

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 377 840**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/33** (2006.01)  
**A61K 47/10** (2006.01)  
**A61K 47/32** (2006.01)  
**A61P 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07762162 .1**  
96 Fecha de presentación: **14.05.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2021797**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.02.2009**

54 Título: **Composiciones de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida**

30 Prioridad:  
**12.05.2006 US 799795 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**02.04.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**02.04.2012**

73 Titular/es:  
**VERTEX PHARMACEUTICALS, INC.  
130 WAVERLY STREET  
CAMBRIDGE, MA 02139, US**

72 Inventor/es:  
**YOUNG, Christopher R. y  
ROWE, Charles William**

74 Agente/Representante:  
**de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 377 840 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Composiciones de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida.

**Campo Técnico de la Invención**

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida y métodos relacionados con ellas.

**Antecedentes de la invención**

El CFTR es un canal aniónico mediado por cAMP/ATP que se expresa en una diversidad de tipos de células, con inclusión de células de los epitelios absorbentes y secretores, donde el mismo regula el flujo de aniones a través de la membrana, así como la actividad de otros canales iónicos y proteínas. En las células epiteliales, el funcionamiento normal del CFTR es crítico para el mantenimiento del transporte de electrólitos por todo el cuerpo, con inclusión de los tejidos respiratorio y digestivo. El CFTR está compuesto por aproximadamente 1480 aminoácidos que codifican una proteína constituida por una repetición en tándem de dominios transmembranales, cada uno de los cuales contiene 6 hélices transmembranales y un dominio de fijación nucleotídico. Los dos dominios transmembranales están enlazados por un gran dominio polar, regulador (R) con sitios múltiples de fosforilación que regulan la actividad del canal y el tráfico celular.

El gen codificante de CFTR ha sido identificado y secuenciado (Véase Gregory, R. J. et al. (1990) Nature 347:382-386; Rich, D. P. et al. (1990) Nature 347:358-362), (Riordan, J. R. et al. (1989) Science 245:1066-1073). Un defecto en este gen causa mutaciones en el CFTR que dan como resultado la fibrosis quística ("CF"), la enfermedad genética fatal más común en los humanos. La fibrosis quística afecta aproximadamente a uno de cada 2500 niños pequeños en los Estados Unidos. Dentro de la población general de los Estados Unidos, hasta 10 millones de personas llevan una sola copia del gen defectuoso sin efectos evidentes de la enfermedad. En contraste, los individuos que poseen dos copias del gen asociado con a la CF padecen los efectos debilitantes y fatales de la CF, con inclusión de enfermedad pulmonar crónica.

En los pacientes con fibrosis quística, las mutaciones en el CFTR expresadas endógenamente en los epitelios respiratorios conducen a secreción apical de aniones que causa un desequilibrio en el transporte de iones y fluidos. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a una acumulación intensificada de moco en el pulmón y a las infecciones microbianas concomitantes que causan finalmente la muerte en los pacientes de CF. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes de CF padecen típicamente problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si se deja sin tratar, conduce a la muerte. Adicionalmente, la mayoría de los varones con fibrosis quística son infértiles y la fertilidad es reducida entre las mujeres con fibrosis quística. En contraste con los graves efectos de las dos copias del gen asociado a la CF, los individuos con una sola copia del gen asociado a CF exhiben una resistencia incrementada al cólera y a la deshidratación resultante de la diarrea – lo que explica quizás la frecuencia relativamente alta del gen de CF dentro de la población.

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

La delección del residuo 508 en  $\Delta F508$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente. Esto da como resultado la incapacidad de la proteína mutante para salir del ER, y desplazarse hasta la membrana plasmática. Como resultado, el número de canales presentes en la membrana es mucho menor que el observado en las células que expresan el CFTR de tipo salvaje. Además de un desplazamiento deteriorado, la mutación da como resultado una discriminación de canales defectuosa. En conjunto, el número reducido de canales en la membrana y la discriminación defectuosa conducen a un transporte reducido de aniones a través de los epitelios, que lleva a su vez a un transporte deficiente de iones y fluido. (Quinton, P.M. (1990), FASEB J. 4:2709-2727). Estudios realizados han demostrado, sin embargo, que los números reducidos de  $\Delta F508$ -CFTR en la membrana son funcionales, aunque menos que en el CFTR de tipo salvaje. (Dalemans et al. (1991), Nature Lond. 354: 526-528; Denning et al., supra; Pasyk y Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270: 12347-50). Además de  $\Delta F508$ -CFTR, otras mutaciones causantes de enfermedades en el CFTR que dan como resultado desplazamiento, síntesis y/o discriminación deficiente de canales podrían estar reguladas en sentido creciente o decreciente para alterar la secreción de aniones y modificar el progreso y/o la gravedad de la enfermedad.

Aunque el CFTR transporta una diversidad de moléculas además de aniones, está claro que este papel (el transporte de aniones) representa un elemento en un mecanismo importante de transporte de iones y agua a través del epitelio. Los otros elementos incluyen el canal epitelial de  $\text{Na}^+$ , ENaC, el co-transportador de  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ , la bomba de

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPasa y los canales  $\text{K}^+$  basolaterales de la membrana, que son responsables de la captura de cloruro en la célula.

Estos elementos actúan juntos para realizar el transporte direccional a través del epitelio por su expresión y localización selectivas en el interior de la célula. La absorción de cloruro tiene lugar por la actividad coordinada de ENaC y CFTR presentes en la membrana apical y la bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPasa y los canales  $\text{Cl}^-$  expresados en la superficie basolateral de la célula. El transporte activo secundario de cloruro desde el lado luminal conduce a la acumulación de cloruro intracelular, que puede abandonar luego pasivamente la célula por los canales  $\text{Cl}^-$ , dando como resultado un transporte vectorial. La disposición del co-transportador  $\text{Na}^+ / 2\text{Cl}^- / \text{K}^+$ , la bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPasa y los canales  $\text{K}^+$  basolaterales de la membrana en la superficie basolateral y el CFTR en el lado luminal coordinan la secreción de cloruro por el CFTR en el lado luminal. Dado que el agua no es transportada probablemente nunca en sí misma, su flujo a través de los epitelios depende de gradientes osmóticos transepiteliales minúsculos generados por el flujo masivo de sodio y cloruro.

Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad de CFTR puede ser beneficiosa para otras enfermedades no causadas directamente por mutaciones en el CFTR, tales como enfermedades secretoras y otras enfermedades del plegamiento de las proteínas mediadas por el CFTR. Éstas incluyen enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), enfermedad de ojo seco, y Síndrome de Sjögren. La COPD se caracteriza por una limitación del flujo de aire que es progresiva y no totalmente reversible. La limitación del flujo de aire es debida a hipersecreción de moco, enfisema, y bronquiolitis. Activadores del CFTR mutante o de tipo salvaje ofrecen un tratamiento potencial de la hipersecreción de moco y el aclaramiento mucociliar deteriorado que es común en la COPD. Específicamente, la secreción incrementada de aniones a través del CFTR puede facilitar el transporte de fluidos en el líquido de la superficie de las vías respiratorias para hidratar el moco y lograr una viscosidad optimizada del fluido periciliar. Esto podría conducir a un aclaramiento mucociliar mejorado y una reducción de los síntomas asociados con la COPD. La enfermedad de ojo seco se caracteriza por una disminución en la producción acuosa de lágrimas y perfiles anormales de lípido, proteína y mucina del film de la lágrima. Existen muchas causas de ojo seco, algunas de las cuales incluyen edad, cirugía Lasik del ojo, artritis, medicaciones, quemaduras químico/térmicas, alergias, y enfermedades tales como fibrosis quística y síndrome de Sjögren. La secreción incrementada de aniones por el CFTR podría mejorar el transporte de fluidos desde las células endoteliales de la córnea y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación de la córnea. Esto podría contribuir a aliviar los síntomas asociados con la enfermedad de ojo seco. El síndrome de Sjögren es una enfermedad autoinmune en la cual el sistema inmunitario ataca las glándulas productoras de humedad en todo el cuerpo, con inclusión del ojo, la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y el intestino. Los síntomas incluyen ojo, boca, y vagina secos, así como la enfermedad pulmonar. La enfermedad está asociada también con artritis reumatoide, lupus sistémico, esclerosis sistémica, y polimiositis/dermatomiositis. Se cree que la causa de la enfermedad es el tráfico defectuoso de proteínas, para lo cual existen opciones de tratamiento limitadas. Los moduladores de la actividad del CFTR pueden hidratar los diversos órganos afectados por la enfermedad y contribuir a aliviar los síntomas asociados.

Como se ha expuesto anteriormente, se cree que la delección del residuo 508 en  $\Delta\text{F508}$ -CFTR impide que la proteína naciente se pliegue correctamente, dando como resultado la incapacidad de esta proteína mutante para salir del ER, y desplazarse a la membrana plasmática. Como resultado, están presentes cantidades insuficientes de la proteína madura en la membrana plasmática y el transporte de cloruro dentro de los tejidos epiteliales se reduce significativamente. De hecho, se ha demostrado que este fenómeno celular del procesamiento defectuoso en el ER de los transportadores de ABC por la maquinaria del ER, es la base subyacente no sólo de la enfermedad CF, sino de una extensa gama de otras enfermedades aisladas y hereditarias. Las dos vías por las cuales puede fallar la maquinaria del ER son la pérdida de acoplamiento a la exportación desde el ER de las proteínas que conduce a degradación, o la acumulación en el ER de estas proteínas defectuosas/plegadas erróneamente [Aridor M, *et al.* Nature Med., 5(7), pp 745- 751 (1999); Shastry, B.S., Neurochem. International, 43, pp 1-7 (2003); Rutishauser, J., *et al.*, Swiss Med Wkly, 132, pp 211-222 (2002); Morello, JP *et al.*, TIPS, 21, pp. 466-469 (2000); Bross P., *et al.*, Human Mut., 14, pp. 186-198 (1999)]. Las enfermedades asociadas con la primera clase de fallo del ER son la fibrosis quística (debida a  $\Delta\text{F508}$ -CFTR plegada erróneamente como se ha expuesto arriba), enfisema hereditario (debido a  $\alpha 1$ -antitripsina; variantes no-Piz), hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario Tipo 1, deficiencias en el procesamiento de los lípidos, tales como hipercolesterolemia familiar, quilomiconemia Tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento de lisosomas, tales como enfermedad de las células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis (debida a enzimas de procesamiento de lisosomas), Sandhof/Tay-Sachs (debida a  $\beta$ -hexosaminidasa), Crigler-Najjar Tipo II (debida a la UDP-glucuronil-transferasa siálica), poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, Diabetes mellitus (debida al receptor de insulina), enanismo de Laron (debido al receptor de la hormona del crecimiento), deficiencia en mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario (debido a la hormona preproparatiroidea), y melanoma (debido a tirosinasa). Las enfermedades asociadas con la última clase de fallo del ER son Glicanosis CDG Tipo 1, enfisema hereditario (debido a  $\alpha 1$ -antitripsina (variante PIZ), hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta (debida a procolágeno Tipo I, II, IV), hipofibrinogenemia hereditaria (debida a fibrinógeno), deficiencia en ACT (debida a  $\alpha 1$ -antiquimotripsina), Diabetes insipidus (DI), DI neurofiseal (debida al receptor V2 de la hormona vasopresina), DI nefrogénica (debida a aquaporina II), síndrome de Charcot-Maire-Tooth (debido a la proteína mielina periférica 22), enfermedad de Perlizaeus-Metzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (debida a  $\beta\text{APP}$  y presenilinas), enfermedad de Parkinson, esclerosis amiotrófica lateral, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos

5 neurológicos relacionados con la poliglutamina tales como Huntington, ataxia espinocerebelar Tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentato-rubro-palidoluisiana, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob (debida a un defecto en el procesamiento de las proteínas priónicas), enfermedad de Fabry (debida a la  $\alpha$ -galactosidasa A lisosómica) y el síndrome de Strausler-Scheinker (debido a un defecto en el procesamiento de Prp).

Además de la regulación creciente de la actividad del CFTR, la reducción de la secreción de aniones por los moduladores del CFTR puede ser beneficiosa para el tratamiento de las diarreas secretoras, en las cuales el transporte epitelial de agua se ve incrementado espectacularmente como resultado del transporte de cloruro activado por secretagogos. El mecanismo implica el aumento de cAMP y la estimulación del CFTR.

10 Aunque existen causas numerosas de diarrea, las consecuencias principales de las enfermedades diarreicas, que son resultado de transporte excesivo de cloruro son comunes a todas, e incluyen deshidratación, acidosis, crecimiento deteriorado y muerte.

15 Las diarreas agudas y crónicas representan un problema médico importante en muchas áreas del mundo. La diarrea es a la vez un factor importante en la desnutrición y la causa principal de muerte en los niños de edad inferior a 5 años (5.000.000 fallecimientos/año).

Las diarreas secretoras son también una afección peligrosa en los pacientes del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y de la enfermedad intestinal inflamatoria crónica (IBD). Dieciséis millones de viajeros a los países en desarrollo desde las naciones industrializadas cada año sufren diarrea, variando la gravedad y el número de casos de diarrea dependiendo del país y el área de desplazamiento.

20 La diarrea en los animales de establo y mascotas tales como vacas, cerdos y caballos, ovejas, cabras, gatos y perros, conocida también como diarrea del ganado, es una causa principal de muerte en estos animales. La diarrea puede ser resultado de cualquier transición importante, tal como el destete o movimiento físico, así como en respuesta a una diversidad de infecciones bacterianas o virales, y ocurre generalmente dentro de las primeras horas de la vida del animal.

25 La bacteria más común causante de diarrea es E. coli enterotoxogénico (ETEC) que tiene el antígeno K99 pilus. Causas virales comunes de diarrea incluyen rotavirus y coronavirus. Otros agentes infecciosos incluyen criptosporidium, giardia-lambliya y salmonella, entre otros.

30 Los síntomas de infección por rotavirus incluyen excreción de heces acuosas, deshidratación y debilidad. El coronavirus causa una enfermedad más grave en los animales recién nacidos, y tiene una mayor tasa de mortalidad que la infección de rotavirus. Sin embargo, a menudo un animal joven puede infectarse con más de un virus o con una combinación de microorganismos virales y bacterianos al mismo tiempo. Esto aumenta notablemente la gravedad de la enfermedad.

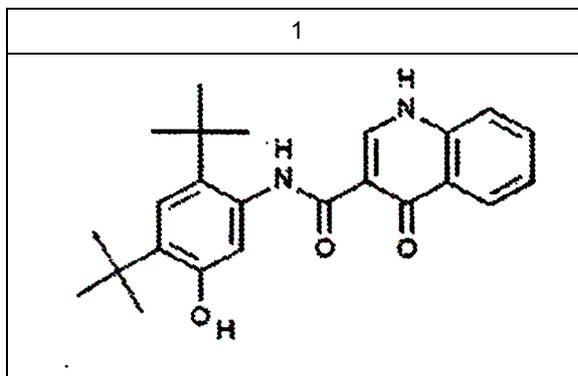
De acuerdo con ello, existe necesidad de composiciones farmacéuticas de moduladores de la actividad del CFTR que puedan utilizarse para modular la actividad del CFTR en la membrana celular de un mamífero.

35 Existe necesidad de métodos de tratamiento de enfermedades medidas por el CFTR que utilicen tales composiciones farmacéuticas.

US-A-2006/0074075 describe numerosos moduladores de los transportadores de la casete de fijación de ATP así como su uso médico; en una larga lista de enfermedades se menciona la fibrosis quística; adicionalmente, el compuesto 43 cae dentro del alcance de las reivindicaciones de la presente solicitud.

40 **Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (en lo sucesivo "Compuesto 1") que tiene la estructura siguiente:



Las composiciones farmacéuticas del Compuesto **1** son útiles para el tratamiento o la disminución de la gravedad de una diversidad de enfermedades mediadas por el CFTR.

### Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** es un patrón de difracción de rayos X en polvo del Compuesto **1**.

5 La **Figura 2** es el espectro  $^1\text{H}$  NMR del Compuesto **1**.

La **Figura 3** es la traza DSC del Compuesto **1**.

### Realización detallada de la invención

De acuerdo con una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- 10 (i) N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (Compuesto **1**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (ii) un PEG líquido adecuado; y
- (iii) opcionalmente, un agente aumentador de la viscosidad adecuado.

15 Como se utiliza en esta memoria, la expresión "PEG líquido adecuado" significa un polímero de polietilenglicol que se encuentra en forma líquida a la temperatura ambiente y es apto para uso en una composición farmacéutica. Tales polietilen-glicoles adecuados son bien conocidos en la técnica; véase, v.g., <http://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current>. PEGs ilustrativos incluyen PEGs de peso molecular bajo tales como PEG200, PEG300, PEG 400, etc. El número que sigue al término "PEG" indica el peso molecular medio de dicho polímero particular. V.g., PEG 400 es un polímero de polietilen-glicol en el cual el peso molecular medio del polímero contenido en él es aproximadamente 400.

20 En una realización, dicho PEG líquido adecuado tiene un peso molecular medio comprendido entre aproximadamente 200 y aproximadamente 600. En otra realización, dicho PEG líquido adecuado es PEG 400 (por ejemplo un PEG que tiene un peso molecular comprendido entre aproximadamente 380 y aproximadamente 420 g/mol).

25 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el Compuesto **1** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; propilenglicol; y, opcionalmente, un agente aumentador de la viscosidad adecuado.

30 En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un agente aumentador de la viscosidad adecuado. En una realización, el agente aumentador de la viscosidad adecuado es un polímero soluble en PEG. Tales agentes aumentadores de la viscosidad adecuados son bien conocidos en la técnica, v.g., polivinil-pirrolidona (en lo sucesivo "PVP"). La PVP se caracteriza por su viscosidad en solución acuosa, con relación a la del agua, expresada como un valor K (denotado como un sufijo, v.g., PVP K20), comprendido en el intervalo que va desde aproximadamente 10 a aproximadamente 120. Véase, v.g., <http://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current>. Realizaciones de PVP útiles en la presente invención tienen un valor K de aproximadamente 90 o menos. Una realización ilustrativa de este tipo es PVP K30.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- 35 (i) N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (Compuesto **1**) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (ii) PEG 400; y
- (iii) PVP K30.

40 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida está presente en una cantidad que va desde aproximadamente 0,01% p/p a aproximadamente 6,5% p/p.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha PEG está presente en una cantidad que va desde aproximadamente 87,5% p/p a aproximadamente 99,99% p/p.

45 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha PVP K30 está presente en una cantidad comprendida entre 0% p/p y aproximadamente 6% p/p.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 97,8 a aproximadamente 98,0% p/p, por ejemplo, aproximadamente 97,88% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,9 a aproximadamente 2,1% p/p, por ejemplo, aproxi-

madamente 2,0% p/p) y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 0,10 a aproximadamente 0,15% p/p, por ejemplo, aproximadamente 0,13% p/p).

5 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 97,5 a aproximadamente 98,0% p/p, por ejemplo, aproximadamente 97,75% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p) y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,3% p/p, por ejemplo, aproximadamente 0,25% p/p).

10 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 97,2 a aproximadamente 97,8% p/p, por ejemplo, aproximadamente 97,50% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p) y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 0,4 a aproximadamente 0,6% p/p, por ejemplo, aproximadamente 0,50% p/p).

15 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 96,5 a aproximadamente 97,5% p/p, por ejemplo, aproximadamente 97,0% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p) y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 0,9 a aproximadamente 1,1% p/p, por ejemplo, aproximadamente 1,0% p/p).

20 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 96,60 a aproximadamente 96,65% p/p, por ejemplo, aproximadamente 96,63% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p) y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 1,30 a aproximadamente 1,45% p/p, por ejemplo, aproximadamente 1,38% p/p).

25 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 96,0 a aproximadamente 96,3% p/p, por ejemplo, aproximadamente 96,12% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,0% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p), y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 1,88% p/p).

30 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 95,5 a aproximadamente 96,0% p/p, por ejemplo, aproximadamente 95,75% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p), y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 2,0 a aproximadamente 2,5% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,25% p/p).

35 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 95 a aproximadamente 96% p/p, por ejemplo, aproximadamente 95,5% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p), y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 2,3 a aproximadamente 2,7% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,50% p/p).

40 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 94,5 a aproximadamente 94,8% p/p, por ejemplo, aproximadamente 94,63% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p), y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,0% p/p, por ejemplo, aproximadamente 3,38% p/p).

45 En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (v.g., desde aproximadamente 93,5 a aproximadamente 94,5% p/p, por ejemplo, aproximadamente 94,0% p/p), PVP K30 (v.g., desde aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,2% p/p, por ejemplo, aproximadamente 2,0% p/p), y Compuesto 1 (v.g., desde aproximadamente 3,7 a aproximadamente 4,3% p/p, por ejemplo, aproximadamente 4,0% p/p).

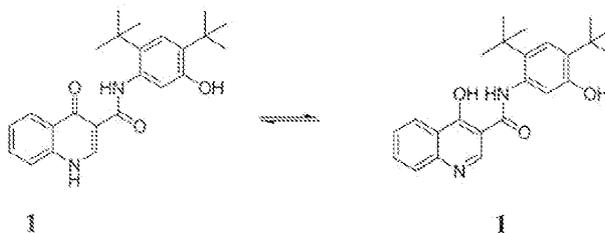
En otra realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

- 50 (i) N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (Compuesto 1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (ii) un lípido de PEG adecuado; y
- (iii) PVP.

En algunas realizaciones, el lípido de PEG tiene un peso molecular medio de aproximadamente 400 a aproximadamente 600, por ejemplo, PEG 400. En algunas realizaciones, el PVP es PVP K30.

De acuerdo con otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto 1. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" es aquella cantidad eficaz para tratamiento o alivio de la gravedad de cualquiera de las enfermedades, afecciones, o trastornos citados más adelante.

5 A no ser que se indique otra cosa, debe entenderse también que las estructuras representadas en esta memoria incluyen todas las formas isómeras (v.g. enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros (Z) y (E) del enlace doble, e isómeros (Z) y (E) conformacionales. Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mixtu-  
 10 ras enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. A no ser que se indique otra cosa, todas las formas tautómeras de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención. V.g., el Compuesto 1 puede existir como los tautóme-  
 ros:



15 A no ser que se indique otra cosa, debe entenderse también que las estructuras representadas en esta memoria incluyen compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (1), en los cuales uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados por deuterio o tritio, o uno o más átomos de carbono están reemplazados por un carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ , están dentro del alcance de esta invención. Tales compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas, sondas en ensayos biológicos, o compuestos con perfil terapéutico mejorado.

20 *Usos, Formulación y Administración*

*Composiciones farmacéuticamente aceptables*

En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables, en las cuales estas composiciones comprenden un portador, adyuvante o vehículo adicional farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, estas composiciones comprenden opcionalmente además uno o más agentes terapéuticos  
 25 adicionales.

Se apreciará también que algunos de los compuestos de la presente invención pueden existir en forma libre para tratamiento, o en caso apropiado, como un derivado farmacéuticamente aceptable o un profármaco del mismo. De acuerdo con la presente invención, un derivado o profármaco farmacéuticamente aceptable incluye sales farmacéu-  
 30 ticamente aceptables, ésteres, sales de dichos ésteres, o cualquier otro aducto o derivado que, después de administración a un paciente que se encuentra en necesidad de ello, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto como se describe por lo demás en esta memoria, o un metabolito o residuo del mismo.

Como se utiliza en esta memoria, el término "sal farmacéuticamente aceptable" hace referencia a aquellas sales que son, dentro del alcance de un criterio médico razonable, adecuadas para uso en contacto con los tejidos de huma-  
 35 nos y animales inferiores sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica, etc., y son compatibles con una ratio razonable beneficio/riesgo. Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal no tóxica o sal de un éster de un compuesto de esta invención que, después de administración a un receptor, es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, un compuesto de esta invención o un metabolito activo como inhibidor o residuo del mismo.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos adecuados. Ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables y  
 40 no tóxicas son sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o por el uso de otros métodos utilizados en la técnica tales como intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales  
 45 adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, canforato, canfosulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, y valerato.  
 50 Sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino, metal alcalinotérreo, amonio y  $\text{N}^+$  ( $\text{C}_{1-4}$  alquilo)<sub>4</sub>. Esta invención contempla también la cuaternización de cualesquiera grupos nitrogenados básicos de los

Esta invención contempla también la cuaternización de cualesquiera grupos nitrogenados básicos de los compuestos descritos en esta memoria. Por dicha cuaternización pueden obtenerse productos solubles o suministrables en agua o aceite. Sales representativas de metal alcalino o alcalinotérreo incluyen las de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, y análogas. Sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, en caso apropiado, los cationes no tóxicos amonio, amonio cuaternario, y amina formados utilizando contraiones tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquilo inferior-sulfonato y aril-sulfonato.

En una realización, la presente invención proporciona un método de tratamiento de una enfermedad, afección, o trastorno mediado(a) por CFTR en un paciente que comprende el paso de administrar a un paciente una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención.

Una "enfermedad mediada por CFTR", como se utiliza en esta memoria, es una enfermedad seleccionada de fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia en proteína C, angioedema hereditario Tipo I, deficiencias en el procesamiento de los lípidos, tales como hipercolesterolemia familiar, quilomiconemia Tipo I, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento de lisosomas, tales como la enfermedad de las células I/Pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar Tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, Diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia en mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosis CDG Tipo I, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia en ACT, Diabetes insipidus (DI), DI neurohipofiseal, DI nefrogénica, síndrome Charcot-Marie-Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis amiotrófica lateral, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos poliglutamínicos tales como Huntington, ataxia espino-cerebelar Tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentato-rubro-palidoluisiana, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, la enfermedad de Fabry, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, COPD, enfermedad de ojo seco, y enfermedad de Sjögren.

De acuerdo con una realización alternativa, la presente invención proporciona un método de tratamiento de la fibrosis quística que comprende el paso de administrar a dicho mamífero una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son útiles para el tratamiento o alivio de la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que exhiben actividad residual de CFTR en la membrana apical de los epitelios respiratorios y no respiratorios. La presencia de actividad residual de CFTR en la superficie epitelial puede detectarse fácilmente utilizando métodos conocidos en la técnica, v.g., técnicas estándar electrofisiológicas, bioquímicas, o histoquímicas. Tales métodos identifican la actividad de CFTR utilizando técnicas electrofisiológicas *in vivo* o *ex vivo*, medida de las concentraciones de Cl<sup>-</sup> en el sudor o la saliva, o técnicas bioquímicas o histoquímicas *ex vivo* para monitorizar la densidad de la superficie celular. Utilizando tales métodos, puede detectarse fácilmente la actividad residual de CFTR en pacientes heterocigóticos u homocigóticos para una diversidad de mutaciones diferentes, que incluyen pacientes homocigóticos o heterocigóticos para la mutación más común,  $\Delta F508$ .

En una realización, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención son útiles para tratamiento o alivio de la gravedad de la fibrosis quística en pacientes con ciertos genotipos que exhiben actividad residual de CFTR, v.g., mutaciones de clase III (regulación o discriminación deteriorada), mutaciones de clase IV (conductancia alterada), o mutaciones de Clase V (síntesis reducida) (Lee R. Choo-Kang, Pamela L., Zeitlin, *Type I, II, III, IV, y V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy*; Current Opinion in Pulmonary Medicine 6:521 - 529, 2000). Otros genotipos de pacientes que exhiben actividad residual de CFTR incluyen pacientes homocigóticos para una de estas clases o heterocigóticos con cualquier otra clase de mutaciones, con inclusión de mutaciones de clase I, mutaciones de clase II, o una mutación que carece de clasificación.

En una realización, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención son útiles para tratamiento o alivio de la gravedad de la fibrosis quística en pacientes dentro de ciertos fenotipos clínicos, v.g. un fenotipo clínico moderado a leve que está correlacionado típicamente con la cantidad de actividad residual de CFTR en la membrana apical de los epitelios. Tales fenotipos incluyen pacientes que exhiben suficiencia pancreática o pacientes diagnosticados con pancreatitis idiopática y ausencia bilateral congénita del vas deferens, o enfermedad pulmonar leve.

La cantidad exacta de Compuesto 1 requerida en las composiciones farmacéuticas de la presente invención variará de un individuo a otro, dependiendo de la especie, edad, y estado general del individuo, la gravedad de la infección, el agente particular, su modo de administración, etcétera. Los compuestos de la invención se formulan preferiblemente en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La expresión "forma de dosificación unitaria" como se utiliza en esta memoria, hace referencia a una unidad físicamente discreta de agente apropiada para el paciente a tratar. Se comprenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención será decidido por el médico que tenga a su cargo el tratamiento dentro del alcance de un criterio médico razonable. El nivel específico de dosis eficaz para cualquier paciente u organismo particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno de que se trate y la gravedad del trastorno, la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corpo-

5 ral, el estado general de salud, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la ruta de administración, y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o coincidencia con el compuesto específico empleado, y factores análogos bien conocidos en las técnicas médicas. El término "paciente", como se utiliza en esta memoria, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y muy preferiblemente un humano.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención pueden administrarse por vía oral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg y con preferencia desde aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del individuo por día, una o más veces al día, a fin de obtener el efecto terapéutico deseado.

10 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden contener adicionalmente diluyentes inertes utilizados comúnmente en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de algodón, aceite de cacahuete, de maíz, de germen de trigo, de oliva, de ricino, y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, y perfumantes.

20 Se apreciará también que las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden emplearse en terapias de combinación, es decir, que las mismas pueden administrarse concurrentemente con, antes de, o subsiguientemente a, uno o más agentes terapéuticos deseados o procedimientos médicos distintos. La combinación particular de terapias (agentes terapéuticos o procedimientos) a emplear en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de los agentes terapéuticos y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico que se desee alcanzar. Se apreciará también que las terapias empleadas pueden alcanzar un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, una composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse simultáneamente con otro agente utilizado para tratar el mismo trastorno), o pueden alcanzar efectos diferentes (v.g., el control de cualesquiera efectos adversos). Como se utiliza en esta memoria, los agentes terapéuticos adicionales administrados normalmente para tratar o prevenir una enfermedad o afección particular, se conocen como "apropiados para la enfermedad o afección de que se trate".

25 En una realización, el agente adicional se selecciona de un agente mucolítico, broncodilatador, un antibiótico, un agente anti-infección, un agente anti-inflamatorio, un modulador del CFTR distinto de un compuesto de la presente invención, o un agente nutricional.

30 La cantidad del agente terapéutico adicional presente en las composiciones de esta invención no será mayor que la cantidad que se administraría normalmente en una composición que comprenda dicho agente terapéutico como el único agente activo. Preferiblemente, la cantidad del agente terapéutico adicional en las composiciones descritas en esta memoria estará comprendida entre aproximadamente 50% y 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprenda dicho agente como el único agente terapéuticamente activo.

35 Con objeto de que pueda comprenderse más plenamente la invención descrita en esta memoria, se presentan los ejemplos siguientes. Debe entenderse que estos ejemplos se dan únicamente para propósitos ilustrativos y que no deben interpretarse en modo alguno como limitantes de esta invención.

## 40 Ejemplos

### **Métodos y Materiales**

#### Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC)

45 Los datos DSC se recogieron en un instrumento TA Q1000 equipado con un tomamuestras automático de 50 posiciones. El estándar de calibración de energía y temperatura era indio. Las muestras se calentaron a una tasa de 10°C/min entre 20 y 350°C. Se mantuvo sobre la muestra una purga de nitrógeno a razón de 30 ml/min.

Se utilizaron entre 0,5 y 4 mg de muestra, y todas las muestras se ejecutaron en una bandeja de aluminio Pinhole.

#### NMR

Todos los espectros se recogieron en un instrumento Bruker de 400 MHz equipado con un tomamuestras automático. Las muestras se prepararon en  $d_6$ -DMSO, a no ser que se indique otra cosa.

#### 50 XRPD (Difracción de Rayos X en Polvo)

##### Difractómetro Bruker AXS C2 GADDS

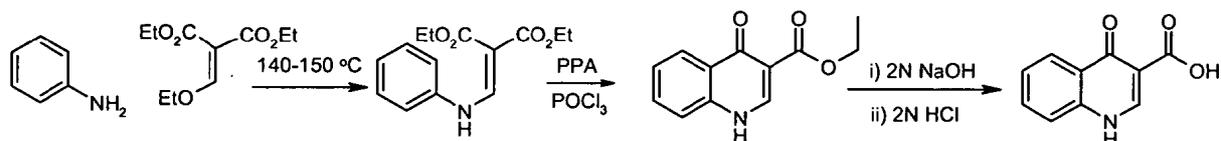
Los patrones de difracción de rayos X en polvo para las muestras se adquirieron en un difractómetro Bruker AXS C2 GADDS utilizando la radiación  $\text{CuK}\alpha$  (40 kV, 40 mA), etapa automática XYZ, microscopio láser-vídeo para posicio-

namiento automático de las muestras y un detector de área HiStar bidimensional. La óptica de rayos X está constituida por un espejo multicapa Göbel simple acoplado con un colimador Pinhole de 0,3 mm.

La divergencia del haz, es decir el tamaño efectivo del haz de rayos X sobre la muestra, era aproximadamente 4 mm. Se empleó un modo de barrido continuo  $\theta$ - $\theta$  con una la distancia de la muestra al detector de 20 cm que da un intervalo  $2\theta$  efectivo de 3,2-29,8°. El tiempo típico de exposición de una muestra sería 120 s.

Las muestras ejecutadas en las condiciones del ambiente se prepararon como especímenes aplastados planos utilizando el polvo tal como se recibió sin molienda alguna. Se prensaron ligeramente aprox. 1-2 mg de la muestra sobre un portaobjetos de vidrio para obtener una superficie plana. Las muestras ejecutadas en condiciones distintas del ambiente se montaron sobre una pastilla de silicio con un compuesto térmicamente conductor. La muestra se calentó luego a la temperatura apropiada a *aprox.* 20°C/minuto y se mantuvo posteriormente en condiciones isotérmicas durante *aprox.* 1 minuto antes de iniciar la recogida de los datos.

#### Síntesis de N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (Compuesto 1):



#### Éster dietílico del ácido 2-fenilaminometileno-malónico

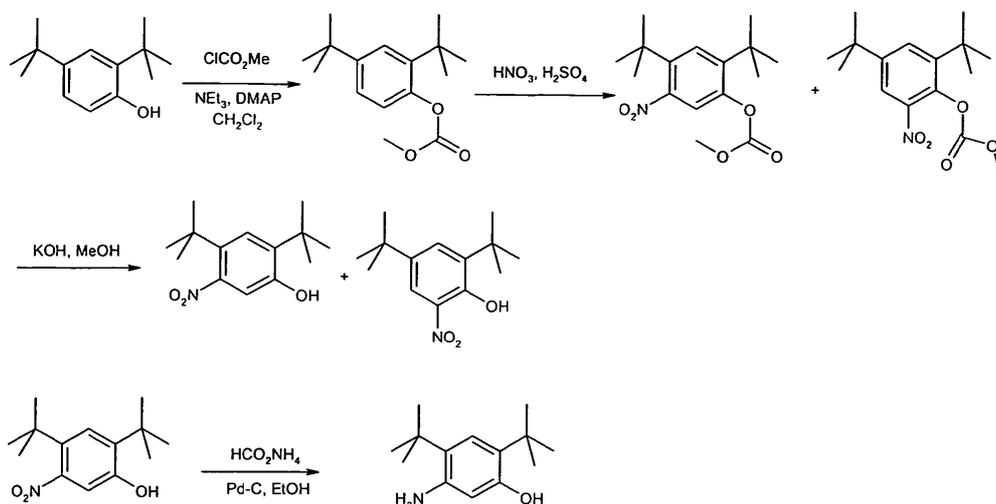
Una mezcla de anilina (25,6 g, 0,275 moles) y 2-(etoximetileno)malonato de dietilo (62,4 g, 0,288 moles) se calentó a 140-150°C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a la temperatura ambiente y se secó a presión reducida para proporcionar el éster dietílico del ácido 2-fenilaminometileno-malónico como un sólido, que se utilizó en el paso siguiente sin purificación ulterior.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11,00 (d, 1H), 8,54 (d,  $J$  13,6 Hz, 1H), 7,36-7,39 (m, 2H), 7,13-7,17 (m, 3H), 4,17-4,33 (m, 4H), 1,18-1,40 (m, 6H).

#### Éster etílico del ácido 4-hidroxiquinolina-3-carboxílico

Un matraz de 1 litro con 3 bocas, provisto de agitador mecánico se cargó con éster dietílico del ácido 2-fenilaminometileno-malónico (26,3 g, 0,100 moles), ácido polifosfórico (270 g) y cloruro de fosforilo (750 g). La mezcla se calentó a 70°C y se agitó durante 4 horas. La mezcla se enfrió a la temperatura ambiente y se filtró. El residuo se trató con solución acuosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , se filtró, se lavó con agua y se secó. Se obtuvo el éster etílico del ácido 4-hidroxiquinolina-3-carboxílico como un sólido de color pardo claro (15,2 g, 70%). El producto bruto se utilizó en el paso siguiente sin purificación ulterior.

#### Ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico

Se suspendió éster etílico del ácido 4-hidroxiquinolina-3-carboxílico (15 g, 69 mmoles) en solución de hidróxido de sodio (2N, 150 ml) y se agitó durante 2 horas a reflujo. Después de enfriar, se filtró la mezcla, y el filtrado se acidificó a pH 4 con HCl 2 N. El precipitado resultante se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó a vacío para dar el ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico como un sólido pardo claro (10,5 g, 92 %).  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  15,34 (s, 1H), 13,42 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,28 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,81 (d,  $J$  = 8,4 Hz, 1H), 7,60 (m, 1H).



**Éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-fenílico de ácido carbónico**

Se añadió gota a gota cloroformiato de metilo (58 ml, 750 mmoles) a una solución de 2,4-di-*terc*-butil-fenol (103,2 g, 500 mmoles), Et<sub>3</sub>N (139 ml, 1000 mmoles) y DMAP (3,05 g, 25 mmoles) en diclorometano (400 ml) enfriado en un baño de hielo-agua a 0°C. La mezcla se dejó calentar a la temperatura ambiente mientras se agitaba durante una noche, y se filtró luego a través de gel de sílice (aprox. 1 l) utilizando 10% acetato de etilo-hexanos (~ 4 l) como el eluyente. Los filtrados combinados se concentraron para dar el éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-fenílico de ácido carbónico como un aceite amarillo (132 g, cuantitativo). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7,35 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, J = 8,5, 2,4 Hz, 1H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,29 (s, 9H).

**Éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenílico de ácido carbónico y éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenílico de ácido carbónico**

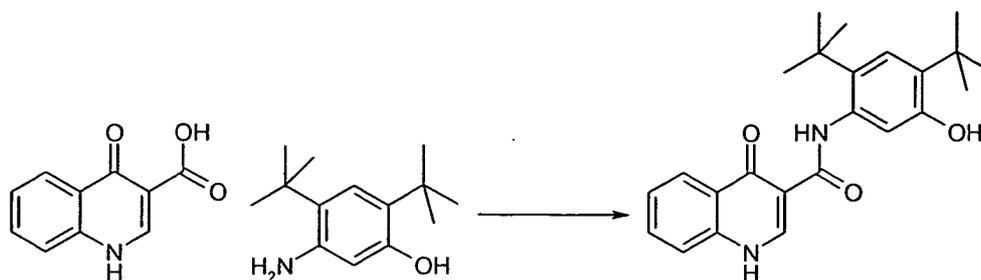
A una mezcla en agitación de éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-fenílico de ácido carbónico (4,76 g, 180 mmoles) en ácido sulfúrico concentrado (2 ml), enfriada en un baño de hielo, se añadió una mezcla enfriada de ácido sulfúrico (2 ml) y ácido nítrico (2 ml). La adición se realizó lentamente a fin de que la temperatura de la reacción no excediera de 50°C. La reacción se mantuvo en agitación durante 2 horas mientras se calentaba a la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se añadió luego a una mezcla de hielo-agua y se extrajo en éter dietílico. La capa etérea se secó (MgSO<sub>4</sub>), se concentró y se purificó por cromatografía en columna (0-10% acetato de etilo-hexanos) para dar una mezcla de éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenílico de ácido carbónico y éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenílico de ácido carbónico como un sólido amarillo claro (4,28 g), que se utilizó directamente en el paso siguiente.

**2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenol y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenol**

La mezcla de éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenílico de ácido carbónico y éster metílico del éster 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenílico de ácido carbónico (4,2 g, 14,0 mmoles) se disolvió en MeOH (65 ml) antes de añadir KOH (2,0 g, 36 mmoles). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 horas. Se acidificó luego la mezcla de reacción (pH 2-3) por adición de HCl concentrado y se repartió entre agua y éter dietílico. La capa de éter se secó (MgSO<sub>4</sub>), se concentró y se purificó por cromatografía en columna (0-5% acetato de etilo-hexanos) para proporcionar 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenol (1,31 g, 29% en dos pasos) y 2,4-di-*terc*-butil-6-nitro-fenol. 2,4-Di-*terc*-butil-5-nitro-fenol: <sup>1</sup>H NMR. (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10,14 (s, 1H, OH), 7,34 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,30 (s, 9H). 2,4-Di-*terc*-butil-6-nitro-fenol: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 11,48 (s, 1H), 7,98 (d, J = 2,5 Hz), 7,66 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,34 (s, 9H).

**5-Amino-2,4-di-*terc*-butil-fenol**

A una solución de 2,4-di-*terc*-butil-5-nitro-fenol (1,86 g, 7,40 mmoles) y formiato de amonio (1,86 g) mantenida a reflujo en etanol (75 ml) se añadió Pd al 5% en peso sobre carbono activado (900 mg). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 2 horas, se enfrió a la temperatura ambiente y se filtró a través de Celita. La Celita se lavó con metanol y los filtrados combinados se concentraron para dar 5-amino-2,4-di-*terc*-butil-fenol como un sólido gris (1,66 g, cuantitativo). <sup>1</sup>H NMR. (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8,64 (s, 1H, OH), 6,84 (s, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,39 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 1,27 (m, 18H); HPLC tiempo de retención 2,72 min), 10-99 % CH<sub>3</sub>CN, 5 min. ejecución; ESI-MS 222,4 m/z [M+H]<sup>+</sup>.

**N-(5-hidroxi-2,4-di-*terc*-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida**

A una suspensión de ácido 4-oxo-1,4-dihidroquinolin-3-carboxílico (35,5 g, 188 mmoles) y HBTU (85,7 g, 226 mmoles) en DMF (280 ml) se añadió Et<sub>3</sub>N (63,0 ml, 451 mmoles) a la temperatura ambiente. La mezcla se volvió homogénea y se dejó en agitación durante 10 min antes de añadir 5-amino-2,4-di-*terc*-butil-fenol (50,0 g, 226 mmoles) en pequeñas porciones. La mezcla se dejó en agitación durante una noche a la temperatura ambiente. La mezcla se volvió heterogénea durante el curso de la reacción. Después que se hubo consumido la totalidad del ácido (análisis por LC-MS, MH<sup>+</sup> 190, 1,71 min), se eliminó el disolvente a vacío. Se añadió EtOH al material sólido anaranjado para producir una suspensión. La mezcla se agitó en un evaporador rotativo (temperatura del baño 65°C) durante 15 min sin someter el sistema a vacío. La mezcla se filtró y el sólido recogido se lavó con hexanos para proporcionar un sólido blanco que era el alcoholato con EtOH. Se añadió Et<sub>2</sub>O al material obtenido arriba hasta que se formó una

suspensión. La mezcla se agitó en un evaporador rotativo (temperatura del baño 25°C) durante 15 min sin someter el sistema a vacío. Se filtró la mezcla y se recogió el sólido. Este procedimiento se realizó un total de 5 veces. El sólido obtenido después de la quinta precipitación se sometió a vacío durante una noche para proporcionar 8-N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida como un sólido blanco pulverulento (38 g, 52%).

- 5 HPLC tiempo de retención 3,45 min, 10-99% CH<sub>3</sub>CN, 5 min ejecución; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ12,88 (s, 1H), 11,83 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,33 (dd, J = 8,2, 1,0 Hz, 1H), 7,83-7,79 (m, 1H), 7,76 (d, J = 7,7Hz, 1H), 7,54-7,50 (m, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 1,38 (s, 9H), 1,37 (s, 9H); ESI-MS 393,3 m/z [M+H]<sup>+</sup>.

A continuación se exponen los datos de caracterización para el Compuesto 1:

Comp. No.	LC-MS M+1	LC-RT Min
1	393,2	3,71

- 10 El espectro XRPD del Compuesto 1 se muestra en **FIG. 1**.

Los datos <sup>1</sup>H NMR para el Compuesto 1 se muestran en **FIG. 2**.

La traza DSC del Compuesto 1 se muestra en **FIG. 3**.

### Preparación de las Composiciones Farmacéuticas.

#### Materiales:

- 15
- Un frasco de vidrio para preparación de la formulación (de 250 cc, vidrio ámbar, con tapa revestida de Teflón)
  - Frasco de vidrio para la muestra de la confirmación de la dosis (de 30 cc, vidrio ámbar, con tapa revestida de Teflón)
  - Placa de agitación con sonda de temperatura (debe tenerse la seguridad de que la sonda se ha limpiado)
  - Varilla de agitación magnética nueva
- 20
- Espátulas para dosificar el excipiente y el agente activo.

**Paso 1:** A un frasco de vidrio ámbar de 250 cc se añade la varilla de agitación y se registra el peso de tara del frasco, la varilla de agitación, la etiqueta y el tapón. Se tara el frasco con la etiqueta y la varilla de agitación.

- 25
- Paso 2:** Se dosifica la cantidad objetivo de PEG 400 en el frasco y se pesa exactamente. Se coloca el frasco sobre la placa de agitación y se agita para formar un pequeño vórtice en la superficie del líquido (~ 300-500 rpm o la velocidad necesaria). Se inserta la sonda de temperatura limpia en el líquido hasta una profundidad de ~ 1 cm y se eleva el punto de ajuste del calentador a 40°C. Se tapa la boca del frasco con papel metalizado. Se deja que el PEG 400 se estabilice a 40 ± 5°C.

- 30
- Paso 3:** Se dosifica la cantidad requerida de PVP K30 y se añade al PEG 400 mantenido en agitación. Se añade el PVP en una corriente lenta (durante ~ 2-3 minutos) y se deja que las partículas se dispersen. Si las partículas se aglomeran, la disolución requerirá más tiempo. Se cubre la boca del frasco con papel metalizado y se continúa agitando la mezcla a 40 ± 5°C. La mezcla debería muestrearse a los 10 minutos utilizando una pequeña pipeta de transferencia para determinar si se ha disuelto por completo la PVP. La solución en agitación debería examinarse también en cuanto a la presencia de aglomerados grandes no disueltos. Si la solución es clara, se procede al paso siguiente. Si queda polímero sin disolver, se continúa la agitación. Se comprueba en cuanto a disolución cada 10 minutos, con un tiempo máximo de agitación de 30 minutos en total. Cuando se observa la disolución completa, se
- 35
- procede al paso siguiente. Si no se observa disolución completa dentro de 30 minutos después de la disolución de la PVP, se termina la preparación, se desecha el material, y se inicia la preparación desde el principio.

- 40
- Paso 4:** Se dosifica la cantidad requerida de Compuesto 1 y se añade a la solución de PEG/PVP agitada en una corriente lenta. Se tapa la boca del frasco con papel metalizado y se continúa agitando la mezcla a 40 ± 5°C. La mezcla debe muestrearse después de 30 minutos utilizando una pequeña pipeta de transferencia para determinar si se ha disuelto por completo el Compuesto 1. Si la solución es clara después de 30 minutos, se pasa al paso siguiente. Si queda Compuesto 1 sin disolver, se continúa la agitación. Se comprueba la disolución cada 30 minutos con un tiempo máximo de agitación de 300 minutos (5 horas) después de la adición del Compuesto 1. Si no se observa disolución completa en el transcurso de 300 minutos (5 horas), después de la adición del Compuesto 1, se termina la
- 45
- preparación, se desecha el material, y se inicia la preparación desde el principio.

## ES 2 377 840 T3

Una vez disuelto por completo el Compuesto 1, se retira de la placa de agitación y se tapa el frasco. La formulación debe mantenerse a temperatura ambiente hasta la dosificación, pero tiene que dosificarse dentro de las 24 horas de su preparación. Si se observa precipitación de VX-770, no se dosifica la solución.

Utilizando el método anterior, se prepararon las 10 composiciones farmacéuticas siguientes indicadas en la Tabla A:

5

**Tabla A**

<b>Composición #</b>	<b>% PEG 400 p/p</b>	<b>% PVP K30 p/p</b>	<b>% Comp. 1 p/p</b>	<b>Cantidad de Comp. 1 por dosis de 20 g (mg)</b>
1	97,875	2,0	0,125	25
2	97,750	2,0	0,250	50
3	97,500	20	0,500	100
4	97,000	2,0	1,000	200
5	96,625	2,0	1,375	275
6	96,125	2,0	1,375	375
7	95,750	2,0	2,25	450
8	95,500	2,0	2,500	500
9	94,625	2,0	3,375	675
10	94,000	2,0	4,000	800

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Una composición farmacéutica que comprende
- (i) N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;
- 5 (ii) un PEG (polímero de polietilenglicol) líquido que tiene un peso molecular medio comprendido entre aproximadamente 200 y aproximadamente 600; y
- (iii) PVP.
- 2.- La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual dicha PVP tiene un valor K de aproximadamente 30 o menos.
- 10 3.- La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2, en la cual dicha PVP tiene un valor K de 30.
- 4.- La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual dicho PEG líquido adecuado tiene un peso molecular medio de aproximadamente 400.
- 5.- La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende:
- (iv) N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida;
- 15 (v) PEG 400; y
- (vi) PVP K30.
- 6.- La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la cual dicha N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 0,01% p/p y aproximadamente 6,5% p/p.
- 20 7.- La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la cual dicho PEG está presente en una cantidad comprendida entre aproximadamente 87,5% p/p y aproximadamente 99,99% p/p.
- 8.- La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la cual dicha PVP está presente en una cantidad comprendida entre 0% p/p y aproximadamente 6% p/p.
- 25 9.- La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la cual dicha composición comprende PEG 400 (97,88% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (0,13% p/p),
- o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (97,75% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (0,25% p/p),
- 30 o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (97,5% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (0,5% p/p),
- o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (97,0% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (1,0% p/p),
- o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (96,63% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (1,38% p/p),
- 35 o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (96,13% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (1,88% p/p),
- o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (95,75% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (2,25% p/p),
- 40 o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (95,5% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (2,5% p/p),
- o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (94,63% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (3,38% p/p),
- o en la cual dicha composición comprende PEG 400 (94,0% p/p), PVP K30 (2,0% p/p), y N-(5-hidroxi-2,4-diterc-butil-fenil)-4-oxo-1H-quinolina-3-carboxamida (4,0% p/p).

10.- Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para uso en el tratamiento de una enfermedad mediada por CFTR en un paciente.

5 11.- La composición de acuerdo con la reivindicación 10, en la cual dicha enfermedad se selecciona de fibrosis quística, enfisema hereditario, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, tales como deficiencia en proteína C, angioedema hereditario Tipo I, deficiencias en el procesamiento de los lípidos, tales como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia Tipo I, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento de lisosomas, tales como la enfermedad de las células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Cri-  
10 gler-Najjar Tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, Diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia en mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glicanosis CDG Tipo I, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia en ACT, Diabetes insipidus (DI), DI neurohipofiseal, DI nefro-  
15 génica, síndrome Charcot-Marie-Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis amiotrófica lateral, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos poliglutamínicos tales como Huntington, ataxia espinocerebelar Tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia dentato-rubro-palidoluisiana, y distrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad hereditaria de Creutzfeldt-Jakob, la enfermedad de Fabry, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, COPD, enfermedad de ojo seco, y enfermedad de Sjögren.

12.- La composición de acuerdo con la reivindicación 11, en la cual dicha enfermedad es fibrosis quística.

20 13.- La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en la cual dicha composición farmacéutica se administra a un paciente que se encuentra en necesidad de ello una vez al día.



Fig. 3 Traza DSC del Compuesto 1

