрати при температурі продукту на виході в інтервалі від 40 до 55 градусів Цельсія так, що в
- 45 цій точці вміст води в гранулах може складати 2,1 % вага/вага ("втрата при висушуванні, LOD")

або менше. Час висушування може складати 12 хвилин або менше, або більше для досягнення бажаної кінцевої точки висушування.

Перемелювання

Висушені гранули можна перемолоти для зменшення розміру гранул. Для цього можна застосовувати конічний млин, такий як вбудована Quadro U10 CoMil.

Змішування

Гранули можна змішати з екстрагранулярними допоміжними речовинами, такими як наповнювачі і змашувальні речовини за допомогою вагового живильника і безперервного змішування. Швидкість змішування може складати 80-300 об./хв.

Пресування

Суміш для пресування можна спресувати в таблетки за допомогою односекційного або обертового таблеткового преса, такого як Courtoy Modul P прес, що є частиною системи DLR, за допомогою відповідним чином відкаліброваного устаткування. Вага таблеток для дози, що складає з 200 мг Сполуки 1 Форми I і 125 мг в основному аморфної Сполуки 2, може складати близько 500 або 600 мг.

Покриття плівковою оболонкою

Таблетки можна покрити плівковою оболонкою за допомогою інноваційного дражувального казана Omega, що є частиною системи DLR. Цей дражувальний казан дозволяє швидко нанести плівкову оболонку на підпартії від 1 до 4 кг, що забезпечує безперервне виробництво.

Печатка

На покритих плівковою оболонкою таблетках можна надрукувати монограму на одній або на обох сторонах таблетки, наприклад, за допомогою похилого принтера Ackley.

Утворення таблеток у процесі двошнекової вологої грануляції

Устаткування/Процес

Устаткування

Двошнекові вологі гранулятори: ConsiGma-1, ConsiGma-25 або Leistritz nano.

Скринінг/Зважування

Сполуку 1 Форму I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і допоміжні речовини можна скринувати до або після зважування. Придатними розмірами ямки є ямки 20, ямки 40 або ямки 60. Сполуку 1 Форму I і/або тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, можна попередньо змішати з однією або більше допоміжними речовинами для спрощення скринінгу.

Змішування

Сполуку 1 Форму I, тверду дисперсію, що включає в основному аморфну Сполуку 2, і допоміжні речовини можна додавати в змішувач у різному порядку. Змішування можна проводити в змішувачі Turbula, у v-подібному змішувачі або в бункерному змішувачі. Компоненти можна змішувати протягом 10 хвилин.

Волога грануляція

Грануляційний розчин можна приготувати за допомогою розчинення 48 г лаурилсульфату натрію і 159 г полівінілпіролідону в 1,626 г води в контейнері з нержавіючої сталі за допомогою верхньопривідної мішалки із швидкістю перемішування, що дорівнює 700 об./хв. Суміш можна гранулювати за допомогою двошнекового гранулятора, такого як ConsiGma-1. Грануляційний розчин можна додати в двошнековий гранулятор за допомогою перистальтичного насоса, такого як насос у ConsiGma-1, зі швидкістю подачі, що дорівнює 67 г/хв. Суміш можна додати в двошнековий гранулятор за допомогою вагового живильника, такого як живильник Brabender у ConsiGma-1, зі швидкістю подачі, що дорівнює 10 кг/год. Двошнековий гранулятор може працювати при температурі ємності, що дорівнює 25 градусів Цельсія і швидкості обертання шнеків, що дорівнює 400 об./хв. Процес грануляції можна проводити протягом чотирьох хвилин. Процес грануляції можна проводити протягом більш короткого або більш тривалого часу для одержання партій з меншою або більшою кількістю вологих гранул.

Висушування

Вологі гранули можна прямо подавати в сушарку з псевдозрідженим шаром, таку як сушильна камера в ConsiGma-1 або сегментована сушарка з псевдозрідженим шаром у STL-25. Кінцеву точку висушування можна вибрати при температурі продукту, що дорівнює 43 градуси Цельсія так, що в цій точці вміст води в гранулах може складати 1,6 % вага/вага ("втрата при висушуванні, LOD"). Час висушування може складати 12 хвилин або менше, або більше для досягнення бажаної кінцевої точки висушування. Висушування можна проводити при швидкості повітряного потоку, що дорівнює 59 м³/хв. і температурі на вході, що дорівнює 60 градусів Цельсія. Як альтернатива, вологі гранули, що виходять із двошнекового гранулятора, можна збирати в бункер або контейнер протягом певного періоду часу, після якого вологі гранул

переносять в окрему ізольовану сушарку з псевдозрідженим шаром, таку як Vector Multi 15.

Перемелювання

Висушені гранули можна перемолоти для зменшення розміру гранул. Для цього можна застосовувати конічний млин, такий як Quadro 194 CoMil.

5 Змішування

Гранули можна змішати з екстрагранулярними допоміжними речовинами, такими як наповнювачі і змащувальна речовина за допомогою V-подібного змішувача або бункерного змішувача. Час змішування може складати 5, 3 або 1 хвилину.

Пресування

10 Суміш для пресування можна спресувати в таблетки за допомогою односекційного або обертового таблеткового преса, такого як Courtoy Modul P прес, застосовуючи устаткування для виробництва овальної форми 0,55' x 0,33'. Вага таблеток для дози, що складає з 200 мг Сполуки 1 Форми I і 125 мг в основному аморфної Сполуки 2, може складати близько 500 або 600 мг.

Покриття плівковою оболонкою

15 Таблетки можна покрити плівковою оболонкою за допомогою дражувального казана, такого як, наприклад, прилад для нанесення покриття Thomas Engineering Compru-Lab. Можна додати слідові кількості карнаубського воску для поліпшення зовнішнього вигляду таблеток і можливостей процесу.

Печатка

20 На покритих плівковою оболонкою таблетках можна надрукувати монограму на одній або на обох сторонах таблетки, наприклад, за допомогою принтера Hartnett Delta.

Утворення таблеток у процесі безперервної двошнекової вологої грануляції

Устаткування/Процес

Устаткування

25 Гранулятор: двошнековий вологий гранулятор ConsiGma або Leistritz, або Thermo Fisher.

Скринінг/Зважування

Сполуку 1 Форму I і допоміжні речовини можна скринувати до або після зважування. Можливими розмірами ямки є ямки 20, ямки 40 або ямки 60. Сполуку 1 можна попередньо змішати з однією або більше допоміжними речовинами для спрощення скринінгу.

30 Змішування

Сполуку 1 і допоміжні речовини можна додавати в змішувач у різному порядку. Змішування можна проводити в змішувачі Turbula, у v-подібному змішувачі, у бункерному змішувачі або в змішувачі, що безперервно працює. Компоненти можна змішувати протягом 10 хвилин у змішувачі періодичної дії або змішувачі, що безперервно працює.

35 Проведення грануляції

Грануляційна рідина - лаурилсульфат натрію і зв'язувальну речовину додають до очищеної води і перемішують до розчинення. Прийнятне співвідношення становить 2,5 % вага/вага лаурилсульфату натрію і 10,0 % вага/вага ПВП K30 у воді.

40 Грануляція - суміш, що містить Сполуку 1 і допоміжні речовини, можна додавати дозами в двошнековий гранулятор за допомогою вагового живильника зі швидкістю подачі, що дорівнює 10 кг/год. Грануляційну рідину можна додавати за допомогою перистальтичного насоса зі швидкістю подачі, що дорівнює 3,5 кг/год. Гранулятор може працювати зі швидкістю, що дорівнює 400 об./хв. Помітною перевагою даного процесу двошнекової вологої грануляції є застосування грануляційної рідини, що включає як сурфактант, так і зв'язувальну речовину для кращої грануляції за рахунок підвищеної здатності до змочування. В одному варіанті застосування винаходу сурфактант є лаурилсульфатом натрію. Іншою помітною перевагою є те, що завдяки безперервності процесу і тому, що в будь-який момент часу обробляється лише обмежена кількість матеріалу, процес можна добре контролювати, що забезпечує високу якість продукції.

50 Перемелювання

Розмір гранул можна зменшити за допомогою млина з ситом або конічного млина або до висушування, або після висушування, або в обох варіантах.

Висушування

55 Гранули можна висушувати за допомогою вакуумної сушильної шафи, висушування на підкладці, двоконусної сушарки або сушарки з псевдозрідженим шаром.

Змішування

Гранули можна змішати з екстрагранулярними допоміжними речовинами. Гранули змішували за допомогою 300-літрового бункерного змішувача при 60 обертах.

Пресування

60 Суміш для пресування пресували в таблетки за допомогою обертового преса Courtoy Modul

P.

Покриття плівковою оболонкою

Таблетки можна покрити плівковою оболонкою за допомогою дражувального казана, такого як, наприклад, O'Hara Labcoat.

5 Печатка

На покритих плівковою оболонкою таблетках можна надрукувати монограму на одній або на обох сторонах таблетки, наприклад, за допомогою принтера Hartnett Delta.

ДОСЛІДЖЕННЯ

ПРОТОКОЛ 1

10 Дослідження для виявлення і вимірювання здатності сполук потенціювати $\Delta F508$ -CFTR

Оптичні способи вимірювання мембранного потенціалу для дослідження здатності сполуки модулювати $\Delta F508$ -CFTR

У дослідженні застосовують флуоресцентні чутливі до напруги барвники для вимірювання змін мембранного потенціалу за допомогою флуоресцентного планшетного спектрофотометра (напр., FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) як величини збільшення функціональних $\Delta F508$ -CFTR у клітинах NIH 3T3. Рушійною силою відповіді є створення градієнта хлорид-іонів у зв'язку з активацією каналу за допомогою однієї стадії додавання рідини після попередньої обробки клітин сполуками і наступного нанесення чутливого до напруги барвника.

Ідентифікація потенціюючих сполук

20 Для ідентифікації сполук, що потенціюють $\Delta F508$ -CFTR, розробили формат високопродуктивного скринінгу з дворазовим додаванням. У даному високопродуктивному скринінгу застосовують флуоресцентні чутливі до напруги барвники для вимірювання змін мембранного потенціалу на FLIPR III як ступеня збільшення активності ворітного механізму каналу (провідності) $\Delta F508$ CFTR у відкоректованих температурою клітинах $\Delta F508$ CFTR NIH 3T3. Рушійною силою відповіді є створення градієнта Cl^- іонів у зв'язку з активацією каналу форсколіном в одну стадію додавання рідини за допомогою флуоресцентного планшетного спектрофотометра, такого як FLIPR III, після попередньої обробки клітин потенціюючими сполуками (або контролю розчинника ДМСО) і наступного нанесення барвника, що перерозподіляється.

30 Розчини

Омивний розчин № 1: (у мМ) NaCl 160, KCl 4,5, $CaCl_2$ 2, $MgCl_2$ 1, HEPES 10, pH 7,4 за допомогою NaOH.

Омивний розчин без хлориду: Хлориди в Омиваному розчині №1 (вище) заміщені глюконатними солями.

35 Культура клітин

Мишачі фібробласти NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta F508$ -CFTR, застосовують для оптичних вимірювань мембранного потенціалу. Клітини тримають при 37 °C у 5 % CO_2 і 90 % вологості в середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко, з додаванням 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 X NEAA, β -меркаптоетанолу, 1 X пеніцилін/стрептоміцину і 25 мМ HEPES (4-(2-гідроксіетил)-1-піперазин етансульфонової кислоти) у культуральних флаконах 175 см². Для всіх оптичних досліджень клітини розсаджували в кількості ~20000/ямку в 384-ямкові покриті матригелем плашки і культивували протягом 2 год. при 37 °C перед культивуванням при 27 °C протягом 24 год. для дослідження потенціюючих речовин. Для дослідження корекції клітини культивували при 27 °C або 37 °C у присутності або у відсутності сполуки протягом 16-24 годин.

45 Електрофізіологічні дослідження для вивчення здатності сполук модулювати $\Delta F508$ -CFTR.

Дослідження в камері Уссинга

Експерименти в камері Уссинга проводили на поляризованих епітеліальних клітинах дихальних шляхів, що експресують $\Delta F508$ -CFTR, для подальшої характеристики підсилювачів або індукторів $\Delta F508$ -CFTR, ідентифікованих в оптичних дослідженнях. Епітелій, уражений і не уражений муковісцидозом, виділяли з бронхіальної тканини, культивували, як описано раніше (Galletta, L.J.V., Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, G.A., & Zegarra-Moran, O. (1998) In Vitro Cell. Dev. Biol. 34, 478-481) і поміщали на фільтри Costar® Snapwell™, попередньо покриті середовищем, кондиціонованим NIH3T3 клітинами. Через чотири дні апікальне середовище видаляли і вирощували клітини на границі розділу водного і повітряного середовищ протягом >14 днів перед застосуванням. Моношар диференційованих стовпчастих війкових клітин, що утворився в результаті, мав властивості, характерні для епітелію дихальних шляхів. Не уражений муковісцидозом бронхіальний епітелій людини виділяли від людей, що не палять, не страждають будь-яким відомим захворюванням легень. Уражений муковісцидозом бронхіальний епітелій людини виділяли з пацієнтів, гомозиготних по $\Delta F508$.

Бронхіальний епітелій людини, що росте на вкладках Costar® Snapwell™ для клітинної культури, укладали в камеру Уссинга (Physiologic Instruments, Inc., Сан-Дієго, штат Каліфорнія) і вимірювали трансепітеліальний опір і струм короткого замикання в присутності базолатерально-апикального градієнта Cl^- (I_{sc}) за допомогою системи фіксації потенціалу (Department of Bioengineering, University of Iowa, штат Айова). Коротко, бронхіальний епітелій людини досліджували в умовах реєстрації фіксації потенціалу ($V_{\text{hold}}=0$ мВ) при 37 °С. Базолатеральний розчин містив (у мМ) 145 NaCl, 0,83 K_2HPO_4 , 3,3 KH_2PO_4 , 1,2 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 , 10 глюкози, 10 HEPES (рН, підведений до 7,35 за допомогою NaOH), а апікальний розчин містив (у мМ) 145 глюконату натрію, 1,2 MgCl_2 , 1,2 CaCl_2 , 10 глюкози, 10 HEPES (рН, підведений до 7,35 за допомогою NaOH).

Ідентифікація потенціюючих сполук

У типовому протоколі застосовували базолатерально-апикальний мембранний градієнт концентрації Cl^- . Для формування даного градієнта застосовували нормальний розчин Рінгера для базолатеральної мембрани, у той час як апікальний NaCl заміняли еквімолярним глюконатом натрію (відтитрований до рН 7,4 за допомогою NaOH) для одержання градієнта великих концентрацій Cl^- через епітелій. Форсколін (10 мкМ) і всі досліджувані сполуки додавали до апікальної сторони вкладок для клітинних культур. Ефективність можливих речовин, що потенціюють $\Delta\text{F508-CFTR}$, порівнювали з ефективністю відомої потенціуючої речовини геністеїну.

Реєстрація фіксації потенціалу

Загальний струм Cl^- у клітинах $\Delta\text{F508-NIH3T3}$ досліджували за допомогою реєстрації в режимі перфорованої фіксації потенціалу, як описано раніше (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., & Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26). Реєстрацію фіксації потенціалу проводили при 22 °С за допомогою Axopatch 200B ампліфікатора фіксації потенціалу (Axon Instruments Inc., Фостер Сіті, штат Каліфорнія). Розчин у піпетці містив (у мМ) 150 N-метил-D-глюкаміну (NMDG)-Cl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 EGTA, 10 HEPES і 240 мкг/мл амфотерицин-B (рН, підведений до 7,35 за допомогою HCl). Позаклітинне середовище містило (у мМ) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl_2 , 2 CaCl_2 , 10 HEPES (рН, підведений до 7,35 за допомогою HCl). Генерацію імпульсів, збір даних і аналіз проводили за допомогою ПК з інтерфейсом Digidata 1320 A/D разом з Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Для активації $\Delta\text{F508-CFTR}$ додавали 10 мкМ форсколіну і 20 мкМ геністеїну в резервуар і спостерігали за вольт-амперним співвідношенням кожні 30 сек.

Ідентифікація потенціюючих сполук

Здатність речовин, що потенціюють $\Delta\text{F508-CFTR}$, збільшувати макроскопічний $\Delta\text{F508-CFTR}$ Cl^- струм ($I_{\Delta\text{F508}}$) у клітинах NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta\text{F508-CFTR}$, також досліджували за допомогою технік реєстрації в режимі перфорованої фіксації потенціалу. Потенціуючі речовини ідентифіковані в оптичних дослідженнях, викликали дозозалежне збільшення $I_{\Delta\text{F508}}$ з тією ж активністю й ефективністю, що і спостерігаються в оптичних дослідженнях. В усіх дослідженнях клітини реверсивний потенціал перед і під час дії потенціуючої речовини складав близько -30 мВ, що є розрахунковою ECl (-28 мВ).

Культура клітин

Мишачі фібробласти NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta\text{F508-CFTR}$, застосовують для реєстрації фіксації потенціалу у всій клітині. Клітини тримають при 37 °С у 5 % CO_2 і 90 % вологості в середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко, з додаванням 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 X NEAA, β -меркаптоетанолу, 1 X пеніцилін/стрептоміцину і 25 мМ HEPES у культуральних флаконах 175 см². Для реєстрації фіксації потенціалу у всій клітині клітини 2500-5000 клітин розсаджували на покриті полі-L-лізином покривні скельця і культивували протягом 24-48 год. при 27 °С перед застосуванням для дослідження активності потенціуючих речовин; і інкубували в присутності або у відсутність коригувальної речовини при 37 °С для зміни активності коригувальних речовин.

Реєстрація в одному каналі

Активність ворітного механізму CFTR дикого типу і відкоректованого температурою $\Delta\text{F508-CFTR}$, що експресується в клітинах NIH3T3, спостерігали, застосовуючи реєстрацію фіксації потенціалу вирізаної вивернутої на вивірт мембрани, як описано раніше (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, R.G., Pavirani, A., Lecocq, J-P., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526-528) за допомогою ампліфікатора фіксації потенціалу Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). Піпетка містила (у мМ) 150 NMDG, 150 аспарагінової кислоти, 5 CaCl_2 , 2 MgCl_2 і 10 HEPES (рН, підведений до 7,35 за допомогою HCl). Резервуар містив (у мМ) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl_2 , 5 EGTA, 10 TES і 14 Триса у вигляді основи (рН, підведений до 7,35 за допомогою HCl). Після вирізання і CFTR дикого типу, і $\Delta\text{F508-CFTR}$ активували додаванням 1 мМ Mg-ATP, 75 нМ каталітичної субодиниці цАМФ-залежної протеїнкінази (PKA; Promega Corp.

Медісон, штат Вісконсин) і 10 мМ Na для інгібування протеїнфосфатаз, що перешкождали зменшенню струму. Потенціал у піпетці підтримували на рівні 80 мВ. Активність каналу аналізували в тонких шарах мембрани, що містять ≤ 2 активних каналів. Максимальне число одночасних відкривань визначало число активних каналів у ході експерименту. Для визначення амплітуди струму одного каналу дані, зареєстровані від 120 сек. активності $\Delta F508\text{-CFTR}$, фільтрували в автономному режимі при 100 Гц, а потім застосовували для побудови гістограм амплітуди у всіх точках, що відповідали множинним гауссовим функціям за допомогою програмного забезпечення Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. Франція). Загальний мікроскопічний струм і ймовірність відкривання (P_o) визначали по 120 сек. активності каналу. P_o визначали, застосовуючи програмне забезпечення Bio-Patch, або з відношення $P_o = I/I(N)$, де I = середній струм, i = амплітуда струму одного каналу і N = число активних каналів у тонкому шарі.

Культура клітин

Мишачі фібробласти NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta F508\text{-CFTR}$, застосовують для реєстрації фіксації потенціалу вирізаної мембрани. Клітини тримають при 37 °C у 5 % CO_2 і 90 % вологості в середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко, з додаванням 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 X NEAA, β -меркаптоетанолу, 1 X пеніцилін/стрептоміцину і 25 мМ HEPES у культуральних флаконах 175 см². Для реєстрації в одному каналі 2500-5000 клітин розсаджували на покриті полі-L-лізином покривні скельця і культивували протягом 24-48 год. при 27 °C перед застосуванням.

ПРОТОКОЛ 2

Дослідження для визначення і вимірювання коригувальних $\Delta F508\text{-CFTR}$ властивостей сполук

Оптичні способи вимірювання мембранного потенціалу для дослідження здатності сполуки модулювати $\Delta F508\text{-CFTR}$.

В оптичному дослідженні мембранного потенціалу застосовували чутливі до напруги сенсори резонансного переносу енергії флуоресценції (FRET), описані Gonzalez і Tsien (See Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells" Biophys J 69(4): 1272-80, and Gonzalez, J. E. and R. Y. Tsien (1997) "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" Chem Biol 4(4): 269-77) у комбінації з інструментами для вимірювання змін флуоресценції, такими як Voltage/Ion Probe Reader (VIPR) (See, 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).

Ці чутливі до напруги дослідження засновані на зміні резонансного переносу енергії флуоресценції (FRET) між розчинним у мембрані чутливим до напруги барвником DiSBAC₂(3) і флуоресцентним фосфоліпідом CC2-DMPE, що приєднаний до зовнішнього шару плазматичної мембрани і діє як донор FRET. Зміни мембранного потенціалу (V_m) викликають перерозподіл негативно зарядженого DiSBAC₂(3) через плазматичну мембрану, і відповідно змінюється кількість перенесеної енергії від CC2-DMPE. Зміни випускання флуоресценції відслідковували за допомогою VIPR™ II, що являє собою інтегровану ємність для рідини і детектор флуоресценції, зроблений так, щоб проводити скринінг клітин у 96- або 384-ямкових плашках для мікротитрування.

Ідентифікація коригувальних сполук

Для ідентифікації малих молекул, що коректують порушення транспорту, пов'язане з $\Delta F508\text{-CFTR}$, був розроблений формат високоефективного скринінгу з однократним додаванням. Клітини інкубували в безсироватковому середовищі протягом 16 год. при 37 °C у присутності або у відсутності (негативний контроль) досліджуваної сполуки. Як позитивний контроль клітини, розсажені в 384-ямкові плашки, інкубували протягом 16 год. при 27 °C, щоб "скорегувати за допомогою температури" $\Delta F508\text{-CFTR}$. Потім клітини споліскували 3 рази в розчині Кребса-Рінгера і додавали чутливі до напруги барвники. Для активації $\Delta F508\text{-CFTR}$ у кожную ямку додавали 10 мкМ форсколіну і речовини геністеїн, що потенціює CFTR (20 мкМ), разом з середовищем, що не містить Cl^- . Додавання середовища, що не містить Cl^- , сприяло виходу Cl^- у відповідь на активацію $\Delta F508\text{-CFTR}$, і за деполяризацією мембрани, що відбувається в результаті цього, спостерігали оптичними способами, застосовуючи чутливі до напруги барвники на основі FRET.

Ідентифікація потенціюючих сполук

Для ідентифікації сполук, що потенціюють $\Delta F508\text{-CFTR}$, був розроблений формат високоефективного скринінгу з дворазовим додаванням. Під час першого додавання середовище, що не містить Cl^- і містить чи не містить досліджувану сполуку, додавали в кожную ямку. Через 2 сек. проводили друге додавання середовища, що не містить Cl^- , що містить 2-10 мкМ форсколіну, для активації $\Delta F508\text{-CFTR}$. Концентрація позаклітинного Cl^- після додавання

обох порцій складала 28 мМ, що сприяло виходу Cl^- у відповідь на активацію $\Delta\text{F508-CFTR}$, і за деполяризацією мембрани, що відбувається в результаті цього, спостерігали оптичними способами, застосовуючи чутливі до напруги барвники на основі FRET.

Розчини

5 Омильний розчин № 1: (у мМ) NaCl 160, KCl 4,5, CaCl_2 2, MgCl_2 1, HEPES 10, pH 7,4 за допомогою NaOH .

Омильний розчин без хлориду: Хлориди в Омивному розчині №1 (вище) заміщені глюконатними солями.

C2-DMPE : Готують у вигляді 10 мМ основного розчину в ДМСО і зберігають при -20°C .

10 $\text{DiSBAC}_2(3)$: Готують у вигляді 10 мМ основного розчину в ДМСО і зберігають при -20°C .

Культура клітин

Мишачі фібробласти NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta\text{F508-CFTR}$, застосовні для оптичних вимірювань мембранного потенціалу. Клітини тримають при 37°C у 5 % CO_2 і 90 % вологості в середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко, з додаванням 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 X NEAA, β -меркаптоетанолу, 1 X пеніцилін/стрептоміцину і 25 мМ HEPES у культуральних флаконах 175 cm^2 . Для всіх оптичних досліджень клітини розсаджували в кількості ~ 30000 /ямку в 384-ямкові покриті матригелем плашки і культивували протягом 2 год. при 37°C перед культивуванням при 27°C протягом 24 год. для дослідження потенціуючих речовин. Для досліджень корекції клітини культивували при 20 27°C або 37°C у присутності або у відсутності сполуки протягом 16-24 годин.

Електрофізіологічні дослідження для вивчення здатності сполук модулювати $\Delta\text{F508-CFTR}$.

Дослідження в камері Уссинга

Експерименти в камері Уссинга проводили на поляризованих епітеліальних клітинах, що експресують $\Delta\text{F508-CFTR}$, для подальшої характеристики підсилювачів або індукторів $\Delta\text{F508-CFTR}$, ідентифікованих в оптичних дослідженнях. Епітеліальні клітини $\text{FRT}^{\Delta\text{F508-CFTR}}$, що ростуть на вкладах для клітинних культур Costar Snapwell, укладали в камеру Уссинга (Physiologic Instruments, Inc., Сан-Дієго, штат Каліфорнія), і до моношарів безперервно прикладали струм короткого замикання за допомогою системи фіксації потенціалу (Department of Bioengineering, University of Iowa, штат Айова, і Physiologic Instruments, Inc., Сан-Дієго, штат Каліфорнія). Трансепітеліальний опір вимірювали, прикладаючи імпульс 2 мВ. У цих умовах епітелій FRT показував опір, що дорівнював 4 $\text{k}\Omega/\text{cm}^2$ або більше. Розчин підтримували при температурі 27°C і продували повітрям. Зсув потенціалу електрода й опір рідини коректували за допомогою безклітинної вкладки. У цих умовах струм відбиває потік Cl^- через $\Delta\text{F508-CFTR}$, що експресується в апікальній мембрані. Значення I_{sc} одержували в цифровій формі за допомогою інтерфейсу MP100A-CE і програмного забезпечення AcqKnowledge (v3.2.6; BIOPAC Systems, Санта-Барбара, штат Каліфорнія).

Ідентифікація коригувальних сполук

У типовому протоколі застосовували базолатерально-апикальний мембранний градієнт концентрації Cl^- . Для формування даного градієнта застосовували нормальний розчин Рінгера для базолатеральної мембрани, у той час як апікальний NaCl заміняли еквімолярним глюконатом натрію (відтитрованим до pH 7,4 за допомогою NaOH) для одержання градієнта великих концентрацій Cl^- через епітелій. Всі експерименти проводили з інтактними моношарами. Для повної активації $\Delta\text{F508-CFTR}$ додавали форсколін (10 мкМ) і інгібітор фосфодіестерази (PDE) IBMX (100 мкМ), а потім додавали речовину геністеїн, що потенціює CFTR (50 мкМ).

Як спостерігають в інших типах клітин, інкубація клітин FRT, що стабільно експресують $\Delta\text{F508-CFTR}$, при низькій температурі підвищує функціональну густину CFTR у плазматичній мембрані. Для визначення активності коригувальних речовин клітини інкубували з 10 мкМ досліджуваної сполуки протягом 24 годин при 37°C , а потім 3 рази промивали перед зняттям показань. цАМФ- і геністеїн-опосередкований I_{sc} в оброблених сполукою клітинах нормалізували до 27°C і 37°C контролів і виражали у вигляді відсотка активності. Попередня інкубація клітин з коригувальною речовиною істотно підвищувала а цАМФ- і геністеїн-опосередкований I_{sc} у порівнянні з 37°C контролями.

Ідентифікація потенціуючих сполук

55 У типовому протоколі застосовували базолатерально-апикальний мембранний градієнт концентрації Cl^- . Для формування даного градієнта застосовували нормальний розчин Рінгера для базолатеральної мембрани і пермеабілізували ністатином (360 мкг/мл), у той час як апікальний NaCl заміняли еквімолярним глюконатом натрію (відтитрованим до pH 7,4 за допомогою NaOH) для одержання градієнта великих концентрацій Cl^- через епітелій. Всі експерименти проводили через 30 хв. після пермеабілізації ністатином. Форсколін (10 мкМ) і всі

досліджувані сполуки додавали до обох сторін вкладок для клітинних культур. Ефективність можливих речовин, що потенціюють $\Delta F508$ -CFTR, порівнювали з ефективністю відомої потенціюючої речовини геністеїну.

Розчини

Базолатеральний розчин (у мМ): NaCl (135), CaCl_2 (1,2), MgCl_2 (1,2), K_2HPO_4 (2,4), KH_2PO_4 (0,6), N-2-гідроксietилпіперазин-N'-2-етансульфонова кислота (HEPES) (10) і декстроза (10). Розчин титрували до pH 7,4 за допомогою NaOH.

Апікальний розчин (у мМ): такий же, як базолатеральний розчин з NaCl, заміненим глюконатом Na (135).

Культура клітин

Щурячі епітеліальні клітини Фішера (FRT), що експресують $\Delta F508$ -CFTR (FRT $\Delta F508$ -CFTR), застосовували в експериментах у камері Уссинга для можливих підсилювачів або індукторів $\Delta F508$ -CFTR, ідентифікованих в оптичних дослідженнях. Клітини культивували на вкладках для клітинних культур Costar Snapwell і культивували протягом п'яти днів при 37 °C у 5 % CO_2 і 90 % вологості в середовищі Хема F-12, модифікованому за способом Куна, з додаванням 5 % фетальної бичачої сироватки, 100 од./мл пеніциліну і 100 мкг/мл стрептоміцину. Перед застосуванням для характеристики активності потенціюючих сполук клітини інкубували при 27 °C протягом 16-48 год. для корекції $\Delta F508$ -CFTR. Для визначення активності коригувальних сполук клітини інкубували при 27 °C або 37 °C у присутності або у відсутності сполуки протягом 24 годин.

Реєстрація фіксації потенціалу у всій клітині

Макроскопічний $\Delta F508$ -CFTR Cl^- струм ($I_{\Delta F508}$) у відкоректованих температурою і досліджуваними сполуками клітинах NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta F508$ -CFTR, досліджували за допомогою реєстрації в режимі перфорованої фіксації потенціалу. Коротко, реєстрацію фіксації потенціалу $I_{\Delta F508}$ проводили при кімнатній температурі за допомогою Axopatch 200B ампліфікатора фіксації потенціалу (Axon Instruments Inc., Фостер Сіті, штат Каліфорнія). Усі дані одержували при частоті відбору проб, що до рівнює 10 кГц, і проводили низькочастотне фільтрування при 1 кГц. Опір піпеток складав 5-6 М Ω при заповненні внутрішньоклітинним розчином. У цих умовах реєстрації розрахунковий реверсивний потенціал для Cl^- (E_{Cl}) при кімнатній температурі складав -28 мВ. У всіх даних опір ущільнення був > 20 М Ω і додатковий опір < 15 М Ω . Генерацію імпульсів, збір даних і аналіз проводили за допомогою ПК з інтерфейсом Digidata 1320 A/D разом з Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Резервуар містив <250 мкл фізіологічного розчину і його безперервно перфузували із швидкістю 2 мл/хв. за допомогою самотічної перфузійної системи.

Ідентифікація коригувальних сполук

Для визначення активності коригувальних сполук, що збільшує густину функціональних $\Delta F508$ -CFTR у плазматичній мембрані, ми застосовували описані вище техніки реєстрації в режимі перфорованої фіксації потенціалу для вимірювання густини струму після 24-год. обробки коригувальними сполуками. Для повної активації $\Delta F508$ -CFTR до клітин додавали 10 мкМ форсколіну і 20 мкМ геністеїну. У наших умовах реєстрації густина струму після 24-год. інкубації при 27 °C була вище спостережуваної після 24-год. інкубації при 37 °C. Ці результати відповідають відомим ефектам низькотемпературної інкубації на густину $\Delta F508$ -CFTR у плазматичній мембрані. Для визначення ефектів коригувальних сполук на густину струму CFTR клітини інкубували з 10 мкМ досліджуваної сполуки протягом 24 годин при 37 °C і порівнювали густину струму з 27 і 37 °C контролями (% активності). Перед реєстрацією клітини 3 рази промивали позаклітинним середовищем для реєстрації для видалення будь-яких залишків досліджуваної сполуки. Попередня інкубація з 10 мкМ коригувальних сполук значно збільшувала цАМФ- і геністеїн-залежний струм у порівнянні з 37 °C контролями.

Ідентифікація потенціюючих сполук

Здатність сполук, що потенціюють $\Delta F508$ -CFTR, збільшувати макроскопічний струм Cl^- $\Delta F508$ -CFTR ($I_{\Delta F508}$) у клітинах NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta F508$ -CFTR, також досліджували за допомогою технік реєстрації в режимі перфорованої фіксації потенціалу. Потенціюючі речовини, ідентифіковані в оптичних дослідженнях, викликали дозозалежне збільшення $I_{\Delta F508}$ з тією ж активністю й ефективністю, що і спостерігаються в оптичних дослідженнях. В усіх досліджених клітинах реверсивний потенціал перед і під час дії потенціюючої речовини складав близько -30 мВ, що є розрахунковим E_{Cl} (-28 мВ).

Розчини

Внутрішньоклітинний розчин (у мМ): Cs-аспартат (90), CsCl (50), MgCl_2 (1), HEPES (10) і 240 мкг/мл амфотерицину-B (pH, підведений до 7,35 за допомогою CsOH).

Позаклітинний розчин (у мМ): N-метил-D-глюкамін (NMDG)-Cl (150), MgCl_2 (2), CaCl_2 (2),

HEPES (10) (pH, підведений до 7,35 за допомогою HCl).

Культура клітин

Мишачі фібробласти NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta F508$ -CFTR, застосовують для реєстрації фіксації потенціалу у всій клітині. Клітини тримають при 37 °C у 5 % CO₂ і 90 % вологості в середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко, з додаванням 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 X NEAA, β -меркаптоетанолу, 1 X пеніцилін/стрептоміцину і 25 мМ HEPES у культуральних флаконах 175 см². Для реєстрації фіксації потенціалу у всій клітині 2500-5000 клітин розсаджували на покриті полі-L-лізином покривні скельця і культивували протягом 24-48 год. при 27 °C перед застосуванням для дослідження активності потенціюючих речовин; і інкубували в присутності або у відсутність коригувальної речовини при 37 °C для зміни активності коригувальних речовин.

Реєстрація в одному каналі

Одноканальну активність відкоректованого температурою $\Delta F508$ -CFTR, що стабільно експресується в клітинах NIH3T3, і активність потенціюючих сполук спостерігали, застосовуючи реєстрацію фіксації потенціалу вирізаної вивернутої на виворіт мембрани. Коротко, реєстрацію фіксації потенціалу одноканальної активності проводили при кімнатній температурі за допомогою Axopatch 200B ампліфікатора фіксації потенціалу (Axon Instruments Inc.). Усі дані одержували при частоті відбору проб, що дорівнює 10 кГц і проводили низькочастотне фільтрування при 400 Гц. Піпетки для фіксації потенціалу були виготовлені зі скла Corning Kovar Sealing #7052 (World Precision Instruments, Inc., Сарасота, штат Флорида) і мали опір 5-8 М Ω при заповненні позаклітинним розчином. $\Delta F508$ -CFTR активували після вирізання додаванням 1 мМ Mg-АТФ, 75 нМ каталітичної субодиноці цАМФ-залежної протеїнкінази (PKA; Promega Corp. Медісон, штат Вісконсин). Після стабілізації активності каналу тонкий шар мембрани перфузували за допомогою самотічної мікроперфузійної системи. Подачу рідини здійснювали поруч з тонким шаром мембрани, що приводило до повного обміну розчину за 1-2 сек. Для підтримки активності $\Delta F508$ -CFTR під час швидкої перфузії додавали неспецифічний інгібітор фосфатази F⁻ (10 мМ Na) в омивний розчин. У цих умовах реєстрації активність каналу залишалася постійною протягом усієї реєстрації фіксації потенціалу (аж до 60 хв.). Струми, утворені позитивними зарядами, що переміщуються із внутрішньо- у позаклітинний розчин (аніонами, що рухаються в протилежному напрямку), показані як позитивні струми. Потенціал у піпетці підтримували на рівні 80 мВ.

Активність каналу аналізували в тонких шарах мембрани, що містять ≤ 2 активних каналів. Максимальне число одночасних відкриттів визначало число активних каналів у ході експерименту. Для визначення амплітуди струму одного каналу дані, зареєстровані по 120 сек. активності $\Delta F508$ -CFTR, фільтрували в автономному режимі при 100 Гц, а потім застосовували для побудови гістограм амплітуди у всіх точках, що відповідали множинним гаусовим функціям, за допомогою програмного забезпечення Bio-Patch Analysis (Bio-Logic Comp. Франція). Загальний мікроскопічний струм і імовірність відкриття (P_o) визначали по 120 сек. активності каналу. P_o визначали, застосовуючи програмне забезпечення Bio-Patch, або із відношення $P_o = I/I(N)$, де I = середній струм, i = амплітуда струму одного каналу і N = число активних каналів у тонкому шарі.

Розчини

Позаклітинний розчин (у мМ): NMDG (150), аспарагінова кислота (150), CaCl₂ (5), MgCl₂ (2) і HEPES (10) (pH, підведений до 7,35 за допомогою Триса у вигляді основи).

Внутрішньоклітинний розчин (у мМ): NMDG-Cl (150), MgCl₂ (2), EGTA (5), TES (10) і Трис у вигляді основи (14) (pH, підведений до 7,35 за допомогою HCl).

Культура клітин

Мишачі фібробласти NIH3T3, що стабільно експресують $\Delta F508$ -CFTR, застосовують для реєстрації фіксації потенціалу вирізаної мембрани. Клітини тримають при 37 °C у 5 % CO₂ і 90 % вологості в середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко, з додаванням 2 мМ глутаміну, 10 % фетальної бичачої сироватки, 1 X NEAA, β -меркаптоетанолу, 1 X пеніцилін/стрептоміцину і 25 мМ HEPES у культуральних флаконах 175 см². Для реєстрації в одному каналі 2500-5000 клітин розсаджували на покриті полі-L-лізином покривні скельця і культивували протягом 24-48 год. при 27 °C перед застосуванням.

Сполука 1 і Сполука 2, що є предметом даного винаходу, застосовні як підсилювачі або індуктори активності CFTR. Таблиця 5 нижче ілюструє EC50 і відносну ефективність Сполуки 1 і Сполуки 2. У Таблиці 5 застосовують наступні позначення. EC50: "+++" означає <10 мкМ; "++" означає між 10 мкМ і 25 мкМ; "+" означає між 25 мкМ і 60 мкМ. % Ефективності: "+" означає < 25 %; "++" означає між 25 і 100 %; "+++" означає > 100 %.

Таблиця 5

| Номер Сполуки | EC50 (мкМ) | % активності |
|---------------|------------|--------------|
| 1 | +++ | +++ |
| 2 | +++ | ++ |

ІНШІ ВАРІАНТИ ЗАСТОСУВАННЯ ВІНАХОДУ

Усі публікації і патенти, що стосуються даного розкриття, включені в дану заявку за допомогою посилання в тому ж обсязі, що і при спеціальній і індивідуальній вказівці на окремі публікації або патентні заявки для включення за допомогою посилання. У тому випадку, якщо значення термінів у будь-якому з патентів або публікацій, включених за допомогою посилання, суперечать значенню термінів, застосовуваних у даному розкритті, передбачається, що значення термінів у даному розкритті є визначальним. Більш того, вищезгадане обговорення розкриває й описує лише зразкові варіанти застосування винаходу. Фахівець у даній галузі техніки легко розпізнає в цих обговореннях і супутніх кресленнях і формулах винаходу різні зміни, модифікації і варіації, які можна внести в них без відступу і суті об'єму винаходу, як визначено в наступній формулі винаходу.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

1. Спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування кістозного фіброзу у пацієнта, який включає введення пацієнту 800 мг 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти (Сполука 1) Форми І і 500 мг по суті аморфного N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксаміду (Сполука 2) щоденно;
- де Сполука 1 Форми І характеризується одним або більше піками в одному або більше 2θ інтервалів, вибраних із від 15,2 до 15,6 градуса, від 16,1 до 16,5 градуса і від 14,3 до 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії; і
- де по суті аморфна Сполука 2 має ступінь кристалізації менше 15 %.
2. Спосіб за п. 1, де спосіб включає введення 400 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг по суті аморфної Сполуки 2 кожні 12 годин.
3. Спосіб за п. 1, де 800 мг Сполуки 1 Форми І і 500 мг по суті аморфної Сполуки 2 вводять у 4 таблетках, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг по суті аморфної Сполуки 2.
4. Спосіб за п. 1, де 400 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг по суті аморфної Сполуки 2 вводять у двох таблетках, кожна з яких містить 200 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг по суті аморфної Сполуки 2.
5. Спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування кістозного фіброзу у пацієнта, який включає введення пацієнту 400 мг 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти (Сполука 1) Форми І і 500 мг по суті аморфного N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксаміду (Сполука 2) щоденно;
- де Сполука 1 Форми І характеризується одним або більше піками в одному або більше 2θ інтервалів, вибраних із від 15,2 до 15,6 градуса, від 16,1 до 16,5 градуса і від 14,3 до 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії; і
- де по суті аморфна Сполука 2 має ступінь кристалізації менше 15 %.
6. Спосіб за п. 5, де спосіб включає введення 200 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг по суті аморфної Сполуки 2 кожні 12 годин.
7. Спосіб за п. 5, де 400 мг Сполуки 1 Форми І і 500 мг по суті аморфної Сполуки 2 вводять у 4 таблетках, кожна з яких містить 100 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг по суті аморфної Сполуки 2.
8. Спосіб за п. 6, де 200 мг Сполуки 1 Форми І і 250 мг по суті аморфної Сполуки 2 вводять у двох таблетках, кожна з яких містить 100 мг Сполуки 1 Форми І і 125 мг по суті аморфної Сполуки 2.
9. Спосіб за будь-яким з пп. 1-8, де пацієнт є гомозиготним по мутації ΔF508 гена регулятора трансмембранної провідності кістозного фіброзу (CFTR).
10. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми І характеризується піком в інтервалі від 16,1 до 16,5 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
11. Спосіб за п. 10, де Сполука 1 Форми І характеризується піком, що має значення 2θ при 16,3 градусах у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
12. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми І характеризується піком в інтервалі від 14,3 до 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.

13. Спосіб за п. 12, де Сполука 1 Форми I характеризується піком, що має значення 2θ при 14,5 градусах у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
14. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 15,2 до 15,6 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
- 5 15. Спосіб за п. 14, де Сполука 1 Форми I характеризується піком, що має значення 2θ при 15,4 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
16. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 17,6 до 18,0 градусів у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
17. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 10 7,6 до 8,0 градусів у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
18. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками, що мають значення 2θ , $\pm 0,2$ градуса, вибраними з 14,41 градуса, 14,64 градуса, 15,23 градуса, 16,11 градуса, 17,67 градуса, 19,32 градуса, 21,67 градуса, 23,40 градуса, 23,99 градуса, 26,10 градуса і 28,54 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
- 15 19. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується дифракційною картиною, в основному схожою з такою на Фігурі 1.
20. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками, що мають значення 2θ , $\pm 0,2$ градуса, вибраними з 7,83 градуса, 14,51 градуса, 14,78 градуса, 15,39 градуса, 16,26 градуса, 16,62 градуса, 17,81 градуса, 21,59 градуса, 23,32 20 градуса, 24,93 градуса і 25,99 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
21. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується дифракційною картиною, в основному схожою з такою на Фігурі 2.
22. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, де Сполука 1 Форми I характеризується як моноклінна кристалічна система в $P2_1/n$ групі симетрії з такими сталими решітки: $a=4,9626(7)$ Å, $b=12,299(2)$ Å, $c=33,075(4)$ Å, $\beta=93,938(9)^\circ$.
- 25 23. Фармацевтична композиція, яка містить 200 мг 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти (Сполука 1) Форми I і тверду дисперсію, яка містить 125 мг по суті аморфного N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксаміду (Сполука 2);
- 30 де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками в одному або більше 2θ інтервалів, вибраних із від 15,2 до 15,6 градуса, від 16,1 до 16,5 градуса і від 14,3 до 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії; і
- де по суті аморфна Сполука 2 має ступінь кристалізації менше 10 %.
24. Фармацевтична композиція, яка містить 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3-метилпіридин-2-іл)бензойну кислоту (Сполука 1) Форми I і 35 тверду дисперсію, яка містить по суті аморфний N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксамід (Сполука 2);
- де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками в одному або більше 2θ інтервалів, вибраних із від 15,2 до 15,6 градуса, від 16,1 до 16,5 градуса і від 14,3 до 40 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії;
- де по суті аморфна Сполука 2 має ступінь кристалізації менше 15 %; і
- де фармацевтична композиція є таблеткою і містить Сполуку 1 Форми I у кількості від 25 до 50 відсотків по масі і тверду дисперсію у кількості від 15 до 35 відсотків по масі.
25. Фармацевтична композиція за п. 24, де фармацевтична композиція містить 200 мг Сполуки 1 45 Форми I і 125 мг по суті аморфної Сполуки 2.
26. Фармацевтична композиція за п. 25, де фармацевтична композиція містить від 30 до 50 відсотків по масі Сполуки 1 Форми I.
27. Фармацевтична композиція, яка містить:
- (а) близько 100 мг 3-(6-(1-(2,2-дифторбензо[d][1,3]діоксол-5-іл)циклопропанкарбоксамідо)-3- 50 метилпіридин-2-іл)бензойної кислоти (Сполука 1) Форми I і тверду дисперсію, яка містить близько 125 мг по суті аморфного N-(5-гідрокси-2,4-дитрет-бутилфеніл)-4-оксо-1Н-хінолін-3-карбоксаміду (Сполука 2);
- (b) близько 150 мг Сполуки 1 Форми I і тверду дисперсію, яка містить близько 200 мг по суті аморфної Сполуки 2; або
- 55 (c) близько 75 мг Сполуки 1 Форми I і тверду дисперсію, яка містить близько 100 мг по суті аморфної Сполуки 2;
- де по суті аморфна Сполука 2 має ступінь кристалізації менше 15 %; і
- де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками в одному або більше 2θ інтервалів, вибраних із від 15,2 до 15,6 градуса, від 16,1 до 16,5 градуса і від 14,3 до 60 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.

28. Фармацевтична композиція за п. 27, де фармацевтична композиція містить 100 мг Сполуки 1 Форми I і 125 мг по суті аморфної Сполуки 2.
29. Фармацевтична композиція за п. 28, де фармацевтична композиція є таблеткою.
30. Фармацевтична композиція за п. 29, де фармацевтична композиція містить щонайменше 20 % по масі Сполуки 1 Форми I і щонайменше 20 % по масі по суті аморфної Сполуки 2.
31. Фармацевтична композиція за п. 27, яка додатково містить:
мікрокристалічну целюлозу у кількості від 10 до 20 відсотків по масі композиції,
кроскармелозу натрію у кількості від 1 до 3 відсотків по масі композиції,
лаурилсульфат натрію у кількості від 0,5 до 2 відсотків по масі композиції і
полівінілпіролідон у кількості від 0 до 5 відсотків по масі композиції.
32. Фармацевтична композиція за п. 31, де фармацевтична композиція містить:
Сполуку 1 Форми I у кількості 30 % по масі композиції,
тверду дисперсію, яка містить по суті аморфну Сполуку 2 у кількості 47 % по масі композиції;
мікрокристалічну целюлозу у кількості 17 % по масі композиції,
кроскармелозу натрію у кількості 2 % по масі композиції,
лаурилсульфат натрію у кількості 1 % по масі композиції і
полівінілпіролідон у кількості 3 % по масі композиції.
33. Фармацевтична композиція за п. 32, де фармацевтична композиція є гранулярною фармацевтичною композицією.
34. Спосіб лікування, зменшення тяжкості або симптоматичного лікування кістозного фіброзу у пацієнта, який включає введення пацієнту фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 23-33.
35. Спосіб за п. 34, де пацієнт є гомозиготним по мутації $\Delta F508$.
36. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де тверда дисперсія, яка містить по суті аморфну Сполуку 2, містить:
а) по суті аморфну Сполуку 2 у кількості 80 % по масі дисперсії;
б) ацетат сукцинат гідроксипропілметилцелюлози (HPMCAS) у кількості 19,5 % по масі дисперсії і
с) лаурилсульфат натрію (SLS) у кількості 0,5 % по масі дисперсії.
37. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 16,1 до 16,5 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
38. Фармацевтична композиція за п. 37, де Сполука 1 Форми I характеризується піком, що має значення 2θ при 16,3 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
39. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 14,3 до 14,7 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
40. Фармацевтична композиція за п. 39, де Сполука 1 Форми I характеризується піком, що має значення 2θ при 14,5 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
41. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 15,2 до 15,6 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
42. Фармацевтична композиція за п. 41, де Сполука 1 Форми I характеризується піком, що має значення 2θ при 15,4 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
43. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 17,6 до 18,0 градусів у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
44. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується піком в інтервалі від 7,6 до 8,0 градусів у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
45. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками, що мають значення 2θ , $\pm 0,2$ градуса, вибраними з 14,41 градуса, 14,64 градуса, 15,23 градуса, 16,11 градуса, 17,67 градуса, 19,32 градуса, 21,67 градуса, 23,40 градуса, 23,99 градуса, 26,10 градуса і 28,54 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
46. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується дифракційною картиною, в основному схожою з такою на Фігурі 1.
47. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується одним або більше піками, що мають значення 2θ , $\pm 0,2$ градуса, вибраними з 7,83 градуса, 14,51 градуса, 14,78 градуса, 15,39 градуса, 16,26 градуса, 16,62 градуса, 17,81 градуса, 21,59 градуса, 23,32 градуса, 24,93 градуса і 25,99 градуса у рентгенівській порошковій дифрактометрії.
48. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується дифракційною картиною, в основному схожою з такою на Фігурі 2.

49. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 23-33, де Сполука 1 Форми I характеризується як моноклінна кристалічна система в P_{21}/n групі симетрії з такими сталими решітки: $a=4,9626(7)$ Å, $b=12,299(2)$ Å, $c=33,075(4)$ Å, $\beta=93,938(9)^\circ$.

50. Спосіб отримання фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 23-33, який включає грануляцію таких компонентів:

- a) Сполуки 1 Форми I;
- b) твердої дисперсії, яка містить по суті аморфну Сполуку 2;
- c) наповнювача;
- d) розпушувача;
- e) сурфактанта і
- f) зв'язувальної речовини.

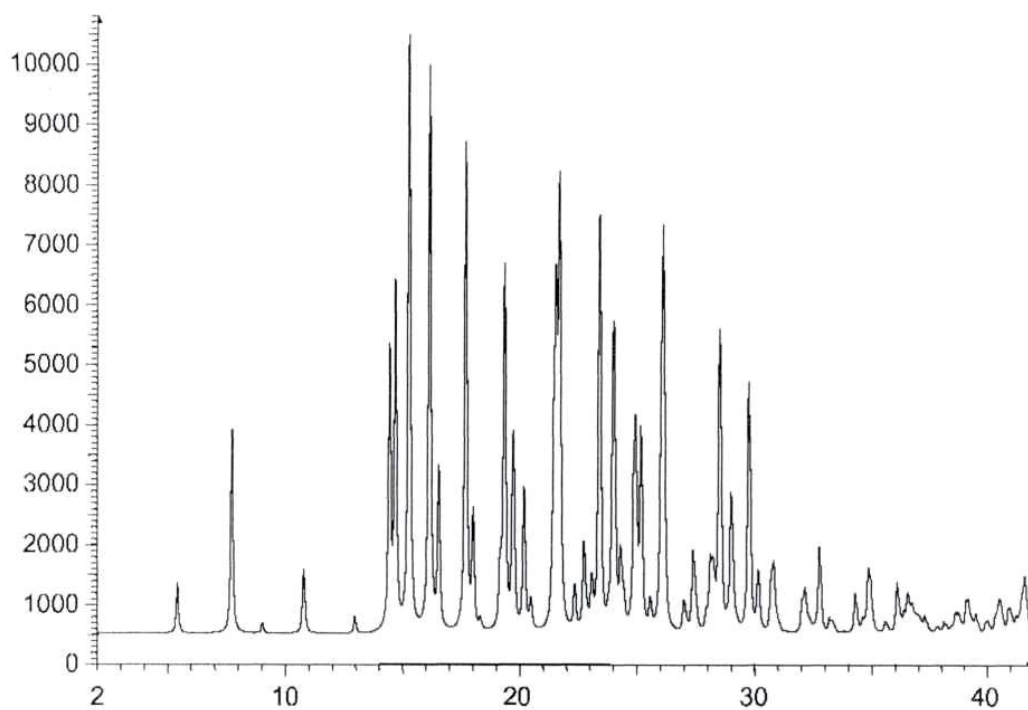
51. Спосіб отримання фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 24-26, 29 або 30, де отримання таблетки включає пресування:

- i) множини гранулярних фармацевтичних композицій, отриманих з використанням способу за п. 50;
- ii) зв'язувальної речовини;
- iii) розпушувача;
- iv) наповнювача і
- v) змащувальної речовини.

52. Безперервний процес отримання фармацевтичної композиції за будь-яким з пп. 24-26, 29 або 30, де отримання таблетки включає стадії:

- a) змішування Сполуки 1 Форми I, твердої дисперсії, яка містить по суті аморфну Сполуку 2, наповнювача і розпушувача в змішувачі для утворення суміші;
- b) приготування грануляційного розчину з водою, зв'язувальною речовиною і сурфактантом;
- c) подача суміші зі стадії a) в безперервний двошнековий гранулятор при додаванні грануляційного розчину зі стадії b) для отримання гранул;
- d) висушування гранул зі стадії c) і їхнє перемелювання;
- e) перемішування перемелених гранул зі стадії d) з наповнювачем, розпушувачем і змащувальною речовиною для утворення суміші; і
- f) пресування суміші зі стадії e) в таблетку.

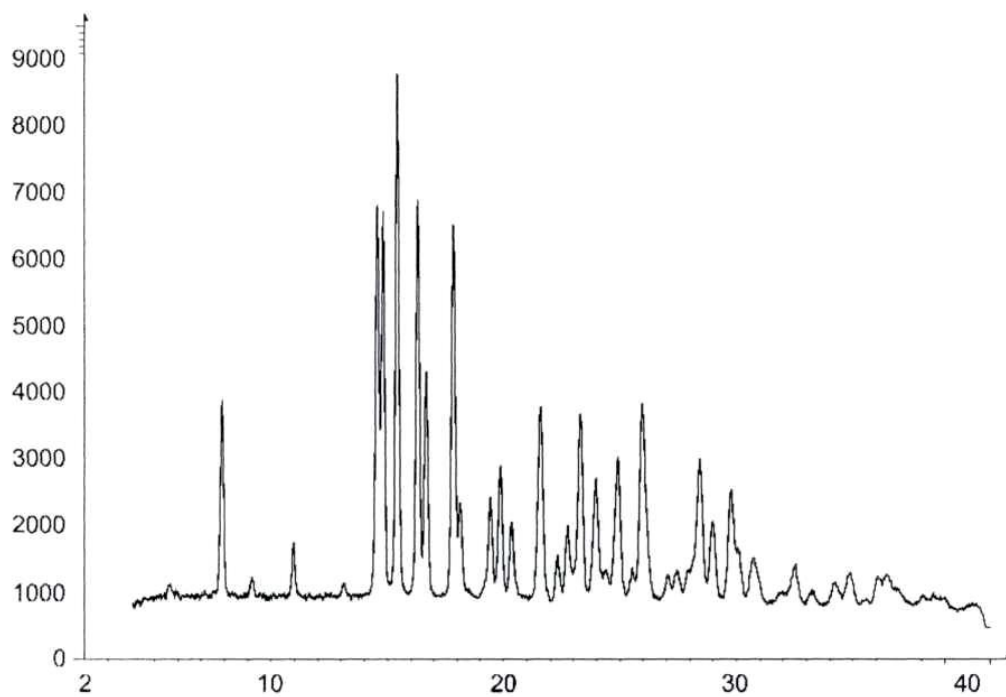
Лінії
(відрахунки)



2-Тета-шкала

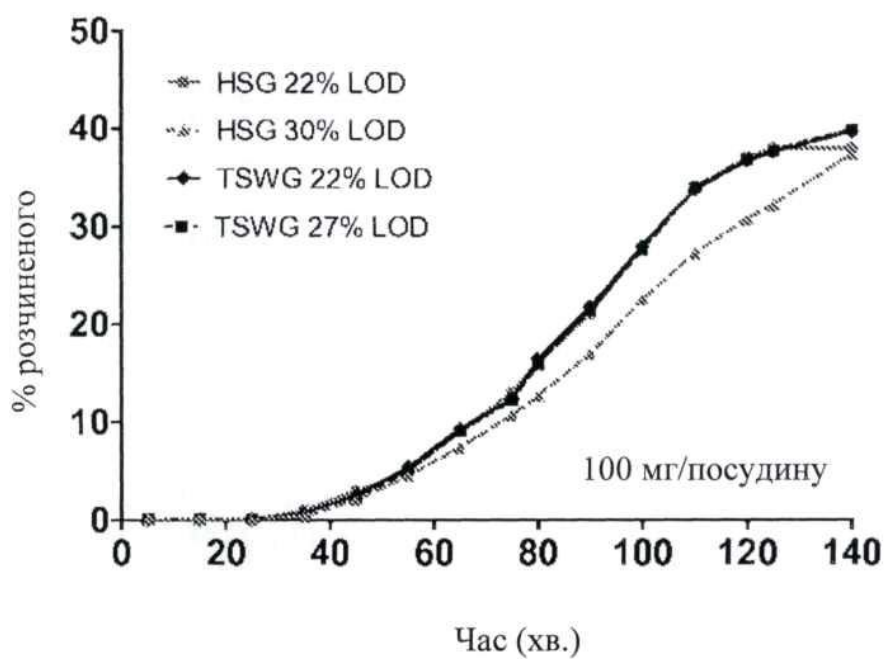
Фіг. 1

Лінії
(відрахунки)

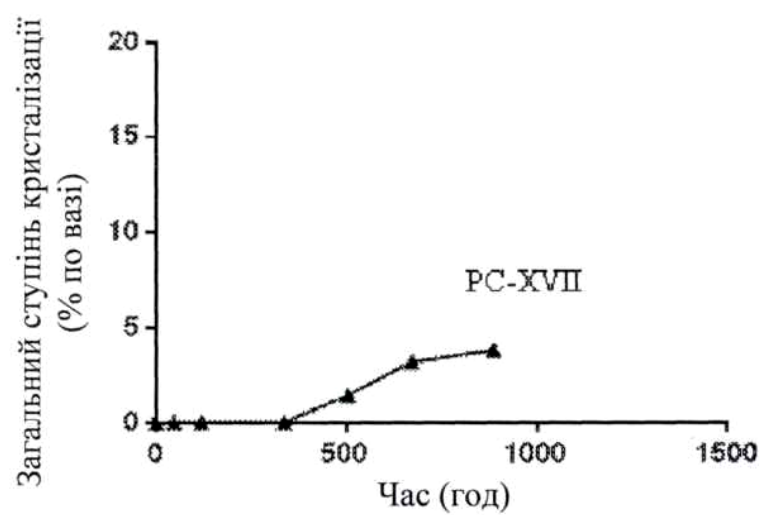


2-Тета-шкала

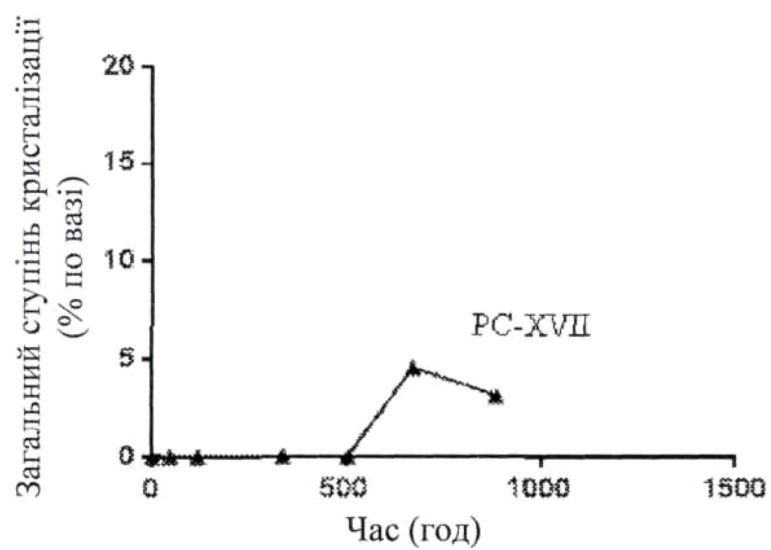
Фіг. 2



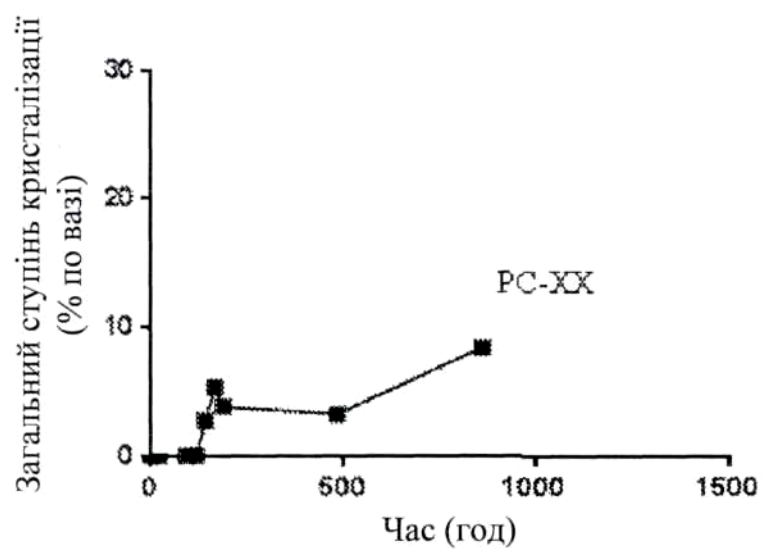
Фиг. 3



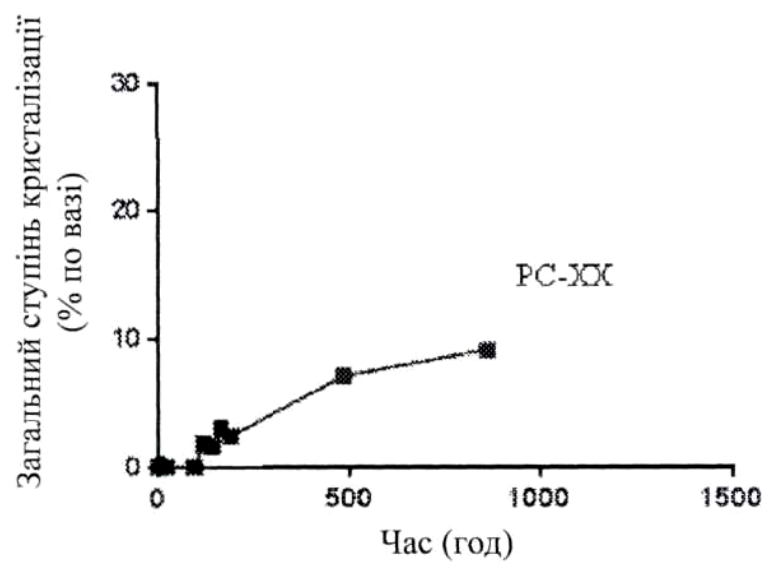
Фиг. 4



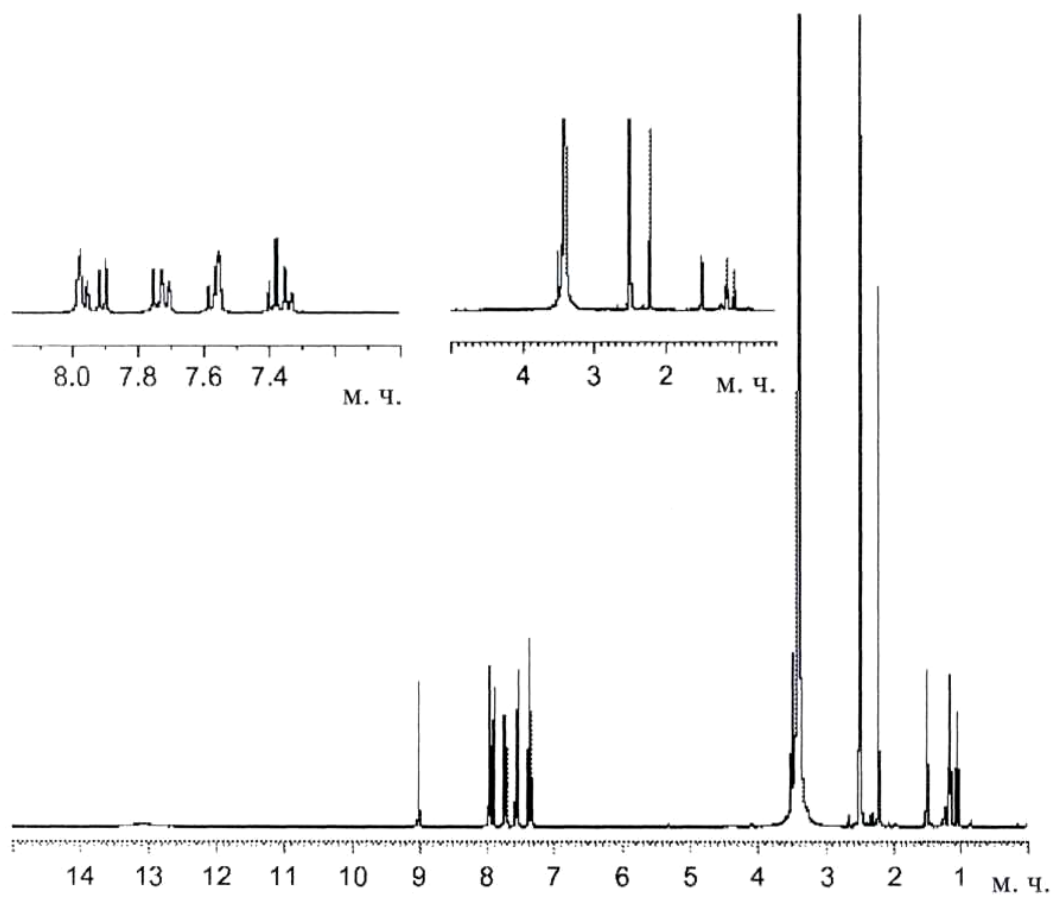
Фиг. 5



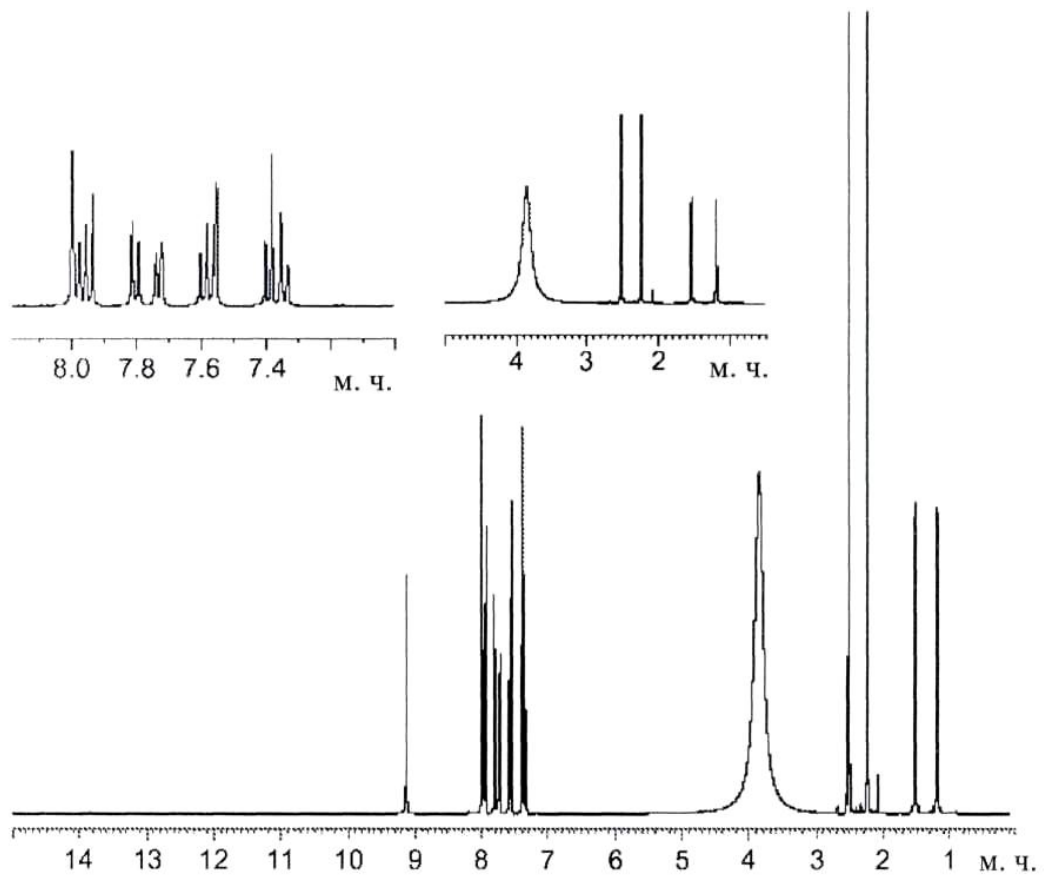
Фиг. 6



Фіг. 7

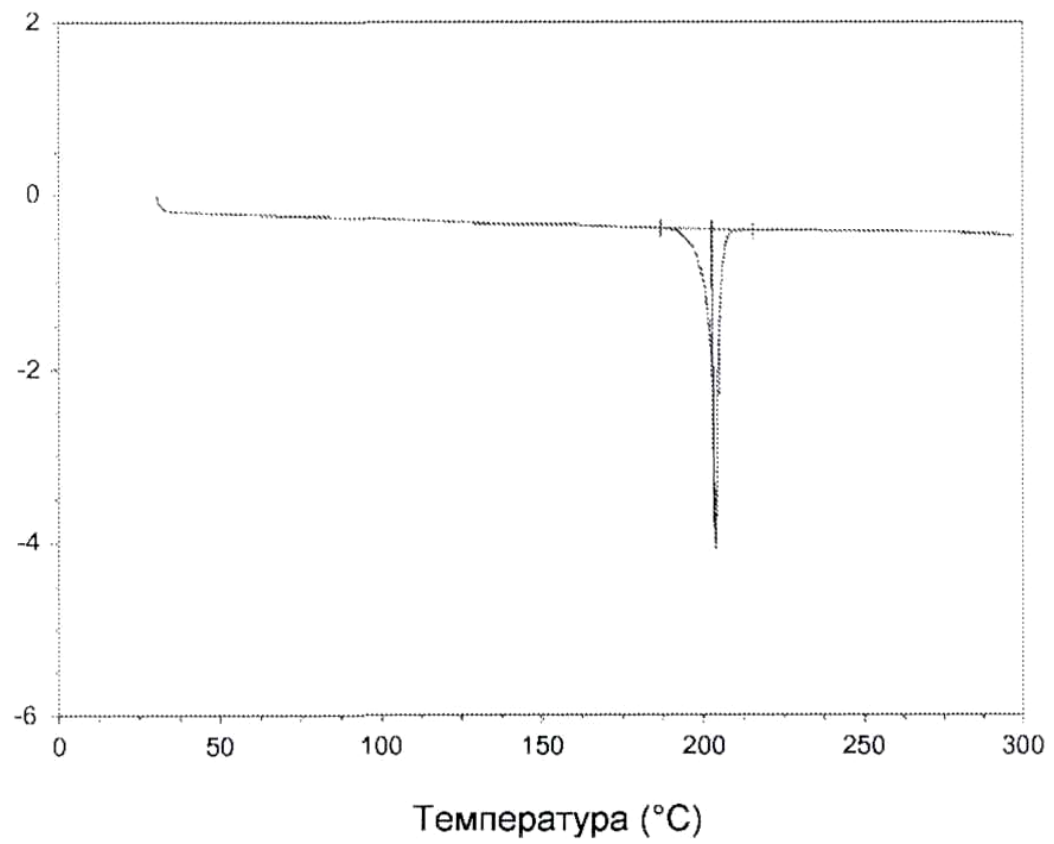


Фіг. 8



Фиг. 9

Тепловий потік (Вт/г)



Фіг. 10

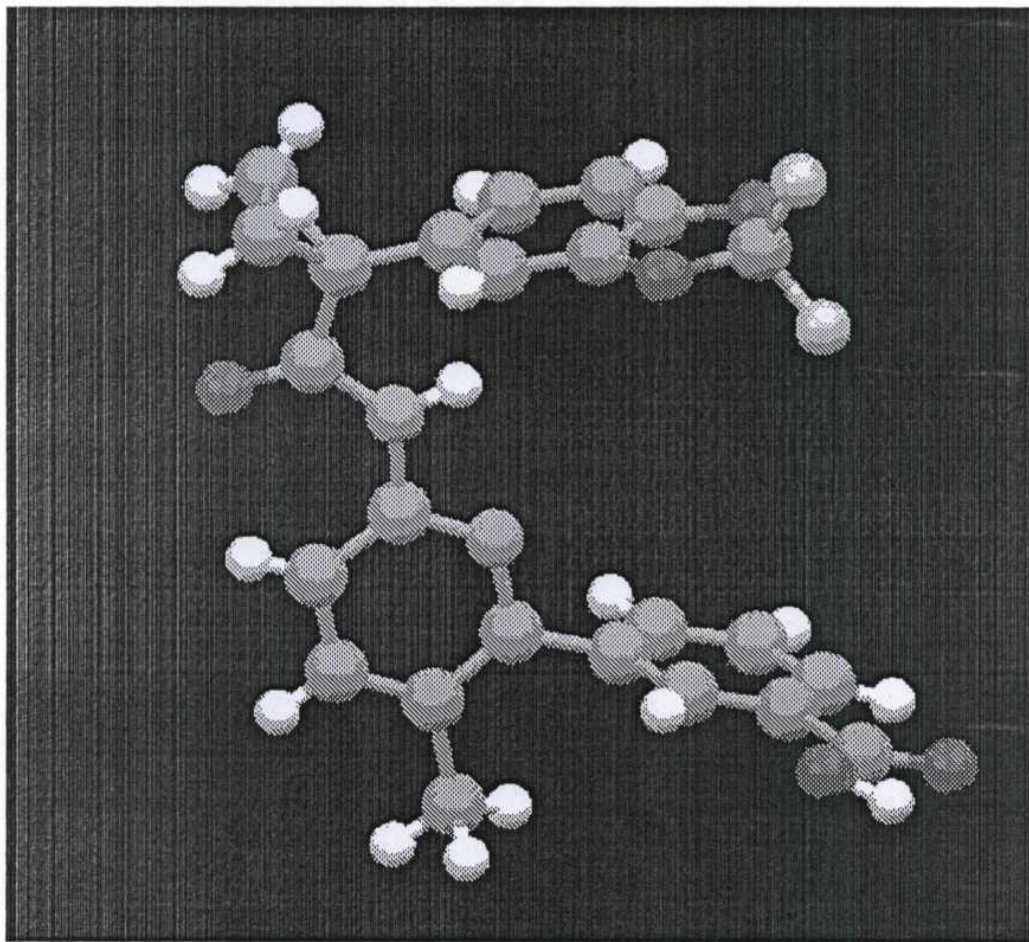


Fig. 11