

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 390 804**

51 Int. Cl.:
A61K 31/4245 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06749439 .3**
96 Fecha de presentación: **06.04.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1874306**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.01.2008**

54 Título: **Composiciones de un 1,2,4-oxadiazol oralmente activo para terapia de supresión de la mutación sin sentido**

30 Prioridad:
08.04.2005 US 669789 P
30.03.2006 US 787395 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2012

73 Titular/es:
PTC THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
100 CORPORATE COURT, MIDDLESEX
BUSINESS CENTER
SOUTH PLAINFIELD, NJ 07080, US

72 Inventor/es:
HIRAWAT, SAMIT y
MILLER, LANGDON

74 Agente/Representante:
DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 390 804 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 un 1,2,4-oxadiazol oralmente activo para terapia de supresión de la mutación sin sentido.

1. Campo de la invención

La invención presente se refiere a dosis específicas y regímenes de dosificación para el uso de un compuesto, de ácido 1,2,4-oxadiazol benzoico para tratar o prevenir las enfermedades asociadas con mutaciones sin sentido. En particular, la invención se refiere a dosis específicas y regímenes de dosificación para el uso del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico en mamíferos que tienen fibrosis quística y distrofia muscular de Duchenne, enfermedades asociadas con mutaciones sin sentido.

2. Antecedentes de la invención

Se describe una nueva clase de compuestos de 1,2,4-oxadiazol y su uso para tratar, prevenir o manejar enfermedades que mejoran con la modulación de la terminación prematura de la traducción o degradación de ARNm mediada por mutación sin sentido en el documento de patente de los Estados Unidos N° 6.992.096 B1, presentado el 31 de enero de 2006, titulado "1,2,4-Oxadiazole Benzoic Acid Compounds and Their Use For Nonsense Suppression and the Treatment of Disease". Uno de esos compuestos es el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico. Como con todos los fármacos, dosis adecuadas y regímenes de dosificación para el tratamiento de pacientes con enfermedades como la fibrosis quística y la distrofia muscular de Duchenne son esenciales para alcanzar un efecto terapéutico deseado u óptimo sin efectos adversos o efectos indeseados.

Por tanto existe una necesidad de dosis seguras, eficaces y no tóxicas y regímenes de dosificación que prevengan o reduzcan los efectos adversos o no deseados o proporcionen un efecto óptimo terapéutico o ambos, es decir, proporcionen un perfil terapéutico deseable.

3. Compendio de la invención

La invención se refiere al ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico y una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo para usar como se define en las reivindicaciones. La invención abarca los regímenes de dosificación en donde dosis específicas del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo son administradas a intervalos de tiempo específicos para modular la terminación de la traducción prematura o degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido, o mejorar uno o más síntomas asociados con esto, mientras que se reduce o evita los efectos adversos o efectos no deseados. La invención además abarca dosis específicas y formas de dosificación unitarias del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

Una realización de la invención se refiere a métodos para administrar a un paciente con necesidad del mismo una cantidad eficaz de ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo tres veces en el transcurso de un período de 24 horas. La invención también se refiere a métodos para administrar a un paciente con necesidad del mismo una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable solvato o hidrato del mismo tres veces en el curso de un período de 24 horas. La dosis de la primera de las dos administraciones es la misma y la tercera dosis es dos veces la primera dosis.

En otra realización, la invención se refiere a los usos para tratar, prevenir o manejar una enfermedad mejorada por la modulación de la terminación de la traducción prematura o degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido que comprende administrar a un paciente con necesidad del mismo una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo tres veces en el curso de 24 horas. Preferiblemente la administración se hace tres veces al día continuamente, o con un período de descanso, por un número de días, semanas, meses o años.

La invención también se refiere a usos para tratar, prevenir o manejar una enfermedad mejorada por la modulación de la terminación de la traducción prematura o degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido que comprende administrar a un paciente con necesidad del mismo una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo tres veces en el curso de 24 horas. Preferiblemente la administración se hace tres veces al día continuamente, o con un período de descanso, por un número de días, semanas, meses o años.

En una realización, la invención se refiere al uso en un método para administrar el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en donde el agente activo se administra a un paciente con necesidad del mismo tres veces en un período de 24 horas, en donde cada administración está separada preferiblemente por alrededor de 4 a 14 horas.

En otra realización, la invención se refiere a un uso en una terapia continua en donde el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra a

un paciente con necesidad del mismo durante un cierto período de tiempo (por ejemplo, 5, 7, 10, 14, 20, 24, 28, 60 o 120 días o más).

5 En otra realización la invención se refiere a la administración del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en tres dosis diarias entre 0,1 mg/kg y 500 mg/kg, 1 mg/kg y 250 mg/kg, 1 mg/kg y 150 mg/kg, 1 mg/kg y 100 mg/kg, 1 mg/kg y 50 mg/kg, 1 mg/kg y 25 mg/kg, 1 mg/kg y 10 mg/kg o 2 mg/kg y 10 mg/kg a un paciente con necesidad del mismo. En una realización particular, el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo es administrado en una dosis de alrededor de 4 mg/kg, alrededor de 7 mg/kg, alrededor de 8 mg/kg, alrededor de 10 mg/kg, alrededor de 14 mg/kg o alrededor de 20 mg/kg. En otra realización, cualquier dosis del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato descrito en la realización anterior es administrada en un período de 24 horas.

10 En otra realización, la invención se refiere a formulaciones de dosificación unitaria para usar según se define en las reivindicaciones que comprenden alrededor de 35 mg, y alrededor de 1400 mg, alrededor de 125 mg y alrededor de 1000 mg, alrededor de 250 mg y alrededor de 1000 mg o alrededor de 500 mg y alrededor de 1000 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

15 En otra realización, la invención se refiere a formulaciones de dosificación unitaria para uso según se define en las reivindicaciones que comprenden 35 mg, 50 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 1000 mg o 1400 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo. En una realización preferida, la invención se refiere a formulaciones de dosificación unitaria que comprenden 125 mg, 250 mg o 1000 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

20 Se describe un método de mantenimiento de la concentración plasmática de ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo de mayor de alrededor de 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, alrededor de 5 µg/ml, alrededor de 10 µg/ml, alrededor de 20 µg/ml, alrededor de 25 µg/ml, alrededor de 40 µg/ml, alrededor de 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, o 500 µg/ml, en un paciente durante al menos alrededor de 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 o 24 horas o más, que comprende la administración de una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo a un paciente con necesidad del mismo.

4. Descripción detallada

4.1 Definiciones

Como se usa en este documento, "terminación de la traducción prematura" se refiere al resultado de una mutación que cambia un codón correspondiente a un aminoácido a un codón de parada.

35 Como se usa en este documento, "degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido" se refiere a cualquier mecanismo que media la degradación del ARNm que contiene un codón de terminación de la traducción prematura. En una realización particular, la degradación de ARNm mediada por mutaciones sin sentido proviene de una mutación sin sentido del ADN.

40 Como se usa en este documento, un "codón de terminación prematura" o "codón de parada prematura" se refiere a la aparición de un codón de parada donde debería haber un codón correspondiente a un aminoácido.

Como se usa en este documento, una mutación "sin sentido" es una mutación puntual que cambia un codón correspondiente a un aminoácido a un codón de parada. En una realización particular, la mutación sin sentido es una mutación que se produce en el ADN y, a continuación, se transcribe en el ARNm.

45 Como se usa en este documento, "supresión sin sentido" se refiere a la inhibición o supresión de la terminación de la traducción prematura y/o degradación del ARNm mediada por la mutación sinsentido. En una realización particular, la degradación del ARNm proviene de una mutación sin sentido del ADN.

50 Como se usa en este documento, "modulación de la terminación de la traducción prematura y/o degradación del ARNm mediada por la mutación sin sentido" se refiere a la regulación de la expresión génica por medio de la alteración del nivel de supresión de la mutación sin sentido. Por ejemplo, si es conveniente aumentar la producción de una proteína defectuosa codificada por un gen con un codón de parada prematura, o sea, permitir la lectura total del codón de parada prematura del gen de la enfermedad de modo que se realice la traducción del gen, entonces la modulación de la terminación de la traducción prematura y/o degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido implica el aumento de la regulación de la supresión de la mutación sin sentido.

55 En este documento, los términos "efecto(s) adverso(s) o secundario(s)" incluyen, pero no se limitan a, náuseas, vómitos, diarrea, dolor de cabeza, alanina aminotransferasa (ALT) del suero elevada, aspartato aminotransferasa

(AST) del suero elevada, mareos, creatinquinasa (CK) del suero elevada, dolor abdominal, gas abdominal, dolor ocular, ojos hinchados, quemazón de ojos, sensibilidad del pezón, sensibilidad en los senos, dolor torácico musculoesquelético, sarpullido, picazón, ganglio linfático submaxilar dolorido, lactato deshidrogenasa (LDH) del suero elevada, aldolasa sérica elevada y triglicéridos séricos elevados.

- 5 Como se utiliza en el presente documento, los términos "agente activo", "fármaco" y "sustancia activa" se refieren al ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo.

Como se usa en este documento, el término "dosis" significa una cantidad de agente activo para ser administrada de una vez.

- 10 Como se usa en este documento, el término "forma(s) de dosificación unitaria" incluye comprimidos; comprimidos oblongos; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina elástica blanda; bolsitas; sellos; trociscos; pastillas; dispersiones; polvos; soluciones; geles; formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración oral o administración a través de la mucosa a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas), emulsiones (por ejemplo, emulsiones de aceite en agua, o una emulsión de agua en aceite),
15 soluciones y elixires; y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que pueden ser reconstituidos para proporcionar formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración oral o parenteral a un paciente. La forma de dosificación unitaria no necesariamente tiene que ser administrada como una dosis única.

Como se usa en este documento, los términos "régimen de dosificación" y "dosis" significan la cantidad de agente activo dada por unidad de tiempo y la duración de la administración.

- 20 Como se usa en este documento, el término «paciente» significa un animal (por ejemplo, vaca, caballo, oveja, cerdo, pollo, pavo, codorniz, gato, perro, ratón, rata, conejo, cerdo de guinea, etc.), preferentemente un mamífero como un no primate y un primate (p. ej., mono y humanos), más preferiblemente humanos. En ciertas realizaciones, el paciente es un feto, embrión, bebé, niño, adolescente o adulto. En una realización, se ha determinado a través de un cribado previo que el paciente posee una mutación sin sentido. En otra realización, se ha determinado a través de
25 un cribado previo qué mutación sin sentido tiene el paciente (por ejemplo, UAA, UGA o UAG).

Como se usa en este documento, una "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de la enfermedad o para retrasar o minimizar los síntomas asociados con la enfermedad. En una realización, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad del
30 ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo suficiente para alcanzar un nivel deseado de plasma durante un cierto tiempo. Cantidades eficaces preferidas son específicamente descritas en este documento.

- Como se usa en este documento, los términos "manejar", "manejando" y "manejo" se refieren a los efectos beneficiosos que se deriva a un paciente por la administración del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, que no da como resultado una cura
35 de la enfermedad.

- Como se usa en este documento, los términos "prevenir", "previniendo" y "prevención" se refieren a la prevención de la aparición, recurrencia, difusión o empeoramiento de la enfermedad o síntomas en un paciente derivados de la administración del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable,
40 solvato o hidrato del mismo. Debido a que las enfermedades asociadas con una mutación sin sentido pueden ser genéticas, un paciente puede ser seleccionado según la presencia de una mutación sin sentido. En el caso que se determine a través de la selección que un paciente tiene una mutación sin sentido, una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo puede administrarse al paciente para prevenir la aparición, recurrencia, difusión o empeoramiento de la enfermedad
45 o de un síntoma de la misma.

- Como se usa en este documento, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a la erradicación o mejoría de la enfermedad o los síntomas asociados con la enfermedad. En ciertas realizaciones, estos términos se refieren a minimizar la propagación o empeoramiento de la enfermedad con la administración de ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo a un
50 paciente con tal enfermedad.

- Como se usa en este documento, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluye ácidos inorgánicos y bases y ácidos orgánicos y bases. Sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas para el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico incluyen, pero no se limitan a, sales metálicas hechas de aluminio, calcio,
55 litio, magnesio, potasio, sodio y zinc o sales orgánicas de lisina, N,N'-dibenciletlenodiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Ácidos adecuados no tóxicos incluyen, pero no se limitan a, ácidos inorgánicos y orgánicos como el ácido acético, alginico, antranílico, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etenosulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico,

5 glutámico, glicólico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, ácido tartárico y ácido p-toluensulfónico. Ácidos no tóxicos específicos incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, ácido fosfórico, sulfúrico y metanosulfónico. Ejemplos de sales incluyen sales clorhidrato y mesilato. Otros ejemplos de sales son bien conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences* edición 18, Mack Publishing, Easton PA (1990).

Como se usa en este documento el término "hidrato" significa el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas no covalentes intermoleculares.

10 Como se usa en este documento, el término "solvato" significa el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un disolvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes.

4.2 Enfermedades asociadas con la terminación prematura de la traducción

15 La invención comprende los usos para tratar, prevenir o manejar enfermedades o trastornos mejorados por la supresión de la terminación prematura de la traducción y/o degradación de ARNm mediada por mutaciones sin sentido en un paciente que comprende administrar a un paciente con necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto oralmente biodisponible (es decir, el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo) según las dosis y/o regímenes de dosificación descritos en este documento.

20 En una realización, la presente invención abarca los usos para el tratamiento, prevención o manejo de la fibrosis quística y la distrofia muscular de Duchenne asociadas con un gen que muestra la terminación prematura de la traducción y/o la degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido. En una realización, la enfermedad es debida, en parte, a la falta de expresión del gen resultante de un codón de parada prematura. Ejemplos específicos de genes que pueden exhibir terminación de la traducción prematura y/o degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido y enfermedades asociadas con la terminación prematura de la traducción y/o degradación de ARNm mediada por mutaciones sin sentido se encuentran en el documento de solicitud de patente de los Estados Unidos Nº 60/390.747, titulada: *Methods For Identifying Small Molecules That Modulate Premature Translation Termination And Nonsense Mediated mRNA Decay*, presentado el 21 de junio de 2002.

30 En una realización específica, los usos, composiciones, dosis, formas de dosificación unitaria y regímenes de dosificación proporcionados en este documento, son eficaces para el tratamiento, prevención o manejo de la fibrosis quística y la distrofia muscular de Duchenne asociadas con una mutación sin sentido en un gen de un embrión o de un feto que tiene o está predispuesto o es susceptible a una enfermedad asociada con una mutación sin sentido en un gen, tal como se describe en este documento. Según esta realización, se administra a una hembra preñada una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo que pasa a través de la placenta al embrión o feto. En una realización particular, una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra oralmente a la hembra preñada.

40 Enfermedades o trastornos asociados con o mejorados por la represión de la terminación de la traducción prematura y/o la degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido incluyen, pero no se limitan a: enfermedades genéticas, cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades de la sangre, enfermedades del colágeno, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades proliferativas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades pulmonares, enfermedades inflamatorias o enfermedades del sistema nervioso central.

45 Enfermedades genéticas específicas incluyen, pero no se limitan a, la neoplasia endocrina múltiple (tipo 1, 2 y 3), amiloidosis, mucopolisacaridosis (tipo I y III), hipoplasia adrenal congénita, poliposis coli adenomatosa, enfermedad de Von Hippel Landau, síndrome de Menkes, hemofilia A, hemofilia B, colágeno VII, síndrome de Alagille, síndrome de Townes-Brock, tumor rabdoide, epidermolisis bullosa, síndrome de Hurler, síndrome de Coffin-Lowry, aniridia, enfermedad de Charcot-Maria-Tooth, miopatía miotubular, miopatía miotubular ligada al cromosoma X, condrodysplasia ligada al cromosoma X, agamaglobulinemia ligada al cromosoma X, enfermedad del riñón policístico, atrofia muscular espinal, poliposis adematosa familiar, deficiencia de piruvato deshidrogenasa, fenilcetonuria, neurofibromatosis 1, neurofibromatosis 2, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Tay Sachs, el síndrome de Rett, síndrome de Hennansky-Pudlak, síndrome de fragilidad de la piel/displasia ectodérmica, discondrosteosis de Leri-Weill, raquitismo, hipofosfatemia, adrenoleucodistrofia, atrofia giroide, aterosclerosis, sordera neurosensorial, distonía, enfermedad de Dent, porfiria intermitente aguda, enfermedad de Cowden, epidermolisis bullosa de Herlitz, enfermedad de Wilson, síndrome de Treacher Collins, deficiencia de piruvato

50 quinasa, gigantismo, enanismo, hipotiroidismo, hipertiroidismo, envejecimiento, obesidad, enfermedad de Parkinson, enfermedad tipo C de Niemann Pick, fibrosis quística, distrofia muscular, enfermedades cardíacas, piedras en el riñón, ataxia-telangiectasia, hipercolesterolemia familiar, retinitis pigmentosa, enfermedad de almacenamiento de lisosomas, esclerosis tuberosa, distrofia muscular de Duchenne y síndrome de Marfan.

Está descrito que la enfermedad genética es una enfermedad autoinmune. En una realización preferida, la enfermedad autoinmune es la artritis reumatoide o la enfermedad del injerto frente al huésped.

Está descrito que la enfermedad genética es una enfermedad de la sangre. En una realización preferida, la enfermedad de la sangre es la hemofilia A, enfermedad de Von Willebrand (tipo 3), ataxia-telangiectasia, b-talasemia o cálculos renales.

Está descrito que la enfermedad genética es una enfermedad del colágeno. En una realización, la enfermedad del colágeno es la osteogénesis imperfecta o cirrosis.

Está descrito que la enfermedad genética es la diabetes.

Está descrito que la enfermedad genética es una enfermedad inflamatoria. En una realización preferida, la enfermedad inflamatoria es la artritis.

Está descrito que la enfermedad genética es una enfermedad del sistema nervioso central. En una realización, la enfermedad del sistema nervioso central es una enfermedad neurodegenerativa. En una realización preferida, la enfermedad del sistema nervioso central es la esclerosis múltiple, distrofia muscular, distrofia muscular de Duchenne, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Tay Sachs, lipofuscinosis ceroides neuronal infantil tardía (LINCL) o enfermedad de Parkinson.

Está descrito que la enfermedad genética es el cáncer. En un aspecto preferido, el cáncer es de cabeza y cuello, ojos, piel, boca, garganta, esófago pecho, hueso, pulmón, colon, sigmoide, recto, estómago, próstata, mama, ovarios, riñones, hígado, páncreas, cerebro, intestino, corazón o adrenales. El cáncer puede ser primario o metastásico. Los cánceres incluyen tumores sólidos, cánceres hematológicos y otras neoplasias.

Está descrito que el cáncer está asociado con genes supresores del tumor (véase por ejemplo Garinis *et al* 2002, Hum Gen 111:115-117; Meyers *et al*, 1998, Proc. Natl. Acad. Sci USA, 95:15587-15591; Kung *et al*. 2000, Nature Medicine 6(12):1335-1340. Dichos genes supresores del tumor incluyen, pero no se limitan a, APC, ATM, BRAC1, BRAC2, MSH1, pTEN, Rb, CDKN2, NF1, NF2, WT1 y p53.

Únicamente como referencia, el gen supresor del tumor es el gen p53. Mutaciones sin sentido han sido identificadas en el gen p53 y han sido implicadas en el cáncer. Se han identificado varias mutaciones sin sentido en el gen p53 (véase, por ejemplo, Masuda *et al.*, 2000, Tokai J Exp Clin Med. 25(2): 69-77; Oh *et al.*, 2000; Mol Cells 10(3):275-80; Li *et al.*, 2000, Lab Invest.80(4):493-9; Yang *et al.*, 1999, Zhonghua Zong Liu, Za Zhi 21(2): 114-8; Finkelstein *et al.*, 1988, Mol Diagn. 3(1):37-41; Kajiyama *et al.*, 1998, Dis Esophagus.11(4):279-83; Kawamura *et al.*, 1999, Leuk Res. 23(2):115-26; Radig *et al.*, 1998, Hum Pathol. 29(11):1310-6; Schuyer *et al.*, 1998, Int. J. Cancer. 76(3):299-303; Wang Gohrke *et al*, 1998, Oncol Rep. 5(1):65-8; Fulop *et al.*, 1998, J Reprod Med. 43(2):119-27; Ninomiya *et al.*, 1997, J Dermatol Sci. 14(3):173-8; Hsieh *et al.*, 1996, Cáncer Lett. 100(1-2):107-13; Rall *et al.*, 1996, Pancreas.12(1):10-7; Fukutomi *et al.*, 1995, Nippon Rinsho 53(11):2764-8; Frebourg *et al.*, 1995, Am J Hum Genet.56(3):608-15; Dove *et al.*, 1995, Cancer Surv. 25:335-55; Adamson *et al.*, 1995, Br J Haematol 89(1):61-6; Grayson *et al.*, 1994, Am J Pediatr Hematol Oncol 16(4):341-7; Lepelley *et al.*, 1994, Leukemia. 8(8):1342-9; McIntyre *et al.*, 1994, J Clin Oncol 12(5):925-30; Horio *et al.*, 1994, Oncogene. 9(4):1231-5; Nakamura *et al.*, 1992, Jpn J Cancer Res. 83(12):1293-8; Davidoff *et al.*, 1992, Oncogene. 7(1):127-33; y Ishioka *et al.*, 1991, Biochem-Biophys Res Commun. 177(3):901-6.

Sólo como referencia, las enfermedades para ser tratadas, prevenidas o manejadas administrando a un paciente con necesidad del mismo una cantidad efectiva del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo incluyen, pero no está limitadas a, un tumor sólido, sarcoma, carcinomas, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfagioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing; leiomiomas, rhabdomiomas, carcinoma de colon, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándulas sudoríparas, carcinoma de glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinoma papilar, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de célula renal, hepatoma, carcinoma de conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, sarcoma de Kaposi, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, un tumor nacido de sangre, leucemia linfoblástica aguda, leucemia de células B linfoblástica aguda, leucemia de células T linfoblástica aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia promielocítica aguda, leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia indiferenciada aguda, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia de células pilosas o mieloma múltiple. Véase, por ejemplo, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Eugene Braunwald *et al.*, editores, págs. 491-762 (15ª edición, 2001).

4.3 Dosis y regímenes de dosificación

La presente invención, en parte, comprende dosis específicas y regímenes de dosificación para el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo para optimizar la supresión de la terminación de la traducción prematura y/o la degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido. En una realización preferida, la degradación del ARNm mediada por una mutación sin sentido se origina por una mutación sin sentido del ADN.

Los nuevos usos de la invención abarcan el tratamiento, prevención y manejo de las enfermedades tratables o prevenibles por la represión de la terminación prematura de la traducción y/o degradación del ARNm mediada por mutaciones sin sentido o síntomas de las mismas mientras que se reducen o se evitan efectos adversos o indeseados, por ejemplo, toxicidades o efectos secundarios. La ruta preferida de administración para las dosis y los regímenes de dosificación descritos en este documento es la ruta oral (es decir, la ingestión de una solución, una solución coloide o una solución con un agente activo adicional, a concentración mayor de la concentración de saturación del agente activo).

Las dosis y los regímenes de dosificación descritos en este documento se piensa que son útiles debido a su capacidad para lograr y mantener una concentración plasmática deseable del agente activo. Sin limitarse por la teoría, se cree que lograr y mantener una concentración plasmática relativamente constante del agente activo (tales como las descritas en la sección 4.4) durante, por ejemplo, un periodo de 24 horas o mayor, proporciona un efecto terapéutico beneficioso para el paciente. Las dosis y los regímenes de dosificación descritos en este documento son útiles para alcanzar y mantener tales concentraciones plasmáticas terapéuticas del agente activo.

Se describe un uso del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en donde el agente activo se administra a un paciente con necesidad del mismo una vez cada 12 o 24 horas.

Se describe un uso del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo donde el agente activo se administra a un paciente con necesidad del mismo dos veces en un periodo de 12 o 24 horas, en donde cada administración está preferentemente separada por alrededor de 4 a 14 horas, en una realización 12 horas. En estas realizaciones el agente activo puede administrarse, por ejemplo, a la hora de las comidas, como el desayuno y la cena.

En otra realización la invención se refiere a un método de administrar el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en donde el agente activo se administra a un paciente con necesidad del mismo tres veces en un periodo de 24 horas, en donde cada administración está preferentemente separada alrededor de 4 a 14 horas. En una realización particular, el agente activo se administra una vez por la mañana, una vez por la tarde y una vez por la noche. Los intervalos preferidos entre dosis incluyen 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 horas.

En una realización, la dosis del agente activo se escala en un periodo de 24 horas. En otra realización, la dosis primera y segunda administradas se mantienen constantes y la tercera dosis administrada se escala, se dobla. En una realización particular, las tres dosis en un periodo de 24 horas se administran según la fórmula: 1X, 1X, 2X, donde X es una dosis inicial particular (por ejemplo, 4 mg/kg, 7 mg/kg o 10 mg/kg). En otra realización, el agente activo es administrado dentro de (es decir, antes o después de) alrededor de 10, 15, 30, 45 ó 60 minutos de la alimentación del paciente. En una realización, una cantidad efectiva del agente activo se espolvorea sobre, o se mezcla con el alimento. En otra realización, el agente activo se administra sin alimentos.

Un régimen particularmente preferido de dosificación es aquel donde a un paciente se le administra el agente activo dentro de los 30 minutos después de una comida a aproximadamente intervalos de 6, 6, y 12 horas (por ejemplo, a las 7:00 de la mañana después del desayuno, 13:00 después de la comida, y a las 19:00 horas después de la cena).

En otra realización, la invención se refiere a la administración del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo mediante la administración tres veces en un periodo de 24 horas, de dosis entre 0,1 mg/kg y 500 mg/kg, 1 mg/kg y 250 mg/kg, 1 mg/kg y 150 mg/kg, 1 mg/kg y 100 mg/kg, 1 mg/kg y 50 mg/kg, 1 mg/kg y 25 mg/kg, 1 mg/kg y 10 mg/kg o 2 mg/kg y 10 mg/kg a un paciente con necesidad del mismo. En una realización particular el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra a una dosis de alrededor de 2-6 mg/kg, alrededor de 5-9 mg/kg, alrededor de 6-10 mg/kg, alrededor de 8-12 mg/kg, alrededor de 12-16 o 18-22 mg/kg. En una realización particular, el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra en una dosis de alrededor de 4 mg/kg, alrededor de 7 mg/kg, alrededor de 8 mg/kg, alrededor de 10 mg/kg, alrededor de 14 mg/kg o alrededor de 20 mg/kg. En otra realización, cualquier dosis del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo descritos en las anteriores realizaciones se administra tres veces en un periodo de 24 horas.

En otra realización, la invención se refiere a un uso de terapia continua en donde el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra

diariamente a un paciente con necesidad del mismo durante un determinado período de tiempo (por ejemplo, 5, 7, 10, 14, 20, 24, 28, 60 o 120 días o más). En una realización, el agente activo es continuamente administrado tres veces durante un periodo de 24 horas. En otra realización, el agente activo se administra continuamente diariamente, semanalmente, mensualmente o anualmente.

- 5 En una realización específica, el agente activo se administra continuamente tres veces durante un periodo de 24 horas a dosis de alrededor de 4 mg/kg, alrededor de 4 mg/kg y alrededor de 8 mg/kg durante días, semanas, meses o años. En una realización específica, el agente activo se administra continuamente tres veces durante un periodo de 24 horas en dosis de alrededor de 7 mg/kg, alrededor de 7 mg/kg y alrededor de 14 mg/kg durante días, semanas, meses o años. En una realización específica, el agente activo se administra continuamente tres veces durante un periodo de 24 horas en dosis de alrededor de 10 mg/kg, alrededor de 10 mg/kg y alrededor de 20 mg/kg durante días, semanas, meses o años. En cada período de 24 horas que se administre el agente activo, se administra preferiblemente tres veces a alrededor de 6, 6 y 12 horas (por ejemplo a las 7:00 después del desayuno, 13:00 después del almuerzo y 19:00 después de la cena). La terapia continua se usa preferentemente para el tratamiento, prevención o manejo de la fibrosis quística y la distrofia muscular de Duchenne.
- 10
- 15 Períodos de tratamiento para un curso de terapia pueden abarcar una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, ocho semanas, nueve semanas, diez semanas, once semanas, doce semanas, trece semanas, catorce semanas, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses, once meses, un año, dos años, tres años, cuatro años, cinco años o más. Los períodos de tratamiento pueden ser interrumpidos por períodos de descanso que puede abarcar un día, una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, ocho semanas, nueve semanas, diez semanas, once semanas, doce semanas, trece semanas, catorce semanas, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses, once meses, un año, dos años, tres años, cuatro años, cinco años o más. Tales determinaciones pueden realizarse por una persona experta en la técnica (por ejemplo, un médico).
- 20
- 25 En una realización particular, el tratamiento es continuo durante 14 días, seguido de ningún tratamiento durante 14 días, seguido de tratamiento continuo durante 14 días más. En una realización, la dosis administrada durante los segundos 14 días de tratamiento es mayor que durante los primeros 14 días de tratamiento. Como un ejemplo no limitativo, un paciente con necesidad del mismo es administrado tres dosis del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo (por ejemplo, 4 mg/kg, 4 mg/kg y 8 mg/kg) en un periodo de 24 horas durante 14 días seguidos, seguido por 14 días sin tratamiento, seguido por la administración de tres dosis del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo (por ejemplo, 10mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg) en un periodo de 24 horas durante 14 días continuos adicionales .
- 30

En otra realización, el tratamiento es continuo durante 28 días.

- 35 En ciertas realizaciones, el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra según las dosis y régimen de dosificación descritos en este documento en combinación con un segundo agente activo (por ejemplo, simultáneamente o secuencialmente). En realizaciones particulares, el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se administra según las dosis y regímenes de dosificación descritos en este documento en combinación con un aminoglucósido, un corticosteroide, una enzima pancreática, un antibiótico, insulina, un agente hipoglucémico, un ácido graso omega-3, un agente quimioterapéutico o una terapia de reemplazo de enzima. La administración del segundo agente activo puede ser por vía tópica, entérica (por ejemplo oral, duodenal o rectal), parenteral (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intramuscular, subcutánea, intradérmica o intraperitoneal) o intratecal. En ciertas realizaciones, el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo es administrado según las dosis y regímenes de dosificación descritos en este documento en combinación con radioterapia.
- 40
- 45

Se entenderá que las cantidades de agentes activos administrados a un paciente con necesidad del mismo son o pueden ser calculados según el peso del paciente en cuestión o el peso promedio de la población a la que el paciente pertenece, (p. ej., hombres blancos, mujeres blancas, hombres afroamericanos, mujeres afroamericanas, hombres asiáticos o mujeres asiáticas incluyendo adultos y niños).

50

4.4. Concentraciones en plasma

- Se describe un uso para el manteniendo de la concentración en plasma del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo de mayor de: alrededor de 0,1 µg/ml, de alrededor de 0,5 µg/ml, de alrededor de 2 µg/ml, de alrededor de 5 µg/ml, de alrededor de 10 µg/ml, de alrededor de 20 µg/ml, de alrededor de 25 µg/ml, de alrededor de 40 µg/ml, de alrededor de 50 µg/ml, de alrededor de 100 µg/ml, de alrededor de 150 µg/ml, de alrededor de 200 µg/ml, de alrededor de 250 µg/ml o de alrededor de 500 µg/ml en un paciente durante al menos alrededor de 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 o 24 horas o más, que comprende administrar una cantidad eficaz del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo a un paciente con necesidad del
- 55

mismo. Se describe en una realización particular que la administración es oral. Los niveles del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en plasma pueden medirse, por ejemplo, por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

5 Se describe un uso para mantener una concentración en plasma del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo de alrededor de 0,1 µg/ml a alrededor de 500 µg/ml o alrededor de 2 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml en un paciente durante al menos alrededor de 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 o 24 horas o más, que comprende administrar una cantidad eficaz de ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo a un paciente con necesidad del mismo tres veces al día a las dosis de escalado (1X, 1X, 2X) como se describió en este documento. En una realización particular, la administración es oral.

10 En una realización particular, el nivel plasmático de un paciente del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se mantiene por encima de unos 2 µg/ml durante al menos 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 o 24 horas o más mediante la administración del agente activo tres veces al día a un paciente con necesidad del mismo. En otra realización, el nivel de plasma de un paciente del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se mantiene entre alrededor de 2 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml durante al menos alrededor de 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 o 24 horas o más por medio de la administración del agente activo tres veces al día a un paciente con necesidad del mismo. En una realización particular, el nivel del plasma de un paciente del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se mantiene por encima de 10 µg/ml durante al menos alrededor de 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 o 24 horas o más por administración del agente activo tres veces al día a un paciente con necesidad del mismo. En una realización particular, la administración es oral.

4.5 Población de pacientes

25 Las poblaciones de pacientes particulares incluyen adultos y niños que tienen o son susceptibles de tener (por ejemplo debido a factores genéticos o ambientales) fibrosis quística o distrofia muscular de Duchenne asociadas con una mutación sin sentido, tal como los descritos en este documento.

En una realización, se ha determinado a través del cribado que un paciente o un familiar del paciente tienen una mutación sin sentido (por ejemplo, UAA, UGA o UAG).

4.6 Composiciones farmacéuticas y formulaciones de dosificación unitaria

30 Composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria que comprenden el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo también son abarcadas por la invención. Formas de dosificación individual de la invención pueden ser adecuadas para la administración oral, mucosal (incluyendo sublingual, bucal, rectal, nasal o vaginal) o administración parenteral (incluyendo la inyección subcutánea, intramuscular, de bolo, por vía intravenosa o intraarterial). Las composiciones farmacéuticas preferidas y las formas de dosificación unitaria únicas son adecuadas para la administración oral.

35 En una realización, la composición farmacéutica es una forma de dosificación oral sólida. En una realización, la composición farmacéutica es una forma de dosificación oral líquida. En una realización particular, la invención presente proporciona dosis, formulaciones de dosificación unitaria y composiciones farmacéuticas en donde el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo es biodisponible por vía oral. Las ventajas de la administración oral pueden incluir la facilidad de administración, mejor cumplimiento del paciente con el régimen de dosis, eficacia clínica, menos complicaciones, hospitalizaciones más cortas y ahorro de costo total.

45 En otra realización, la invención se refiere a formulaciones de dosificación unitaria que comprenden entre alrededor de 35 y alrededor de 1400 mg, alrededor de 125 mg y alrededor de 1000 mg, alrededor de 250 mg y alrededor de 1000 mg, o alrededor de 500 mg y alrededor de 1000 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo. En una realización, la formulación de la dosis unitaria comprende el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo y uno o más vehículos o excipientes adecuados para suspensión en un disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, una bebida carbonatada, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé) en una botella.

50 En otra realización, la invención se refiere a las formulaciones de dosificación unitaria que comprenden 35 mg, 50 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, mg 140, 175 mg, 200 mg, 250 mg, mg 280, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 1000 mg o 1400 mg de de ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas comprenden alrededor de 125 mg, alrededor de 250 mg o alrededor de 1000 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo. En una realización, la formulación de dosis unitaria comprende el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo y uno o más vehículos o excipientes adecuados para suspensión en un

disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, una bebida carbonatada, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé) en una botella. Formulaciones de dosificación unitaria preferida son polvos y bolsitas.

5 Mientras que se recomienda que las formulaciones de dosificación unitaria descritas en este documento se almacenen entre alrededor de 2° C a alrededor de 8° C, las formulaciones de dosificación unitaria pueden almacenarse a temperatura ambiente durante unas 48 horas antes de su reconstitución. En una realización, la reconstitución de una formulación de dosis unitaria de 250 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo se realiza mediante la adición de
10 alrededor de 10 ml de agua directamente en un frasco que contenga el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo para lograr una concentración de alrededor de 25 mg/ml en el volumen total de suspensión. Para una formulación de dosis unitaria de 1000 mg del ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, aproximadamente 20 ml de agua se agregan directamente en la botella que contiene el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo para
15 lograr una concentración de aproximadamente 50 mg/ml en el volumen total de suspensión. Inmediatamente después de que se agregue el agua, la botella se tapa y se agita suavemente a mano durante alrededor de 30 segundos para lograr una suspensión homogénea. Aunque la suspensión reconstituida puede permanecer en la botella de plástico original hasta 24 horas antes de la ingestión, se recomienda que se tomen los fármacos poco después de la reconstitución. Si hay un retraso de alrededor de 15 minutos entre la reconstitución y la dosificación, se recomienda que la botella sea agitada de nuevo suavemente a mano durante alrededor de 30 segundos. Se recomienda que la suspensión sea administrada directamente de la botella. Si la forma de dosificación unitaria entera se va a administrar, se recomienda además que la botella se enjuague, una vez con agua y este agua de enjuague sea ingerido para asegurarse de que ningún polvo se queda en la botella. Si se administra una cantidad parcial de la forma de dosificación unitaria, puede utilizarse una cuchara o una jeringa para obtener la dosis
20 adecuada.

Las formas de dosificación unitaria completas de la invención adecuadas para la administración oral a un paciente incluyen, pero no se limitan a: bolsitas; sellos; comprimidos; comprimidos de forma ovalada; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina blanda; trociscos; pastillas; dispersiones; polvos; soluciones; formas de dosificación de líquidos, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos); emulsiones (por ejemplo, emulsiones de aceite en agua, o una emulsión de agua en aceite); y elixires. En una realización, la invención se refiere a una solución coloide o una solución con un agente activo adicional, por encima de la concentración de saturación. Estas y otras formas de dosificación abarcadas por esta invención que variarán de una a otra serán evidentes para aquellos especializados en la técnica. Véase, por ejemplo, *Remington Pharmaceutical Sciences*, XVIIIª ed., editorial de Mack, Easton PA (1990).

35 Esta invención abarca además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden el ácido 3-[5-(2-fluorofenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo. Las composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación anhidras de la invención pueden prepararse utilizando ingredientes que contengan baja humedad o sean anhidros y condiciones de baja humedad o anhidras.

40 Las formas de dosificación oral típicas de la invención se preparan combinando el ingrediente(s) activo(s) en una mezcla íntima con al menos un vehículo o excipiente según las técnicas convencionales de preparación de compuestos farmacéuticos. Los excipientes pueden tener una gran variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Por ejemplo, los excipientes adecuados para su uso en formas de dosificación de líquidos o en aerosoles orales incluyen, pero no se limitan a, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes (por ejemplo, extracto de vainilla), conservantes y agentes para el color. Ejemplos de excipientes adecuados para uso en formas de dosificación oral sólidas (por ejemplo, polvos, comprimidos, bolsitas, cápsulas y comprimidos de forma ovalada) incluyen, pero no se limitan a, almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y agentes de desintegración.

50 Formulaciones de dosificación unitaria particularmente preferidas son las formulaciones en polvo que comprenden una cantidad eficaz del agente activo que son aptas para la reconstitución en un disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, una bebida carbonatada, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé) y la posterior administración oral. En una realización particular, el polvo puede contener opcionalmente uno o varios vehículos o excipientes en combinación con el agente activo. En otra realización, el polvo puede almacenarse en un recipiente sellado antes de la administración o reconstitución. En todavía otra realización, el polvo puede estar encapsulado (por ejemplo, en una cápsula de gelatina).

60 Los preparados líquidos para administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones o pueden presentarse como un producto seco (por ejemplo, en polvo o gránulos) para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de usarse. Tales preparaciones líquidas pueden ser preparadas por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres grasos, alcohol etílico o aceites

fraccionados vegetales); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales de tamponamiento, saborizantes, colorantes y agentes edulcorantes apropiados.

5 Ejemplos de excipientes que pueden usarse en formas de dosificación oral sólida de la invención incluyen, pero no se limitan a aglutinantes, rellenos, disgregantes y lubricantes. Los aglutinantes adecuados para uso en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, almidón de maíz, almidón de patata, u otros almidones, gelatina, goma natural y sintética tales como de acacia, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma de guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa de calcio, carboximetilcelulosa sódica), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmetilcelulosa, (por ejemplo, números 2208, 2906, 2910), celulosa microcristalina y sus mezclas.

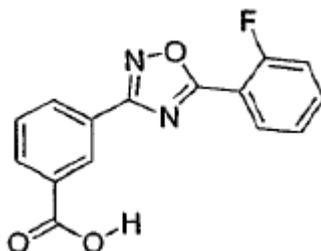
15 Excipientes preferidos incluyen Litesse® Ultra (polidextrosa refinada), manitol, agentes tensioactivos (polietilenglicol 3350 y Lutrol® micro F127 (polvo de poloxámero 407), disgregantes (crospovidona), cab-a-sil, Carbopol®, ácido poliacrílico y otros excipientes (hidroxietilcelulosa, sabor de vainillina, estearato de magnesio (no bovino) y sílice coloidal).

20 Ejemplos de rellenos adecuados para usar en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación sólidas divulgados en este documento incluyen, pero no se limitan a, lactosa, talco, carbonato de calcio (por ejemplo gránulos o en polvo), celulosa microcristalina, polvo de celulosa, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado y mezclas de los mismos. El aglutinante o relleno en composiciones farmacéuticas de la invención está normalmente presente en de alrededor del 50 a alrededor del 99 por ciento en peso de la composición farmacéutica o forma de dosificación.

25 Formas adecuadas de celulosa microcristalina incluyen, pero no se limitan a, el material vendido como AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (disponibles de FMC Corporation, American Viscose División, Avicel Sales, Marcus Hook, PA) y sus mezclas. Un aglutinante específico es una mezcla de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica vendida como AVICEL RC-581. Excipientes adecuados anhidros o de baja humedad o aditivos incluyen AVICEL-PH-103TM y almidón 1500 LM.

5. Ejemplos

5.1 Ejemplo 1: preparación del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico



30 Se añadió a una solución del ácido 3-cianobenzoico (44,14 g, 300 mmoles) en DMF (0,6 l), K₂CO₃ (62,19 g, 450 mmoles) y, a continuación, se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadió a la suspensión yoduro de metilo (28 ml, 450 mmoles) durante 20 minutos, y la mezcla de reacción se agitó adicionalmente 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en 1,2 l de agua con hielo y se agitó durante 30 minutos, y el precipitado se filtró. La pasta blanca se disolvió en metanol (70 ml) y luego se volvió a precipitar en agua fría. Se obtuvo el producto deseado como un polvo blanco con el 79% de rendimiento (38 g, 99% de pureza por LC/UV). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 8,85 (2H), 8,28 (1H), 8,02 (1H), 4,17 (3H).

35 A una solución del éster metílico del ácido 3-cianobenzoico (50 g, 310 mmoles) en etanol (500 ml) se añadió hidroxilamina acuosa al 50% (41 ml, 620 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 100° C y los disolventes se eliminaron bajo presión reducida. El residuo aceitoso fue disuelto en etanol/tolueno 20/80 (50 ml x 2) y luego se concentró nuevamente. El éster deseado (61 g, rendimiento cuantitativo) se obtuvo como un polvo blanco con una pureza de 98% (LC/UV). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 9,76 (1H), 8,24 (1H), 7,82 (2H), 7,51 (1H), 5,92 (2H), 3,82 (3H).

40 A una solución del éster metílico del ácido 3-(N-hidroxicarbamidoil)-benzoico (60 g, 310 mmoles) en THF anhidro (200 ml) se le añadió diisopropiletilamina (75 ml, 434 mmoles) a 5° C y luego se añadió a la mezcla cloruro de 2-fluorobenzoilo (48,1 ml, 403 mmoles) durante 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El precipitado se separó por filtración y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (400 ml) y después se lavó con agua (200 ml x 2). Se eliminó el disolvente bajo presión reducida y el producto deseado se cristalizó en 60% acetato de etilo en hexano para obtener el producto

deseado (81 g, 83% de rendimiento) como un sólido blanco. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 8,18 (1H), 8,03 (3H), 7,48 (2H), 7,18 (2H), 5,61 (2H), 3,82 (3H).

5 Se refluyeron 44 g del éster metílico del ácido 3-(N-2-fluorobenzoylcarbamidoil)benzoico en tolueno (500 ml) durante 4 horas a 130° C usando un aparato Dean-Stark. La mezcla de reacción se agitó a 5° C durante 18 horas. El precipitado blanco se separó por filtración y el filtrado se concentró, y se cristalizó nuevamente en tolueno. El oxadiazol deseado (38 g, rendimiento del 92%) se obtuvo como un sólido blanco con una pureza de 99% (LC/UV). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 8,91 (1H), 8,38 (1H), 8,15 (2H), 7,62 (2H), 7,35 (2H), 3,95 (3H).

10 A una solución del éster metílico del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico (3,3 g, 11 mmoles) en THF (40 ml) se añadieron NaOH acuosa 1,5 M (10 ml, 14 mmoles). La mezcla de reacción se refluyó durante 2 horas a 100° C. Se eliminó el disolvente orgánico y la solución acuosa fue diluida con agua (50 ml) y luego acidificada con HCl acuoso. El precipitado blanco se separó por filtración y la pasta blanca se lavó con agua fría y luego se secó usando el liofilizador. El ácido deseado (3,0 g, rendimiento del 96%) se obtuvo como un polvo blanco con una pureza de 98% (LC/UV). Punto de fusión 242° C; IR \square 3000 (aromático C-H), 1710 (C=O); $^1\text{H-RMN}$ ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) δ 8,31 (1H), 8,18 (2H), 8,08 (1H), 7,88 (2H), 7,51 (2H); $^{13}\text{C-RMN}$ ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) δ 172,71, 167,38, 166,48, 161,25, 135,80, 132,24, 131,79, 131,79, 131,08, 130,91, 129,81, 127,76, 125,48, 117,38, 111,70; $^{19}\text{F-RMN}$ ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) δ 109,7.

15 Pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico utilizando métodos conocidos por los entendidos en la materia. La sal de sodio puede ser preparada como sigue. A una solución del éster metílico del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico (33 g, 111 moles) en THF (400 ml) se añadió NaOH acuosa 1,5 M (100 ml, 144 mmoles). La mezcla de reacción se refluyó durante 2 horas a 100° C. El disolvente orgánico se eliminó bajo presión reducida y la solución acuosa se agitó 2 horas a 5° C. El precipitado blanco se separó por filtración y el filtrado se concentró y precipitó nuevamente en agua. La pasta blanca se lavó con agua fría y luego se secó usando el liofilizador. La sal deseada (33 g, rendimiento del 96%) se obtuvo como un polvo blanco con 98,6% de pureza (LC/UV).

25 5.2 Ejemplo 2: tratamiento oral de la fibrosis quística mediada por mutaciones sin sentido

En el presente ejemplo se establece un régimen de dosificación ilustrativo útil para el tratamiento de la fibrosis quística mediada por mutaciones sin sentido.

30 Se proporciona el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo como un polvo con sabor a vainilla para suspensión. El fármaco se fabrica bajo las actuales condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). La formulación puede incluir agentes aglutinantes y de suspensión, tensioactivos y diversos excipientes menores que ayudan en el proceso de fabricación. La mezcla puede ser empaquetada en botellas de plástico (polietileno de alta densidad [HDPE]) de 40 ml selladas con un sello de papel de aluminio y una tapa blanca de plástico, a prueba de niños. Cada botella puede contener 125, 250 o 1000 mg de la sustancia de fármaco, que es un 25,0% del peso total de la formulación. Alternativamente, la mezcla puede suministrarse en una formulación de bolsita, tal como se establecerá en el ejemplo 6. Los excipientes (y sus proporciones del peso total de formulación) incluyen un agente de suspensión (Litesse® Ultra [polidextrosa refinada] -25,7%), un aglutinante que también puede proporcionar enmascaramiento del sabor (manitol -25,0%), agentes tensioactivos (polietilenglicol 3350 -12,8% y Lutrol® micro F127 [polvo de poloxámero 407] -3,7%), un disgregante (crospovidona -5,0%) y otros excipientes pueden estar presentes, cada uno en menos del 2% (hidroxiethylcelulosa, sabor de vainilla, estearato de magnesio [no-bovino] y sílice coloidal). Las etiquetas de las botellas indican la identidad del fármaco, el número de lote, la cantidad de fármaco y las condiciones de almacenamiento (por ejemplo, a temperatura ambiente o con refrigeración a de 5° a 8° C).

45 La dosificación del fármaco se basa en miligramos de fármaco por kilogramo de peso corporal del paciente. La dosis de fármaco puede ser redondeada para que sea coherente con el tamaño de las botellas disponibles. El esquema de dosificación asegura que la dosis real total dada nunca es <50 mg por debajo o >250 mg por encima de la dosis prevista (es decir, está siempre dentro de 5 mg/kg de la dosis asignada). Por ejemplo, un paciente que pesa 40 kg, que está siendo tratado con una dosis de 4 mg/kg tendría una dosis calculada de 160 mg. Este paciente podría recibir una botella de 250 mg (total de 250 mg) o 6,25 mg/kg/dosis. El mismo paciente cuando fuera tratado con la dosis de 8 mg/kg por la tarde tendría una dosis calculada de 320 mg y recibiría dos botellas de 250 mg (total de 500 mg) o 12,5 mg/kg. El mismo paciente tratado con la dosis de 10 mg/kg tendría una dosis calculada de 400 mg y recibiría dos botellas de 250 mg (500 mg en total) o 12,5 mg/kg. El mismo paciente tratado con la dosis de 20 mg/kg por la noche tendría una dosis calculada de 800 mg y recibiría un botella de 1000 mg (1000 mg en total) o 25 mg/kg.

55 La reconstitución y dosificación del fármaco se realiza a temperatura ambiente. Ningún calentamiento específico del producto de fármaco es necesario antes de su reconstitución. El producto de fármaco puede ser reconstituido con cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, bebidas carbonatadas, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé). Para cada botella de 250 mg proporcionada, se añade ~10 ml de agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable para lograr una concentración de alrededor de 25 mg/ml en el volumen total de la suspensión. Para cada botella de 1000 mg proporcionada, se añade ~20 ml de agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable para lograr una concentración de aproximadamente 50 mg/ml en el

volumen total de la suspensión. Inmediatamente después de añadir el agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable a la medicación de estudio en seco, se tapa la botella y se agita vigorosamente con la mano durante cerca de 60 segundos para lograr la homogeneidad de la suspensión. Aunque la suspensión puede permanecer en la botella de plástico original hasta 24 horas antes de la ingestión, se recomienda tomarse el medicamento poco después de la reconstitución. Si hay un retraso de más de 15 minutos entre la reconstitución y dosificación, la botella debe ser agitada de nuevo vigorosamente a mano durante unos 60 segundos.

El tratamiento se administra continuamente durante el tiempo necesario a un paciente que tiene o es susceptible de tener fibrosis quística. La tabla 1 expone regímenes de dosificación ilustrativos diariamente para el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo en donde se produce la administración tres veces al día a intervalos de 6, 6 y 12 horas (por ejemplo, a las 7:00, 13:00 y 19:00) con la comida. En una realización particular, al paciente se le administra el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo como se expone en la tabla 1 continuamente durante 14 días, seguido de 14 días sin tratamiento, seguido de 14 días adicionales de administración, seguido de otros 14 días sin tratamiento. En otra realización particular, se administra al paciente el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo como se expone en la tabla 1 continuamente durante 14 días a tres dosis diarias de 4 mg/kg, 4 mg/kg y 8 mg/kg, seguido de 14 días sin tratamiento, seguido de 14 días adicionales de administración de tres dosis diarias de 10 mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg, seguido de otros 14 días sin tratamiento. En ciertas realizaciones, se efectúa cada día un régimen de dosificación diaria único establecido en la tabla 1. En otras realizaciones, pueden seguirse diferentes regímenes de dosificación establecidos en la tabla 1 en días diferentes.

Tabla 1. Esquema de dosificación

	1	2	3
Régimen	Dosificación tid con comida	Dosificación tid con comida	Dosificación tid con comida
Régimen	Administración diaria continua	Administración diaria continua	Administración diaria continua
Hora	Dosis		
~7:00	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~13:00	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~19:00	8 mg/kg	14 mg/kg	20 mg/kg
Abreviaturas: tid = tres veces al día			

Los pacientes preferentemente toman el fármaco dentro de los 30 minutos después de una comida; idealmente se tomará el fármaco a intervalos de aproximadamente 6, 6 y 12 horas (por ejemplo, a ~7:00 después del desayuno, ~13:00 después del almuerzo y ~19:00 después de la cena). Los pacientes ingieren el fármaco rellenando cada botella con la cantidad necesaria de agua u otros disolventes farmacéuticamente aceptables, tapando y agitando cada botella durante unos 60 segundos y luego ingiriendo el contenido del número y tamaño de botellas requerido para cada dosis. La dosis completa de medicamento reconstituido debe tomarse de una sola vez. Después de la ingestión, cada botella de dosificación se medio llena con agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable, se tapa y se agita, y este agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable de la botella es ingerido por el paciente. Este procedimiento de enjuague se realiza una vez. En ciertas realizaciones, el fármaco se proporciona como una bolsita. En estas realizaciones, la cantidad apropiada del fármaco puede ser pesada o medida y combinada con un disolvente apropiado farmacéuticamente aceptable antes de la administración.

5.3 Ejemplo 3: tratamiento oral de la distrofia muscular de Duchenne mediada por mutaciones sin sentido

El presente ejemplo establece un régimen de dosificación ilustrativo útil para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne mediada por mutaciones sin sentido.

Se proporciona el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo como un polvo con sabor a vainilla para suspensión. El fármaco se fabrica bajo las actuales condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). La formulación puede incluir agentes aglutinantes y de suspensión, tensoactivos y diversos excipientes menores que ayudan en el proceso de fabricación. La mezcla puede ser empaquetada en botellas de plástico (polietileno de alta densidad [HDPE]) de 40 ml selladas con un sello

de papel de aluminio y una tapa blanca de plástico, a prueba de niños. Cada botella puede contener 125, 250 o 1000 mg de la sustancia del fármaco, que es 25,0% del peso total de la formulación. Alternativamente, la mezcla puede proporcionarse en una formulación de bolsita, tal como se establece en el ejemplo 6. Los excipientes (y sus proporciones del peso total de la formulación) incluyen un agente de suspensión (Litesse® Ultra [polidextrosa refinada] -25,7%), un agente aglutinante que también puede proporcionar enmascaramiento del sabor (manitol-25,0%), agentes tensioactivos (polietilenglicol 3350 -12,8% y Lutrol® micro F127 [polvo de poloxámero 407] -3,7%), un disgregante (crospovidona -5,0%) y otros excipientes, cada uno en menos del 2% (hidroxietilcelulosa, sabor de vainilla, estearato de magnesio [no-bovino] y sílice coloidal) pueden estar presentes. Las etiquetas de las botellas indican la identidad del fármaco, el número de lote, la cantidad de fármaco y las condiciones de almacenamiento (por ejemplo, a temperatura ambiente o con refrigeración de 5° a 8° C).

La dosis del fármaco se basa en miligramos de fármaco por kilogramo de peso corporal del paciente. El volumen total correspondiente a la cantidad total de miligramos de fármaco que se administra a un paciente debe ser calculado. Por ejemplo, si un paciente de 30 kg va a tomar 4 mg/kg, entonces la dosis que se administrará será $30 \times 4 = 120$ mg. Este paciente debería ser dosificado utilizando la botella de 250 mg. Puesto que cada ml de la suspensión en la botella de dosis de 250 mg contiene $250/10 = 25$ mg del fármaco, este paciente debería recibir $120/25 = \sim 5$ ml de la suspensión para cada dosis de 4 mg/kg). El mismo paciente al ser tratado con la dosis de 8 mg/kg por la noche tendría una dosis calculada de 240 mg y recibiría una botella de 250 mg (suspensión de 10 ml). Estos volúmenes de las suspensiones para las respectivas dosis deberían ser retirados de la botella de fármaco utilizando una jeringa de dosificación oral de plástico. Para la transferencia de volúmenes fraccionarios de <10 (para la botella de 250 mg) o <20 ml (para la botella de 1000 mg) la cantidad deseada debería ser retirada de la botella de medicación del estudio con una jeringa de dosificación de un tipo y tamaño apropiado (por ejemplo, una jeringa de dosificación oral de plástico Baxa, Exacta-med, calibrada y libre de látex y dosificada usando la misma jeringa. Durante las 24 horas después de la reconstitución, >1 dosis se pueden tomar de la misma botella de suspensión; sin embargo, el medicamento reconstituido no debe ser almacenado más allá de 24 horas con la intención de usar este material de nuevo para dosis múltiples en el mismo paciente. Si la cantidad total de fármaco en 1 día excede 10 ml (botella de 250 mg) o 20 ml (botella de 1000 mg) del medicamento reconstituido, un nuevo frasco de medicamento debe utilizarse para cada dosificación.

La reconstitución y dosificación del producto de fármaco se realiza a temperatura ambiente. Ningún calentamiento específico del producto de fármaco es necesario antes de su reconstitución. El fármaco puede ser reconstituido con cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, bebidas carbonatadas, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé). Para cada botella de 250 mg proporcionada, se añade 10 ml de agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable para lograr una concentración de alrededor de 25 mg/ml en el volumen total de suspensión. Para cada botella de 1000 mg proporcionada, se añade 20 ml de agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable para lograr una concentración de alrededor de 50 mg/ml en el volumen total de suspensión. Inmediatamente después de añadir el agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable a la medicación de estudio seca, la botella(s) se tapa(n) y se agita(n) vigorosamente con la mano durante cerca de 60 segundos para lograr la homogeneidad de la suspensión. Aunque la suspensión puede permanecer en la botella de plástico original hasta 24 horas antes de la ingestión, se recomienda tomarse el medicamento poco después de la reconstitución. Si hay un retraso de más de 15 minutos entre la reconstitución y dosificación, la botella debe ser agitada de nuevo vigorosamente a mano durante unos 60 segundos.

El tratamiento se administra continuamente durante el tiempo necesario a un paciente que tiene o es susceptible de tener distrofia muscular de Duchenne. La tabla 2 expone regímenes de dosificación ilustrativos diariamente para el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo en donde se produce la administración tres veces al día a intervalos de 6, 6 y 12 horas (por ejemplo, ~ a las 7:00, ~13:00 y ~19:00) con la comida. En una realización particular, al paciente se le administra el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en uno de los regímenes de dosificación expuestos en la tabla 2 continuamente durante 28 días. En ciertas realizaciones, un régimen de dosificación diario único expuesto en la tabla 2 es seguido cada día. En otras realizaciones, pueden seguirse diferentes regímenes de dosificación establecidos en la tabla 2 en días diferentes. En ciertas realizaciones, el fármaco se proporciona como una bolsita. En estas realizaciones, la cantidad apropiada del fármaco puede ser pesada o medida y combinada con un disolvente apropiado farmacéuticamente aceptable antes de la administración.

Tabla 2. Esquema de dosificación

	1	2	3
Régimen	Dosificación tid con comida	Dosificación tid con comida	Dosificación tid con comida
Régimen	Administración diaria continua	Administración diaria continua	Administración diaria continua

Hora	Dosis		
~7:00	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~13:00	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~19:00	8 mg/kg	14 mg/kg	20 mg/kg
Abreviaturas: tid = tres veces al día			

Los pacientes toman el fármaco dentro de los 30 minutos después de una comida; idealmente se tomará el fármaco a intervalos de aproximadamente 6, 6 y 12 horas (por ejemplo, a ~7:00 después del desayuno, ~13:00 después del almuerzo y ~19:00 después de la cena). Los pacientes ingieren el fármaco rellenando cada botella con la cantidad necesaria de agua u otros disolventes farmacéuticamente aceptables, tapando y agitando cada botella durante unos 60 segundos, retirando la cantidad apropiada de volumen de la botella usando una jeringa de dosificación oral e ingiriendo el contenido directamente de la jeringa de dosificación oral. Todo el volumen calculado de medicamento reconstituido, correspondiente a la dosis debe tomarse de una vez. Después de la ingestión del fármaco, la jeringa de dosificación debe llenarse con el mismo volumen de agua u otro disolvente farmacéuticamente aceptable igual que el volumen de la dosis y debe ser ingerido por el paciente. Este procedimiento de enjuague debe realizarse una vez.

La eficacia del tratamiento puede determinarse midiendo el cambio del valor de las concentraciones basales de distrofina en una biopsia del músculo extensor digitorum brevis (EDB) del pie.

5.4 Ejemplo 4: Preparación de dosis sin sabor del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo

Se proporciona el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo como un polvo para suspensión. El fármaco se fabrica bajo las actuales condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). El fármaco puede ser íntimamente mezclado con agentes aglutinantes y de suspensión, tensioactivos y diversos excipientes menores que ayudan en el proceso de fabricación. La mezcla se empaqueta en una botella de plástico (polietileno de alta densidad [HDPE]) de 40 ml sellada con un sello de papel de aluminio y una tapa blanca de plástico, a prueba de niños. Cada botella puede contener alrededor de 35 mg, alrededor de 70 mg, alrededor de 125 mg, alrededor de 140 mg, alrededor de 175 mg, alrededor de 250 mg, alrededor de 280 mg, alrededor de 350 mg, alrededor de 560 mg, alrededor de 700 mg, alrededor de 1000 mg o alrededor de 1400 mg del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo. Los excipientes (y sus proporciones del peso total de la formulación) opcionalmente incluyen un agente de suspensión (Litesse® Ultra [polidextrosa refinada] - 25,7%), un agente aglutinante que también puede proporcionar enmascaramiento del sabor (manitol - 25,0%), agentes tensioactivos (polietilenglicol 3350 - 12,8% y Lutrol® micro F127 [polvo de poloxámero 407] - 3,7%), un disgregante (crospovidona - 5,0%) y otros excipientes, cada uno en menos del 2% (cab-o-sil, hidroxietilcelulosa, estearato de magnesio [no-bovino] y sílice coloidal) pueden estar presentes. La botella es entonces etiquetada para indicar la identidad del fármaco, el número de lote, la cantidad de fármaco y las condiciones de almacenamiento (por ejemplo, con refrigeración de 5° a 8° C). Antes de la administración, el fármaco se reconstituye con cualquier disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, bebidas carbonatadas, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé).

5.5 Ejemplo 5: Preparación de dosis con sabor del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo

Se proporciona el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo como un polvo con sabor a vainilla (por ejemplo, por adición de un extracto de vainilla) para suspensión. El fármaco se fabrica bajo las actuales condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). El fármaco puede ser íntimamente mezclado con agentes aglutinantes y de suspensión, tensioactivos y diversos excipientes menores que ayudan en el proceso de fabricación. La mezcla se empaqueta en una botella de plástico (polietileno de alta densidad [HDPE]) de 40 ml sellada con un sello de papel de aluminio y una tapa blanca de plástico, a prueba de niños. Cada botella puede contener alrededor de 35 mg, alrededor de 70 mg, alrededor de 125 mg, alrededor de 140 mg, alrededor de 175 mg, alrededor de 250 mg, alrededor de 280 mg, alrededor de 350 mg, alrededor de 560 mg, alrededor de 700 mg, alrededor de 1000 mg o alrededor de 1400 mg del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo. Los excipientes (y sus proporciones del peso total de la formulación) opcionalmente incluyen un agente de suspensión (Litesse® Ultra [polidextrosa refinada] - 25,7%), un agente aglutinante que también puede proporcionar enmascaramiento del sabor (manitol - 25,0%), agentes tensioactivos (polietilenglicol 3350 - 12,8% y Lutrol® micro F127 [polvo de poloxámero 407] - 3,7%), un disgregante (crospovidona - 5,0%) y otros excipientes, cada uno en menos del 2% (cab-o-sil, hidroxietilcelulosa, sabor de vainilla, estearato de magnesio [no-bovino] y sílice coloidal)

5 pueden estar presentes. La botella es entonces etiquetada para indicar la identidad del fármaco, el número de lote, la cantidad de fármaco y las condiciones de almacenamiento (por ejemplo, con refrigeración de 5° a 8° C). Antes de la administración, el fármaco se reconstituye en un volumen apropiado de un disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, bebidas carbonatadas, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé). El producto de fármaco puede ser almacenado a temperatura ambiente durante hasta 48 horas antes de su reconstitución.

5.6 Ejemplo 6: Formulación en bolsita del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato, del mismo

10 La mezcla se empaqueta utilizando un saquillo o bolsita que consta de varias capas laminadas que pueden incluir una capa de papel, una capa de papel de aluminio y una capa de resina de surlyn. Cada bolsita puede contener alrededor de 125 mg, alrededor de 250 mg, alrededor de 500 mg o alrededor de 1000 mg del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo. Los excipientes (y sus proporciones del peso total de la formulación) opcionalmente incluyen cualquiera de los siguientes presentados en la tabla 3 y tabla 4.

15

Tabla 3. Formulación

Ingrediente	% en peso
ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo	25,0
Litesse® Ultra	24,75
Polietilenglicol	12,8
Lutrol® micro	3,7
Manitol	25,0
Hidroxietilcelulosa	1,5
Sabor a vainilla	0,75
Crospovidona	5,0
Cab-o-sil	0,5
Estearato de magnesio	0,5
Talco	0,5

Tabla 4. Formulación

Ingrediente	% en peso
ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo	25,0
Litesse® Ultra	25,65
Polietilenglicol	12,8
Lutrol® micro	3,7
Manitol	25,0
Hidroxietilcelulosa	1,5
Sabor a vainilla	0,75

Crospovidona	5,0
Cab-o-sil	0,1
Estearato de magnesio	0,5

La bolsita es entonces etiquetada para indicar la identidad del fármaco, el número de lote, la cantidad de fármaco y las condiciones de almacenamiento (por ejemplo, con refrigeración de 2° a 8° C). Antes de la administración, una cantidad apropiada del producto de fármaco se reconstituye en un volumen apropiado de un disolvente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua, leche, bebidas carbonatadas, jugo, salsa de manzana, comida de bebé o fórmula de bebé). El producto de fármaco puede ser almacenado a temperatura ambiente durante hasta 48 horas antes de su reconstitución.

5.7 Ejemplo 7: Ensayo de diferencia de potencial (TEPD) transepitelial

La medición de la diferencia de potencial (TEPD) transepitelial también conocida como diferencia de potencial nasal, proporciona una evaluación sensible del transporte de sodio y cloruro directamente en las células epiteliales secretoras por medio de la evaluación de las propiedades bioeléctricas transepiteliales (Knowles *et al.*, 1981, *N. Engl. J. Med.* 305(25):1489-95; Knowles *et al.*, 1995, *Hum. Gene Ther.* 6:445). La medición de TEPD se realiza en cada fosa nasal utilizando técnicas estandarizadas (Standaert *et al.*, 2004, *Ped Pulm.* 37:385-92). En el procedimiento, se utiliza un pequeño catéter de plástico para evaluar diferencias eléctricas a través de la membrana celular externa de las células de la mucosa nasal en la fosa nasal. Los valores de TEPD se expresan en milivoltios o mV. Una conductancia de cloruro igual a o más eléctricamente negativa de -5,0 mV es considerada generalmente en el rango normal. Se realizan evaluaciones de TEPD en las células del epitelio nasal que recubren el cornete inferior porque estas células son más fáciles de acceso que las células epiteliales respiratorias que recubren las vías respiratorias inferiores y han demostrado tener las mismas características de transporte de iones (Knowles *et al.*, 1981, *Am. Rev. Respir. Dis.* 124(4):484-90. Evaluaciones de TEPD también pueden hacerse en células epiteliales del recto y células epiteliales respiratorias inferiores. Debido al papel de la proteína CFTR en el transporte de iones de cloruro a través de las membranas celulares, y debido a la ausencia de esta proteína, pacientes con fibrosis quística tienen una conductancia anormal de cloruro TEPD. Como punto final, la medición de TEPD tiene la ventaja de que puede detectar cambios de transporte de cloruro que son una integración cuantitativa de la presencia, actividad funcional y localización apical de CFTR en las células de las vías respiratorias. Además, es una medida directa de la actividad de CFTR que no es probable que sea afectada por los tratamientos de apoyo o paliativos para FQ (con la posible excepción de antibióticos aminoglicósidos administrados sistémicamente). De importancia es la evidencia de que los valores de TEPD se pueden correlacionar con el grado de disfunción pulmonar y anomalía radiográfica (Ho *et al.*, 1997, *Eur. Respir. J.* 10(9):2018-22; Fajac *et al.*, 1998, *Eur. Respir. J.* 6:1295-300; Sermet-Gaudelus *et al.*, *Am. J Respir. Crit. Care Med.* 171(9):1026-1031). En particular, la evaluación TEPD de la actividad de cloruro de CFTR inducida por isoproterenol ha demostrado mejor valor predictivo que el genotipo en la determinación de FEV1 y puntuación radiológica (Ho *et al.*, 1997, *Eur Respir J.* 10(9):2018-22). Bajo condiciones de línea de base, la actividad del canal de cloruro evaluada por TEPD es muy improbable que se normalice espontáneamente en los pacientes con FQ; se espera que cualquier mejoría observada en la actividad del canal de cloruro evaluada por TEPD denote específicamente la actividad farmacológica de las terapias de corrección de CFTR. En consecuencia, se ha convertido en el principal punto final en los estudios farmacológicos y de reemplazamiento genético de fase 1-2 encaminados a corregir la disfunción de CFTR (Peckham *et al.*, 1995, *AJ. Clin Sci (Londres).* 89(3):277-84; Wilschanski *et al.*, 2003, *N. Engl. J. Med* 349(15):1433-41).

5.8 Ejemplo 8: Inmunofluorescencia de CFTR

La recolección y procesamiento del legrado mucoso nasal de cada orificio nasal de un paciente para medición de la proteína CFTR por inmunofluorescencia y cuantificación del ARNm de CFTR se realiza utilizando técnicas estandarizadas (Clancy *et al.*, 2001, *Am. J Respir. Crit. Care Med.* 163(7):1683-92; Amaral *et al.*, 2004, *J. Cyst. Fibros.* 3 Supp 2:17-23). La tinción por inmunofluorescencia de las células epiteliales normales (por ejemplo, de los raspados de las mucosas nasales) revela la presencia de la mayoría de la proteína CFTR en la superficie apical. En modelos animales de FQ mediada por mutaciones sin sentido o en pacientes con FQ mediada por mutaciones sin sentido, la tinción de CFTR está ausente (por ejemplo, en pacientes homocigóticos para una mutación de parada prematura) o se observa principalmente en la región perinuclear (por ejemplo, en pacientes con una mutación $\Delta F508$ que previene el tráfico normal intracelular de CFTR). La producción exitosa de proteína tipo CFTR funcional silvestre o no silvestre tanto en modelos animales como en pacientes se ha asociado con la reaparición de la proteína CFTR epitelial apical evaluada por inmunofluorescencia (Clancy *et al.*, 2001, *Am. J Respir. Crit. Care Med.* 163(7):1683-92; Wilschanski *et al.*, 2003, *N. Engl. J. Med* 349(15):1433-41).

5.9 Ejemplo 9: Pruebas de función pulmonar

Las pruebas de función pulmonar, incluyendo FEV₁, FVC y MEF₂₅₋₇₅, se miden usando procedimientos estándar de espirometría. Las evaluaciones de la función pulmonar (incluyendo MEF₂₅₋₇₅, FVC y, particularmente, FEV₁) han sido reconocidas como los puntos finales clínicos definitivos en pacientes con FQ (Food and Drug Administration, 62°

Comité Asesor de fármacos Antiinfecciosos. Discusión de NDA para la solución de tobramicina para inhalación (Tobi®) para el manejo de pacientes con fibrosis quística. Noviembre de 1997; Tiddens, 2002, *Pediatr. Pulmonol.* 34(3):228-31). Se ha demostrado que FEV₁ y otras medidas de pruebas de la función pulmonar se correlacionan con la severidad de la enfermedad, predicen la morbilidad en términos de utilización de los cuidados sanitarios y el uso de antibióticos intravenosos, e indican el riesgo de mortalidad asociada a FQ (Food and Drug Administration, 62^o Comité Asesor de fármacos Antiinfecciosos. Discusión de NDA para la solución de tobramicina para inhalación (Tobi®) para el manejo de pacientes con fibrosis quística. Noviembre de 1997). Las pruebas de función pulmonar son fáciles de administrar (incluso en pacientes tan jóvenes como de 7 años de edad), y utilizan equipos estandarizados y técnicas que están ampliamente disponibles. La interpretación se realiza utilizando ecuaciones normativas bien establecidas que tienen en cuenta la edad del paciente, la altura y el género. La mejora en el FEV₁ ha sido reconocida como que demuestra cuantitativamente un beneficio clínico significativo en FQ, y ha servido como base para la aprobación reglamentaria de dornasa alfa y tobramicina inhalada (Food and Drug Administration, 62^o Comité Asesor de fármacos Antiinfecciosos. Discusión de NDA para la solución de tobramicina para inhalación (Tobi®) para el manejo de pacientes con fibrosis quística. Noviembre, 1997).

5.10 Ejemplo 10: Estudio de fase 2 del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico como tratamiento oral para la fibrosis quística mediada por mutaciones sin sentido

Los pacientes deben haber cumplido todas las condiciones siguientes para ser elegibles para la inscripción en el estudio:

1. Diagnóstico de FQ basado en evidencias documentadas de una prueba de sudor concluyentemente anormal (cloruro del sudor >60 mEq/litro por iontoforesis de pilocarpina (LeGrys, Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis: Approved guidelines - segunda edición. National Committee for Clinical Laboratory Standards 2000;Vol 20:14»);
2. Secreción anormal de cloruro como se mide por TEPD (una más positiva que la evaluación de TEPD de -5 mV de la secreción de cloruro con amilorida libre de cloruro e isoproterenol);
3. Presencia de una mutación sin sentido en uno de los alelos del gen *cftr*;
4. Documentación de que se ha realizado la secuenciación del gen *cftr*;
5. Edad ≥ 18 años;
6. Peso corporal ≥ 40 kg;
7. FEV₁ ≥ 40% del predicho para la edad, sexo y altura (normas de Knudson) (Knudson, 1983, *Am. Rev. Respir. Dis.* 127: 725-734);
8. Saturación de oxígeno (medida por oximetría de pulso) ≥ 92% en el aire de la habitación;
9. Disposición de los pacientes masculinos y femeninos, si no son quirúrgicamente estériles, a abstenerse de relaciones sexuales o emplear un método de barrera o médico de anticoncepción durante la administración del fármaco del estudio y periodos de seguimiento;
10. Prueba de embarazo negativa (para las mujeres con potencial de maternidad);
11. Voluntad y capacidad para cumplir con las visitas programadas, plan de administración de medicamentos, procedimientos del estudio (incluyendo las mediciones de TEPD, pruebas de laboratorio clínico y muestreo PK) y restricciones del estudio;
12. Capacidad para dar el consentimiento informado por escrito; y
13. Evidencia de consentimiento informado fechado y firmado personalmente indicando el documento que el paciente ha sido informado de todos los aspectos pertinentes del ensayo.

La presencia de cualquiera de las siguientes condiciones excluye a un paciente de inscripción en el estudio:

1. Una condición médica previa o en curso (por ejemplo, enfermedad concomitante, afección psiquiátrica, alcoholismo, drogadicción), historia clínica, hallazgos físicos, hallazgos de ECG o anomalías de laboratorio que, en opinión del investigador, podrían afectar adversamente la seguridad del paciente, que hacen poco probable que el curso de tratamiento o seguimiento fuera completado, o que podrían afectar a la evaluación de los resultados del estudio;
2. Enfermedad aguda existente, incluyendo infecciones respiratorias agudas superiores o inferiores dentro de las 2 semanas antes del inicio del tratamiento del estudio;

3. Historia de complicaciones importantes de la enfermedad pulmonar (incluyendo recientes hemoptisis masiva o neumotórax) dentro de los 2 meses antes del inicio del tratamiento del estudio;
4. Anomalías en los rayos X de tórax de la selección del estudio sugiriendo una enfermedad pulmonar clínicamente significativa activa distinta de FQ, o nuevas, significativas anomalías tales como atelectasia o derrame pleural que pueden ser indicativas de participación pulmonar clínicamente significativa secundaria a la FQ;
5. Prueba positiva del antígeno de superficie de la hepatitis B, prueba de anticuerpos de la hepatitis C o el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH);
6. Hemoglobina <10 g/dl;
7. Albúmina sérica <2,5 g/dl;
10. 8. Función hepática anormal (bilirrubina total sérica > del límite superior normal, o ALT, AST y GGT séricas > 2,0 veces el límite superior normal);
9. Función renal anormal (creatinina sérica > 1,5 veces el límite superior de lo normal);
10. Embarazo o lactancia;
11. Historia de trasplantes de órganos sólidos o hematológicos;
15. 12. Exposición a otro fármaco en investigación dentro de los 14 días antes del inicio del tratamiento del estudio;
13. Participación existente en otro ensayo clínico terapéutico;
14. Utilización existente de agonistas del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma de la tiazolidinadiona (PPAR γ), por ejemplo, rosiglitazona (Avandia® o equivalente) o pioglitazona (Actos® o equivalente);
20. 15. Cambio en los medicamentos intranasales (incluyendo el uso de corticosteroides, cromolin, bromuro de ipratropio, oximetazolina o fenilefrina) dentro de los 14 días antes del inicio del tratamiento del estudio;
16. Cambio en el tratamiento con corticosteroides sistémicos o inhalados dentro de los 14 días antes del inicio del tratamiento del estudio;
17. El uso de o requerimiento para la gentamicina o amikacina inhaladas dentro de los 14 días antes del inicio del tratamiento del estudio o durante el tratamiento del estudio; o
25. 18. Necesidad de antibióticos aminoglicósidos sistémicos dentro de los 14 días antes del inicio del tratamiento del estudio.

El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico fue proporcionada en una formulación descrita en esta solicitud. A 15 pacientes (12 del ensayo de fase 2, que se llevó a cabo en Israel y 3 del ensayo de fase 2, que se llevó a cabo en los Estados Unidos; siete pacientes fueron de sexo masculino y 8 eran de sexo femenino; los pacientes tenían una mediana de edad de 22 años; y todos los pacientes presentaban múltiples signos y síntomas de la fibrosis quística, incluyendo algún grado de disfunción pulmonar) se les administró por vía oral el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico según el siguiente calendario de 56 días: administración del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico tres veces al día (tid) a 4 mg/kg, 4 mg/kg y 8 mg/kg durante 14 días, seguido de ningún tratamiento durante 14 días (ciclo 1, conformado por 28 días), seguido de la administración del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico tres veces al día (tid) a 10 mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg durante 14 días, seguido de ningún tratamiento durante 14 días (ciclo 2, conformado por 28 días).

Los puntos finales clínicos fueron evaluados utilizando los procedimientos establecidos antedichos. Las mediciones de TEPD se realizaron antes del tratamiento y en los días 14 y 28 del ciclo 1 y ciclo 2. El legrado mucoso nasal se obtuvo de cada fosa nasal de cada paciente antes del tratamiento y en los días 14 y 28 del ciclo 1 y ciclo 2. Pruebas pulmonares, incluyendo FEV₁, FVC y MEF₂₅₋₇₅, se midieron antes del tratamiento, en el día 1 del ciclo 2, en el día 13 o 14 del ciclo 1 y en el día 13 o 14 del ciclo 2 en el estudio que se llevó a cabo en Israel y los mismos parámetros se midieron antes del tratamiento y en el día 13 o 14 del ciclo 2 en el estudio que se llevó a cabo en los Estados Unidos.

Promedio del cambio en la conductancia del cloruro TEPD. Este es el promedio de los cambios desde el principio hasta el final del periodo de tratamiento en la conductancia del cloruro TEPD en cada participante del estudio. Por ejemplo, si los cambios en la conductancia del cloruro TEPD en cada uno de tres participantes fueron -7,0 mV, -2,0 mV y -9,0 mV, el cambio promedio en la conductancia de cloruro TEPD entre estos participantes sería -6,0 m V.

Porcentaje de pacientes con una respuesta a la conductancia del cloruro. Este es el porcentaje de pacientes que demostraron una respuesta a la conductancia de cloruro TEPD al final del tratamiento con el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico. Para efectos de los ensayos, una respuesta a la conductancia de cloruro se

define como una mejora de la conductancia de cloruro TEPD de al menos -5 mV. Por ejemplo, en un paciente con un valor de conductancia de cloruro TEPD de +1,0 mV en la línea de base y un valor de conductancia de cloruro TEPD de -6,0 mV al final del tratamiento, la mejora de conductancia de cloruro TEPD sería -7,0 mV, que representa una respuesta de conductancia de cloruro.

5 *Porcentaje de pacientes con mejoras de valores de conductancia de cloruro TEPD en el rango normal.* Como se señaló anteriormente, una conductancia de cloruro igual o más eléctricamente negativa de -5,0 mV es considerada en el rango normal. Como tal, se consideraría un paciente con un valor de conductancia de cloruro TEPD de +1,0 mV en la línea de base como con un valor anormal, ya que el valor es más eléctricamente positivo que -5,0 mV. Si, al final del tratamiento, el valor de conductancia de cloruro TEPD de ese paciente mejoró a -6,0 mV, esto representaría una mejora en el rango normal ya que el valor mejorado es más eléctricamente negativo que -5,0 mV.

10 Basado en el género del paciente, edad y altura, el valor medio de FEV₁ al ingreso al estudio fue del 66% de lo normal y el valor medio de FVC al ingreso al estudio fue de 80% de lo normal. Catorce de los 15 pacientes incluidos en el análisis tuvieron colonización de las vías respiratorias con *Pseudomonas aeruginosa*, una infección bacteriana común en pacientes con fibrosis quística que puede conducir a una grave neumonía. Catorce de los 15 pacientes también tenían insuficiencia pancreática y requirieron terapia de reemplazo de la enzima pancreática crónica. Los pacientes tenían peso corporal bajo, con un peso promedio de 58,3 kg al ingreso al estudio.

15 La tabla 5 presenta los resultados TEPD para los 5 pacientes. Para cada medición, se presentan los resultados en base del mejor conducto nasal y media-de-ambosconductos nasales. Históricamente, típicamente se han presentado los resultados de pruebas TEPD en base al mejor conducto nasal. Sin embargo, recientes directrices establecidas por la red de desarrollo de terapias de la Fibrosis Quística recomiendan que los resultados TEPD se presenten con ambas bases. Se observaron mejoras en la conductancia de cloruro TEPD en pacientes con diferentes tipos de mutaciones sin sentido en el gen CFTR.

Tabla 5

Resultado TEPD	Nivel de dosis bajo		Nivel de dosis alto	
	Resultado	Valor de p	Resultado	Valor de p
Promedio del cambio en la conductancia del cloruro TEPD:				
Mejor conducto nasal	-9,0 mV	<0,001	-6,4 mV	<0,010
Promedio de ambos conductos nasales	-6,7 mV	<0,001	-4,4 mV	<0,023
Número de pacientes con mejora ≥ -5 mV en la conductancia del cloruro TEPD:				
Mejor conducto nasal	9/15 (60%)	<0,001	8/15 (53%)	<0,001
Promedio de ambos conductos nasales	6/15 (40%)	0,005	7/15 (47%)	<0,001
Número de pacientes con mejora en la conductancia del cloruro TEPD a normal:				
Mejor conducto nasal	8/15 (53%)	0,008	8/15 (53%)	0,008
Promedio de ambos conductos nasales	6/15 (40%)	0,032	7/15 (47%)	0,016

25 Los efectos del tratamiento en los niveles de dosis altos y bajos del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico no fueron estadísticamente significativos, sugiriendo que mayor escalamiento de la dosis puede no ser necesario y que incluso menores dosis del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico pueden ser eficaces en la mejora de la conductancia de cloruro TEPD. También se observaron resultados estadísticamente significativos y tendencias positivas para los puntos finales secundarios. En particular, aunque a los ensayos no se les había dado suficiente poder para detectar cambios significativos en los puntos finales secundarios, se observaron mejoras estadísticamente significativas desde el ingreso al estudio hasta el final del ciclo de tratamiento de niveles de dosis más alto en el promedio de FEV₁, FVC y peso de los pacientes. La tabla 6 presenta los resultados. Para los cambios en la función pulmonar, un paciente no fue incluido debido a que el paciente no tuvo una medida de la función pulmonar al final del ciclo de tratamiento de la dosis más alta.

Tabla 6

Punto final	Entrada al estudio	Final de tratamiento de dosis alta	Cambio	Valor de p
Función pulmonar (como porcentaje de la normal para el género, edad y altura):				
Promedio de FEV ₁	65,8%	69,1%	3,3%	0,015
Promedio de FVC.....	80,2%	85,1%	4,9%	0,037
Peso	58,3% kg	59,0% kg	0,7 kg	0,012

Además, aunque los cambios en los síntomas del paciente no fueron medidos formalmente mediante el uso de un cuestionario de calidad de vida, se pidió a los investigadores del ensayo que preguntaran acerca de los cambios en los síntomas de la fibrosis quística de los pacientes. En los 15 pacientes incluidos en el análisis provisional, 6 reportaron mejoras generales de bienestar, 6 reportaron disminución de la tos y 10 reportaron disminución del espesor del moco y eliminación de moco más fácil.

5.11 Ejemplo 11: expresión de distrofina, sarcoglicano y distroglicano por inmunofluorescencia y Western Blotting

Se realiza la biopsia del músculo EDB y la piel que lo recubre en un pie bajo anestesia local y sedación consciente (en algunos casos puede requerir anestesia general) antes del tratamiento, y del otro pie en el último día de tratamiento. El procedimiento de la biopsia se realiza mediante técnicas estandarizadas (Stedman, 2000, Human Gene Therapy 11: 777-90). Todo el vientre muscular (siempre que sea posible) se quita en el procedimiento. En el momento de la recogida de la biopsia antes del tratamiento, la muestra de músculo se divide en al menos 3 fragmentos y la muestra de biopsia recogida en el último día de tratamiento se divide en al menos 2 fragmentos. El espécimen de la biopsia se coloca sobre una esponja de gasa telfa humedecida con solución salina de Ringer. El espécimen de la biopsia se examina con un microscopio de disección estéreo a baja potencia para establecer la orientación de las fibras. Luego, el músculo se corta utilizando un bisturí afilado en forma seccional transversal (perpendicular a la orientación de las fibras) siempre que sea posible y se le deja reposar 2 minutos para que cese el espasmo. La muestra es entonces congelada en isopentano, refrigerada con nitrógeno líquido, transferida a un tanque de nitrógeno líquido y mantenida 1 pulgada por encima de la interfaz de líquido/vapor durante 2 minutos de enfriamiento lento y evaporación del isopentano antes de la inmersión en el nitrógeno líquido, y envuelta en papel de aluminio previamente enfriado (en nitrógeno líquido y almacenado en hielo seco), y etiquetada con el número de estudio, número del centro, número de paciente, fecha, iniciales del paciente y lado del pie (pie derecho o pie izquierdo).

Todos los recipientes de muestras están claramente etiquetados en una forma que identifica al paciente y la fecha de recogida. Las etiquetas se fijan a los recipientes de muestra en una forma que evite que la etiqueta se despegue. Las muestras se envían para análisis/cultivo/análisis/revisión central inmediatamente después de que se realice el procedimiento. Para la detección de la distrofina, se emplean 3 anticuerpos disponibles comercialmente que reconocen el C-terminal, el N-terminal, y el dominio de la varilla de la proteína. Para la detección de los complejos de sarcoglicano y distroglicano, se utilizan cuando sea posible anticuerpos comercialmente disponibles contra α -, β -, γ -, y δ -sarcoglicano y β -distroglicano. Microscopía de epifluorescencia es utilizada en el análisis; las imágenes son capturadas por una cámara CCD, después de la normalización de la intensidad de la fluorescencia frente a una muestra muscular normal. Las imágenes son almacenadas digitalmente y conservadas para futura revisión, y evaluación final al completarse la realización del estudio. Los tejidos también son procesados para detección de distrofina, sarcoglicanos y β -distroglicano por Western blot usando los mismos anticuerpos. Las imágenes microscópicas son capturadas y conservadas para futura revisión y evaluación final al completarse la realización del estudio. Las muestras de tejido muscular restantes se conservan para ensayos confirmatorios de ARNm y las proteínas involucradas en DMD. Se emplean la inmunotinción y Western blotting para la detección de proteínas.

Las biopsias de músculo se realizan comúnmente en pacientes de DMD como un componente de diagnóstico y como medida del efecto terapéutico en el contexto de estudios de investigación. Se ha escogido EDB porque no es un músculo esencial para las actividades diarias y el muestreo, por lo tanto, de este músculo no tiene consecuencias funcionales adversas para el paciente. Ya que es poco utilizado, es improbable que el músculo EDB demuestre considerable sustitución fibrosa del músculo y proporciona así un tejido adecuado para la detección de la producción de distrofina. El muestreo del músculo EDB ofrece ventajas prácticas adicionales ya que es fácil de identificar, puede ser diseccionado con anestesia local, y proporciona suficientes cantidades de tejido para llevar a cabo los análisis necesarios. La inmunofluorescencia y el Western blotting son exámenes de rutina realizados en muestras de biopsia muscular para confirmar la presencia o ausencia de distrofina completa. La ausencia de distrofina es vista como una confirmación del diagnóstico de DMD. La restauración de distrofina, con localización en la membrana muscular, ha

sido considerada como una medida directa de actividad farmacodinámica preclínica y clínica (Barton-Davis, 1999, *J. Clin. Invest.* 104(4): 375-81; Politano, 2003, *Acta Myol.* 22(1):15-21).

5.12 Ejemplo 12: Miometría de las extremidades superiores e inferiores

5 Se realiza la miometría de las extremidades superiores e inferiores utilizando un miómetro portátil siguiendo procedimientos estandarizados (Beenakker, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(5): 441-6; Hyde, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(2): 165-70). Es recomendable (según el estado funcional de línea de base del paciente) que los grupos musculares evaluados incluyan los abductores de cadera, extensores de rodilla, extensores y flexores de codo, y de presión de la mano. Pueden realizarse evaluaciones bilaterales, y pueden grabarse tres mediciones de cada grupo muscular en cada lado. Estos parámetros son monitorizados antes del tratamiento, en el segundo a último día de tratamiento y durante un período de seguimiento después del tratamiento. Durante los períodos de pretratamiento y tratamiento, los procedimientos de miometría se realizan antes de la biopsia muscular.

15 Las evaluaciones de miometría utilizando un dinamómetro portátil son una medida sensible y reproducible de fuerza muscular en pacientes ambulatorios y no ambulatorios (Beenakker, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(5):441-6; Hyde, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(2): 165-70). La confiabilidad de los distintos evaluadores en las mediciones en pacientes con distrofia muscular es alta (Stuberg, 1988, *Phys. Ther.* 1988 68(6):977-82; Hyde, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(2):165-70). En comparación con la prueba de resistencia muscular manual, la miometría es una medida más sensible y menos compleja de la función muscular (McDonald, 1995, *Am. J. Phys Med. Rehabil.* (5 Suppl):S70-92). La prueba puede ser fácilmente administrada por el evaluador (por ejemplo, médico o fisioterapeuta).

5.13 Ejemplo 13: Pruebas de funcionalidad temporizadas

20 Las pruebas de funcionalidad temporizadas incluyen el tiempo que se tarda en ponerse de pie desde una posición supina, el tiempo que se tarda en caminar 10 metros, y el tiempo que se tarda en subir 4 escaleras de tamaño estándar (Mendell, 1989, *N. Engl. J. Med* 320(24):1592-7; Griggs, 1991, *Arch. Neurol.* 48(4):383-8). Estos parámetros son monitorizados antes del tratamiento, en el segundo a último día del tratamiento y durante un período de seguimiento después del tratamiento. Durante los períodos de pretratamiento y tratamiento, se realizan las pruebas de funcionalidad temporizadas antes de la biopsia muscular.

25 Estas pruebas (el tiempo que se tarda en ponerse de pie desde una posición supina, el tiempo que se tarda en caminar 10 metros, y el tiempo que se tarda en subir 4 escaleras de tamaño estándar) proporcionan una medida adicional de la capacidad funcional en pacientes ambulatorios. Las pruebas son reproducibles, comúnmente empleadas, fáciles de administrar y han documentado la respuesta a la intervención terapéutica con esteroides (Mendell, 1989, *N. Engl.J. Med* 320(24): 1592-7; Griggs, 1991, *Arch. Neurol.* 48(4):383-8).

5.14 Ejemplo 14: Concentraciones de CK sérica

35 La actividad de la CK sérica se evaluó mediante un ensayo cinético vinculado a NADH comercialmente disponible (Diagnostic Chemicals Ltd., Oxford, CT). Las concentraciones de CK sérica se miden antes del tratamiento, en el día 1 (antes de la primera dosis), día 7, día 14, día 21 y día 27 durante el tratamiento y en los días 42 y 56 después del tratamiento. La CK sérica aumenta en la distrofia muscular de Duchenne y por lo tanto es un marcador de diagnóstico fácil de medir para la enfermedad y puede servir como un bioindicador potencial de la actividad farmacológica del fármaco (Mendell *et al.*, 1989, *N. Engl.J. Med* 320(24): 1592-7).

40 La CK sérica proporciona una medida de la integridad muscular de todo el cuerpo. Las concentraciones de esta enzima en el suero aumentan de 50 a 100 veces en pacientes con DMD y las mediciones de su concentración se utilizan para hacer un diagnóstico precoz de la enfermedad (Worton, *The muscular dystrophies*, en: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D, editores. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. 8ª edición Vol. 4. New York: McGrawHill, 2001:5493-523). Se miden las concentraciones de CK sérica para monitorizar la progresión de la enfermedad y servir como marcador del daño muscular. Aunque los cambios inducidos por el ejercicio introducen variabilidad (Politano, 2003, *Acta. Myol.* 22(1):15-21), el marcador tiene ventajas ya que puede ser fácilmente, repetidamente y con frecuencia evaluado con un ensayo ampliamente disponible y confiable. Anteriores estudios clínicos han demostrado disminuciones de la CK sérica coincidiendo con mejoras en la fuerza muscular durante el tratamiento con esteroides (Reitter, 1995, *Brain Dev., Suppl*17:39-43).

5.15 Ejemplo 15: Cultivos de fibroblastos dérmicos y de células musculares

50 Los estudios se realizan en el tejido muscular y piel de pacientes para determinar si la producción de distrofina en los cultivos primarios de músculo de los pacientes se corresponde con la producción de distrofina *in vivo*. Estos experimentos evalúan si los fibroblastos dérmicos de pacientes, cuando se han diferenciado como células musculares *in vitro* por transfección con una construcción de expresión que produce Myo-D (Wang, 2001, *Development* 128: 4623-33), demuestran la producción de distrofina en respuesta al tratamiento. La correlación de la respuesta de las células de la piel con la actividad clínica puede ofrecer una prueba predictiva fácil de obtener para la selección de futuros pacientes para el tratamiento o para la detección de nuevos agentes para el tratamiento de DMD. Las células se cultivan como sigue. El material de biopsia se almacena durante el transporte en medio de proliferación humana (o PBS) y en hielo durante períodos más largos de tiempo si es necesario. Si el tejido no se

prepara dentro de 24 horas, el material puede ser congelado en medio de proliferación humana que contenga 10% de DMSO y almacenado en nitrógeno líquido (o hielo seco). En el momento en que el tejido se va a preparar para configurar la cultura de mioblastos, el material de biopsia se lava con PBS. Se añade PBS suficiente para mantener el tejido húmedo en una placa de cultivo. El material de biopsia es picado bien con hojas de afeitar, hasta formar una suspensión casi homogénea. Se añade aproximadamente 2 ml de solución de colegenasa/disypasa/CaCl₂ por gramo de tejido y se continúa picando durante varios minutos (por ejemplo, para una biopsia muscular de 5x5x5 mm se usa 1 ml de solución enzimática). La suspensión se transfiere a un tubo estéril y se incuba a 37° C en un baño de agua hasta que la mezcla es una papilla fina (por ejemplo, alrededor de 20 a 30 minutos). La suspensión es más homogeneizada mediante pipeteo de arriba a abajo varias veces durante la incubación. Pueden realizarse ciclos de resuspensión adicional transfiriendo de arriba a abajo con una jeringa si es necesario. Se añaden ocho ml de medio de proliferación humana a la suspensión y se mezcla. Se centrifuga la mezcla durante 10 minutos a 1200 rpm. El sedimento celular se resuspende en 3 ml de medio de proliferación humana. Las células se recubren sobre un pocillo de una placa de 6 pocillos recubiertos de colágeno o, dependiendo de la cantidad de material, en un matraz T25 revestido de colágeno. Las células se cultivan durante 48 horas, a 37° C y 5% CO₂. Las células no unidas se quitan y se transfieren a otro pocillo recubierto de colágeno (como copia de seguridad). Se añade medio de proliferación fresco al primer pocillo (3 ml). Las células se cultivan desde el primer pocillo hasta confluencia y hasta que se han obtenido dos frascos T75 confluentes. Para el almacenamiento, las células pueden ser congeladas desde un frasco T75 en 4 criotubos con 1 ml de medio de congelación. El contenido de las células miogénicas del cultivo se determina mediante la realización de una tinción de desmina. Es necesario el recubrimiento preliminar de los cultivos si el porcentaje de células desmina positivas es demasiado bajo.

5.16 Ejemplo 16: Estudio de fase 2 del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico como tratamiento para la distrofia muscular de Duchenne

Los pacientes deben haber cumplido todas las condiciones siguientes para ser elegibles para la inscripción en el estudio:

1. Diagnóstico de distrofia muscular de Duchenne basado en un fenotipo clínico antes de los 5 años de edad, con un aumento de la CK sérica y ausencia de distrofina en una biopsia muscular (tinción sarcolemal negativa con un anticuerpo a la porción C-terminal de la proteína de distrofina);
2. Presencia de una mutación sin sentido en el gen de distrofina;
3. Documentación de que se ha realizado la secuenciación del gen de distrofina, o si no se ha realizado todavía la secuenciación, que se ha enviado una muestra de sangre para la secuenciación confirmatoria del gen de distrofina;
4. Examen físico o evidencia de imagen radiográfica de músculos EDB en ambos pies;
5. Habilidad para moverse;
6. Sexo masculino;
7. Edad ≥ 5 años;
8. Disposición a abstenerse de relaciones sexuales o emplear un método de barrera o médico de anticoncepción durante la administración del fármaco del estudio y períodos de seguimiento en pacientes que se sabe son activos sexualmente;
9. Disposición y habilidad para cumplir las visitas programadas, plan de administración de fármaco, pruebas de laboratorio, restricciones del estudio, y procedimientos del estudio (incluyendo las biopsias musculares, miometría, y muestreo de PK);
10. Capacidad para dar el consentimiento informado si ≥ 18 años de edad, o consentimiento informado por escrito (con consentimiento parental/del responsable si ≥ 7 años de edad. Si el paciente es <7 años de edad se obtendrá solo el consentimiento parental/del responsable; y
11. Evidencia del documento de consentimiento personalmente firmado y fechado (consentimiento requerido también para niños ≥ 7 años de edad) que indica que el paciente/padres/responsable legal ha sido informado de que todos los aspectos pertinentes del ensayo deben seguirse.

La presencia de cualquiera de las siguientes condiciones excluirá a un paciente de inscripción en el estudio:

1. Una condición médica previa o en curso (por ejemplo, enfermedad concomitante, afección psiquiátrica, alcoholismo, drogadicción), historia clínica, hallazgos físicos, hallazgos de ECG o anomalías de laboratorio que, en opinión del investigador, podrían afectar adversamente la seguridad del paciente, que hacen poco probable que el curso de tratamiento o seguimiento fuera a completarse, o que podrían afectar a la evaluación de los resultados del estudio;

2. Síntomas clínicos y signos de insuficiencia cardiaca congestiva (American College of Cardiology/American Heart Association Etapa C o Etapa D) (Hunt, 2001, *J. Am. Coll. Cardiol.* 38:2101-13);
3. Prueba positiva del antígeno de superficie de la hepatitis B, prueba de anticuerpos de la hepatitis C o el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH);
- 5 4. Hemoglobina <10 g/dl;
5. Albúmina sérica <2,5 g/dl;
6. GGT o bilirrubina total sérica anormales (>el límite de laboratorio superior normal);
7. Función renal anormal (creatinina sérica > 1,5 veces el límite de laboratorio superior normal);
8. Historia de trasplantes de órganos sólidos o hematológicos;
- 10 9. Utilización existente de terapia inmunosupresora (diferente de los corticosteroides);
10. Exposición a otro fármaco en investigación dentro de los 28 días antes del inicio del tratamiento del estudio;
11. Participación existente en otro ensayo clínico terapéutico;
12. Utilización existente de agonistas del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma de la tiazolidinadiona (PPAR γ), por ejemplo, rosiglitazona (Avandia® o equivalente) o pioglitazona (Actos® o equivalente);
- 15 13. Cambio en el tratamiento con corticosteroides sistémicos (por ejemplo, iniciación del tratamiento; cesación del tratamiento; cambio en la dosis, régimen o tipo de esteroide) dentro de los 3 meses anteriores al inicio del tratamiento del estudio; o
14. Tratamiento con antibióticos aminoglicósidos sistémicos dentro de los 3 meses anteriores al inicio del tratamiento del estudio.
- 20 El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico fue proporcionada en una formulación descrita en este documento. El tratamiento se administra durante 28 días para cada grupo de tratamiento. Un grupo inicial de tratamiento son tratados diariamente con el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico a un nivel de dosificación determinado (por ejemplo a 4 mg/kg, 4 mg/kg y 8 mg/kg tid). Si los pacientes iniciales toleran el fármaco, entonces un segundo grupo de pacientes reciben el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico a un nivel de dosificación mayor (por ejemplo a 10 mg/kg, 10 mg/kg y 20 mg/kg tid). De esta manera, cada paciente recibe un total de 84 dosis del ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico. Al final de los 28 días del tratamiento, cada paciente es seguido durante 28 días más sin tratamiento.
- 25
- A cada nivel de dosificación, se recomienda que el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico se tome tid a intervalos de 6-, 6-, y 12 horas (\pm ~30 minutos). Idealmente cada dosis se toma dentro de ~30 minutos después de una comida (por ejemplo, a ~ 7:00 después del desayuno, ~ 13:00 después del almuerzo, y ~ 19:00 después de la cena). Mientras que se acepta que puedan ocurrir variaciones en el régimen de dosificación en una situación de pacientes de día, se recomienda que se siga el régimen prescrito (incluido los intervalos de dosificación y la relación de la dosificación con las comidas) en los días de toma de muestras para la farmacocinética. Los puntos finales clínicos se evalúan usando los procedimientos establecidos anteriormente.
- 30

35

REIVINDICACIONES

- 5 1. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo para su uso en un método para tratar, prevenir o manejar la distrofia muscular de Duchenne y la fibrosis quística asociada con un codón de parada prematura, en donde el método comprende administrar tres dosis diarias, en donde las cantidades de la primera dosis y la segunda dosis son las mismas y la cantidad de la tercera dosis es el doble de la cantidad de la primera dosis.
- 10 2. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo para su uso en un método para tratar, prevenir o manejar la distrofia muscular de Duchenne y la fibrosis quística asociada con una mutación sin sentido, en donde el método comprende administrar tres dosis diarias, en donde las cantidades de la primera dosis y la segunda dosis son las mismas y la cantidad de la tercera dosis es el doble de la cantidad de la primera dosis.
- 15 3. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende administrar cada dosis aproximadamente 30 minutos después de una comida.
4. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración oral de la dosis.
- 20 5. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración a un ser humano.
6. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración de la dosis como formulaciones de dosificación unitaria donde cada una comprende el ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo en una cantidad de 35 mg a 1400 mg.
- 25 7. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 6, en donde la cantidad en cada formulación de dosificación unitaria se selecciona de 35 mg, 50 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 1000 mg o 1400 mg; o en donde la cantidad en cada formulación de dosificación unitaria se selecciona de 125 mg, 200 mg, 250 mg, 750 mg, o 1000 mg.
- 30 8. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1, en donde la enfermedad es la fibrosis quística asociada con un codón de parada prematura en ARNm codificado por el gen CFTR, o para su uso en la reivindicación 2, en donde la enfermedad es la fibrosis quística asociada con una mutación sin sentido en el gen CFTR.
- 35 9. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1, en donde la enfermedad es la distrofia muscular de Duchenne asociada con un codón de parada prematura en ARNm codificado por el gen de distrofina; o para su uso en la reivindicación 2, en donde la enfermedad es la distrofia muscular de Duchenne asociada con una mutación sin sentido en el gen de distrofina.
- 40 10. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración de una dosis entre 0,1 mg/kg and 500 mg/kg, o entre 1 mg/kg y 50 mg/kg.
11. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde la primera dosis es 4 mg/kg, la segunda dosis es 4 mg/kg y la tercera dosis es 8 mg/kg; o en donde la primera dosis es 7 mg/kg, la segunda dosis es 7 mg/kg y la tercera dosis es 14 mg/kg; o en donde la primera dosis es 10 mg/kg, la segunda dosis es 10 mg/kg y la tercera dosis es 20 mg/kg.
- 45 12. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración de la segunda dosis alrededor de 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 horas después de la administración de la primera dosis, y la administración de la tercera dosis alrededor de 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 horas después de la administración de la segunda dosis.
- 50 13. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 12, en donde el método comprende la administración de la segunda dosis alrededor de 6 horas después de la administración de la primera dosis, la administración de la tercera dosis alrededor de 6 horas después de la administración de la segunda dosis, y en donde el método comprende la administración de la primera dosis alrededor de 12 horas después de la administración de la tercera dosis del día anterior.
14. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración de la primera dosis por la mañana, la segunda dosis por la tarde, y la tercera dosis por la noche.

15. El ácido 3-[5-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]oxadiazol-3-il]-benzoico para su uso en la reivindicación 1 o 2, en donde el método comprende la administración de la primera dosis, segunda dosis y tercera dosis durante un periodo de tiempo que comprende un conjunto de periodos de 24 horas.