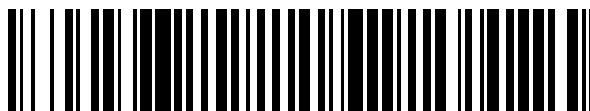


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 702 288**

51 Int. Cl.:

**C07D 215/56** (2006.01)

**A61K 31/4704** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2015 PCT/US2015/054577**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016 WO16057730**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2015 E 15849070 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.09.2018 EP 3204358**

54 Título: **Co-cristales de moduladores de regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística**

30 Prioridad:

**07.10.2014 US 201462060828 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**28.02.2019**

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED  
(100.0%)  
50 Northern Avenue  
Boston, MA 02210, US**

72 Inventor/es:

**STROHMEIER, MARK;  
CAESAR, JR., JOHN P.;  
CONNELLY, PATRICK RAYMOND;  
FAWAZ, MAJED;  
LUSS-LUSIS, EDUARD;  
MCCLAIN, BRIAN R.;  
MEDEK, ALES;  
MIAO, HAI;  
NTI-ADDAE, KWAME WIREDU;  
YIN, PING y  
ZHANG, YUEGANG**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 702 288 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

Co-cristales de moduladores de regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística

## CAMPO TÉCNICO

**[0001]** La presente divulgación se refiere en general a los co-cristales de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletilo)-5-hidroxifenilo]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (Compuesto 1). La invención se define en las reivindicaciones y se refiere a una composición farmacéutica que comprende estos co-cristales, a usos de la composición farmacéutica para tratar o disminuir la gravedad de las enfermedades mediadas por RTFQ, y a métodos de preparación de los co-cristales.

## ANTECEDENTES

**[0002]** La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética recesiva que afecta a aproximadamente 30.000 niños y adultos en los Estados Unidos y aproximadamente 30.000 niños y adultos en Europa. A pesar de los avances en el tratamiento de la FQ, no existe cura.

**[0003]** La FQ es causada por mutaciones en el gen regulador de la conductancia transmembrana (RTFQ) de la fibrosis quística que codifica un canal de ión cloruro epitelial responsable de ayudar en la regulación de la sal y la absorción y secreción de agua en varios tejidos. Los medicamentos de molécula pequeña conocidos como potenciadores que aumentan la probabilidad de apertura del canal RTFQ representan una estrategia terapéutica potencial para tratar la FQ. Los potenciadores de este tipo se describen en el documento WO2006/002421. Otra estrategia terapéutica potencial incluye medicamentos de molécula pequeña conocidos como correctores de la FQ que aumentan el número y la función de los canales del RTFQ. Los correctores de este tipo se describen en el documento WO2005/075435.

**[0004]** Específicamente, el RTFQ es un canal de aniones mediado por cAMP/ATP que se expresa en una variedad de tipos de células, incluidas las células epiteliales absorbentes y secretoras, donde regula el flujo de aniones a través de la membrana, así como la actividad de otros canales iónicos y proteínas. En las células epiteliales, el funcionamiento normal de RTFQ es crítico para el mantenimiento del transporte de electrolitos en todo el cuerpo, incluido el tejido respiratorio y digestivo. RTFQ está compuesto por aproximadamente 1.480 aminoácidos que codifican una proteína compuesta por una repetición en tándem de dominios transmembrana, cada uno de los cuales contiene seis hélices de transmembrana y un dominio de unión a nucleótidos. Los dos dominios de transmembrana están vinculados por un gran dominio polar (R) con múltiples sitios de fosforilación que regulan la actividad del canal y el tráfico celular.

**[0005]** El gen que codifica RTFQ ha sido identificado y secuenciado (véase Gregory, RJ et al. (1990) Nature 347: 382-386; Rich, DP et al. (1990) Nature 347: 358-362), (Riordan, JR y otros (1989) Science 245: 1066-1073). Un defecto en este gen causa mutaciones en RTFQ que dan como resultado la fibrosis quística ("FQ"), la enfermedad genética mortal más común en los seres humanos. La fibrosis quística afecta aproximadamente a uno de cada 2.500 bebés en los Estados Unidos. Dentro de la población general de los Estados Unidos, hasta 10 millones de personas portan una sola copia del gen defectuoso sin efectos negativos aparentes. En contraste, los individuos con dos copias del gen asociado de la FQ sufren los efectos debilitantes y fatales de la FQ, incluida la enfermedad pulmonar crónica.

**[0006]** En pacientes con FQ, las mutaciones en RTFQ expresadas de forma endógena en los epitelios respiratorios conducen a una reducción de la secreción de aniones apicales, lo que provoca un desequilibrio en el transporte de iones y líquidos. La disminución resultante en el transporte de aniones contribuye a una mayor acumulación de moco en el pulmón y las infecciones microbianas que lo acompañan y que finalmente causan la muerte en pacientes con FQ. Además de la enfermedad respiratoria, los pacientes con FQ suelen padecer problemas gastrointestinales e insuficiencia pancreática que, si no se tratan, pueden provocar la muerte. Además, la mayoría de los hombres con fibrosis quística son infértiles y la fertilidad disminuye en las mujeres con fibrosis quística. En contraste con los efectos severos de dos copias del gen asociado con la FQ, los individuos con una sola copia del gen asociado con la FQ exhiben una mayor resistencia al cólera y a la deshidratación resultante de la diarrea, tal vez explicando la frecuencia relativamente alta del gen de la FQ dentro de la población.

**[0007]** El análisis de secuencia del gen RTFQ de los cromosomas de FQ ha revelado una variedad de mutaciones que causan enfermedades (Cutting, GR et al. (1990) Nature 346: 366-369; Dean, M. et al. (1990) Cell 61: 863: 870 y Kerem, BS. y otros (1989) Science 245: 1073-1080; Kerem, BS y otros (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 8447-8451). Hasta la fecha, se han identificado más de 1.000 mutaciones que causan enfermedades en el gen de la FQ (<http://www.genet.sickkids.on.ca/RTFQ/app>). La mutación más prevalente es una eliminación de fenilalanina en la posición 508 de la secuencia de aminoácidos de RTFQ, y se conoce comúnmente como  $\Delta F508$ -RTFQ. Esta mutación ocurre en aproximadamente el 70% de los casos de fibrosis quística y se asocia con una enfermedad grave.

**[0008]** La eliminación del residuo 508 en  $\Delta F508$ -RTFQ evita que la proteína naciente se doble correctamente. Esto da como resultado la incapacidad de la proteína mutante para salir del RE y el tráfico a la membrana plasmática. Como resultado, el número de canales presentes en la membrana es mucho menor que el observado en células que expresan RTFQ de tipo salvaje. Además del tráfico deteriorado, la mutación da como resultado una activación de canales defectuosa. Juntos, el reducido número de canales en la membrana y la activación defectuosa conducen a un transporte reducido de aniones a través de los epitelios, lo que conduce a un transporte defectuoso de iones y fluidos. (Quinton, PM (1990), FASEB J. 4:2709-2727). Sin embargo, los estudios han demostrado que los números reducidos de  $\Delta F508$ -RTFQ en la membrana son funcionales, aunque menos que los RTFQ de tipo salvaje. (Dalemans y otros (1991), Nature Lond. 354:526-528; Denning y otros, supra; Pasyk y Foskett (1995), J. Cell. Biochem. 270:12347-50). Además de  $\Delta F508$ -RTFQ, otras mutaciones que causan enfermedad en el RTFQ que dan como resultado un tráfico defectuoso, la síntesis y/o la activación del canal podrían estar regulados hacia arriba o hacia abajo para alterar la secreción de aniones y modificar la progresión y/o la gravedad de la enfermedad.

**[0009]** Aunque el RTFQ transporta una variedad de moléculas además de los aniones, está claro que esta función (el transporte de aniones) representa un elemento en un importante mecanismo de transporte de iones y agua a través del epitelio. Los otros elementos incluyen el canal epitelial de  $\text{Na}^+$  (ENaC), el transportador de  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ , la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y los canales de  $\text{K}^+$  de la membrana basolateral que son responsables de la absorción de cloruro en la célula.

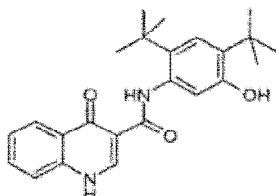
**[0010]** Estos elementos trabajan juntos para lograr el transporte direccional a través del epitelio a través de su expresión y localización selectiva dentro de la célula. La absorción de cloruro tiene lugar por la actividad coordinada de ENaC y RTFQ presente en la membrana apical y en la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y en los canales de ión  $\text{Cl}^-$  expresados en la superficie basolateral de la célula. El transporte activo secundario de cloruro desde el lado luminal conduce a la acumulación de cloruro intracelular, que luego puede salir pasivamente de la célula a través de canales de  $\text{Cl}^-$ , lo que resulta en un transporte vectorial. El arreglo del co-transportador  $\text{Na}^+/\text{2Cl}^-/\text{K}^+$ , la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y los canales  $\text{K}^+$  de membrana basolateral en la superficie basolateral y el RTFQ en el lado luminal coordinan la secreción de cloruro a través del RTFQ en el lado luminal. Debido a que el agua probablemente nunca se transporta de manera activa, su flujo a través de los epitelios depende de los pequeños gradientes osmóticos transepiteliales generados por el flujo de sodio y cloruro.

**[0011]** Como se discutió anteriormente, se cree que la eliminación del residuo 508 en  $F508$ -RTFQ evita que la proteína naciente se doble correctamente, lo que resulta en la incapacidad de esta proteína mutante para salir del RE y el tráfico a la membrana plasmática. Como resultado, cantidades insuficientes de la proteína madura están presentes en la membrana plasmática y el transporte de cloruro dentro de los tejidos epiteliales se reduce significativamente. De hecho, se ha demostrado que este fenómeno celular del procesamiento defectuoso de RE de los transportadores ABC por la maquinaria de RE es la base subyacente no solo para la enfermedad de la FQ, sino también para una amplia gama de otras enfermedades aisladas y heredadas.

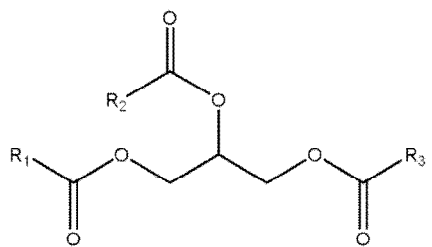
**[0012]** La N-[2,4-bis(1,1-dimetiletilo)-5-hidroxifenilo]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (Compuesto 1) es un potenciador de RTFQ potente y selectivo de tipo silvestre y mutante (que incluye, pero no se limita a, por ejemplo,  $\Delta F508$  RTFQ, R117H RTFQ, G551D RTFQ, G178R RTFQ, S549N RTFQ, S549R RTFQ, G551S RTFQ, G1270P RTFQ, G1244E RTFQ, S1251N RTFQ, S1255P CFLC)) formas de RTFQ humano. La N-[2,4-bis(1,1-dimetiletilo)-5-hidroxifenilo]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida es útil para el tratamiento de pacientes de 6 años en adelante con fibrosis quística y una de las siguientes mutaciones en el gen RTFQ: G551D RTFQ, G1244E RTFQ, G1349D RTFQ, G178R RTFQ, G551S RTFQ, S1251N RTFQ, S1255P RTFQ, S549N RTFQ, S549R RTFQ o R117H RTFQ.

**[0013]** Por consiguiente, las formas biodisponibles estables del Compuesto 1 se pueden fabricar fácilmente, incluidos los co-cristales que comprenden N-[2,4-bis(1,1-dimetiletilo)-5-hidroxifenilo]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida, y sus composiciones farmacéuticas, pueden ser útiles para desarrollar productos y/o métodos para tratar pacientes que padecen FQ. El documento US 2012/0214841 A1 se refiere a formas de estado sólido (una forma amorfa y dos formas cristalinas designadas Forma A y Forma B) de N-[2,4-bis(1,1-dimetiletilo)-5-hidroxifenilo]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (Compuesto 1), composiciones farmacéuticas de los mismos y métodos con los mismos.

**[0014]** En un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del Compuesto 1 y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que el Compuesto 1 se representa mediante la siguiente fórmula:



y además, en donde al menos 30% en peso del Compuesto 1 está presente como un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

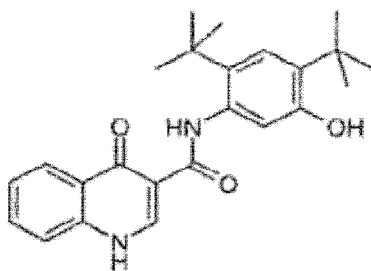


- 5
- 10
- 15 en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente alifáticos  $C_{1-29}$ .
- [0015] En algunas realizaciones, el co-cristal está aislado.
- [0016] En algunas realizaciones, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido varía de 2 a 1 a 6 a 1.
- [0017] En algunas realizaciones, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de 6 a 1.
- [0018] En algunas realizaciones, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1.
- [0019] En algunas realizaciones, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de 3 a 1.
- [0020] En algunas realizaciones, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1.
- [0021] En algunas realizaciones, el Compuesto 1 puede formar supermoléculas hexaméricas (hexámeros) en el co-cristal, en donde cada uno de los hexámeros contiene seis moléculas de Compuesto 1 unidas por enlaces de hidrógeno como se muestra en la Figura 1,
- [0022] En algunas realizaciones, los co-cristales son capaces de producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL cuando se disuelven en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF).
- [0023] En algunas realizaciones, los co-cristales son capaces de producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL cuando se disuelven en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) y la concentración se mantiene durante al menos 10 horas.
- [0024] En algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta 6 0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.
- [0025] En algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un espectro de  $^{13}C$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0 y 119,4.
- [0026] En otras realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un espectro de  $^{13}C$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 130,5 y 119,4.
- [0027] .
- [0028] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un agente terapéutico adicional.
- [0029] Por ejemplo, en una realización, el agente terapéutico adicional se selecciona de un agente mucolítico, un broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfeccioso, un agente antiinflamatorio, un modulador de RTFQ distinto del Compuesto 1, o un agente nutricional, o combinaciones de los mismos. En otra realización, el agente terapéutico adicional es un modulador de RTFQ distinto del Compuesto 1,
- [0030] Además, como ejemplo, en una realización, el modulador RTFQ es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo) ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxiopropilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida.
- [0031] En otro aspecto, la presente invención proporciona la composición farmacéutica tal como se definió anteriormente para uso en un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente, en

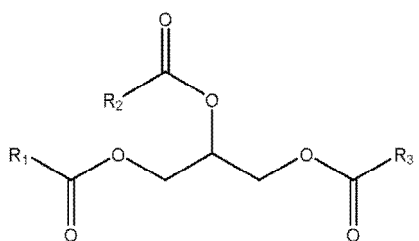
donde dicha enfermedad se selecciona de fibrosis quística, enfisema hereditario, EPOC o enfermedad del ojo seco, y en donde el método comprende el paso de administrar al paciente una cantidad efectiva de cualquiera de las composiciones farmacéuticas definidas anteriormente. Por ejemplo, en una realización, la enfermedad es la fibrosis quística.

**[0032]** En algunas realizaciones, el método comprende además la administración conjunta de uno o más agentes terapéuticos adicionales al sujeto. Por ejemplo, en una realización, el agente terapéutico adicional es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropancarboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]di-oxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxi-propilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropancarboxamida. En otra realización, el agente terapéutico adicional se administra de forma concurrente, anterior o posterior al co-cristal.

**[0033]** En otro aspecto, la invención proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:



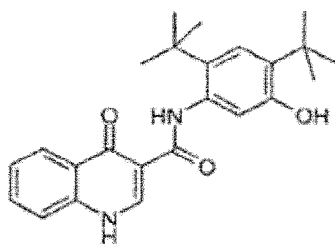
y en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:



en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente alifáticos  $C_{1-29}$ ; que comprende los pasos de:

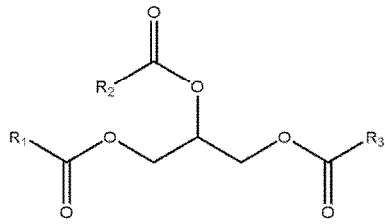
- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y
- (b) calentar la mezcla.

**[0034]** En el presente documento se describe un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:



El triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

5



10

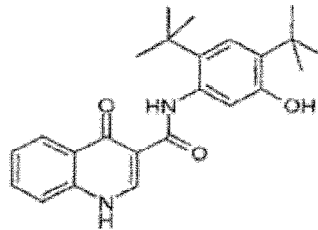
en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub> alifáticos que comprenden el paso de:

15

**[0035]** En el presente documento se describe un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

20

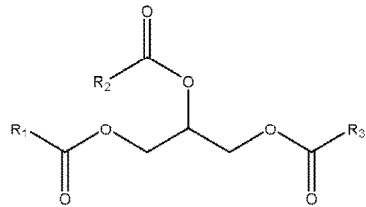
25



30

el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

35



40

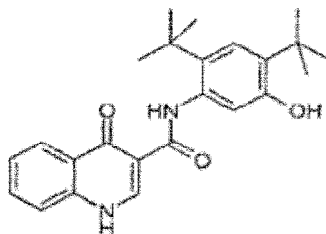
45

en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub> alifáticos.

**[0036]** En algunas realizaciones, se proporciona un método para preparar co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

50

55

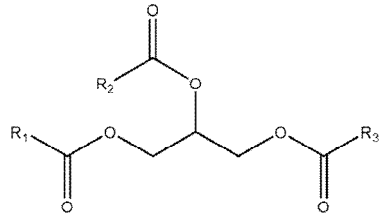


60

el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

65

5



10

en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$  alifáticos, que comprende los pasos de:

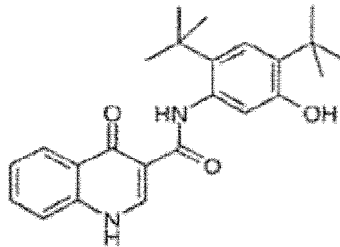
15

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y
- (b) calentar la mezcla a  $80^\circ\text{C}$ .

20

**[0037]** En algunas realizaciones, se proporciona un método para preparar co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

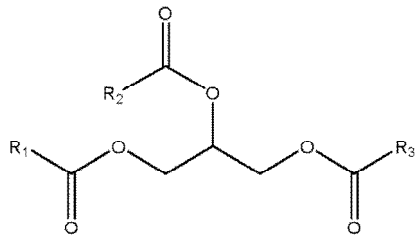
25



30

el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

35



40

en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$  alifáticos; que comprenden los pasos de:

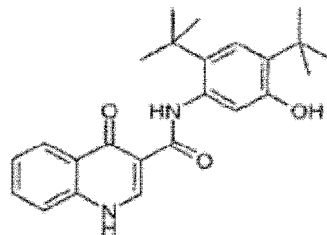
45

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y
- (b) calentar la mezcla a una temperatura que sea aproximadamente 5 a  $10^\circ\text{C}$  más alta que el punto de fusión del triglicérido.

50

**[0038]** En algunas realizaciones, se proporciona un método para preparar co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

55

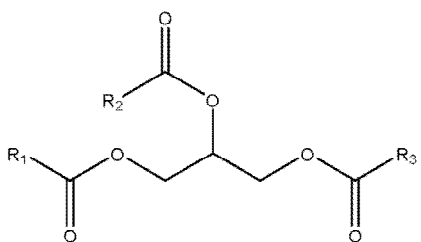


60

el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

65

5



10

en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub>alifáticos; que comprenden los pasos de:

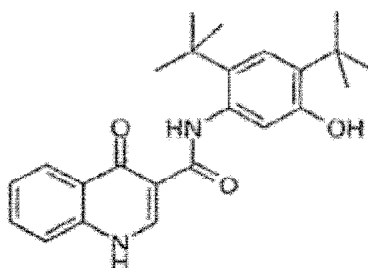
15

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido;
- (b) calentar la mezcla;
- (c) enfriar la mezcla; y
- (d) repetir los pasos (b) y (c).

20

**[0039]** En algunas realizaciones, se proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

25

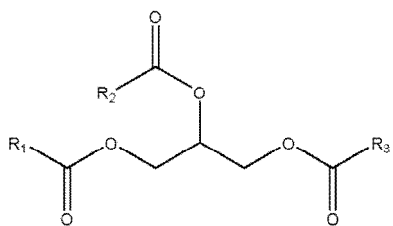


30

35

el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

40



45

en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub>alifáticos, que comprenden los pasos de:

50

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido;
- (b) calentar la mezcla a 80°C;
- (c) enfriar la mezcla hasta 40°C; y
- (d) repetir los pasos (b) y (c).

55

**[0040]** En algunas realizaciones, la mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido se calienta durante 12 horas. En otras realizaciones, la mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido se calienta durante al menos 12 horas. En algunas realizaciones, la mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido se calienta durante 24 horas. En otras realizaciones, la mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido se calienta durante al menos 24 horas.

60

**[0041]** En algunas realizaciones, los co-cristales descritos en el presente documento, tales como el Compuesto 1: co-cristales de triglicéridos, pueden exhibir varias ventajas. Por ejemplo, el compuesto 1: los cristales de triglicéridos pueden mostrar un mejor mantenimiento de la supersaturación que la forma dispersa amorfa pura y la amorfa sólida del Compuesto 1 (Compuesto 1 SDD) durante periodos de tiempo más largos. Además, como ejemplo, in vivo el Compuesto 1: los co-cristales de triglicéridos se pueden metabolizar en el intestino delgado mediante la esterasa

65



lípidica (lipasas), que eliminaría de manera efectiva los triglicéridos y aumentaría aún más la concentración del Compuesto 1 según el principio de Le-Chatelier.

**[0042]** En algunas realizaciones, los co-cristales descritos en este documento, tales como el Compuesto 1: los co-cristales de triglicéridos, pueden tener las siguientes ventajas sobre la forma dispersa amorfa sólida (Compuesto 1 SDD) del Compuesto 1: (1) los co-cristales pueden formularse, almacenarse y utilizarse en condiciones en las que sean termodinámicamente estables; (2) se puede desarrollar una cristalización controlada que puede reducir los niveles de impurezas potenciales (las impurezas incluyen, pero no se limitan a, solvente); (3) se puede desarrollar un proceso de fabricación que sea más eficiente y rentable (por ejemplo, se puede usar menos solvente en la fabricación y se puede desarrollar un proceso de menor costo que el secado por pulverización); y (4) puede que no se requiera un polímero estabilizante para formular co-cristales.

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

#### **[0043]**

La Figura 1 muestra las características estructurales del Compuesto 1: co-cristal de triglicéridos en algunas realizaciones. La Figura 1 (izquierda) muestra un hexámero (seis moléculas del Compuesto 1) que están presentes en un Compuesto 1: co-cristal de triglicéridos. La Figura 1 (derecha) muestra un hexámero hecho de dos trímeros (A y B), cada uno formado por tres moléculas de Compuesto 1 (trímero A: A1, A2 y A3; y trímero B: B1, B2 y B3).

La Figura 2 muestra ejemplos de enlaces de hidrógeno en un compuesto 1: co-cristal de triglicéridos en algunas realizaciones. La Figura 2 (izquierda) muestra un trímero A del compuesto 1 y los enlaces de hidrógeno que pueden estar presentes entre las moléculas del Compuesto 1 (A1, A2 y A3) dentro de un trímero [R3,3 (18) >b>b>b]. La Figura 2 (derecha) muestra los enlaces de hidrógeno que pueden estar presentes dentro de una molécula del compuesto 1 [S1,1(6)a], y los enlaces de hidrógeno que pueden estar presentes entre dos moléculas del compuesto 1 de dos trímeros (A y B) [R2,2(20) >c>c]. Los trímeros A y B forman un hexámero. La Figura 3 es un ejemplo de patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) del Compuesto 1: gliceriltriocanoato. La Figura 4 es un ejemplo de espectro de espectroscopia de resonancia magnética nuclear de estado sólido <sup>13</sup>C (<sup>13</sup>C RMNss) del Compuesto 1: gliceriltriocanoato.

La Figura 5 es un ejemplo del análisis gravimétrico térmico (TGA), compuesto 1:gliceriltriocanoato.

La Figura 6 es un ejemplo de termograma de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) del Compuesto 1:gliceriltriocanoato.

La Figura 7 es un ejemplo de espectro de Resonancia Magnética Nuclear 1H (1H RMN) del Compuesto 1:gliceriltriocanoato en DMSO-d<sub>6</sub>.

La Figura 8 es un ejemplo de patrón de XRPD del Compuesto 1:gliceriltriocanoato.

La Figura 9 es un ejemplo de espectro <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltriocanoato.

La Figura 10 es un ejemplo de traza de TGA Compuesto 1:gliceriltriocanoato.

La Figura 11 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltriocanoato.

La Figura 12 es un ejemplo de espectro de <sup>1</sup>H RMN del Compuesto 1:gliceriltriocanoato en acetona-d<sub>6</sub>.

La Figura 13 es un ejemplo de patrón de XRPD del Compuesto 1:gliceriltrilinoato.

La Figura 14 es un ejemplo de espectro <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltrilinoato.

La Figura 15 es un ejemplo de traza de TGA Compuesto 1:gliceriltrilinoato.

La Figura 16 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltrilinoato.

La Figura 17 es un ejemplo de espectro de <sup>1</sup>H RMN del Compuesto 1:gliceriltrilinoato en acetona-d<sub>6</sub>.

La Figura 18 es un ejemplo de patrón de difracción de XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltriacetato.

La Figura 19 es un ejemplo de espectros de <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:triacetina.

La Figura 20 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltriacetina.

La Figura 21 es un ejemplo de patrón de difracción XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltributirato.

La Figura 22 es un ejemplo de patrón de difracción XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con glicerilestistearato.

La Figura 23 es un ejemplo de espectros de <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:glicerilestistearato.

La Figura 24 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:glicerilestistearato.

La Figura 25 es un ejemplo de patrón de difracción XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltripalmitato.

La Figura 26 es un ejemplo de espectros de <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltripalmitato.

La Figura 27 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltripalmitato.

La Figura 28 es un ejemplo de patrón de difracción XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltridodecanoato.

La Figura 29 es un ejemplo de espectros <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltridodecanoato de glicerilo.

La Figura 30 es un ejemplo de patrón de difracción de XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltrimiristato.

La Figura 31 es un ejemplo de espectros de <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltrimiristato.

La Figura 32 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltrimiristato.

La Figura 33 es un ejemplo de patrón de difracción XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltriheptanoato.

La Figura 34 es un ejemplo de patrón de difracción XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con gliceriltridecanoato.

La Figura 35 es un ejemplo de espectros de  $^{13}\text{C}$  RMNss del Compuesto 1: gliceriltridecanoato.

La Figura 36 es una comparación de los ejemplos de perfiles de disolución en FeSSIF del Compuesto 1: gliceriltrioctanoato (círculos rellenos) Compuesto 1: gliceriltrioleato (cuadrados rellenos), y Compuesto 1: gliceriltrilinoleato (triángulos rellenos) con Compuesto 1 amorfo (diamantes llenos), Compound 1 Dispersión secada por pulverización (SDD) (triángulos rellenos al revés).

La Figura 37 es un ejemplo de patrones de difracción de XRPD de co-cristales del Compuesto 1 con diferentes triglicéridos puros y co-cristales aislados de la mezcla de fórmula infantil y Compuesto.

## **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES**

### **Definiciones**

**[0044]** Como se usa en el presente documento, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se indique lo contrario.

**[0045]** Como se usa en este documento, "un", "una", y "al menos uno" significa cada uno "uno o más de uno".

**[0046]** El término "transportador ABC" como se usa en el presente documento significa una proteína transportadora ABC o un fragmento de la misma que comprende un dominio de unión, en el que dicha proteína o fragmento de la misma está presente *in vivo* o *in vitro*. El término "dominio de unión" como se utiliza aquí significa un dominio en el transportador ABC que puede unirse a un modulador. Véase, por ejemplo, Hwang, TC et al., J. Gen. Physiol. (1998): 111 (3), 477-90.

**[0047]** Como se usa en el presente documento, "RTFQ" significa regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística.

**[0048]** Como se usa en el presente documento, "mutaciones" puede referirse a mutaciones en el gen RTFQ o la proteína RTFQ. Una "mutación RTFQ" se refiere a una mutación en el gen RTFQ, y una "mutación de RTFQ" se refiere a una mutación en la proteína RTFQ. Un defecto genético o mutación, o un cambio en los nucleótidos en un gen en general resulta en una mutación en la proteína RTFQ traducida de ese gen. Los defectos genéticos o las mutaciones incluyen, pero no se limitan a,  $\otimes$ F508 RTFQ, R117H RTFQ, G551D RTFQ, G178R RTFQ, S549N RTFQ, S549R RTFQ, G551S RTFQ, G970R RTFQ, G1244E RTFQ, S1251N RTFQ, S1255P RTFQ, y G1349D RTFQ o  $\otimes$ F508 RTFQ, R117H RTFQ, G551D RTFQ, G178R RTFQ, S549N RTFQ, S549R RTFQ, G551S RTFQ, G970R RTFQ, G1244E RTFQ, S1251N RTFQ, S1255P RTFQ, y G1349D RTFQ (véase, p.ej. <http://www.genet.sickkids.on.ca/app> para mutaciones de RTFQ).

**[0049]** Como se usa en el presente documento, una "mutación  $\Delta$ F508" o "mutación F508del" es una mutación específica dentro de la proteína RTFQ. La mutación es una delección de los tres nucleótidos que comprenden el codón para el aminoácido fenilalanina en la posición 508, lo que resulta en una proteína RTFQ que carece de este residuo de fenilalanina. La proteína RTFQ mutada se conoce comúnmente como "F508del".

**[0050]** El término "mutación de activación de RTFQ" como se usa en este documento significa una mutación de RTFQ que da como resultado la producción de una proteína RTFQ para la cual el defecto predominante es una baja probabilidad de canal abierto en comparación con el RTFQ normal (Van Goor, F., Hadida S y Grootenhuis P., "Pharmacological Rescue of Mutant CFTR function for the Treatment of Cystic Fibrosis", Top. Med. Chem. 3: 91-120 (2008)). Las mutaciones de activación incluyen, entre otras, G551D, G178R, S549N, S549R, G551S, G970R, G1244E, S1251N, S1255P y G1349D.

**[0051]** Como se usa en este documento, un paciente que es "homocigoto" para una mutación particular, por ejemplo, F508del, tiene la misma mutación en cada alelo.

**[0052]** Como se usa en este documento, un paciente que es "heterocigoto" para una mutación particular, por ejemplo, F508del, tiene esta mutación en un alelo y una mutación diferente en el otro alelo.

**[0053]** Como se usa en el presente documento, el término "modulador" se refiere a un compuesto que aumenta la actividad de un compuesto tal como una proteína. Por ejemplo, un modulador RTFQ es un compuesto que aumenta la actividad de RTFQ. El aumento en la actividad que resulta de un modulador RTFQ puede ser a través de un mecanismo corrector, un mecanismo potenciador, o a través de un mecanismo corrector dual y un mecanismo potenciador.

**[0054]** Como se usa en el presente documento, el término "corrector de RTFQ" se refiere a un compuesto que aumenta la cantidad de proteína RTFQ funcional a la superficie celular, dando como resultado un transporte de iones mejorado.

**[0055]** Como se usa en el presente documento, el término "potenciador de RTFQ" se refiere a un compuesto que aumenta la actividad del canal de la proteína RTFQ localizada en la superficie celular, dando como resultado un transporte de iones mejorado.

5 **[0056]** El término "cristalino" se refiere a materiales sólidos que comprenden átomos, moléculas y/o iones dispuestos en patrones geométricos ordenados o enrejados. Los sólidos cristalinos muestran puntos de fusión definidos y tienen un orden rígido de largo alcance.

10 **[0057]** El término "co-cristal" como se usa en el presente documento significa una entidad cristalina que contiene al menos dos moléculas en relación estequiométrica o no estequiométrica. El co-cristal puede opcionalmente contener iones.

15 **[0058]** Los co-cristales comprenden típicamente un ingrediente farmacéutico activo (API) y un co-formador. El co-formador típicamente puede estar unido por hidrógeno directamente a la API o puede estar unido por hidrógeno a una molécula adicional que está unida a la API. También pueden estar presentes otros modos de reconocimiento molecular, como el apilado de pi, la complejación huésped-huésped y las interacciones de van der Waals.

20 **[0059]** Como se usa en el presente documento, el término "co-formador", o alternativamente "co-cristal", se refiere a una molécula tal como un triglicérido en un co-cristal distinto de un API. El co-formador puede o no experimentar cambios después de formar co-crystal con una API.

25 **[0060]** "Compuesto 1:triglicérido" se refiere a co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y un triglicérido. Por ejemplo, "Compuesto 1:gliceriltrioctanoato" se usa en este documento para referirse a co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y el gliceriltrioctanoato. El "Compuesto 1:gliceriltrioleato" se usa en este documento para referirse a co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y el gliceriltrioleato. El "Compuesto 1:gliceriltrilinooleato" se usa en este documento para referirse a co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y el gliceriltrilinooleato.

30 **[0061]** Como se usa en el presente documento, el término "ingrediente farmacéutico activo" o "API" se refiere a un compuesto biológicamente activo.

**[0062]** El término "puro", como se usa en el presente documento, significa químicamente puro o libre de impurezas detectables mediante análisis habitual, por ejemplo, por HPLC.

35 **[0063]** "Sustancialmente puro", como se usa en este documento, significa una pureza de al menos el 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% del material diana dentro de una mezcla.

40 **[0064]** Como se usa en el presente documento, el término "aislado", como en un co-cristal aislado, se refiere a un co-cristal que se separa de otros materiales, como otros materiales cristalinos que pueden distinguirse del co-cristal diana a través de análisis de rutina como XRPD. En algunas realizaciones, los co-cristales se pueden aislar o separar de otros materiales por filtración o centrifugación. En algunas realizaciones, un co-cristal aislado puede tener al menos un 50% de pureza. En algunas realizaciones, el co-cristal aislado puede contener impurezas tales como, como ejemplos no limitantes, co-formador residual, disolvente u otros materiales presentados en el medio en el que se produjo el co-cristal, que puede ser difícil de eliminar del co-cristal. En otras realizaciones, un co-cristal aislado puede ser sustancialmente puro.

45 **[0065]** Como se usa en el presente documento, el término "alifático" abarca grupos alquilo, alqueno y alquino sustituidos o no sustituidos. Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático saturado que contiene 1-29 átomos de carbono. Un grupo alquilo puede ser lineal o ramificado. Como se usa en este documento, un grupo "alqueno" se refiere a un grupo de carbono alifático que contiene 2-29 átomos de carbono y un doble enlace. Como un grupo alquilo, un grupo alqueno puede ser lineal o ramificado. Como se usa en el presente documento, un grupo "alquino" se refiere a un grupo de carbono alifático que contiene 2-29 átomos de carbono y tiene un triple enlace. Un grupo alquino puede ser lineal o ramificado.

50 **[0066]** Como se usa en el presente documento, el término "inducir", en el sentido de inducir la actividad de RTFQ, se refiere a aumentar la actividad de RTFQ, ya sea por el corrector, el potenciador u otro mecanismo.

55 **[0067]** El término "modulación" como se usa en este documento significa aumentar o disminuir, por ejemplo, la actividad, en una cantidad medible.

60 **[0068]** El término "RTFQ reducido" o "función RTFQ reducida" como se usa en este documento significa menos de RTFQ normal o menos que la función normal de RTFQ.

65 **[0069]** Un "paciente", "sujeto" o "individuo" se usan de manera intercambiable y se refieren a un animal humano o no humano. El término incluye mamíferos como los humanos.

**[0070]** Los términos "dosis efectiva" o "cantidad efectiva" se usan de manera intercambiable en este documento y se

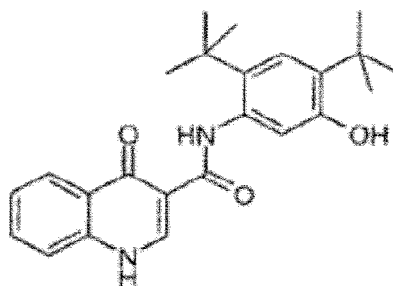
refieren a la cantidad que produce el efecto deseado para el cual se administra (por ejemplo, mejora en la FQ o un síntoma de la FQ o disminuyendo la gravedad de la FQ o un síntoma de la FQ). La cantidad exacta dependerá del propósito del tratamiento, y será perceptible por un experto en la técnica utilizando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

**[0071]** Como se usa en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y similares generalmente significan la mejora de la FQ o sus síntomas o disminuir la gravedad de la FQ o sus síntomas en un sujeto. "Tratamiento", como se usa en el presente documento, incluye, pero no se limita a lo siguiente: aumento del crecimiento del sujeto, aumento de peso, reducción de la mucosidad en los pulmones, mejora de la función pancreática y/o hepática, reducción de la incidencia de infecciones del pecho, y/o casos reducidos de tos o falta de aliento. Las mejoras o disminución en la severidad de cualquiera de estas condiciones se pueden evaluar fácilmente de acuerdo con los métodos y técnicas estándar conocidos en la técnica.

**[0072]** Como se usa en el presente documento, el término "en combinación con" cuando se refiere a dos o más compuestos o agentes significa que el orden de administración incluye los compuestos o agentes que se administran antes, concurrentes o subsiguientes entre sí al paciente.

### Co-cristales

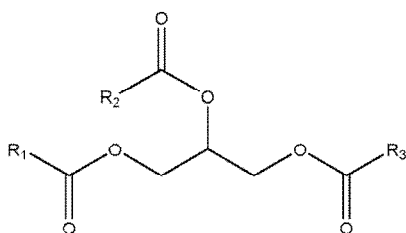
**[0073]** La presente divulgación proporciona co-cristales que comprenden N-[2,4-bis(1,1-dimetiletilo)-5-hidroxifenilo]-1,4-di-hidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida (Compuesto 1). Estos co-cristales están presentes en las composiciones farmacéuticas de la invención. El compuesto 1 tiene la fórmula estructural:



**Compuesto 1**

**[0074]** El Compuesto 1 se describe en la publicación internacional PCT WO2006002421 y tiene la fórmula molecular de C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

**[0075]** En un aspecto, la presente divulgación proporciona un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:



en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub> alifáticos.

**[0076]** En algunas realizaciones, el co-cristal está aislado.

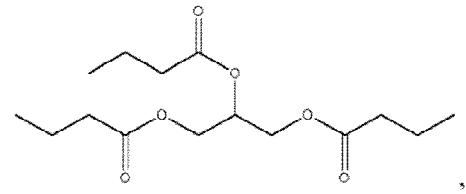
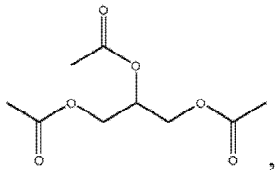
**[0077]** En algunas realizaciones, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>7-29</sub> alifáticos.

**[0078]** En algunas realizaciones, el triglicérido tiene un peso molecular promedio que varía de 470 a 1400 Da.

**[0079]** En algunas realizaciones, el triglicérido se elige de gliceriltrioleato, glicerilestatoato, gliceriltrihexanoato, gliceriltridecanoato, gliceriltrioctanoato, gliceriltrimiristato, gliceriltripalmitato, gliceriltributirato, gliceriltrilinoato, gliceriltridodecanoato, gliceriltripalmitoleato, gliceriltrierucato, gliceriltripropionato, palmitodioleína, triaraquidonina, trilinolenato de glicerilo, trierucin, triaraquidato glicerol, triglicerilo (cis-13-docosenoato), tripetroselinato de glicerilo, tribehenato, trielaidato de gliceril, gliceriltriacetato (triacetin), gliceriltributirato.

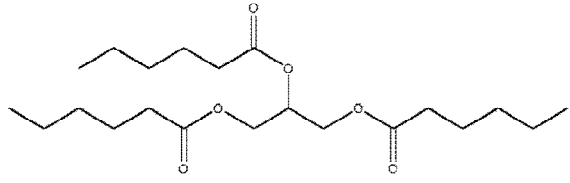
[0080] En algunas realizaciones, el triglicérido se elige entre:

5



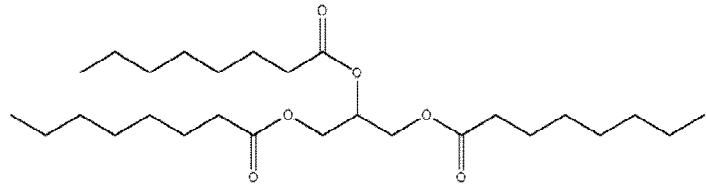
10

15



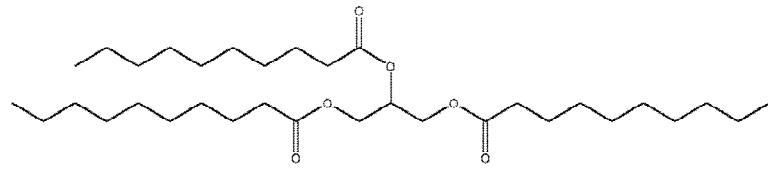
20

25



30

35



40

45

50

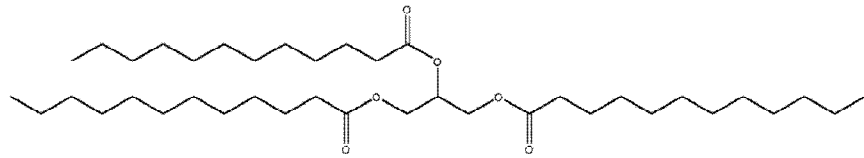
55

60

65

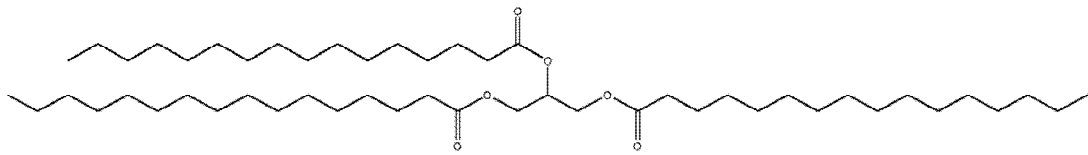
5

10



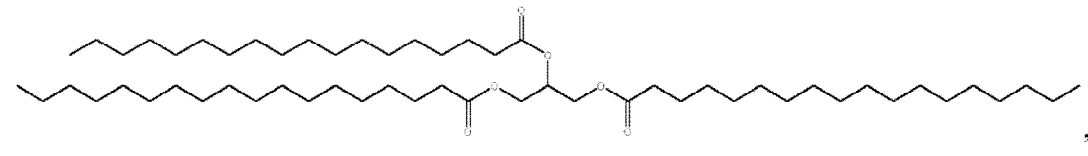
15

20

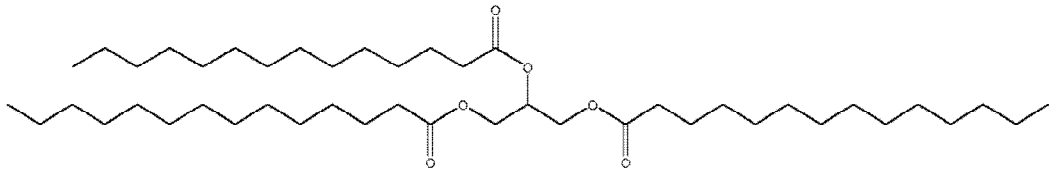


25

30

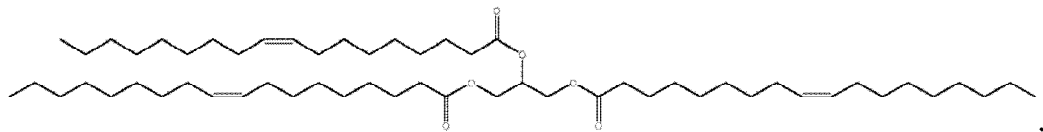


35



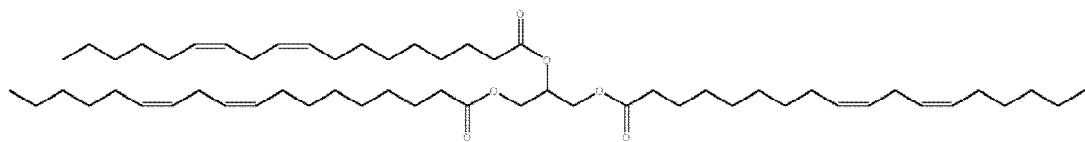
40

45



y

50



55

**[0081]** En algunas realizaciones, el triglicérido se selecciona de entre: gliceril, gliceriltristearato, gliceriltrihexanoato, gliceriltridecanoato, gliceroltrioctanoato, gliceriltrimiristato, gliceriltripalmitato, gliceriltrilinoleato, gliceriltridodecanoato, gliceriltripalmitoleato, gliceroltrierucato, palmitodioleín, triarachidonín, trilinolenato de glicerilo, trierucin, triaracidoato de glicerol, tri(cis-13-docosenoato) glicerilo, tripetroselinato de glicerilo, tribehenato de glicerilo y trielaidato de glicerilo.

**[0082]** En algunas realizaciones, el triglicérido se elige entre el gliceriltrioctanoato, el gliceriltrioleato, el gliceriltrilinoleato, el gliceriltrihexanoato, el gliceriltriestearato, el gliceriltridecanoato, gliceriltripalmitato gliceriltrimiristato, gliceriltripalmitato, gliceriltriestearato, and gliceriltridodecanoato.

65

**[0083]** En algunas realizaciones, el triglicérido se elige de gliceriltriacetato y gliceriltributirato.

- 5 **[0084]** En algunas realizaciones, solo un triglicérido está presente en el co-cristal. Como ejemplos no limitativos, el co-cristal de Compuesto 1 comprende solo gliceriltrioctanoato, solo gliceriltrioleato, solo gliceriltrilinooleato, solo gliceriltrihexanoato, solo gliceriltridecanoato, solo gliceriltridecanoato, un pequeño aparato de la naturaleza, un poco de gliceriltridecanoato, solo gliceriltridodecanoato, solo glicerilpetracito de la mano, y un poco de adiestramiento.
- 10 **[0085]** En algunas realizaciones, más de uno, tal como dos, tres, cuatro, cinco o seis triglicéridos están presentes en el co-cristal. Como ejemplos no limitativos, el co-cristal del Compuesto 1 comprende dos triglicéridos, tales como (i) gliceriltrimanoato y gliceriltrioleato; (ii) gliceriltrioleato y gliceriltrilinooleato; o (iii) gliceriltrioctanoato y gliceriltrilinooleato.
- 15 **[0086]** En algunas realizaciones, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido varía de 2 a 1 a 6 a 1. En una realización, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido varía de 3 a 1 a 6 a 1. En una realización, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido varía de 4 a 1 a 6 a 1. En una realización, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido varía de 5 a 1 a 6 a 1.
- 20 **[0087]** En una realización, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1. En una realización, en el co-cristal, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido es de 6 a 1.
- 25 **[0088]** Como ejemplos no limitativos, el co-cristal del Compuesto 1 comprende un triglicérido elegido de gliceriltrioleato, gliceriltrilinooleato, gliceriltristearato y gliceriltripalmitato, y la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es aproximadamente 6 a aproximadamente 1. Además, como ejemplos no limitativos, en una realización, el co-cristal comprende el Compuesto 1 y el gliceriltrioleato, en donde la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrioleato es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1. En otra realización, el co-cristal comprende el Compuesto 1 y la gliceriltrilililina, en el que la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrilinooleato es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1. En otra realización, el co-cristal comprende el Compuesto 1 y el gliceriltristearato, en donde la estequiometría del Compuesto 1 al glicerilestistato es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1. En otra realización, el co-cristal comprende el Compuesto 1 y el gliceriltripalmitato, en donde la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltripalmitato es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1. En cualquier de las realizaciones anteriores, la relación o estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el Compuesto 1:el triglicérido es 6 a 1.
- 30 **[0089]** En algunas realizaciones, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1. En una realización, la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de 3 a 1.
- 35 **[0090]** Como ejemplos no limitativos, el co-cristal del Compuesto 1 comprende un triglicérido elegido entre el gliceriltrimanoato, el gliceriltridodecanoato y el gliceriltridecanoato y la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1.
- 40 **[0091]** Además, como ejemplos no limitativos, en una realización, la presente divulgación proporciona un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltrioctanoato, en el que la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrioctanoato es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1. En otra realización, la presente divulgación proporciona un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltridodecanoato, en donde la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltridodecanoato es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1. En otra realización, la presente divulgación proporciona un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltridecanoato, en donde la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltridecanoato es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1. En cualquiera de las realizaciones anteriores, la proporción o la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el Compuesto 1:triglicérido es 3 a 1.
- 45 **[0092]** En algunas realizaciones,  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{7-29}$  alifáticos y el Compuesto 1 puede estar presente en forma de un hexámero en el co-cristal.
- 50 **[0093]** En algunas realizaciones, el Compuesto 1 puede estar presente en forma de un hexámero en el co-cristal, en el que cada uno de los hexámeros contiene seis moléculas del Compuesto 1 unidas por enlaces de hidrógeno como se muestra en la Figura 1,
- 55 **[0094]** En algunas realizaciones, el Compuesto 1 puede estar presente en forma de un hexámero en el co-cristal, en donde cada uno de los hexámeros contiene seis moléculas del Compuesto 1 unidas por enlaces de hidrógeno como se muestra en la Figura 1, y además en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{7-29}$  alifáticos.
- 60 **[0095]** Como ejemplo no limitativo, como se muestra en la Figura 2 (izquierda), en una realización, tres moléculas del Compuesto 1 ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ ) pueden unirse por tres enlaces de hidrógeno para formar un trímero compuesto, y dos trímeros de Compuesto 1 pueden unirse además mediante enlaces de hidrógeno adicionales, como seis, para formar un hexámero de Compuesto 1, en donde cada una de las moléculas del Compuesto 1 en un trímero dado se une a la molécula del Compuesto 1 correspondiente en el segundo trímero mediante dos enlaces de hidrógeno como se muestra en Figura 2 (derecha). En una realización, los enlaces de hidrógeno intramoleculares están
- 65

presentes en el hexámero del Compuesto 1 como se muestra en la Figura 2 (derecha).

**[0096]** En una realización, las moléculas del Compuesto 1 pueden unirse por uno o más de los siguientes enlaces de hidrógeno para formar un hexámero:

5 S1,1 (6) a;  
 R2,2 (20) >c>c;  
 R3,3 (18) >b>b>b;  
 R4,4 (28) >b>c>b>c;  
 10 R4,4 (30) >b>c>b<c;  
 R4,4 (32) >b<c >b<c;  
 R5,5 (36) >b>b<c<b<c;  
 R5,5 (36) >b>b<c<b>c;  
 R5,5 (36) >b>b>c<b<c;  
 15 R5,5 (36) >b>b>c<b>c;  
 R6,6 (40) >b>b>c>b>b>c;  
 R6,6 (42) >b>b>c>b>b<c;  
 R6,6 (44) >b>b<c>b>b<c.

20 **[0097]** Se puede encontrar una descripción de la notación de conjunto de gráficos en Bernstein, J., Davis, RE, Shimoni, L. y Chang, N.-L, "Patterns in Hydrogen Bonding: Functionality and Graph Set Analysis in Crystals", *Angew. Chem. En t. Ed. Engl.* 34, 1555-1573 (1995); WDS Motherwell, GP Shields y FH Allen, "Automated assignment of graph-set descriptors for crystallographically symmetric molecules", *Acta. Cryst. B56*, 466-473 (2000), y MC Etter, "Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic compounds", *Acc. Chem. Res.*, 23, 120-126 (1990).

25 **[0098]** En otra realización más, un hexámero del Compuesto 1 en un co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos se estabiliza por la presencia del triglicérido.

30 **[0099]** En algunas realizaciones, los co-cristales son capaces de producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL cuando se disuelven en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF).

35 **[0100]** En algunas realizaciones, los co-cristales son capaces de producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL cuando se disuelven en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) y la concentración se mantiene durante al menos 10 horas.

40 **[0101]** En algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.

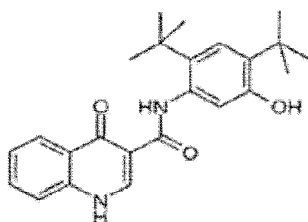
45 **[0102]** En algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 10,9, 16,9 y 18,0.

50 **[0103]** En algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 10,9, 16,9, 18,0, y 23,8.

55 **[0104]** En algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0 y 119,4.

60 **[0105]** También en algunas realizaciones, los co-cristales se caracterizan por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 130,5 y 119,4.

65 **[0106]** La presente descripción también proporciona un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido seleccionado del grupo que consiste en gliceriltriocanoato, gliceriltrioleato y gliceriltrinilinooleato de glicerilo, en donde el Compuesto 1 se representa mediante la siguiente fórmula estructural:





- [0107] En algunas realizaciones, el co-cristal descrito en el párrafo inmediatamente anterior se disuelve en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) para producir una concentración del Compuesto 1 de más de 0,4 mg/mL y la concentración se mantiene durante al menos 10 horas
- 5 [0108] En una realización, el triglicérido es gliceriltrioctanoato.
- [0109] En una realización, la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrioctanoato es de 3 a 1.
- 10 [0110] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.
- [0111] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,1, 10,9, 16,9, 18,0 y 23,8.
- 15 [0112] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un espectro <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0 y 119,4.
- [0113] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría de barrido diferencial (DSC) a 186,7  $\pm$  0,5°C.
- 20 [0114] En algunas realizaciones, el triglicérido es gliceriltrioleato.
- [0115] En una realización, la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrioleato es de 6 a 1.
- 25 [0116] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.
- [0117] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 10,9, 16,9, 18,1 y 23,8.
- 30 [0118] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 130,5 y 119,4.
- [0119] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría de cribado diferencial (DSC) a 197,5  $\pm$  0,5°C.
- 35 [0120] En algunas realizaciones, el triglicérido es gliceriltrilinooleato.
- [0121] En una realización, la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrilinooleato es de 6 a 1.
- 40 [0122] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.
- [0123] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,2, 10,9, 17,0, 18,1 y 23,8.
- 45 [0124] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un espectro <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,5, 155,0, 130,6 y 119,3.
- 50 [0125] En una realización, el co-cristal se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría de barrido diferencial (DSC) a 182,3  $\pm$  0,5°C.
- 55 [0126] En realizaciones alternativas, puede incorporarse deuterio (<sup>2</sup>H) en el Compuesto 1 para manipular el metabolismo oxidativo del compuesto mediante el efecto del isótopo cinético primario. El principal efecto del isótopo cinético es un cambio en la velocidad de una reacción química que resulta del intercambio de núcleos isotópicos, que a su vez es causado por el cambio en las energías del estado fundamental necesario para la formación de enlaces covalentes después de este intercambio isotópico. El intercambio de un isótopo más pesado generalmente resulta en una disminución de la energía del estado fundamental para un enlace químico y, por lo tanto, causa una reducción en la ruptura del enlace que limita la velocidad. Si la ruptura del enlace se produce en o cerca de una región de punto de silla a lo largo de la coordenada de una reacción de múltiples productos, las relaciones de distribución del producto pueden alterarse sustancialmente. Para explicación: si el deuterio está unido a un átomo de carbono en una posición no intercambiable, las diferencias de velocidad de kM/kD = 2-7 son típicas. Si esta diferencia de velocidad se aplica con éxito al Compuesto 1, el perfil de este compuesto *in vivo* puede modificarse drásticamente y dar como resultado propiedades farmacocinéticas mejoradas. Para una discusión más detallada,
- 60
- 65

vea SL Harbeson y RD Tung, Deuterium In Drug Discovery and Development, Ann. Rep. Med. Chem. 2011, 46, 403-417.

5 **[0127]** Cuando se descubren y desarrollan agentes terapéuticos, un experto en la técnica intenta optimizar los parámetros farmacocinéticos mientras que retiene las propiedades *in vitro* deseables. Es razonable suponer que muchos compuestos con perfiles farmacocinéticos pobres son susceptibles al metabolismo oxidativo. Los ensayos microsómicos *in vitro* de hígado actualmente disponibles proporcionan información valiosa sobre el curso del metabolismo oxidativo de este tipo, que a su vez permite el diseño racional de compuestos deuterados del Compuesto 1 con estabilidad mejorada a través de la resistencia a dicho metabolismo oxidativo. De este modo se obtienen mejoras significativas en los perfiles farmacocinéticos del Compuesto 1 y se pueden expresar cuantitativamente en términos de aumentos en la vida media *in vivo* ( $t_{1/2}$ ), concentración en el efecto terapéutico máximo ( $C_{max}$ ), área bajo la curva de respuesta a la dosis (AUC) y biodisponibilidad; y en términos de espacio reducido, dosis y costos de materiales.

15 **[0128]** Por ejemplo, en una realización alternativa, al menos uno de los átomos de hidrógeno en el Compuesto 1 se reemplazan por átomos de deuterio para proporcionar un compuesto deuterado. En una realización alternativa, uno o ambos grupos *t*-butilo en el Compuesto 1 se reemplazan por  $d_9$ -*t*-butilo. En otra realización alternativa, el grupo *t*-butilo adyacente al grupo OH en el Compuesto 1 se reemplaza por  $d_9$ -*t*-butilo (Compuesto 2). Los co-cristales del Compuesto 2 se pueden formar usando los métodos descritos en el presente documento. Un experto en la materia entendería que el patrón de XRPD de un co-cristal del Compuesto 2 y un triglicérido, o un co-cristal de cualquier otro de los compuestos deuterados en estas realizaciones alternativas y un triglicérido, tendría los mismos picos característicos. como co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos. Las determinaciones de vida media permiten una determinación favorable y precisa de la medida en que ha mejorado la resistencia al metabolismo oxidativo.

25 **[0129]** En algunas realizaciones alternativas, el intercambio de deuterio-hidrógeno en el Compuesto 1 también se puede usar para lograr una modificación favorable del espectro de metabolitos del compuesto de partida para disminuir o eliminar los metabolitos tóxicos no deseados. Por ejemplo, si un metabolito tóxico surge a través de la escisión oxidativa del enlace carbono-hidrógeno (CH), se puede suponer razonablemente que el compuesto deuterado disminuirá o eliminará en gran medida la producción del metabolito no deseado, incluso si la oxidación particular no es un paso de determinación de la velocidad. Se puede encontrar información adicional sobre el estado de la técnica con respecto al intercambio de deuterio-hidrógeno, por ejemplo en Hanzlik et al., J. Org. Chem. 55, 3992-3997, 1990, Reider et al., J. Org. Chem. 52, 3326-3334, 1987, Foster, Adv. Drug Res. 14, 1-40, 1985, Gillette et al, Biochemistry 33 (10) 2927-2937, 1994, y Jarman et al. Carcinogenesis 16 (4), 683-688, 1993.

### 35 **Compuesto 1:gliceriltri octanoato**

**[0130]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltri octanoato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltri octanoato".

40 **[0131]** La caracterización del Compuesto 1:gliceriltri octanoato se detalla más adelante en la sección ejemplar. La Figura 3 es un ejemplo de patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) del Compuesto 1:gliceriltri octanoato. La Figura 4 es un ejemplo de espectro de espectroscopia de resonancia magnética nuclear de estado sólido  $^{13}C$  ( $^{13}C$  RMNss) del Compuesto 1:gliceriltri octanoato. La Figura 5 es un ejemplo del análisis gravimétrico térmico (TGA), Compuesto 1:gliceriltri octanoato. La Figura 6 es un ejemplo de termograma de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) del Compuesto 1:gliceriltri octanoato. La Figura 7 es un ejemplo de espectro de Resonancia Magnética Nuclear  $^1H$  ( $^1H$  RMN) del Compuesto 1:gliceriltri octanoato en DMSO- $d_6$ .

50 **[0132]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltri octanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) con uno o más picos característicos expresados en  $2\text{-}\theta \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,1, 10,9, 12,0, 12,5, 13,2, 13,7, 15,0, 16,2, 16,9, 18,0, 19,3, 20,2, 21,7, 22,5, 23,8, 25,8, 27,0, 27,6, 28,3, 30,0, 31,0 y 32,6.

55 **[0133]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltri octanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-}\theta \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.

**[0134]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltri octanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-}\theta \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,1, 10,9, 16,9, 18,0, y 23,8.

60 **[0135]** En otra realización más, el Compuesto 1:gliceriltri octanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-}\theta \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,1, 10,9, 12,0, 12,5, 13,2, 13,7, 15,0, 16,2, 16,9, 18,0, 19,3, 20,2, 21,7, 22,5, 23,8, 25,8, 27,0, 27,6, 28,3, 30,0, 31,0 y 32,6.

65 **[0136]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltri octanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de

rayos X en polvo sustancialmente igual al que se muestra en la Figura 3, Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación de alfa de Cu K.

5 **[0137]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$  RMNss) con uno o más picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  seleccionados de: 178,6, 172,9, 171,6, 169,9, 165,1, 155,0, 143,2, 139,4, 137,3, 134,6, 133,0, 126,0, 119,4, 117,7, 112,1, 67,3, 64,0, 62,0, 59,6, 54,2, 35,8, 34,8, 31,7, 30,5, 23,5 y 14,6.

10 **[0138]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0 y 119,4.

**[0139]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones 178,6, 155,0, 134,6, 126,0, 119,4 y 35,8.

15 **[0140]** En otra realización más, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 172,9, 171,6, 169,9, 165,1, 155,0, 143,2, 139,4, 137,3, 134,6, 133,0, 126,0, 119,4, 117,7, 112,1, 67,3, 64,0, 62,0, 59,6, 54,2, 35,8, 34,8, 31,7, 30,5, 23,5 y 14,6.

20 **[0141]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a  $186,7^\circ\text{C}$ . En otras realizaciones, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría diferencial de barrido (DSC) a  $186,7 \pm 0,2^\circ\text{C}$ . En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría diferencial de barrido (DSC) a  $186,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

25 **[0142]** En algunas realizaciones, la relación o estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltriocanoato en el Compuesto 1:gliceriltriocanoato es 3:1, En algunas realizaciones, la relación o la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltriocanoato en el Compuesto 1:gliceriltriocanoato es de aproximadamente 3 a aproximadamente 1.

### 30 **Compuesto 1:gliceriltriocanoato**

**[0143]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltriocanoato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltriocanoato".

35 **[0144]** La caracterización del Compuesto 1:gliceriltriocanoato se detalla más adelante en la sección del Ejemplo. La Figura 8 es un ejemplo de patrón de XRPD del Compuesto 1:gliceriltriocanoato. La Figura 9 es un ejemplo de espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss del Compuesto 1:gliceriltriocanoato. La Figura 10 es un ejemplo de traza de TGA Compuesto 1:gliceriltriocanoato. La Figura 11 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltriocanoato. La Figura 12 es un ejemplo de un espectro de  $^1\text{H}$  RMN del Compuesto 1:triesteato de glicerilo en acetona- $d_6$ .

40 **[0145]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 9,8, 10,4, 10,9, 12,0, 12,7, 13,3, 13,8, 15,1, 16,3, 16,9, 18,1, 18,5, 19,4, 19,9, 20,2, 21,2, 21,8, 22,6, 23,8, 26,0, 27,0, 27,8, 28,5, 30,0, 30,7 y 32,7.

45 **[0146]** En una realización específica, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.

50 **[0147]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 10,9, 16,9, 18,1 y 23,8.

55 **[0148]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 9,8, 10,9, 12,0, 12,7, 13,3, 13,8, 15,1, 16,3, 16,9, 18,1, 18,5, 19,4, 19,9, 20,2, 21,2, 21,8, 22,6, 23,8, 26,0, 27,0, 27,8, 28,5, 30,0, 30,7, y 32,7. En una realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 9,8, 10,4, 10,9, 12,0, 12,7, 13,3, 13,8, 15,1, 16,3, 16,9, 18,1, 18,5, 19,4, 19,9, 20,2, 21,2, 21,8, 22,6, 23,8, 26,0, 27,0, 27,8, 28,5, 30,0, 30,7 y 32,7.

60 **[0149]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltriocanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 8. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa CuK.

65

**[0150]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido <sup>13</sup>C (<sup>13</sup>C RMNss) con uno o más picos característicos expresados en ppm ± 0,1 seleccionado de: 178,6, 172,9, 171,6, 169,9, 165,0, 155,0, 142,9, 139,3, 137,4, 134,5, 133,0, 130,5, 127,3, 126,0, 119,4, 117,7, 112,1, 67,2, 63,9, 59,6, 35,8, 34,8, 31,7, 30,5, 28,2, 24,6, 23,6 y 14,7.

5 **[0151]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm ± 0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 130,5 y 119,4.

10 **[0152]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm ± 0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 134,5, 130,5, 126,0, 119,4 y 35,8.

15 **[0153]** En otra realización más, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm ± 0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 172,9, 171,6, 169,9, 165,0, 155,0, 142,9, 139,3, 137,4, 134,5, 133,0, 130,5, 127,3, 126,0, 119,4, 117,7, 112,1, 67,2, 63,9, 59,6, 35,8, 34,8, 31,7, 30,5, 28,2, 24,6, 23,6 y 14,7.

20 **[0154]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 197,5°C. En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 197,5 ± 0,2°C. En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un pico endotérmico en calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 197,5 ± 0,5°C.

25 **[0155]** En algunas realizaciones, la relación o estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrioleato en el Compuesto 1:trioleato de glicerilo es 6:1, En algunas realizaciones, la proporción o estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrioleato en el Compuesto 1:gliceriltrioleato es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1.

Compuesto 1:gliceriltrilinooleato

30 **[0156]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltrilinooleato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltrilinooleato".

35 **[0157]** La caracterización del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 13 es un ejemplo de patrón de XRPD del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. La Figura 14 es un ejemplo de espectro <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. La Figura 15 es un ejemplo de traza de TGA Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. La Figura 16 es un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. La Figura 17 es un ejemplo de espectro de <sup>1</sup>H RMN de Compuesto 1:gliceriltrilinooleato en acetona-d<sub>6</sub>.

40 **[0158]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta 6 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,2, 10,9, 12,0, 12,5, 13,8, 15,1, 16,3, 17,0, 18,1, 19,4, 20,2, 21,8, 22,6, 23,8, 25,9, 27,1, 27,8, 28,4 y 32,7.

45 **[0159]** En una realización específica, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta ± 0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.

50 **[0160]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta ± 0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,2, 10,9, 17,0, 18,1, y 23,8.

55 **[0161]** En otra realización más, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 2-theta 6 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,2, 10,9, 12,0, 12,5, 13,8, 15,1, 16,3, 17,0, 18,1, 19,4, 20,2, 21,8, 22,6, 23,8, 25,9, 27,1, 27,8, 28,4 y 32,7.

**[0162]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo de XRPD sustancialmente igual al que se muestra en la Figura 13, Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa Cu K.

60 **[0163]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido <sup>13</sup>C (<sup>13</sup>C RMNss) con uno o más picos característicos expresados en ppm ± 0,1 seleccionado de: 178,6, 172,8, 171,5, 169,8, 165,1, 155,0, 142,9, 139,3, 137,4, 134,4, 133,1, 130,6, 126,0, 119,4, 117,6, 112,0, 86,5, 67,2, 63,9, 59,7, 35,8, 34,8, 31,7, 30,6, 28,2 y 14,8.

65 **[0164]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm ± 0,1 en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 130,6 y 119,4.

[0165] En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrioleato se caracteriza por tener un espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones 178,6, 155,0, 134,4, 130,6, 126,0, 119,4 y 35,8.

5 [0166] En otra realización más, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 172,8, 171,5, 169,8, 165,1, 155,0, 142,9, 139,3, 137,4, 134,4, 133,1, 130,6, 126,0, 119,4, 117,6, 112,0, 86,5, 67,2, 63,9, 59,7, 35,8, 34,8, 31,7, 30,6, 28,2 y 14,8.

10 [0167] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 182,3°C. En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a  $182,3 \pm 0,2^\circ\text{C}$ . En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a  $182,3 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

15 [0168] En algunas realizaciones, la proporción o la estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrilinooleato en el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato es 6:1. En algunas realizaciones, la relación o estequiometría del Compuesto 1 al gliceriltrilinooleato en el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato es de aproximadamente 6 a aproximadamente 1.

## 20 **Compuesto 1:triacetina**

[0169] El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el triacetato de glicerilo (triacetina) se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltriaceato" o "Compuesto 1:triacetina".

25 [0170] La caracterización del Compuesto 1:triacetina se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 18 es un ejemplo de patrón XRPD del Compuesto 1:triacetina. La Figura 19 es un espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss del Compuesto 1:triacetina. La Figura 20 es un termograma DSC del Compuesto 1:triacetina.

30 [0171] En una realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 4,9, 9,5, 9,8 y 14,7.

35 [0172] En una realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 4,9, 9,5, 9,8, 14,7, 16,5, 18,2, y 23,1.

40 [0173] En otra realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 18. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa Cu K.

[0174] En una realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,2, 155,1, 154,8, 119,7 y 119,2.

45 [0175] En una realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,2, 155,1, 154,8, 134,1, 125,9, 125,6, 119,7, 119,2 y 35,3.

50 [0176] En una realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,2, 165,4, 164,3, 155,1, 154,8, 154,1, 149,4, 146,8, 145,6, 140,0, 134,1, 133,2, 132,3, 127,0, 125,9, 125,6, 124,3, 120,6, 119,7, 119,2, 118,3, 117,6, 111,9, 111,1, 110,4, 35,3, 35,0, 31,8, 29,8, 21,9, 20,4 y 18,9.

55 [0177] En una realización, el Compuesto 1:triacetina se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría de barrido diferencial (DSC) a 123,9°C (pico) que corresponde a la fusión del Compuesto 1:gliceriltriacetina co-cristal. Este evento es seguido por otra endoterma a 141,9°C y otra endoterma a 193,8°C.

## **Compuesto 1:gliceriltributirato**

60 [0178] El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltributirato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltributirato".

[0179] La caracterización del Compuesto 1:gliceriltributirato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 21 es un ejemplo de patrón XRPD del Compuesto 1:gliceriltributirato.

65 [0180] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltributirato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 6,8,

9,5 y 22,6.

**[0181]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltributirato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 4,8, 4,9, 6,8, 9,5, 9,6 14,3, 18,0, 19,0, 19,8, 21,4, 22,6 y 23,8.

**[0182]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltributirato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente igual al mostrado en la Figura 21. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa Cu K.

Compuesto 1:glicerilestistearato

**[0183]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el glicerilestistearato se denomina en adelante "Compuesto 1:glicerilestistato".

**[0184]** La caracterización del Compuesto 1:glicerilestistearato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 22 es un ejemplo de patrón XRPD del Compuesto 1:glicerilestistearato. La Figura 23 es un espectro <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:glicerilestistearato. La Figura 24 es un termograma DSC del Compuesto 1:glicerilestistearato.

**[0185]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,6, 6,9 y 11,0.

**[0186]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,6, 6,2, 6,9, 9,3, 11,0, 17,0, y 18,2.

**[0187]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,6, 5,4, 6,2, 6,9, 9,3, 11,0, 12,1, 12,6, 13,4, 13,9, 15,4, 16,4, 17,0, 18,2, 18,5, 19,4, 20,0, 20,4, 21,8, 23,8, 26,0, 27,0, 28,4, 29,1, 29,9, 31,2 y 32,8.

**[0188]** En otra realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 22. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa CuK.

**[0189]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,5, 155,0 y 119,5.

**[0190]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,5, 155,0, 134,4, 126,1, 119,5 y 35,7.

**[0191]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,5, 172,9, 171,6, 169,9, 165,0, 155,0, 143,6, 139,4, 137,2, 135,1, 134,4, 133,0, 127,3, 126,1, 119,5, 117,6, 112,0, 67,3, 64,1, 59,6, 35,7, 34,7, 31,7, 30,6, 23,6 y 14,8.

**[0192]** En una realización, el Compuesto 1:glicerilestistearato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 55,1°C que corresponde a la fusión eutéctica del Compuesto 1:glicerilesterato co-cristal y estristearato de glicerilo. Este evento es seguido por otra endoterma a 71,3°C, correspondiente a la masa fundida de gliceriltristearato puro. La endoterma superpuesta a 201,3°C y la exoterma a 208,1°C corresponden a la masa fundida de co-cristal y la cristalización del Compuesto 1 puro, respectivamente. Otra endoterma a 284,7°C corresponde a la fusión de una forma limpia del Compuesto 1,

#### **Compuesto 1:gliceriltripalmitato**

**[0193]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltripalmitato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltripalmitato".

**[0194]** La caracterización del Compuesto 1:gliceriltripalmitato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 25 es un ejemplo de patrón XRPD del Compuesto 1:gliceriltripalmitato. La Figura 26 es un espectro <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltripalmitato. La Figura 27 es un termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltripalmitato.

- [0195]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 11,0.
- 5 **[0196]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta 6 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,3, 17,0, 18,2, y 23,7.
- 10 **[0197]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta 6 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,9, 9,3, 11,0, 13,8, 15,1, 16,3, 17,0, 18,2, 19,4, 19,9, 20,3, 21,8 y 23,7.
- 15 **[0198]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 25. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa CuK.
- 20 **[0199]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,4, 155,0, 144,0 y 119,6.
- 25 **[0200]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,4, 155,0, 134,5, 126,0, 119,6 y 35,7.
- 30 **[0201]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,4, 173,0, 169,9, 165,0, 155,0, 144,0, 144,0, 139,5, 137,2, 134,5, 133,0, 127,2, 126,0, 119,6, 117,5, 112,0, 67,2, 64,0, 59,7, 35,7, 34,6, 31,7, 30,6, 23,7 y 14,8.
- 35 **[0202]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 47,7°C (pico) que corresponde a la fusión eutéctica de ivacaftor:gliceriltripalmitato cocicristal y gliceriltripalmitato. Este evento es seguido por otra endoterma a 63,0°C (pico), correspondiente a la masa fundida de gliceriltripalmitato puro. La endoterma superpuesta a 174,9°C (pico) y la exoterma a 186,7°C (pico) corresponde a la masa fundida de co-cristal y la cristalización de ivacaftor puro, respectivamente. Otra endoterma a 266,2°C (pico) corresponde a la fusión de una forma limpia de ivacaftor.
- Compuesto 1:gliceriltridodecanoato
- 40 **[0203]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltridodecanoato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltridodecanoato".
- 45 **[0204]** La caracterización del Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 28 es un ejemplo de patrón de XRPD del Compuesto 1:gliceriltridodecanoato. La Figura 29 es un espectro <sup>13</sup>C RMNss del Compuesto 1:gliceriltridodecanoato.
- 50 **[0205]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta 6 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 4,4, 6,1, 6,9, 8,6, 9,3, 11,0, 12,1, 12,6, 13,2, 13,8, 15,0, 16,3, 17,0, 18,1, 19,5, 20,3, 21,9, 23,3, 23,9, 24,8 y 30,2.
- 55 **[0206]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 11,0.
- 60 **[0207]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,1, 6,9, 9,3, 11,0, 17,0, 18,1 y 23,3.
- 65 **[0208]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo de XRPD sustancialmente igual al que se muestra en la Figura 28. Los patrones de difracción de rayos X del polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa CuK.
- [0209]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,4, 155,0 y 119,6.
- [0210]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un espectro de <sup>13</sup>C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,4, 155,0, 134,6, 126,1, 119,6 y 35,6.

[0211] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,4, 173,1, 171,5, 169,8, 165,0, 155,0, 143,0, 139,4, 137,2, 134,6, 133,0, 127,3, 126,1, 119,6, 117,6, 112,1, 67,1, 63,9, 59,7, 35,6, 31,7, 30,6 y 23,6.

#### **Compuesto 1: gliceriltrimiristato**

[0212] El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltrimiristato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltrimiristato".

[0213] La caracterización del Compuesto 1:gliceriltrimiristato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 30 es un ejemplo de patrón de XRPD del Compuesto 1:gliceriltrimiristato. La Figura 31 es un espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss del Compuesto 1:gliceriltrimiristato. La Figura 32 es un termograma de DSC del Compuesto 1:gliceriltrimiristato.

[0214] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,8 y 10,9.

[0215] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,8, 9,2, 10,9, 16,9, y 18,0.

[0216] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,0, 6,8, 7,4, 8,3, 9,2, 9,9, 10,9, 12,0, 12,5, 13,2, 13,7, 14,9, 16,2, 16,9, 17,6, 18,0, 18,5, 19,4, 20,0, 21,2, 22,2, 23,2, 24,1, 25,1, 26,4, 27,2, 27,7, 28,3, 29,2, 29,7, 31,0 y 32,7.

[0217] En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 30. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa CuK.

[0218] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,1, 155,0 y 119,9.

[0219] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,1, 155,0, 134,6, 126,0, 119,9 y 35,6.

[0220] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,1, 171,4, 169,8, 165,0, 155,0, 142,9, 139,5, 137,2, 137,6, 133,1, 127,3, 126,0, 119,9, 117,4, 112,0, 67,0, 63,7, 61,4 y 35,6.

[0221] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se caracteriza por tener un pico endotérmico en la calorimetría diferencial de barrido (DSC) a 59,2°C que corresponde a la masa fundida de gliceriltrimiristato. Este evento es seguido por una exotermia amplia a 134,4°C que se superpone con una endoterma. Este evento es seguido por una exotermia a 171,3°C correspondiente a la cristalización del Compuesto nulo 1, Otra endoterma a 280,1°C corresponde a la masa fundida de una forma neta del Compuesto 1.

#### **Compuesto 1:gliceriltrihexanoato**

[0222] El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltrihexanoato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltrihexanoato".

[0223] La caracterización del Compuesto 1:gliceriltrihexanoato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 33 es un ejemplo de patrón XRPD del Compuesto 1:gliceriltrihexanoato.

[0224] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrihexanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 6,5, 9,2 y 21,4.

[0225] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrihexanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 4,7, 6,5, 9,2, 14,5, 17,4, 18,7, 19,9, 21,4 y 24,4.

[0226] En una realización, el Compuesto 1:gliceriltrihexanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm 0,2$  grados en las siguientes



posiciones: 4,7, 6,5, 9,2, 9,9, 11,8, 12,5, 14,5, 15,1, 15,6, 17,4, 18,7, 19,9, 21,4, 23,0, 24,4, 25,2, 26,5, 28,3, 29,1, 30,5 y 35,6.

5 **[0227]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltrihecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 33. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa CuK.

#### **Compuesto 1:gliceriltridecanoato**

10 **[0228]** El co-cristal que comprende el Compuesto 1 y el gliceriltridecanoato se denomina en lo sucesivo "Compuesto 1:gliceriltridecanoato".

15 **[0229]** La caracterización del Compuesto 1:gliceriltridecanoato se detalla más adelante en la sección de Ejemplo. La Figura 34 es un ejemplo de patrón XRPD del Compuesto 1:gliceriltridecanoato. La Figura 35 es un espectro 13C RMNss del Compuesto 1:gliceriltridecanoato.

20 **[0230]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9.

**[0231]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,1, 6,9, 9,2, 10,9, 16,9, 18,1, y 23,9.

25 **[0232]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con uno o más picos característicos expresados en 2-theta  $\pm$  0,2 grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,1, 6,9, 9,2, 10,9, 11,8, 12,1, 12,6, 13,2, 13,8, 14,9, 16,3, 16,9, 18,1, 18,5, 19,4, 19,8, 20,3, 21,7, 23,4, 23,9, 25,2, 25,8, 27,2 y 28,4.

30 **[0233]** En otra realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un patrón de difracción de polvo XRPD sustancialmente el mismo que se muestra en la Figura 34. Los patrones de difracción de rayos X en polvo se obtienen a temperatura ambiente utilizando radiación alfa Cu K.

35 **[0234]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un espectro de 13C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,5, 155,0 y 119,5.

**[0235]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un espectro de 13C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,5, 155,0, 134,9, 126,1 y 35,7.

40 **[0236]** En una realización, el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se caracteriza por tener un espectro de 13C RMNss con picos característicos expresados en ppm  $\pm$  0,1 en las siguientes posiciones: 178,5, 171,6, 169,9, 165,0, 155,0, 143,3, 139,5, 137,2, 134,9, 133,0, 127,3, 126,1, 119,5, 117,6, 112,1, 67,2, 64,0, 59,8, 35,7, 34,7, 31,7, 30,5 y 25,8, 23,5.

#### **Comparación de disolución**

45 **[0237]** Una comparación de los perfiles de disolución en FeSSIF del Compuesto 1:gliceriltrihecanoato, Compuesto 1:gliceriltrihecanoato y Compuesto 1:gliceriltrilinoato con Compuesto 1 amorfo y Compuesto 1 SDC (Compuesto 1 amorfo difuso en HPMCAS) o succinato de acetato de hipromelosa) (es decir, la dispersión secada por pulverización (SDD)) se muestra en la Figura 36. El Compuesto 1 tiene una biodisponibilidad oral limitada por solubilidad y se requiere el mantenimiento de una alta concentración de solución en FeSSIF para cualquier forma sólida del Compuesto 1 para ser viable para el desarrollo de formas de dosificación oral. Los Compuestos 1: los co-cristales de triglicéridos tienen un rendimiento similar en términos de velocidad de disolución y mantenimiento de las altas concentraciones de solución en FeSSIF entre sí. Los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos también muestran un mejor mantenimiento de la sobresaturación que la forma dispersa amorfa pura y la forma sólida amorfa del Compuesto 1 (Compuesto 1 SDD) durante períodos de tiempo más largos. Además, *in vivo* los co-cristales de Compuesto 1:triglicérido se deben metabolizar en el intestino delgado mediante la esterasa lípida (lipasas), que eliminaría de manera efectiva los triglicéridos y aumentaría aún más la concentración del Compuesto 1 de acuerdo con el principio de Le-Chatelier.

60 **[0238]** Además, los co-cristales cristalinos de Compuesto 1:triglicéridos pueden tener las siguientes ventajas sobre la forma sólida amorfa dispersada (Compuesto 1 SDD) del Compuesto 1: (1) los co-cristales se pueden formular, almacenar y usar bajo Condiciones en las que son termodinámicamente estables; (2) se puede desarrollar una cristalización controlada que puede reducir los niveles de impurezas potenciales (las impurezas incluyen, pero no se limitan a, solvente); (3) se puede desarrollar un proceso de fabricación que sea más eficiente y rentable (por ejemplo, se puede usar menos solvente en la fabricación y se puede desarrollar un proceso de menor costo que el

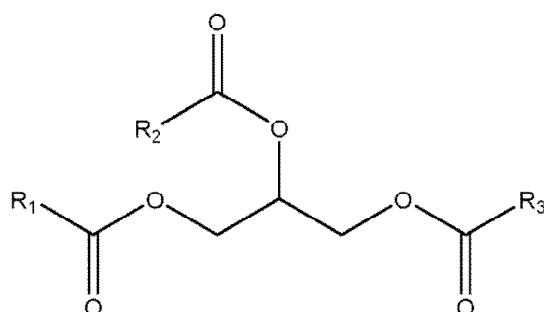
65

secado por pulverización); y (4) no se requiere un polímero estabilizador para los co-cristales.

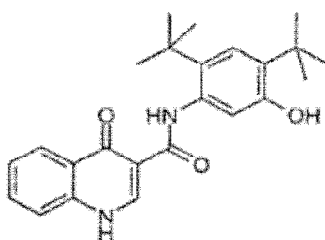
[0239] En una realización, el co-cristal se disuelve en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) para producir una concentración del Compuesto 1 de más de 0,4 mg/mL. En otra realización, el co-cristal se disuelve en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) para producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL y la concentración se mantiene durante al menos 10 horas. En otra realización, el co-cristal se disuelve en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) a una temperatura de 37°C para producir una concentración de Compuesto 1 mayor que 0,4 mg/mL y la concentración se mantiene durante al menos 10 horas. En algunas realizaciones, el co-cristal se disuelve en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) para producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL en 2 horas. En otra realización, el co-cristal se disuelve en fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) para producir una concentración de Compuesto 1 superior a 0,4 mg/mL y la concentración se mantiene durante al menos 10 horas sin necesidad de estabilización. polímero. En algunas realizaciones, el polímero estabilizante es HPMCAS.

#### 15 Procesos para hacer formas de co-cristal

[0240] En un aspecto, la presente invención se dirige a un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:



en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$  alifáticos, en donde el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:



que comprende los pasos de:

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y
- (b) calentar la mezcla.

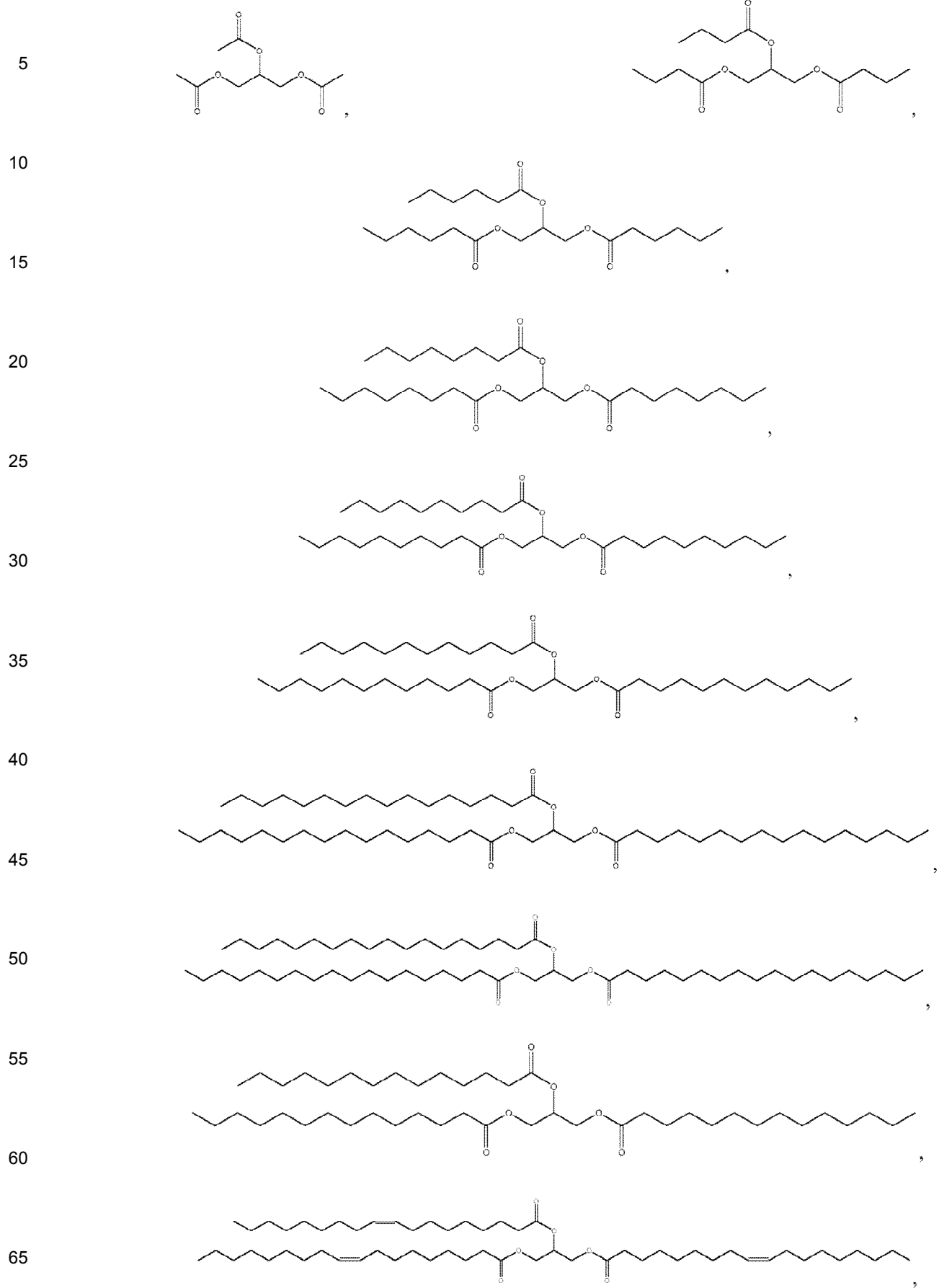
agitando o mezclando el Compuesto 1 y el co-formador para formar el co-cristal.

[0241] En algunas realizaciones,  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{7-29}$  alifáticos

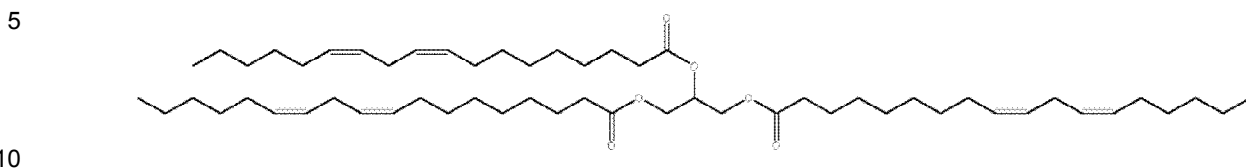
[0242] En algunas realizaciones, el triglicérido tiene un peso molecular promedio entre 470 y 1400 Da.

[0243] En algunas realizaciones, el triglicérido se elige entre trioleato de glicerilo, triestecato de glicerilo, tridecanoato de glicerilo, triheconoato de glicerilo, trigliceriltridecanoato, trioctanoato de glicerilo, glicerilo trimiristato, tripalmitato de glicerilo, tributirato glicerilo, trilinoleato de glicerilo, tridodecanoato de glicerilo, decanoato de glicerilo, tripalmitoleato glicerilo, trierucato glicerol, tripropionato glicerilo, palmitodioleín, triarachidonin, trilinolenato de glicerilo, trierucin, triarachidato de glicerol, glicerilo tri(cis-13-docosenoato), tripetroselinato de glicerilo, tribehenato de glicerilo, trielaidato de glicerilo, y triacetin.

[0244] En algunas realizaciones, el triglicérido se elige de



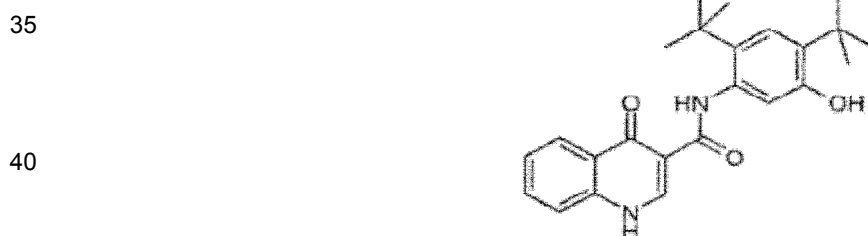
y



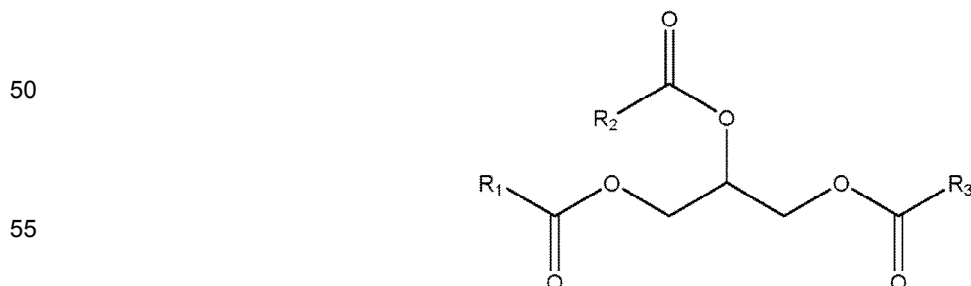
**[0245]** En una realización, el Compuesto 1 es puro amorfo. En otra realización, el triglicérido está limpio. En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan durante al menos 0,5 horas. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitaron durante 18 horas. En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan durante más de 0,5 horas (incluyendo, pero no limitado a, 1 hora, 2 horas, 3 h, 4 horas, 5 horas, 7 horas, 8 horas, 9 horas, 10 horas, 11 horas, 12 horas, 13 horas, 14 horas, 15 horas, 16 horas, 17 horas o 18 horas). En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan a 40°C. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan a aproximadamente 40°C. En otras realizaciones más, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan a 35-45°C (por ejemplo, a 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C), 42°C, 43°C, 44°C o 45°C). En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan durante al menos 18 horas a 40°C. En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan durante al menos 0,5 horas a 40°C. En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se agitan durante al menos 18 horas a 40°C.

**[0246]** Como ejemplos no limitativos, en una realización, el Compuesto 1 y el gliceriltrioctanoato se agitan durante al menos 0,5 horas; en una realización más, el Compuesto 1 y el gliceriltrioctanoato se agitan durante 0,5 horas; en otra realización más, el Compuesto 1 y el gliceriltrioctanoato se agitan durante al menos 0,5 horas a 40°C; en otra realización más, el Compuesto 1 y el gliceriltrioctanoato se agitan durante 0,5 horas a 40°C.

**[0247]** En una realización, la presente divulgación proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:



45 en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:



60 en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub>alifáticos, que comprenden los pasos de:

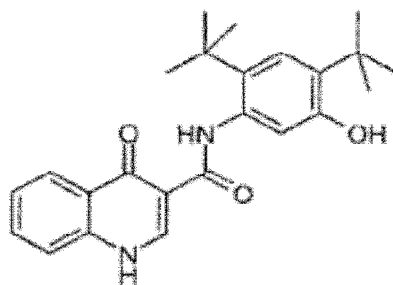
- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido para formar el co-cristal; y  
 (b) recoger los co-cristales por filtración.

65

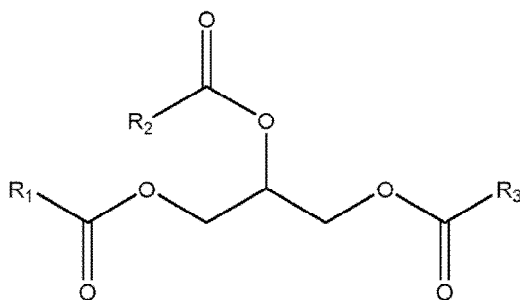
**[0248]** En otra realización, el método opcionalmente comprende, además, los pasos de:

- (c) recogida de licor madre;
- (d) agitar el Compuesto 1 con el licor madre recogido durante al menos 18 horas; y
- (e) recoger los co-cristales.

[0249] Un aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:



y en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

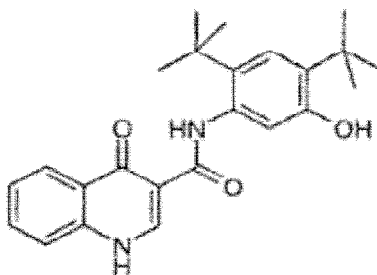


en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$ alifáticos; que comprende los pasos de:

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y
- (b) calentar la mezcla.

[0250] En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a aproximadamente 80°C. En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a aproximadamente 80°C durante 12 horas. En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 12 horas. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a aproximadamente 80°C durante 24 horas. En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 24 horas.

[0251] Un aspecto de la presente divulgación proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

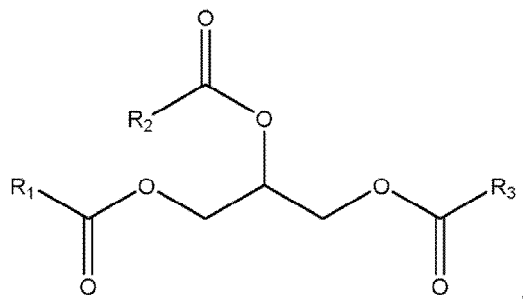


El triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

5

10

15



20

en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$  alifáticos, que comprenden los pasos de:

(c) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y

(d) calentar la mezcla a  $80^\circ\text{C}$ .

25

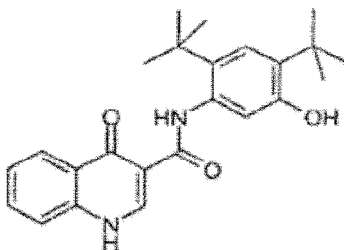
**[0252]** En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a  $80^\circ\text{C}$  durante 12 horas. En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a  $80^\circ\text{C}$  durante 24 horas.

30

**[0253]** Otro aspecto adicional de la presente divulgación proporciona un método para preparar co-cristales que comprenden el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

35

40

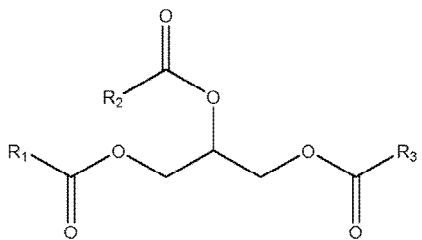


45

El triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

50

55



en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$  alifáticos, que comprende los pasos de:

60

(a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y

(b) calentar la mezcla a una temperatura que sea aproximadamente 5 a  $10^\circ\text{C}$  más alta que el punto de fusión del triglicérido.

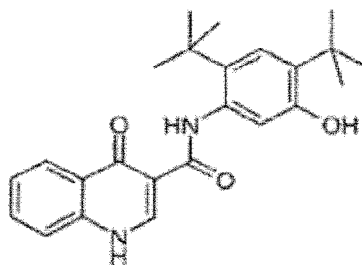
65

**[0254]** Un aspecto de la presente divulgación proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

5

10

15

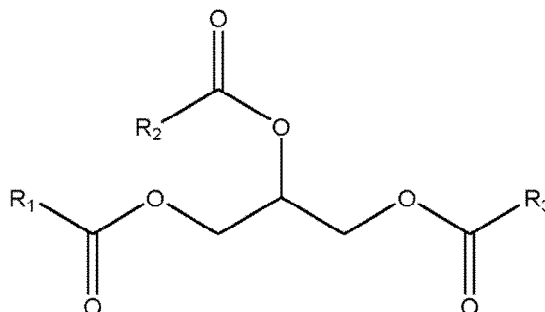


en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

20

25

30



en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$ alifáticos, que comprenden los pasos de:

35

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido;
- (b) calentar la mezcla;
- (c) enfriar la mezcla; y
- (d) repetir los pasos (b) y (c).

40

45

50

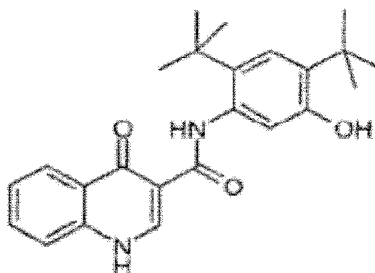
**[0255]** En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a aproximadamente 80°C. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a aproximadamente 80°C y se enfrían a aproximadamente 40°C. En una realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C y se enfrían a 40°C. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 12 horas. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 24 horas. En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 12 horas y se enfrían a aproximadamente 40°C. En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 12 horas. En otra realización más, el Compuesto 1 y el triglicérido se calientan a 80°C durante 24 horas y se enfrían a aproximadamente 40°C. En cualquiera de las realizaciones anteriores, se repiten los pasos de calentamiento y enfriamiento.

**[0256]** Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

55

60

65

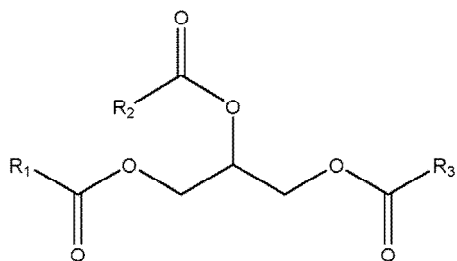


en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

5

10

15



20

en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub>alifáticos, que comprenden los pasos de:

25

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido;
- (b) calentar la mezcla a aproximadamente 80°C;
- (c) enfriar la mezcla; y
- (d) repetir los pasos (b) y (c).

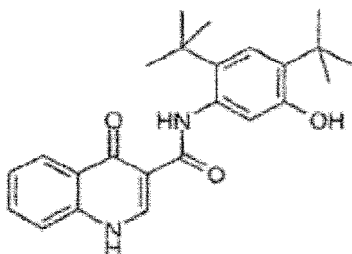
**[0257]** En otra realización, el Compuesto 1 y el triglicérido se enfrían a 40°C.

30

**[0258]** Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende un Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:

35

40

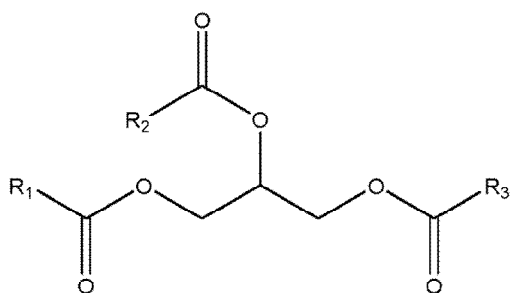


en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:

45

50

55



60

en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son independientemente C<sub>1-29</sub>alifáticos, que comprenden los pasos de:

65

- (a) añadir el Compuesto 1 y el triglicérido;
- (b) calentar a aproximadamente 80°C;
- (c) enfriar hasta aproximadamente 40°C; y
- (d) repetir los pasos (b) y (c).

**[0259]** En algunas realizaciones, el triglicérido puede prepararse suspendiendo el Compuesto 1 y un triglicérido en



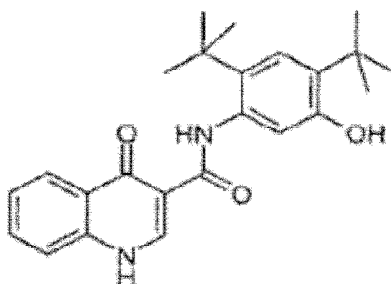
un disolvente adecuado en una composición de suspensión en la que el co-cristal es estable en el diagrama de fase ternaria, por ejemplo: co-moliendo el Compuesto 1 y un triglicérido, co-moliendo el Compuesto 1 y un triglicérido y agregando una pequeña cantidad de solvente adecuado, co-moliendo el Compuesto 1 y un triglicérido y posteriormente recociendo, co-moliendo el Compuesto 1 y un triglicérido y posteriormente recociendo a temperatura elevada, co-moliendo el Compuesto 1 y un triglicérido y posteriormente recociendo a humedad elevada, co-moliendo el Compuesto 1 y un triglicérido y posteriormente recociendo a temperatura y humedad elevadas, mezclando el Compuesto 1 y un triglicérido a una temperatura en la que al menos el triglicérido es líquido, mezclando el Compuesto 1 y un triglicérido a una temperatura en la que al menos el triglicérido es líquido y luego se enfría después de un período de cristalización, mediante la extrusión del Compuesto 1 y un triglicérido a una temperatura y composición de triglicéridos en la que el triglicérido es estable, o disolviendo el Compuesto 1 y un triglicérido en un disolvente adecuado, y evaporando el disolvente. Los co-cristales se pueden hacer con triglicéridos múltiples de una manera similar.

**[0260]** En una realización, los co-cristales se recogen por filtración centrífuga a una temperatura por encima de la temperatura de fusión del triglicérido.

**[0261]** En otra realización, los co-cristales se lavan después de la filtración para eliminar el exceso de triglicéridos.

**[0262]** Los co-cristales producidos por cualquiera de los métodos anteriores se aíslan o purifican. Los co-cristales son puros según lo medido por HPLC. En una realización, el co-cristal es superior al 99% (p/p). En otra realización, el co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos es superior al 99,5% (p/p). En una realización, el co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos es 99,5% (p/p). En otra realización, el co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos es 99,6% (p/p). En otra realización, el co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos es 99,7% (p/p). En otra realización, el co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos es 99,8% (p/p). En otra realización, el co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos es 99,9% (p/p). En una realización, el co-cristal de Compuesto 1:gliceriltricloro octanoato es 99,9% (p/p). En otra realización, el co-cristal de Compuesto 1:gliceriltrioleato es 99,9% (p/p). En otra realización más, el co-cristal de Compuesto 1:gliceriltrilinooleato es 99,5% (p/p). El límite de detección de impurezas por HPLC es de 0,005%.

**[0263]** La presente divulgación también proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido seleccionado del grupo que consiste en gliceriltrioctanoato, gliceriltrioleato y gliceriltrilinooleato de glicerilo, en donde el Compuesto 1 se representa mediante la siguiente fórmula estructural:



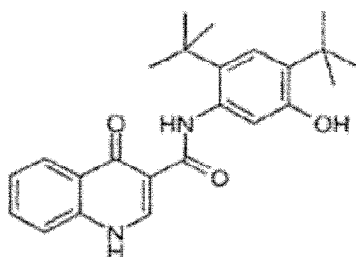
que comprende el paso de:  
agitando el Compuesto 1 y el triglicérido para formar el co-cristal.

**[0264]** En algunas realizaciones, el triglicérido es gliceriltrioctanoato.

**[0265]** En algunas formas de realización, el triglicérido es gliceriltrioleato.

**[0266]** En algunas realizaciones, el triglicérido es gliceriltrilinooleato.

**[0267]** La presente descripción también proporciona un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido seleccionado del grupo que consiste en gliceriltrioctanoato, gliceriltrioleato y gliceriltrilinooleato, donde el Compuesto 1 está representado por la siguiente fórmula estructural:



que comprende los pasos de:  
añadiendo el Compuesto 1 y el triglicérido juntos; y  
calefacción.

## 5 **Usos, formulación y administración**

### *Composiciones farmacéuticamente aceptables*

10 **[0268]** En un aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables como se definen en la reivindicación 1 y las reivindicaciones dependientes asociadas, en donde estas composiciones comprenden un co-cristal de una cualquiera de las realizaciones anteriores y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable..

15 **[0269]** Al menos el 30% del Compuesto 1 presente en las composiciones farmacéuticamente aceptables están en la forma del co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento. Como ejemplo no limitativo, al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 92,5%, 95%, 97,5%, 98% o 99% del Compuesto 1 están presentes en la forma del co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento.

20 **[0270]** En ciertas realizaciones, estas composiciones comprenden adicionalmente uno o más agentes terapéuticos adicionales.

25 **[0271]** Como se describe anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente divulgación comprenden adicionalmente un vehículo, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable que, como se usa en el presente documento, incluye cualquiera y todos los disolventes, diluyentes u otros vehículos líquidos, dispersión o adyuvantes de suspensión, agentes de superficie activa, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, adecuados para la forma de dosificación particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, Decimosexta edición, EW Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pensilvania, 1980) describe varios vehículos utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio portador convencional sea incompatible con los compuestos de la divulgación, tal como produciendo cualquier efecto biológico indeseable o interactuando de otra manera de manera perjudicial con cualquier otro componente de la composición farmacéuticamente aceptable, se contempla su uso dentro del alcance de esta divulgación. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, como la albúmina sérica humana, sustancias tampón como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de sodio, fosfato de hidrógeno y potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, ceras de poliácridatos, polímeros de polietileno-polioxiopropileno, grasa de lana, azúcares como la lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorio; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; dicho propilenglicol o polietilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agentes tamponantes de agar tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; el alcohol etílico y las soluciones de tampón de fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos como el laurilsulfato de sodio y el estearato de magnesio, así como los agentes colorantes, liberadores, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, según el criterio del formulador.

### *Usos de compuestos y composiciones farmacéuticamente aceptables*

55 **[0272]** Además de la fibrosis quística, la modulación de la actividad de RTFQ puede ser beneficiosa para otras enfermedades no causadas directamente por mutaciones en RTFQ, tales como enfermedades secretoras y otras enfermedades de plegamiento de proteínas mediadas por RTFQ. Éstas incluyen, entre otras, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad del ojo seco y síndrome de Sjögren. La EPOC se caracteriza por una limitación del flujo de aire que es progresiva y no completamente reversible. La limitación del flujo de aire se debe a hipersecreción de moco, enfisema y bronquiolitis. Los activadores de RTFQ mutantes o de tipo salvaje ofrecen un tratamiento potencial para la hipersecreción de moco y el aclaramiento mucociliar deteriorado que es común en la EPOC. Específicamente, el aumento de la secreción de aniones a través de RTFQ puede facilitar el transporte de líquido hacia el líquido de la superficie de la vía aérea para hidratar el moco y optimizar la viscosidad del líquido periciliar. Esto conduciría a un mayor aclaramiento mucociliar y una reducción de los síntomas asociados con la EPOC. La enfermedad del ojo seco se caracteriza por una disminución en la producción de lágrimas acuosas y perfiles de lípidos, proteínas y mucinas anormales en las lágrimas. El ojo seco tiene muchas causas, algunas de las cuales incluyen la edad, la cirugía ocular Lasik, la artritis, los medicamentos, las quemaduras químicas/térmicas, las alergias y las enfermedades, como la fibrosis quística y el síndrome de Sjögrens. El aumento de la secreción de

aniones a través de RTFQ mejoraría el transporte de líquidos desde las células endoteliales de la córnea y las glándulas secretoras que rodean el ojo para aumentar la hidratación de la córnea. Esto ayudaría a aliviar los síntomas asociados con la enfermedad del ojo seco. El síndrome de Sjögrens es una enfermedad autoinmune en la que el sistema inmunitario ataca las glándulas productoras de humedad en todo el cuerpo, incluidos los ojos, la boca, la piel, el tejido respiratorio, el hígado, la vagina y el intestino. Los síntomas incluyen: ojo seco, boca y vagina, así como enfermedad pulmonar. La enfermedad también se asocia con artritis reumatoide, lupus sistémico, esclerosis sistémica y polimiositis/dermatomiositis. Se cree que el tráfico defectuoso de proteínas causa la enfermedad, por lo que las opciones de tratamiento son limitadas. Los aumentadores o inductores de la actividad de RTFQ pueden hidratar los diversos órganos afectados por la enfermedad y ayudar a elevar los síntomas asociados.

**[0273]** En el presente documento se describe un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente que comprende administrar a dichos pacientes co-cristales de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, y dicha enfermedad se selecciona de fibrosis quística, asma, EPOC inducida por el humo, bronquitis crónica, rinosinusitis, estreñimiento, pancreatitis, insuficiencia pancreática, infertilidad masculina causada por la ausencia bilateral congénita del conducto deferente (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática, aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), enfermedad del hígado, enfermedad del hígado, hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos, como hipercolesterolemia familiar, quilomicronemia tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedad por almacenamiento de lisosomas, como enfermedad de la célula I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar de tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG tipo 1, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, diabetes insípida (DI), DI neurohipofisaria, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedades neurodegenerativas tal como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, diversos trastornos neurológicos de poliglutamina tal como enfermedad de Huntington, ataxia espino-cerebelosa de tipo I, atrofia muscular espinal y bulbar, atrofia palidoluisiana dentatorubral, y distrofia miotónica, tal como encefalopatías espongiiformes, como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debido a una enfermedad de Creutzfeldt-Jakob), Enfermedad de Fabry, síndrome de Sträussler-Scheinker, EPOC, enfermedad del ojo seco o enfermedad de Sjogren, osteoporosis, osteopenia, curación ósea y crecimiento óseo (incluida la reparación ósea, regeneración ósea, reducción de la reabsorción ósea y aumento de la deposición ósea), Síndrome de Gorham, canalopatías de cloruro como la miotonía congénita (formas de Thomson y Becker), síndrome de Bartter tipo III, enfermedad de Dent, epilepsia, hiperekplexia, enfermedad de almacenamiento lisosomal, síndrome de Angelman y disquinesia ciliar primaria (PCD), un término para trastornos hereditarios de la estructura y/o función de los cilios, incluida la PCD con situs inversus (también conocido como síndrome de Kartagener), PCD sin situs inversus y aplasia ciliar. En algunas realizaciones, el co-cristal es un co-cristal de Compuesto 1:triglicérido como se describe en el presente documento.

**[0274]** En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica para uso en un método para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en un paciente, en donde el método comprende administrar a dicho paciente un co-cristal de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente. En algunas realizaciones, el co-cristal es un co-cristal de Compuesto 1:triglicérido como se describe en el presente documento. En ciertas realizaciones, el paciente posee formas mutantes de RTFQ humano. En otras realizaciones, el paciente posee una o más de las siguientes mutaciones  $\Delta F508$ , R117H y G551D de RTFQ humano. En una realización, el método incluye tratar o disminuir la severidad de la fibrosis quística en un paciente que posee la mutación  $\Delta F508$  de RTFQ humano que comprende administrar a dicho paciente co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento. En una realización, el método incluye tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en un paciente que posee la mutación G551D de RTFQ humano que comprende administrar a dicho paciente co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento. En una realización, el método incluye tratar o disminuir la severidad de la fibrosis quística en un paciente que posee la mutación  $\Delta F508$  de RTFQ humano en un alelo que comprende administrar a dicho paciente co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento. En una realización, el método incluye tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en un paciente que posee la mutación  $\Delta F508$  del RTFQ humano en ambos alelos, que comprende administrar a dicho paciente el co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento. En una realización, el método incluye tratar o disminuir la severidad de la fibrosis quística en un paciente que posee la mutación G551D de RTFQ humana en un alelo que comprende administrar a dicho paciente el co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento. En una realización, el método incluye tratar o disminuir la severidad de la fibrosis quística en un paciente que posee la mutación G551D de RTFQ humano en ambos alelos, que comprende administrar a dicho paciente co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento.

**[0275]** En el presente documento se describe un método para tratar o disminuir la gravedad de una afección, enfermedad o trastorno implicado por la mutación RTFQ. En el presente documento se describe un método para tratar una afección, enfermedad o trastorno implicado por una deficiencia de la actividad de RTFQ, comprendiendo el método administrar una composición que comprende co-cristales de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, a un sujeto, preferiblemente un mamífero en necesidad de los mismos. En algunas realizaciones, el co-cristal es un co-cristal de Compuesto 1:triglicérido como se describe en el presente documento.

**[0276]** En este documento se describe un método para tratar enfermedades asociadas con una función reducida de RTFQ debido a mutaciones en el gen que codifica RTFQ o factores ambientales (por ejemplo, humo). Estas enfermedades incluyen fibrosis quística, bronquitis crónica, bronquitis recurrente, bronquitis aguda, infertilidad masculina causada por la ausencia bilateral congénita del conducto deferente (CBAVD), infertilidad femenina causada por la ausencia congénita del útero y la vagina (CAUV), pancreatitis idiopática crónica (ICP), pancreatitis idiopática recurrente, pancreatitis idiopática aguda, rinosinusitis crónica, colangitis esclerosante primaria, aspergilosis broncopulmonar alérgica, diabetes, ojo seco, estreñimiento, aspergilosis broncopulmonar alérgica (AB-PA), enfermedades óseas (osteoporosis), que comprende administrar a dicho paciente un co-cristal de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente. En algunas realizaciones, el co-cristal es un co-cristal de Compuesto 1:triglicérido como se describe en el presente documento.

**[0277]** En este documento se describe un método para tratar enfermedades asociadas con la función RTFQ normal. Estas enfermedades incluyen, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis crónica, bronquitis recurrente, bronquitis aguda, rinosinusitis, estreñimiento, pancreatitis incluyendo pancreatitis crónica, pancreatitis recurrente y pancreatitis aguda, insuficiencia pancreática, infertilidad masculina causada por congénita bilateral ausencia del conducto deferente (CBAVD), enfermedad pulmonar leve, pancreatitis idiopática, enfermedad hepática, enfisema hereditario, cálculos biliares, enfermedad por reflujo gastroesofágico, neoplasias gastrointestinales, enfermedad inflamatoria del intestino, estreñimiento, diabetes, artritis, osteoporosis y osteopenia, que comprende a dichos co-cristales de paciente de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente. En algunas realizaciones, los co-cristales son co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos como se describe en el presente documento.

**[0278]** En este documento se describe un método para tratar enfermedades asociadas con la función de RTFQ normal que incluye hemocromatosis hereditaria, deficiencias de coagulación-fibrinólisis, como deficiencia de proteína C, angioedema hereditario de Tipo 1, deficiencias en el procesamiento de lípidos, como hipercolesterolemia familiar, quicomiconemia de Tipo 1, abetalipoproteinemia, enfermedades de almacenamiento lisosomal, como enfermedad de células I/pseudo-Hurler, mucopolisacaridosis, Sandhof/Tay-Sachs, Crigler-Najjar tipo II, poliendocrinopatía/hiperinsulinemia, diabetes mellitus, enanismo de Laron, deficiencia de mieloperoxidasa, hipoparatiroidismo primario, melanoma, glucanosis CDG tipo 1, hipertiroidismo congénito, osteogénesis imperfecta, hipofibrinogenemia hereditaria, deficiencia de ACT, Diabetes insípida (DI), DI neurohipofisaria, DI nefrogénica, síndrome de Charcot-Marie Tooth, enfermedades como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la parálisis supranuclear progresiva, la enfermedad de Pick, varios trastornos neurológicos de polianglutamina como la enfermedad de Huntington, la ataxia espinocerebelosa tipo I, la atrofia muscular espinal y bulbar, la atrofia dentoplútica y la atrofia dentoplútica y la atrofia miotónica, así como encefalopatías espongiiformes, como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob hereditaria (debida a un defecto en el procesamiento de proteínas priónicas), enfermedad de Fabry, síndrome de Sträussler-Scheinker, síndrome de Gorham, canalopatías por cloro, miontonía congénita (formas de Thomson y Becker), síndrome de Barter tipo III, enfermedad de Dent, epilepsia, hiperekplexia, enfermedad de almacenamiento lisosomal, síndrome de Angelman, disquinesia ciliar primaria (PCD), PCD con situs inversus (también conocido como síndrome de Kartagener), PCD sin situs inversus y aplasia ciliar, o enfermedad de Sjogren, que comprende el paso de administrar a dicho mamífero una cantidad efectiva de co-cristales de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente. En algunas realizaciones, los co-cristales son co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos como se describe en el presente documento.

**[0279]** De acuerdo con una realización alternativa, se proporciona una composición farmacéutica que comprende co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento para su uso en un método para tratar la fibrosis quística, en el que el método comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de composición que comprende co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento.

**[0280]** Según la descripción, una "cantidad efectiva" de co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, es aquella cantidad efectiva para tratar o disminuir la gravedad de una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones que se citan anteriormente.

**[0281]** Los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, o una de sus composiciones farmacéuticamente aceptables, se pueden administrar usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración efectiva para tratar o disminuir la gravedad de una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones que se citan anteriormente.

**[0282]** En ciertas realizaciones, los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo es útil para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que exhiben una actividad residual de RTFQ en la membrana apical de la respiración y Epitelios no respiratorios. La presencia de actividad de RTFQ residual en la superficie epitelial puede detectarse fácilmente usando métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, técnicas electrofisiológicas, bioquímicas o histoquímicas estándar. Dichos métodos identifican la actividad de RTFQ utilizando técnicas electrofisiológicas *in vivo* o *ex vivo*, la medición de las concentraciones de Cl en el sudor o la saliva, o las técnicas bioquímicas o histoquímicas *ex vivo* para controlar la densidad de la superficie celular. Usando tales métodos, la actividad de RTFQ residual puede detectarse fácilmente en pacientes heterocigotos u homocigotos para una variedad de

diferentes mutaciones, incluyendo pacientes homocigotos o heterocigotos para la mutación más común,  $\Delta F508$ .

**[0283]** En otra realización, los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, descritos en el presente documento o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, son útiles para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes que tienen actividad residual de RTFQ inducida o aumentada usando métodos farmacológicos o terapia génica. Dichos métodos aumentan la cantidad de RTFQ presente en la superficie celular, induciendo así una actividad de RTFQ hasta ahora ausente en un paciente o aumentando el nivel existente de actividad de RTFQ residual en un paciente.

**[0284]** En una realización, los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, es útil para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes dentro de ciertos genotipos que muestran actividad de RTFQ residual, por ejemplo, mutaciones de clase III (regulación dañada o activación), mutaciones de clase IV (conductancia alterada), o mutaciones de clase V (síntesis reducida) (Lee R. Choo-Kang, Pamela L., Zeitlin, Type I, II, III, IV, and V cystic fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Defects and Opportunities of Therapy; Current Opinion in Pulmonary Medicine 6: 521 - 529, 2000). Otros genotipos de pacientes que muestran actividad RTFQ residual incluyen pacientes homocigotos para una de estas clases o heterocigotos con cualquier otra clase de mutaciones, incluidas mutaciones de clase I, mutaciones de clase II o una mutación que carece de clasificación.

**[0285]** En una realización, los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, es útil para tratar o disminuir la gravedad de la fibrosis quística en pacientes dentro de ciertos fenotipos clínicos, por ejemplo, un fenotipo clínico de moderado a leve que normalmente se correlaciona con la cantidad de actividad residual de RTFQ en la membrana apical de los epitelios. Tales fenotipos incluyen pacientes que presentan insuficiencia pancreática o pacientes diagnosticados con pancreatitis idiopática y ausencia bilateral congénita de los vasos deferentes o enfermedad pulmonar leve.

**[0286]** La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente en particular, su modo de administración y similares. Los compuestos de la divulgación se formulan preferiblemente en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de unidad de dosificación", como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente discreta de agente apropiada para el paciente a tratar. Sin embargo, se entenderá que el uso del uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente divulgación será decidido por el médico asistente dentro del alcance de un buen juicio médico. El nivel de dosis efectiva específica para cualquier paciente u organismo en particular dependerá de una variedad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos utilizados en combinación o coincidentes con el compuesto específico empleado, y factores similares bien conocidos en las artes médicas. El término "paciente", como se usa en este documento, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

**[0287]** Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta descripción pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como por polvos, ungüentos, gotas o parches), bucal, oral o nasal. aerosol, o similar, dependiendo de la gravedad de la infección que se está tratando. En ciertas realizaciones, los compuestos de la divulgación pueden administrarse por vía oral o parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg y preferiblemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, del peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

**[0288]** Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, semillas de algodón, maní, maíz, germen, aceite de oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos. de sorbitán, y mezclas de los mismos. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes.

**[0289]** Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer, la USP y la solución de cloruro de sodio isotónica. Además, los aceites fijos estériles se emplean

convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo insípido, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos como el ácido oleico se utilizan en la preparación de inyectables.

5 **[0290]** Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención bacteriana, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de utilizar.

10 **[0291]** Con el fin de prolongar el efecto de un compuesto de la presente divulgación, a menudo es deseable reducir la absorción del compuesto a partir de inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de compuesto administrada por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo oleoso. Las formas de depósito  
15 inyectables se hacen formando matrices de microencapsulas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-policáido. Dependiendo de la relación de compuesto a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, la velocidad de liberación del compuesto se puede controlar. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

20 **[0292]** Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de esta descripción con excipientes o vehículos adecuados no irritantes tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto  
25 activo.

**[0293]** Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo se mezcla con un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable, como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) rellenos o diluyentes como  
30 almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidina, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes como glicerol, d) agentes desintegrantes como agar-agar, carbonato de calcio, patata o almidón de tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardadores de la solución como la parafina, f) aceleradores de la absorción como los compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes como, por ejemplo, alcohol cetílico  
35 y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como el caolín y arcilla de bentonita, y i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

40 **[0294]** Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas de gelatina blandas y rellenas que utilizan excipientes como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes  
45 opacificantes y también pueden ser de una composición que liberen el (los) ingrediente(s) activo(s) solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas de gelatina blandas y rellenas que utilizan excipientes como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

50 **[0295]** Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se indicó anteriormente. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos que controlan la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. En tales  
55 formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para la formación de tabletas y otros adyuvantes para la formación de tabletas tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden ser de una composición que liberen el (los) ingrediente(s) activo(s)  
60 solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

65 **[0296]** Las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto de esta descripción incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualquier

conservante o tampón necesario, según se requiera. La formulación oftálmica, las gotas para los oídos y las gotas oculares también se consideran dentro del alcance de esta descripción. Además, la presente divulgación contempla el uso de parches transdérmicos, que tienen la ventaja adicional de proporcionar un suministro controlado de un compuesto al cuerpo. Dichas formas de dosificación se preparan disolviendo o dispensando el compuesto en el medio apropiado. Los potenciadores de la absorción también se pueden usar para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

**[0297]** También se apreciará que los co-cristales de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en este documento) o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo pueden emplearse en terapias de combinación, es decir, los co-cristales de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en este documento) o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden administrarse simultáneamente con, antes o después de, uno o más de otros productos terapéuticos deseados o procedimientos médicos. La combinación particular de terapias (terapéuticas o procedimientos) que se emplearán en un régimen de combinación tendrá en cuenta la compatibilidad de las terapias y/o procedimientos deseados y el efecto terapéutico que se desea lograr. También se apreciará que las terapias empleadas pueden lograr un efecto deseado para el mismo trastorno (por ejemplo, un compuesto de la invención puede administrarse simultáneamente con otro agente utilizado para tratar el mismo trastorno), o pueden lograr efectos diferentes (por ejemplo, control) de cualquier efecto adverso). Como se usa en el presente documento, los agentes terapéuticos adicionales que normalmente se administran para tratar o prevenir una enfermedad o afección en particular, se conocen como "apropiados para la enfermedad o afección que se está tratando".

**[0298]** En una realización, el agente terapéutico adicional se selecciona de entre un agente mucolítico, un broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfeccioso, un agente antiinflamatorio, un modulador de RTFQ distinto de un compuesto de la presente divulgación o un agente nutricional.

**[0299]** En una realización, el agente terapéutico adicional es un compuesto que estabiliza la presencia de RTFQ en la superficie celular, tales como activadores de la señalización de Racl, de los cuales el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) es un ejemplo.

**[0300]** En una realización, el agente terapéutico adicional es un antibiótico. Los antibióticos ejemplares útiles aquí incluyen tobramicina, incluyendo tobramicina inhalada en polvo (TIP), azitromicina, cayston, aztreonam, incluyendo la forma en aerosol de aztreonam, amikacina, incluidas sus formulaciones liposomales, ciprofloxacina, incluyendo sus formulaciones adecuadas para la administración por inhalación, levoflaxina, incluidas las formulaciones en aerosol de los mismos, y combinaciones de dos antibióticos, por ejemplo, fosfomicina y tobramicina.

**[0301]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un mucolito. Los ejemplos de mucolitos útiles aquí incluyen Pulmozyme®.

**[0302]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un broncodilatador. Los broncodilatadores ejemplares incluyen albuterol, sulfato de metaprotenerol, acetato de pirbuterol, salmeterol o sulfato de tetrabulina.

**[0303]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es eficaz para restaurar el líquido de la superficie de las vías respiratorias del pulmón. Dichos agentes mejoran el movimiento de la sal dentro y fuera de las células, lo que permite que el moco en las vías respiratorias del pulmón se hidrate más y, por lo tanto, se elimine más fácilmente. Ejemplos de dichos agentes incluyen solución salina hipertónica, tetrasodio de denufosol ([[(3S, 5R)-5-(4-amino-2-oxopirimidin-1-ilo)-3-hidroxioxolan-2-ilo]metoxi-hidroxi-fosforil] [[(2R, 3S, 4R, 5R)-5-(2,4-dioxopirimidin-1-ilo)-3,4-dihidroxioxolan-2-ilo]metoxi-hidroxi-fosforilo]oxi-hidroxi-fosforilo] fosfato de hidrógeno), o broncitol (formulación inhalada de manitol).

**[0304]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un agente antiinflamatorio, es decir, un agente que puede reducir la inflamación en los pulmones. Ejemplos de tales agentes útiles aquí incluyen ibuprofeno, ácido docosahexanoico (DHA), sildenafilo, glutatión inhalado, pioglitazona, hidroxiclo-roquina o simvastatina.

**[0305]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un compuesto que aumenta o induce la actividad de RTFQ distinta de un co-cristal del Compuesto 1, Ejemplos de estos agentes incluyen ataluren ("PTC124®"; ácido 3-[5-(2-fluorofenilo)-1,2,4-oxadiazol-3-ilo]benzoico), sinapultida, lancovutida, depelestat (un inhibidor de la elastasa neutrófila recombinante humana) y cobiprostona (7-[(2R, 4aR, 5R, 7aR)-2-[(3S)-1,1-difluoro-3-metilpentilo]-2-hidroxi-6-oxooctahidrocicloptá[b]piran-5-il]ácido heptanoico).

**[0306]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un agente nutricional. Los agentes nutricionales ejemplares incluyen pancrelipasa (reemplazo de enzima pancreática), que incluye Pancrease®, Pancreacarb®, Ultrase® o Creon®, Liprotomase® (anteriormente Trizyte®), Aquadeks® o inhalación de glutatión. En una realización, el agente nutricional adicional es pancrelipasa.

**[0307]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un compuesto seleccionado de gentamicina, curcumina, ciclofosfamida, 4-fenilbutirato, miglustat, felodipina, nimodipina, filoxina B, geniesteína, apigenina, incrementadores cAMP/cG o inductores tales como rolipram, sildena, milrinona, tadalafilo, amrinona, isoproterenol, albuterol y almeterol, desoxiespergualina, inhibidores de HSP 90, inhibidores de HSP 70, inhibidores de proteosomas tales como epoxomicina, lactacistina, etc.

**[0308]** En otra realización, el agente terapéutico adicional reduce la actividad del bloqueador del canal de sodio epitelial (ENaC) ya sea directamente mediante el bloqueo del canal o indirectamente mediante la modulación de las proteasas que conducen a un aumento en la actividad de ENaC (por ejemplo, proteasas de serina, proteasas activadoras de canales). Ejemplos de tales agentes incluyen camostat (un inhibidor de la proteasa similar a la tripsina), QAU145, 552-02, GS-9411, INO-4995, Aerolíftico y amilorida. Se pueden encontrar agentes terapéuticos adicionales que reducen la actividad del bloqueador del canal de sodio epitelial (ENaC), por ejemplo, en la publicación PCT nº WO2009/074575.

**[0309]** Entre otras enfermedades descritas en el presente documento, se usan combinaciones de moduladores de RTFQ, tales como co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento y agentes que reducen la actividad de ENaC para tratar el síndrome de Liddle, fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica., enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, infecciones del tracto respiratorio, carcinoma de pulmón, xerostomía y queratoconjuntivitis, infecciones del tracto respiratorio (aguda y crónica; viral y bacteriana) y carcinoma de pulmón.

**[0310]** Las combinaciones de moduladores de RTFQ, tales como los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, y los agentes que reducen la actividad de ENaC también son útiles para tratar enfermedades mediadas por el bloqueo del canal de sodio epitelial también incluyen enfermedades distintas de las enfermedades respiratorias que se asocian con una regulación anormal de los líquidos a través de un epitelio, tal vez con una fisiología anormal de los líquidos de la superficie protectora en su superficie, por ejemplo, xerostomía (boca seca) o queratoconjuntivitis padre (ojo seco). Además, el bloqueo del canal de sodio epitelial en el riñón podría usarse para promover la diuresis y, por lo tanto, inducir un efecto hipotensor.

**[0311]** La enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluye bronquitis crónica o disnea asociada con la misma, empasis, así como la exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de otra terapia farmacológica, en particular, otra terapia farmacológica inhalada. En algunas realizaciones, las combinaciones de moduladores de RTFQ, como los co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos aquí, y los agentes que reducen la actividad de ENaC son útiles para el tratamiento de la bronquitis de cualquier tipo o génesis incluyendo, por ejemplo, bronquitis aguda, araquídica, catarral, de crupo, crónica o finoide.

**[0312]** En otra realización, el agente terapéutico adicional es un modulador de RTFQ distinto de co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento, es decir, un agente que tiene el efecto de modular la actividad de RTFQ. Ejemplos de tales agentes incluyen ataluren ("PTC124®"; 3-[5-(2-fluorofenilo)-1,2,4-oxadiazol-3-ilo]ácido benzoico), sinapultida, lancovutida, depelestat (un neutrófilo recombinante humano inhibidor de la elastasa), cobiprostona (7-((2R, 4aR, 5R, 7aR)-2-((3S)-1,1-difluoro-3-metilpentilo)-2-hidroxi-6-oxooctahidrociclopenta[b]piran-5-yl)ácido heptanoico), (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico, o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxiropilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida. En una realización, el agente terapéutico adicional es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxiropilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida. En otra realización, el agente terapéutico adicional es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico. En otra realización, el agente terapéutico adicional es (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxiropilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida.

**[0313]** En una realización, el agente terapéutico adicional es un modulador de RTFQ distinto de un compuesto de la presente divulgación.

**[0314]** La cantidad de agente terapéutico adicional presente en las composiciones de esta divulgación no será mayor que la cantidad que normalmente se administraría en una composición que comprende ese agente terapéutico como el único agente activo. Preferiblemente, la cantidad de agente terapéutico adicional en las composiciones actualmente descritas variará de aproximadamente 50% a 100% de la cantidad normalmente presente en una composición que comprende ese agente como el único agente terapéuticamente activo.

**[0315]** Los co-cristales de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en este documento) o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, también pueden incorporarse en composiciones para recubrir un dispositivo médico implantable, tales como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, endoprótesis y catéteres. Se divulga aquí es una composición para recubrir un dispositivo implantable que comprende un compuesto de la presente divulgación como se describe en general anteriormente, y en clases y subclases en el presente documento, y un vehículo adecuado para recubrir dicho



dispositivo implantable. En el presente documento se describe un dispositivo implantable revestido con una composición que comprende un compuesto de la presente divulgación como se describe en general anteriormente, y en clases y subclases en el presente documento, y un vehículo adecuado para recubrir dicho dispositivo implantable. Los recubrimientos adecuados y la preparación general de dispositivos implantables recubiertos se describen en las patentes de EE. UU. 6.099.562; 5.886.026; y 5.304.121. Los recubrimientos son típicamente materiales polímeros biocompatibles, tales como un polímero de hidrogel, polimetildisiloxano, policaprolactona, polietilenglicol, ácido poliláctico, acetato de vinilo de etileno, y mezclas de los mismos. Los recubrimientos pueden cubrirse opcionalmente con una capa superior adecuada de fluorosilicona, polisacáridos, polietilenglicol, fosfolípidos o combinaciones de los mismos para impartir características de liberación controlada en la composición.

**[0316]** En este documento se describe un kit que comprende una tableta de la presente divulgación, y un agente terapéutico separado o una composición farmacéutica del mismo. En una realización, el agente terapéutico adicional es un corrector de RTFQ. En otra realización, el agente terapéutico es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-3-metilo-piridina-2-ilo)ácido benzoico o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxi-propilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida. En otra realización, el agente terapéutico es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico. En otra realización, el agente terapéutico es (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxi-propilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida. En otra realización, la tableta y el agente terapéutico están en recipientes separados. En otra realización, los kits de la presente divulgación se dirigen a kits en los que los compuestos o composiciones farmacéuticas de la presente divulgación y la o más terapias adicionales - agentes de uso público) están en recipientes separados. En su realización, los contenedores separados son botellas. En otra realización, los contenedores separados son viales. En otra realización, los recipientes separados son paquetes de ampollas. En otra realización, el recipiente es una botella, vial o envase de ampolla o una combinación de los mismos.

**[0317]** En este documento se describe un método para modular la actividad de RTFQ en una muestra biológica o un paciente (por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*), método que comprende administrar al paciente o poner en contacto dichos co-cristales de muestra biológica de cualquiera de las realizaciones descrito anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento) o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo. El término "muestra biológica", como se usa en el presente documento, incluye, sin limitación, cultivos celulares o extractos de los mismos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

**[0318]** La modulación de RTFQ en una muestra biológica es útil para una variedad de propósitos que son conocidos por un experto en la técnica. Los ejemplos de tales propósitos incluyen, pero no se limitan al estudio de RTFQ en fenómenos biológicos y patológicos; y la evaluación comparativa de nuevos moduladores de RTFQ.

**[0319]** En otra realización más, se proporciona un método para modular la actividad de un canal aniónico *in vitro* o *in vivo*, que comprende la etapa de poner en contacto dicho canal con co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el canal aniónico es un canal de cloruro o un canal de bicarbonato. En otras realizaciones, el canal aniónico es un canal de cloruro.

**[0320]** De acuerdo con una realización alternativa, la presente divulgación proporciona un método para aumentar el número de RTFQ funcional en una membrana de una célula, que comprende la etapa de poner en contacto dicha célula con co-cristales de una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento) o una composición farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0321]** De acuerdo con otra realización, la actividad del RTFQ se mide midiendo el potencial de voltaje de transmembrana. Los medios para medir el potencial de voltaje a través de una membrana en la muestra biológica pueden emplear cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, como el ensayo de potencial de membrana óptica u otros métodos electrofisiológicos.

**[0322]** El ensayo de potencial de membrana óptica utiliza sensores FRET sensibles al voltaje descritos por Gonzalez y Tsien (véase, Gonzalez, JE y RY Tsien (1995) "Voltage sensing by fluorescence resonance energy transfer in single cells". *Biophys J* 69 (4) : 1272-80, y Gonzalez, JE y RY Tsien (1997); "Improved indicators of cell membrane potential that use fluorescence resonance energy transfer" *Chem Biol* 4 (4): 269-77 en combinación con instrumentación para medir cambios de fluorescencia como como el Voltage/Ion Probe Reader (VIPR) (véase, Gonzalez, JE, K. Oades, y otros (1999) "Cell-based assays and instrumentation for screening ion-channel targets" *Drug Discov Today* 4 (9): 431 -439).

**[0323]** Estos ensayos sensibles al voltaje se basan en el cambio en la transferencia de energía resonante de fluorescencia (FRET) entre el colorante sensible a la tensión, soluble en membrana, DiSBAC2 (3), y un fosfolípido fluorescente, CC2-DMPE, que se une al folleto externo de la membrana plasmática y actúa como donante de FRET. Los cambios en el potencial de membrana ( $V_m$ ) hacen que el DiSBAC2 (3) cargado negativamente se redistribuya a

través de la membrana plasmática y la cantidad de transferencia de energía de CC2-DMPE cambia en consecuencia. Los cambios en la emisión de fluorescencia se pueden monitorear usando VIPRTM II, que es un manejador de líquidos integrado y un detector fluorescente diseñado para conducir pantallas basadas en células en placas de microtitulación de 96 o 384 pocillos.

**[0324]** En el presente documento se describe un kit para uso en la medición de la actividad de RTFQ o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo* que comprende (i) una composición que comprende cualquiera de los co-cristales de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento); e (ii) instrucciones para a) contactar la composición con la muestra biológica y b) la actividad de medición de dicho RTFQ o un fragmento del mismo. En una realización, el kit comprende además instrucciones para a) poner en contacto una composición adicional con la muestra biológica; b) medir la actividad de dicho RTFQ o un fragmento del mismo en presencia de dicho compuesto adicional, y c) comparar la actividad del RTFQ en presencia del compuesto adicional con la densidad del RTFQ en presencia de co-cristales de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos descritos en el presente documento). En algunas realizaciones, el kit se usa para medir la densidad de RTFQ.

**[0325]** En este documento se describe un kit para uso en la medición de la actividad de RTFQ o un fragmento del mismo en una muestra biológica *in vitro* o *in vivo*, que comprende:

- (i) una composición que comprende co-cristales de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicéridos);
- (ii) instrucciones para:

- (a) poner en contacto la composición con la muestra biológica;
- (b) medir la actividad de dicho RTFQ o un fragmento del mismo.

**[0326]** En una realización, el kit comprende además instrucciones para:

- i. poner en contacto una composición adicional con la muestra biológica;
- ii. medir la actividad de dicho RTFQ, o un fragmento del mismo, en presencia de dicho compuesto adicional; y
- iii. comparando la actividad del RTFQ, o fragmento del mismo, en presencia del compuesto adicional con la densidad del RTFQ, o fragmento del mismo, en presencia de co-cristales de cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente (por ejemplo, co-cristales de Compuesto 1:triglicérido).

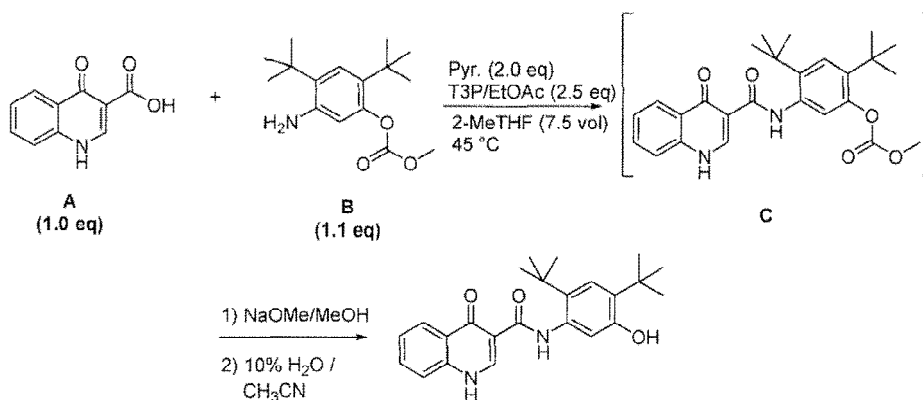
**[0327]** En otra realización, la etapa de comparar la actividad de dicho RTFQ, o fragmento del mismo, proporciona una medida de la densidad de dicho RTFQ, o fragmento del mismo.

**[0328]** A fin de que la descripción descrita en el presente documento pueda entenderse más completamente, se exponen los siguientes ejemplos. Debe entenderse que estos ejemplos son solo para fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes de esta divulgación de ninguna manera. La invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

## EJEMPLOS

### Preparación inicial del Compuesto 1

**[0329]** El Compuesto 1 se preparó como se describe en los documentos WO2010/18162, US 2010/0267768 y US 8.476.442. La preparación también se describe a continuación.



Compuesto 1

5 **[0330]** El compuesto A (1,0 eq.) y el compuesto B (1,1 eq.) se cargaron en un reactor. Se añadió 2-MeTHF (4,0 vol., relativo al Compuesto A) seguido de una solución de T3P® al 50% en EtOAc (2,5 eq.). El recipiente de carga T3P se lavó con 2-MeTHF (3,5 vol.). Entonces se cargó piridina (2,0 eq.). La suspensión resultante se calentó a 45,0 a 10 50,0°C y se mantuvo a esta temperatura durante 15 horas. Se tomó una muestra y se verificó su finalización por HPLC. Una vez completado, la mezcla resultante se enfrió a 20,0°C +/- 5,0°C. Se cargó 2-MeTHF (12,5 vol.) para diluir la mezcla. La mezcla de reacción se lavó con agua (10,0 vol.) 3 veces. Se cargó 2-MeTHF para llevar el volumen total de reacción a 40,0 vol. (-16,5 vol. cargado). El agua residual se eliminó mediante destilación continua a 15 35,0°C +/- 5°C a partir de 40 vol. a 30 vol. con 2-MeTHF hasta que las pruebas de control en proceso utilizando el método Karl Fisher muestran que el contenido de agua no es más del 1,0% p/p. La solución se enfrió a 20,0°C +/- 5,0°C. A esta solución se cargó NaOMe/MeOH (1,7 equiv.) para realizar la hidrólisis del carbonato. La reacción se agitó durante no menos de 1,0 hora y se verificó para completarla por HPLC. Una vez completada, la reacción se detuvo con HCl 1 N/H<sub>2</sub>O (10,0 vol.) y se lavó con HCl 0,1 N (10,0 vol.). La solución orgánica se filtró con pulimento para eliminar cualquier partícula y se colocó en un segundo matraz. La solución filtrada se concentró a 25,0°C +/- 5,0°C bajo presión reducida a 20 vol. Se añadió CH<sub>3</sub>CN a 40 vol. y la solución se concentró a 25,0°C +/- 5,0°C a 20 vol. La adición de CH<sub>3</sub>CN y la concentración se repitió 2 veces más para un total de 3 adiciones de CH<sub>3</sub>CN y 4 concentraciones a 20 vol. Después de la concentración final a 20 vol., 16,0 vol. de CH<sub>3</sub>CN se cargó seguido de 4,0 vol. de H<sub>2</sub>O para hacer una concentración final de 40 vol. de H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN al 10% en relación con el Compuesto A. Esta suspensión se sometió a reflujo durante 5 horas. La suspensión se enfrió a 20,0°C +/- 5°C y se filtró. La torta se lavó con CH<sub>3</sub>CN (5 vol.) 2 veces. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 50,0°C +/- 5,0°C hasta alcanzar un peso constante.

#### Preparación del compuesto amorfo puro 1

25 **[0331]** La siguiente solución se preparó agitando el Compuesto 1, como se preparó anteriormente, en MEK al 90%/agua al 10% de acuerdo con la Tabla A.

Tabla A

(MEK/Agua = 90/10)	Peso (g)
MEK	360,00
Agua	40,00
Compuesto 1 (como se ha preparado arriba)	35,00
Peso total de la solución	400,00
Carga de sólidos	35,00

40 **[0332]** El secado por pulverización se realizó en un Buchi Mini Spray Dryer B-290 con deshumidificador B-296 e Inert Loop B-295 usando los parámetros utilizados en la Tabla B. El sistema estaba saturado con solvente que debía pulverizarse, y la entrada y las temperaturas de salida se dejaron equilibrar antes del secado por pulverización. El polvo del recipiente de recolección y el ciclón se combinaron en una placa poco profunda y se secaron en un horno de vacío con una ligera purga de nitrógeno durante 7 días. El material amorfo se secó luego en un horno de vacío a una temperatura de 75 a 80°C y una presión de aproximadamente 0,1 mmHg hasta que la concentración de MEK se redujo a <1,0% p/p por 1H RMN (50 horas). El material se retiró del vacío después de enfriar bajo N<sub>2</sub> 50°C.

Tabla B: Parámetros de secado por pulverización

Temperatura INLET	110 °C
Temperatura OUTLET	50-60 °C
Presión de nitrógeno	120 psi
Aspirador	100 %
Tasa de bombeo	45 %
Boquilla	1mm
Atomizador	35 mm
Presión del filtro	-50 a -70 mbar
Temperatura del condensador	-5°C
Tiempo de ejecución	40 min.

#### Preparación de co-cristales de Compuesto 1

65 **[0333] Método 1:** Todos los co-cristales del Compuesto 1 puro se prepararon suspendiendo o agitando el Compuesto 1 amorfo puro en triglicérido puro a una carga de sólidos del 5%-10% en peso durante al menos 18

horas a 40°C o 5°C -10°C por encima del punto de fusión de triglicéridos en un sintetizador HEL Polyblock. La finalización de la conversión se determinó mediante birrefringencia de las partículas suspendidas con microscopía de luz polarizada. Los co-cristales crudos se aislaron por filtración centrífuga utilizando dispositivos de centrifugación Millipore de 2 ml.

**[0334]** En algunos casos, el licor madre se recolectó para la preparación de co-cristal adicional del Compuesto 1 para aumentar el rendimiento con respecto al triglicérido. Esto se logró suspendiendo o agitando el Compuesto 1 amorfo puro en una relación de peso de 5% a 10% en el licor madre durante al menos 18 horas. El licor madre se usó no más de dos veces para conversiones adicionales. Los co-cristales brutos de las conversiones subsiguientes se combinaron en dispositivos de centrifugación de 2 ml y se agregó heptano en una proporción de 1,5 a 2 de volumen a peso. Después de agitarse brevemente la mezcla, el heptano se filtró por filtración centrífuga y se recogieron los sólidos. El exceso de heptano se eliminó secando al vacío a una temperatura de 40 a 45°C durante al menos 18 horas. El contenido de heptano se verificó periódicamente mediante RMN en estado de solución 1H y se continuó el secado hasta que el heptano alcanzó niveles aceptables, por ejemplo, hasta que no hubo una disminución adicional en el triglicérido superpuesto y la resonancia de heptano CH<sub>3</sub> observada.

**[0335] Método 2:** Se añadieron aproximadamente 50 mg del Compuesto 1 amorfo puro a aproximadamente 1 g de triglicérido, se calentó a 80°C y se mantuvo a esta temperatura durante al menos 1 hora. La solución se enfrió luego a una temperatura por encima del punto de fusión del triglicérido para cristalizar el co-cristal del Compuesto 1. Para mejorar la calidad y el tamaño del cristal, el sistema se calentó nuevamente a 80°C y se enfrió. El ciclo de temperatura se repitió hasta que se obtuvieron cristales de tamaño adecuado para el análisis. Todos los co-cristales del Compuesto 1 se aislaron por filtración centrífuga a temperaturas superiores al punto de fusión del triglicérido.

#### **Caracterización de los co-cristales del Compuesto 1**

##### **Técnicas de caracterización utilizadas:**

**[0336]** Análisis de difracción de rayos X en polvo (XPRD): Los patrones de XPRD se adquirieron a temperatura ambiente en modo de reflexión utilizando un Empanrea II Pananalítico o un difractómetro Bruker D8 Advance. La muestra de polvo se colocó en un soporte de muestra de acero inoxidable Pananalytical o un soporte de muestra de cavidad poco profunda Bruker y se centrifugó a 15 rpm, respectivamente. Los parámetros del instrumento se enumeran en la tabla a continuación.

<b>Sistema XRD</b>	<b>Bruker D8 Advance</b>	<b>Panalytical Empyrean</b>
Voltaje de Generador, kV	40	45
Corriente de Generador, mA	40	40
Ranura de Divergencia de haz de Incidente	Variable a 12 mm	Programable a 14 mm
Inicio de cribado (°2θ)	3	2,9989
Fin de cribado (°2θ)	40	40
Tamaño de etapa (°2θ)	0,0144531	0,0131303
Número nominal de canales detectores	En defecto	255
Detector	VANTEC-1	PIXcel ID
Tipo de cribado	Bloqueado acoplado	Bloqueado acoplado
Número de etapas	2560	2818
Tiempo por etapa (seg)	0,25	49,725
Ranura anti dispersión de incidente (°)	0,5	2
Velocidad de rotación (rpm)	15	7.5
Filtro	Niquel	Niquel
Cuchillo de haz	Si	Si
Ranura solar de incidente (RAD)	N/A	0,04
Máscara de incidente (mm)	N/A	10
Ranura anti dispersión difractada	En defecto	Automatic @ 14 mm
Ranura solar difractada (RAD)	N/A	0,04
Velocidad de cribado (°/seg)	En defecto	0,067335

**[0337] Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de estado sólido <sup>13</sup>C (<sup>13</sup>C RMNss):** Se usó un espectrómetro AVance III Bruker-Biospin de ancho de 400 MHz equipado con la sonda Bruker-Biospin 4mm HFX para todos los experimentos <sup>13</sup>C RMNss. Las muestras se empaquetaron en rotores de ZrO<sub>2</sub> de 4 mm y se hicieron girar en condiciones de giro con ángulo mágico (MAS) con una velocidad de giro de 12,5 kHz. El tiempo de contacto de CP del experimento de CPMAS de carbono se estableció en 2 ms. Se empleó un pulso de protones CP con rampa lineal (del 50% al 100%). La coincidencia de Hartmann-Hahn se optimizó en una muestra de referencia

externa (glicina). La secuencia de desacoplamiento TPPM15 se utilizó con una intensidad de campo de aproximadamente 100 kHz. El retraso de la relajación se estableció en 5 segundos en todos los experimentos con <sup>13</sup>C CPMAS. Los valores de <sup>1</sup>H T1 se midieron utilizando una secuencia de recuperación de saturación. Todos los espectros fueron referenciados externamente a la resonancia de campo arriba de adamantina a 29,5 ppm. La temperatura de la muestra se controló a 275 K.

**[0338] Análisis termogravimétrico (TGA):** El análisis gravimétrico térmico (TGA) se realizó en un analizador termogravimétrico TA Instruments modelo Q5000 V3.8. Aproximadamente 5-15 mg de muestra sólida se colocaron en una bandeja de platino y se calentaron en una muestra de 60 mL/min y una corriente de nitrógeno de 40 mL/min a 10°C/min desde la temperatura ambiente hasta 350°C. Todos los termogramas se analizaron con el software TA Instruments Universal Analysis 2000 V4.4A.

**[0339] Calorimetría de exploración diferencial (DSC):** Las trazas DSC se obtuvieron utilizando TA Instruments DSC Q2000 equipado con el software Universal Analysis 2000. Se pesó una cantidad de 0,5- 2 mg de co-cristal del Compuesto 1 en una bandeja de aluminio y se selló con una tapa de orificio. Las muestras se calentaron a temperatura ambiente a 350°C o 300°C a 10°C/min.

**[0340] Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de solución <sup>1</sup>H (<sup>1</sup>H RMN):** Se usó un espectrómetro AvanceIII Nanobay de Bruker de diámetro estrecho de 400 MHz equipado con una sonda de banda ancha de 5 mm Bruker-Biospin para todos los experimentos. Aproximadamente 0,5 - 2 mg de las muestras de co-cristal del Compuesto 1 se disolvieron en 0,65 ml de acetona-d6 (para el Compuesto 1:gliceriltrioléato y Compuesto 1:gliceriltrioléato de glicerilo) o DMSO-d6 (para el Compuesto 1:gliceriltrioléato) en un tubo de RMN cd 5 mm. Se eligió un retraso de relajación de 60 s para minimizar la relajación diferencial de <sup>1</sup>H entre diferentes posiciones de protones en el Compuesto 1 y triglicéridos. Todos los espectros están referenciados utilizando un estándar interno de tetrametilsilano a 0,0 ppm.

**[0341]** Todos los espectros en estado de solución de <sup>1</sup>H RMN están de acuerdo con la presencia tanto del Compuesto 1 como del triglicérido respectivo y son consistentes con co-cristales químicamente puros. Los cambios significativos están ausentes en los espectros de los co-cristales disueltos tanto para el Compuesto 1 como para los triglicéridos cuando se comparan con los espectros de los componentes puros individualmente. Esto proporciona evidencia de la disociación de los componentes de los co-cristales en solución y confirma la asociación débil del Compuesto 1 y la asociación de triglicéridos en el sólido. La relación de intensidad integrada para protones en el Compuesto 1:gliceriltrioléato en los espectros de <sup>1</sup>H RMN indica una estequiometría de 3:1 (Compuesto 1:triglicéridos) en el co-cristal, mientras que la intensidad integrada de las intensidades integradas de Compuesto 1:gliceriltrioléato y Compuesto 1:gliceriltrioléato indican una estequiometría 6:1 (Compuesto 1:triglicéridos) en los co-cristales respectivos. La estequiometría determinada por el estado de la solución <sup>1</sup>H RMN es consistente con la estequiometría determinada por análisis termogravimétrico para el co-cristal de Compuesto 1:gliceriltrioléato.

**[0342]** Los resultados de <sup>1</sup>H RMN son consistentes con el análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento de los co-cristales. Se determinó que los valores del ensayo eran 72,1% (p:p), 72,4% (p:p) y 68,6% (p:p) Compuesto 1 para los co-cristales Compuesto 1:gliceriltrioléato, Compuesto 1:gliceriltrioléato y Compuesto 1:trilinoleato Se encontró que las impurezas eran menos del 0,5% en total usando la detección UV.

**[0343] Análisis de espectrometría de masas:** el análisis de espectrometría de masas se realizó como se describe para cada complejo a continuación.

**[0344] Cristalografía de rayos X de cristal único:** El cristal único se preparó disolviendo 56 mg de Compuesto 1 amorfo en 1.000 mg de triglicéridos en un horno a 80°C. Tras la cristalización, se eliminaron algunos cristales para el análisis de rayos X de cristal único. Los datos de difracción se adquirieron en la fuente del sincrotrón ESFR con una longitud de onda de 0.70158Å a una temperatura de 100 K (número de referencia Phil Pattison 130813). La estructura fue resuelta y refinada utilizando el programa SHELX (Sheldrick, GM, Acta Cryst., (2008) A64, 112-122).

#### **Caracterización del Compuesto 1:gliceriltrioléato**

##### **XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrioléato:**

**[0345]** Un ejemplo de patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) del Compuesto 1:gliceriltrioléato en la Figura 3 fue adquirido utilizando el difractómetro Panalytical Empyrean II. Picos representativos de XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrioléato tal como se observa en el patrón XRPD se proporciona en la Tabla C a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 5% de la intensidad máxima de pico.

Tabla C

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,5
2	6,0
3	6,9
4	9,1
5	10,9
6	12,0
7	12,5
8	13,2
9	13,7
10	15,0

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
11	16,2
12	16,9
13	18,0
14	19,3
15	20,2
16	21,7
17	22,5
18	23,8
19	25,8
20	27,0
21	27,6
22	28,3
23	30,0
24	31,0
25	32,6

45  **$^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrioctanoato:**

[0346] En la Figura 4 se muestra un ejemplo de espectro de espectroscopia de resonancia magnética nuclear de estado sólido  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$  RMNss) del gliceriltrioctanoato. En la Tabla D se proporciona una lista de algunos de los picos de  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrioctanoato.

Tabla D

	Nº de pico	<sup>13</sup> C Cambio químico ( $\pm 0,1$ ppm)
5	1	178,6
	2	172,9
	3	171,6
	4	169,9
10	5	165,1
	6	155,0
	7	143,2
	8	139,4
15	9	137,3
	10	134,6
	11	133,0
	12	126,0
20	13	119,4
	14	117,7
	15	112,1
	16	67,3
25	17	64,0
	18	62,0
	19	59,6
	20	54,2
30	21	35,8
	22	34,8
	23	31,7
	24	30,5
35	25	23,5
	26	14,6

**TGA para el Compuesto 1:gliceriltriocanoato:**

40 **[0347]** En la Figura 5 se muestra un ejemplo de traza del Análisis Gravimétrico Térmico (TGA) del Compuesto 1:gliceriltriocanoato. Se observó una pérdida de peso del 28,3% correspondiente a la evaporación del gliceriltriocanoato de 150°C a 300°C para el Compuesto 1:gliceriltriocanoato. La relación molar calculada del Compuesto 1 a gliceriltriocanoato basada en la pérdida de peso en el material es 1:3.1.

**DSC para el Compuesto 1:gliceriltriocanoato:**

45 **[0348]** En la Figura 6 se muestra un ejemplo de termograma de Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) del Compuesto 1:gliceriltriocanoato. El termograma tenía una endotermia a 186,7°C que corresponde a la fusión del Compuesto 1:gliceriltriocanoato. El error en la medición del termograma es de 60,2°C. Esta endotermia fue seguida por una exotermia correspondiente a una recristalización a una forma pura del Compuesto 1 que luego se fundió en un evento endotérmico posterior.

**<sup>1</sup>H RMN para el Compuesto 1:gliceriltriocanoato:**

55 **[0349]** En la Figura 7 se muestra un ejemplo de espectro de Resonancia Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H RMN) del Compuesto 1:gliceriltriocanoato en DMSO-d<sub>6</sub>.

**[0350]** La Tabla E y la Tabla F resumen los datos de <sup>1</sup>H RMN y asignan el Compuesto 1 y los hidrógenos de gliceriltriocanoato, respectivamente. El sistema de numeración utilizado para la asignación de hidrógenos en el Compuesto 1 es el siguiente:

60

65





Tabla F

Número atómico	<sup>1</sup> H-Desplazamiento químico (ppm)	Nº de protones	Multiplicidad (valor J)	Intensidad de señal teórica para 3:1 estequiometría	Intensidad de señal integrada medida
10	0,85	3	t, J=7 Hz	3,00	3,06
6-9	1,24	8	m, (superpuesto)	8,00	8,39
5	1,5	2	m, (superpuesto)	2,00	2,19
10	4	0,67	t, J=7,3 Hz	0,67	2,03
	4	1,33	t, J=7,3 Hz	1,33	Valor combinado informado anteriormente
15	2a	0,67	dd (J=6,6, J=12,0)	0,67	0,68
	2b	0,67	dd (J=12,0, J=3,6 Hz)	0,67	0,68
20	1	0,33	tt (J=3,6Hz, J=6,6 Hz)	0,33	0,33

[0352] La integración fue calibrada para obtener 2,00 unidades para la intensidad integrada combinada para las posiciones 3 y 6 del Compuesto 1.

[0353] **Análisis de espectrometría de masas:** la masa precisa del Compuesto 1:gliceriltrioctanoato se determinó en el espectrómetro de masas de tiempo de vuelo Agilent 6210. La muestra se disolvió hasta aproximadamente 0,1 mg/mL en MeOH y se inyectó mediante inyección de flujo directo utilizando una bomba de jeringa. Se utilizó una tuerca en blanco de volumen cero para hacer un análisis de inyección directa.

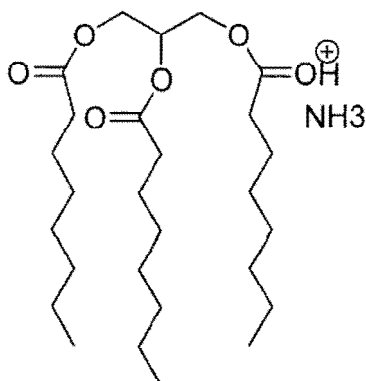
[0354] Las siguientes masas se encontraron y confirman la identidad de los componentes moleculares del Compuesto 1:gliceriltrioctanoato:

**Compuesto 1:** HRMS (ESI-TOF) m/z: [M+H]<sup>+</sup> Calculado para C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> 393,2173; Encontrado 393,2179.

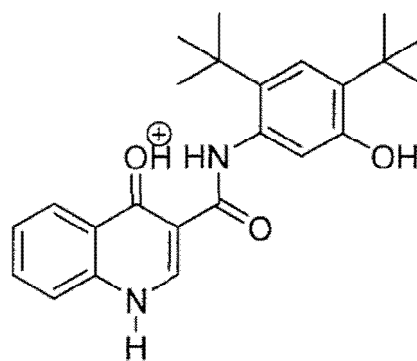
**Gliceriltrioctanoato:** HRMS (ESI-TOF) m/z: [M + NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> calculado para C<sub>27</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup> 488,3947; Encontrado 488,3951

**Iones moleculares y masas exactas para el Compuesto 1:gliceriltrioctanoato:**

[0355]



Fórmula química: C<sub>27</sub>H<sub>54</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub><sup>+</sup>  
Masa precisa: 488,39456



Fórmula química: C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>  
Masa precisa: 393,21727

**Caracterización del Compuesto 1:gliceriltrioleato**

**XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrioleato:**

[0356] Se adquirió un ejemplo de patrón de XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrioleato mostrado en la Figura 8 utilizando el difractómetro Panalytical Empyrean II. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltrioleato

como se observa en el patrón de XRPD se proporcionan en la Tabla G a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 5% de la intensidad máxima de pico.

Tabla G

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grado ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,5
2	6,9
3	9,2
4	9,8
5	10,4
6	10,9
7	12,0
8	12,7
9	13,3
10	13,8
11	15,1
12	16,3
13	16,9
14	18,1
15	18,5
16	19,4
17	19,9
18	20,2
19	21,2
20	21,8
21	22,6
22	23,8
23	26,0
24	27,0
25	27,8
26	28,5
27	30,0
28	30,6
29	32,7

#### <sup>13</sup>C RMNss para Compuesto 1:gliceriltrioleato

[0357] En la Figura 9 se muestra un ejemplo de espectro <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrioleato. Una lista de algunos de los picos de <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrioleato se proporcionan en la Tabla H a continuación.

Tabla H

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
1	178,6
2	172,9
3	171,6
4	169,9
5	165,0
6	155,0
7	142,9
8	139,3
9	137,4
10	134,5
11	133,0
12	130,5
13	127,3
14	126,0
15	119,3
16	117,7
17	112,1
18	67,2
19	63,9
20	59,6
21	35,8
22	34,8
23	31,7
24	30,5
25	28,2
26	24,6
27	23,6
28	14,7

#### 40 TGA para el Compuesto 1:gliceriltrioleato:

[0358] En la Figura 10 se muestra un ejemplo de traza de TGA del Compuesto 1:gliceriltrioleato. Se observó una pérdida de peso del 1,1% de 150°C a 300°C para el Compuesto 1:gliceriltrioleato. La evaporación del gliceriltrioleato no se observó debido a su alto punto de ebullición.

#### 45 DSC para el Compuesto 1:gliceriltrioleato:

[0359] En la Figura 11 se muestra un ejemplo de termograma DSC del Compuesto 1:gliceriltrioleato. El termograma tenía una endotermia a 197,5°C que corresponde a la fusión del Compuesto 1:gliceriltrioleato. El error en la medición endotérmica es de  $\pm 0,2^\circ\text{C}$ . Este evento endotérmico fue seguido por una exotermia, correspondiente a la cristalización de una forma pura del Compuesto 1. Se observó otra endoterma correspondiente a la fusión de esta forma pura del Compuesto 1. Se observó otra recristalización exotérmica posterior a una segunda forma limpia del Compuesto 1. Una endometría posterior corresponde a la fusión de esta segunda forma del Compuesto 1.

#### 55 1H RMN para el Compuesto 1:gliceriltrioleato:

[0360] En la Figura 12 se muestra un ejemplo de espectro de 1H RMN de Compuesto 1:gliceriltrioleato.

[0361] La tabla I y la tabla J resumen los datos de la 1H RMN y asignan el Compuesto 1 y los hidrógenos de gliceriltrioleato, respectivamente. El sistema de numeración utilizado para la asignación de hidrógenos en el Compuesto 1 fue como se mostró anteriormente.

[0362] El sistema de numeración utilizado para la asignación de hidrógenos en gliceriltrioleato es el siguiente:

65

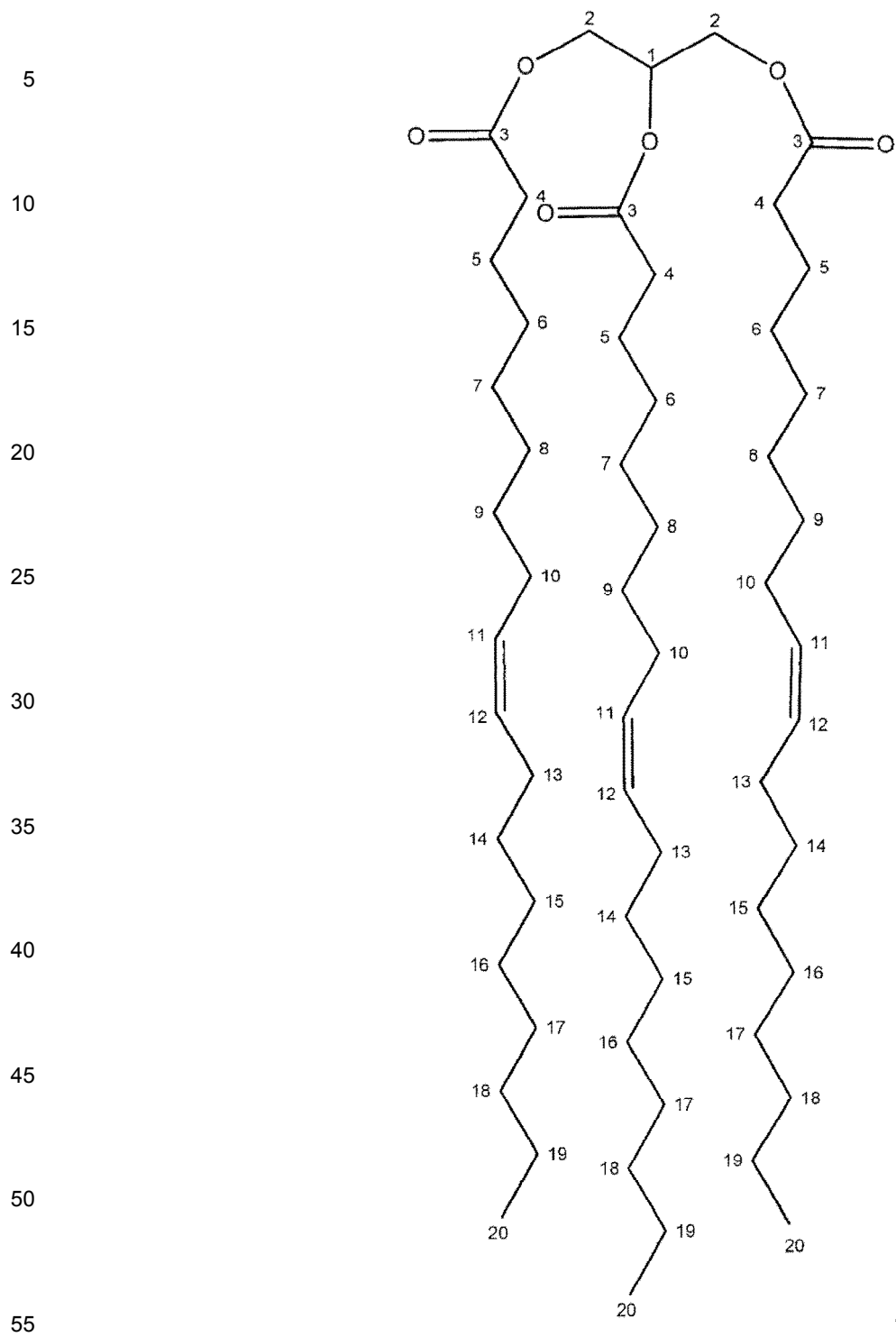


Tabla I

Número atómico	<sup>1</sup> H-Desplazamiento químico (ppm)	Nº de protones	Multiplicidad (valor J)
3	7,34	1	d(1,1Hz)
6	7,29	1	s
8	1,41	3x3	s
10	1,47	3x3	s
23	8,95	1	d, J=6,8 Hz (superpuesto) <sup>1</sup>
22	11,7	1	s, ancho
17	8,44	1	d, J = 8,2 Hz
18	7,53	1	ddd, J = 1,6 Hz, J = 6,6 Hz, J = 8,2 Hz
19	7,8	1	t, J = 7,6 Hz
20	7,75	1	d, J = 8,21 Hz
12	11,9	1	s
11	8,18	1	s

Tabla J

Número atómico	<sup>1</sup> H-Desplazamiento químico (ppm)	Multiplicidad (J # de valor)	Nº de protones	Intensidad de señal teórica para estequiometría 6:1	Intensidad de señal integrada medida
20	0,89	t, J=7 Hz	9	1,50	1,69
6,9,14-19	1,34/1,30	m, (superpuesto)	60	10,00	11,34
5	1,61	m, (superpuesto)	6	1,00	1,18
10,13	superpuesto c/solvente 2,06	m, superpuesto con acetona-d6	12	2,00	n/a
4	2,32	t, J=7,4 Hz	6	1,00	1,06
2a	4,18	dd, J=6,1, J=12,0	2	0,33	0,36
2b	4,34	dd, J=4,0, J=12,0	2	0,33	0,36
1	5,28	m	1	0,17	0,19
11,12	5,36	m	6	1,00	1,06

[0363] La integración se calibró para obtener 2.00 unidades para la intensidad integrada combinada para las posiciones 3 y 6 del Compuesto 1. El intercambio lento de HD en la posición 22 del Compuesto 1 da como resultado la observación de dobletes (posición 22 H) y singlete (posición 22 D) para H23 para el compuesto 1.

#### Análisis de espectrometría de masas para el compuesto 1: gliceriltriolato:

[0364] La masa precisa de este complejo se determinó en un espectrómetro de masas Thermo LTQ Orbi Trap XL. La muestra se disolvió hasta aproximadamente 0,1 mg / ml en MeOH y se infundió por inyección de flujo directo utilizando una bomba de jeringa a una velocidad de 50 µl/s. Se recolectaron 50 exploraciones utilizando el analizador FTMS con una resolución de 30000

[0365] Se encontraron las siguientes masas y confirman la identidad de los componentes moleculares del Compuesto 1:gliceriltriolato:

**Compuesto 1:** HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> Calculado para C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> + 393.2173; Encontrado 393.2170.

**Gliceriltriolato:** HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + Compuesto 1 + H]<sup>+</sup> Calculado para C<sub>81</sub>H<sub>133</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub> + 1278.0006; Encontrado 1277.9991.

#### Iones moleculares y masas exactas Compuesto 1:gliceriltriolato:

[0366]

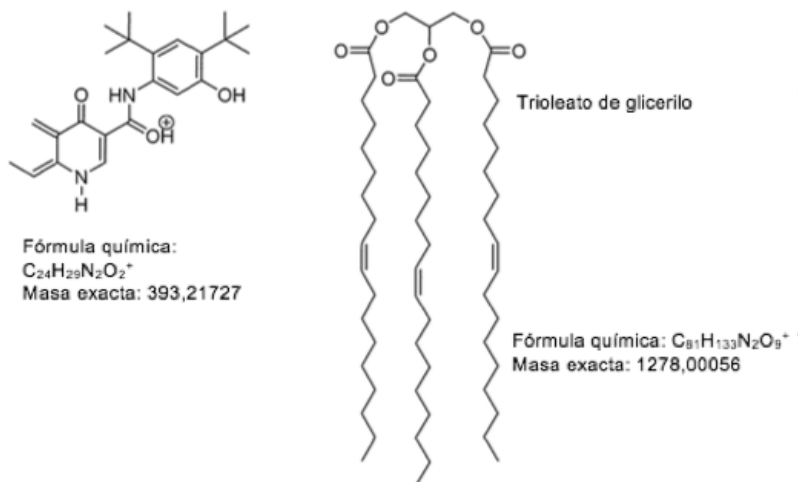
5

10

15

20

25

**Caracterización del Compuesto 1:gliceriltrilinoato****XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrilinoato:**

[0367] Se adquirió un ejemplo de patrón de XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrilinoato mostrado en la Figura 13 utilizando el difractómetro Panalytical Empyrean II. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltrilinoato como se observa en el patrón de XRPD se proporcionan en la Tabla K a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 5% de la intensidad máxima de pico.

35

Tabla k

40

45

50

55

60

65

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,5
2	6,0
3	6,9
4	9,2
5	10,9
6	12,0
7	12,5
8	13,8
9	15,1
10	16,3
11	16,9
12	18,1
13	19,4
14	20,2
15	21,8
16	22,6
17	23,8
18	25,9
19	27,1
20	27,8
21	28,4
22	32,7

 **$^{13}C$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrilinoato:**

**[0368]** En la Figura 14 se muestra un ejemplo de espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato de glicerilo. Algunos de los picos de  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato se proporcionan en la Tabla L a continuación.

5

Tabla L

10

15

20

25

30

35

40

Nº de pico	$^{13}\text{C}$ desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
1	178,5
2	172,8
3	171,5
4	169,8
5	165,1
6	155,0
7	142,9
8	139,3
9	137,4
10	134,4
11	133,1
12	130,6
13	126,0
14	119,3
15	117,6
16	112,0
17	86,5
18	67,2
19	63,9
20	59,7
21	35,8
22	34,8
23	31,7
24	30,6
25	28,2
26	14,8

#### TGA para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato:

45 **[0369]** En la Figura 15 se muestra un ejemplo de traza de TGA del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. Se observó una pérdida de peso del 1,7% de 40°C a 190°C para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. La evaporación de gliceriltrilinooleato no se observó debido a su alto punto de ebullición.

#### DSC para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato:

50

**[0370]** En la Figura 16 se muestra un ejemplo de termograma DSC para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. El termograma del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato en la Figura 16 tenía una endoterma a 182,3°C que corresponde a la fusión del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato. El error en la medición endotérmica es de 60,2°C. Este evento endotérmico fue seguido por una exotermia, correspondiente a la cristalización de una forma pura del Compuesto 1, Se observó otra endoterma correspondiente a la fusión de esta forma pura. Se observó otra recristalización exotérmica posterior a una segunda forma limpia del Compuesto 1, Una endoterma posterior corresponde a la fusión de esta segunda forma del Compuesto 1,

60

#### $^1\text{H}$ RMN para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato:

**[0371]** En la Figura 17 se muestra un ejemplo de espectro de  $^1\text{H}$  RMN de Compuesto 1:gliceriltrioleato.

**[0372]** La Tabla M y la Tabla N resumen los datos de  $^1\text{H}$  RMN y asignan el Compuesto 1 y los hidrógenos de gliceriltrioleato, respectivamente. El sistema de numeración utilizado para la asignación de hidrógenos en el Compuesto 1 se mostró anteriormente. La integración se calibró para obtener 2,00 unidades para la intensidad integrada combinada para las posiciones 3 y 6 del Compuesto 1.

65

**[0373]** El sistema de numeración para la asignación de hidrógenos en gliceriltrioleato es el siguiente:

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

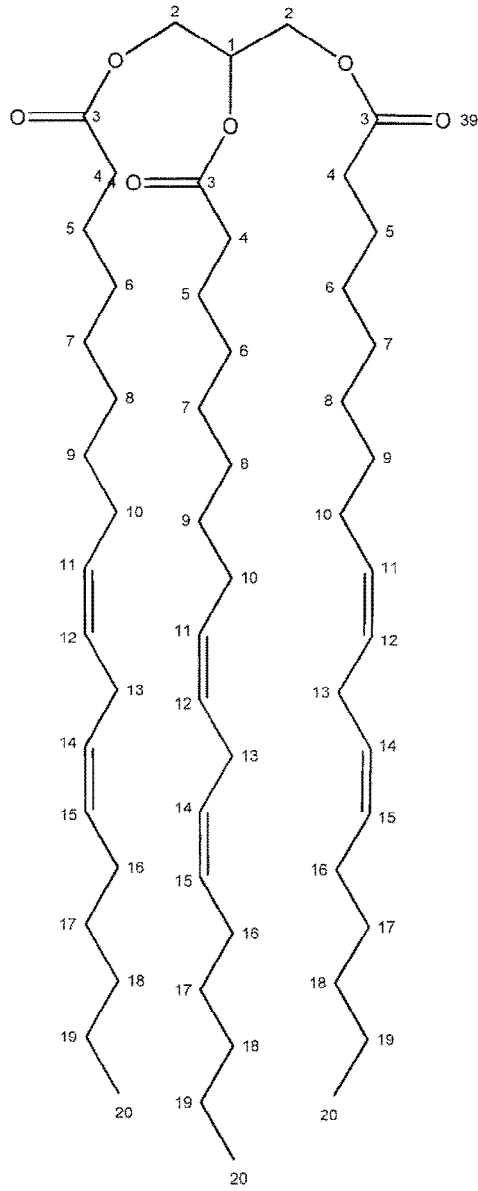




Tabla M

Número atómico	<sup>1</sup> H-Desplazamiento químico (ppm)	Nº de protones	Multiplicidad (valor J)
3	7,33	1	s
6	7,29	1	s
8	1,4	3x3	s
10	1,47	3x3	s
23	8,95	1	d, J=6,8 Hz (superpuesto) <sup>1</sup>
22	11,7	1	s, ancho
17	8,44	1	d, J = 8,2 Hz
18	7,53	1	ddd, J = 1,6 Hz, J = 6,6 Hz, J = 8,2 Hz
19	7,8	1	t, J = 7,6 Hz
20	7,76	1	d, J = 7,8 Hz
12	11,9	1	s
11	8,2	1	s

Tabla N

Nº atómico	<sup>1</sup> H-Desplazamiento Químico (ppm)	Multiplicidad (valor J)	Nº de protones	Intensidad de señal teórica para 6:1 estequiometría	Intensidad de señal integrada medida <sup>1</sup>
20	0,89	t, J=7 Hz	9	1,50	1,42
6-9, 17-19	1,34	m (superpuesto)	42	7,00	6,01
5	1,61	m (superpuesto)	6	1,00	1,33
10,16	2,08	superpuesto con acetona-d <sub>6</sub>	12	2,00	n/a
4	2,32	t, J=7,4 Hz	6	1,00	0,91
13	2,80 superpuesto c/HOD	D, J=12Hz	6	1,00	n/a
2a	4,18	dd, J=6,1, J=12,0	2	0,33	0,31
2b	4,34	dd, J=4,0, J=12,0	2	0,33	0,34
1	5,28	m	1	0,17	0,14
11,12,13,14	5,36	m	12	2,00	1,08

[0374] La integración se calibró para obtener 2,00 unidades para la intensidad integrada combinada para las posiciones 3 y 6 del Compuesto 1. El intercambio lento de HD en la posición 22 del Compuesto 1 da como resultado la observación de dobletes (posición 22 H) y singlete (posición 22 D.) para H<sub>2</sub>3 para el Compuesto 1,

#### Análisis de espectrometría de masas para el Compuesto 1:gliceriltrilinooleato:

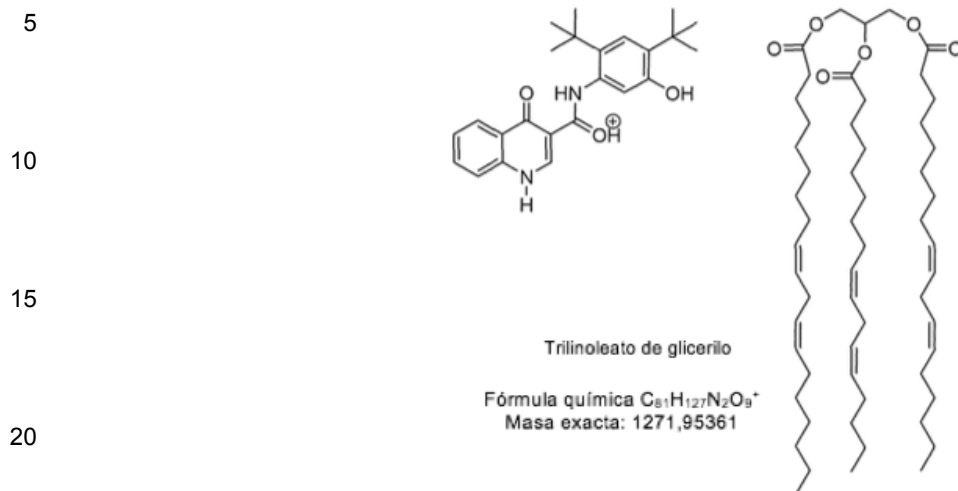
[0375] La masa precisa de este complejo se determinó en un espectrómetro de masas LTQ Orbi Trap XL. La muestra se disolvió hasta aproximadamente 0,1 mg/mL en MeOH y se infundió por inyección de flujo directo utilizando una bomba de jeringa a una velocidad de 2 µl/s. Se recolectaron 50 exploraciones utilizando el analizador FTMS con un ajuste de resolución de 30.000.

[0376] Se encontraron las siguientes masas y confirman la identidad de los componentes moleculares del Compuesto 1:gliceriltrilinooleato:

**Compuesto 1:** HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup> Calculado para C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> 393,2173; Encontrado 393,2176.  
**Gliceriltrilinooleato:** HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M + Compuesto 1 + H]<sup>+</sup> Calculado para C<sub>81</sub>H<sub>127</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub> + 1271,9536; Encontrado 1271,9541

#### Iones moleculares y masas exactas Compuesto 1:gliceriltrilinooleato:

[0377]



25 **Caracterización del Compuesto 1:triacetina**

**XRPD para el Compuesto 1:triacetina:**

30 [0378] Se adquirió un ejemplo de patrón XRPD para el Compuesto 1:triacetina que se muestra en la Figura 18 usando el difractómetro Panalytical Empyrean II. Los picos representativos para el Compuesto 1:triacetina como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla O a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 5% de la intensidad máxima de pico.

Tabla O

35

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	4,9
2	9,5
3	9,8
4	14,7
5	16,5
6	18,2
7	23,1

45

**$^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:triacetina:**

50 [0379] En la Figura 19 se muestra un ejemplo de espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:triacetina. Una lista de algunos de los picos de  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:triacetato de glicerilo se proporcionan en la Tabla P a continuación.

55

60

65

Tabla P

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
1	178,2
2	165,4
3	164,3
4	155,1
5	154,8
6	154,1
7	149,4
8	146,8
9	145,6
10	140,0
11	134,1
12	133,2
13	132,3
14	127,0
15	125,9
16	125,6
17	124,3
18	120,6
19	119,7
20	119,2
21	118,3
22	117,6
23	111,9
24	111,1
25	110,4
26	35,3
27	35,0

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
28	31,8
29	29,8
30	21,9
31	20,4
32	18,9

#### 50 DSC para el Compuesto 1:triacetina:

[0380] Se muestra un ejemplo de termograma DSC para el Compuesto 1:triacetina en la Figura 20. El termograma del Compuesto 1:triacetina y endoterma a 123,9°C que corresponde a la fusión del Compuesto 1:co-cristal de gliceriltriacetina. Este evento es seguido por otra endoterma a 141,9°C y otra endoterma a 193,8°C.

#### 55 Caracterización del Compuesto 1:gliceriltributirato

##### XRPD para el Compuesto 1:gliceriltributirato:

60 [0381] Se adquirió un modelo de XRPD ejemplar para el Compuesto 1:gliceriltributirato mostrado en la Figura 21 usando el difractor Panalytical Empyrean II. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltributirato como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla Q a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 5% de la intensidad máxima de pico.

#### 65 Tabla Q

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	4,8
2	4,9
3	6,8
4	9,5
5	9,6
6	14,3
7	18,0
8	19,0
9	19,8
10	21,4
11	22,6
12	23,8

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

**Caracterización del Compuesto 1:glicerilestistearato**

**XRPD para el Compuesto 1:glicerilestistearato:**

**[0382]** Se adquirió un modelo de XRPD ejemplar para el Compuesto 1:glicerilestistearato mostrado en la Figura 22 utilizando el difractorómetro Bruker D8 Advance. Los picos representativos para el Compuesto 1:glicerilestistearato como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla R a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son iguales o superiores al 1% de la intensidad máxima.

Tabla R

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,6
2	5,4
3	6,2
4	6,9
5	9,3
6	11,0
7	12,1
8	12,6
9	13,4
10	13,9
11	15,4
12	16,4
13	17,0
14	18,2
15	18,5
16	19,4
17	20,0
18	20,4
19	21,8
20	23,8
21	26,0
22	27,0
23	28,4
24	29,1
25	29,9
26	31,2
27	32,8

**<sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:glicerilestistearato:**

[0383] En la Figura 23 se muestra un ejemplo de espectro <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:glicerilestistearato de gliceril. Un listado de algunos de los picos de <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:glicerilestistearato se encuentra en la Tabla S a continuación.

Tabla S

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
1	178,5
2	172,9
3	171,6
4	169,9
5	165,0
6	155,0
7	143,6
8	139,4
9	137,2
10	135,1
11	134,4
12	133,0
13	127,3
14	126,1
15	119,5

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
16	117,6
17	112,0
18	67,3
19	64,1
20	59,6
21	35,7
22	34,7
23	31,7
24	30,6
25	23,6
26	14,8

**DSC para el Compuesto 1:glicerilestistearato:**

[0384] En la Figura 24 se muestra un ejemplo de termograma DSC para el Compuesto 1:gliceriltristearato. El termograma del Compuesto 1:glicerilestistearato en la Figura 24 tiene una endotermia a 55,1°C que corresponde a la masa eutéctica de co-cristal de Compuesto 1:gliceriltristearato y glicerilestistearato. Este evento es seguido por otra endotermia a 71,3°C, correspondiente a la masa fundida de gliceriltristearato puro. La endotermia superpuesta a 201,3°C y la exotermia a 208,1°C (pico) corresponden a la masa fundida de co-cristal y la cristalización del Compuesto 1 puro, respectivamente. Otra endotermia a 284,7°C corresponde a la fusión de una forma limpia del Compuesto 1.

**Caracterización del Compuesto 1:gliceriltripalmitato****XRPD para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato:**

[0385] Se adquirió un ejemplo de patrón de XRPD para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato mostrado en la Figura 25 utilizando el difractómetro Bruker D8 Advance. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla T a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 1% de la intensidad máxima de pico.

Tabla T

Nº de pico	Ángulo 2θ, en grados (±0,2°)
1	3,5
2	6,0
3	6,9
4	9,3
5	11,0
6	13,8
7	15,1
8	16,3
9	17,0
10	18,2
11	19,4
12	19,9
13	20,3
14	21,8
15	23,7

5

10

15

20

25 **<sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato:**

**[0386]** En la Figura 26 se muestra un ejemplo de espectro <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato. Un listado de algunos de los picos de <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato se proporcionan en la Tabla U a continuación.

30

Tabla U

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico (± 0,1 ppm)
1	178,4
2	173,0
3	169,9
4	165,0
5	155,0
6	144,0
7	139,5
8	137,2
9	134,5
10	133,0
11	127,2
12	126,0
13	119,6
14	117,5
15	112,0
16	67,2
17	64,0
18	59,7
19	35,7
20	34,6
21	31,7
22	30,6
23	23,7
24	14,8

35

40

45

50

55

60

65 **DSC para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato:**

[0387] En la Figura 27 se muestra un ejemplo de termograma DSC para el Compuesto 1:gliceriltripalmitato. El termograma del Compuesto 1:gliceriltripalmitato en la Figura 27 tiene una endoterma a 47,7°C que corresponde a la fusión eutéctica del co-cristal de Compuesto 1:gliceriltripalmitato y gliceriltripalmitato. Este evento es seguido por otra endoterma a 63,0°C, que corresponde a la fusión del gliceriltripalmitato puro. La endoterma superpuesta a 174,9°C y la exoterma a 186,7°C corresponden a la masa fundida de co-cristal y la cristalización del Compuesto 1 puro, respectivamente. Otra endoterma a 266,2°C corresponde a la fusión de una forma limpia del Compuesto 1.

#### **Caracterización del Compuesto 1:gliceriltridodecanoato**

##### **XRPD para el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato:**

[0388] Se muestra un modelo de XRPD ejemplar para el Compuesto 1:glicerilidodecanoato. La Figura 28 se adquirió utilizando el difractómetro Bruker D8 Advance. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla V a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son iguales o superiores al 1% de la intensidad máxima máxima.

Tabla V

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,5
2	6,1
3	6,9
4	9,2
6	10,9
7	11,8
8	12,1
9	12,6
10	13,2
11	13,8
12	14,9
13	16,3
14	16,9
15	18,1
16	18,5
17	19,4
18	19,8
19	20,3
20	21,7
21	23,4
22	23,9
23	25,2
24	25,8
25	27,2
26	28,4

##### **$^{13}\text{C}$ RMNss para el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato:**

[0389] Un ejemplo de espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss para Compuesto 1:gliceriltridodecanoato se muestra en la Figura 29. En la Tabla W a continuación se proporciona una lista de algunos de los picos de  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato de glicerilo.

Tabla W

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
1	178,4
2	173,1
3	171,5
4	169,8
5	165,0
6	155,0
7	143,0
8	139,4
9	137,2
10	134,6
11	133,0
12	127,3
13	126,1
14	119,6
15	117,6
16	112,1
17	67,1

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
18	63,9
19	59,7
20	35,6
21	31,7
22	30,6
23	23,6

#### Cristalografía de rayos X de un solo cristal para el Compuesto 1:gliceriltridodecanoato

[0390] Los datos representativos de cristalografía de rayos X de cristal único para el Compuesto 1:tridodecanoato de glicerilo se proporcionan en las Tablas Xi a X-vii.

Tabla X-i: Datos de cristal

$C_{37}H_{52,67}N_2O_5$	$F(000) = 3944$
$M_r = 605,48$	$D_x = 1,099 \text{ g cm}^{-3}$
Hexagonal, $P-31c$	Radiación de sincrotron, $\lambda = 0,70158 \text{ \AA}$
$a = 29,1507 (10) \text{ \AA}$	$\mu_m = 0,07 \text{ mm}^{-1}$
$c = 14,9118 (6) \text{ \AA}$	$T = 100 \text{ K}$
$V = 10973,8 (7) \text{ \AA}^3$	Varilla, incoloro
$Z = 12$	

Tabla X-ii: Recopilación de datos

Fuente de radiación: sincrotron	$R_{int} = 0,076$
Monocromador de grafito	$\lambda_{max} = 24,3^\circ$ , $\lambda_{min} = 1,6^\circ$
66577 reflejos medidos	$h = -34 \square 32$
5709 reflejos independientes	$k = -33 \square 34$
4610 reflejos con $I > 2 \sigma(I)$	$l = -17 \square 14$



Tabla X-iii: Refinamiento

5	Refinamiento en $F^2$	Ubicación de sitio de átomo primario: métodos directos estructura-invariante
	Menos-cuadrados matriz: lleno	Ubicación de sitio de átomo secundario: mapa Fourier de diferencia
	$R[F^2 > 2h(F^2)] = 0,226$	Ubicación de sitio de hidrógeno: inferido de sitio adyacentes
10	$wR(F^2) = 0,545$	Átomos H tratados por una mezcla de refinamiento independiente y restringido
	$S = 2,03$	$w = 1/[ (F_o^2) + (0,2P)^2 ]$ donde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
	5709 reflejos	$(\otimes/\hat{I})_{\max} = 3,947$
	361 parámetros	$\otimes_{\max} = 0,54 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
15	19 restraints	$\otimes_{\min} = -0,35 \text{ e } \text{Å}^{-3}$

Tabla X-iv: Detalles especiales.

30	<i>Geometría.</i> Todas las esds (excepto la esd en el ángulo diedro entre dos planos l.s.) se estiman utilizando la matriz de covarianza completa. Las esds celulares se tienen en cuenta individualmente en la estimación de esds en distancias, ángulos y ángulos de torsión; las correlaciones entre esds en los parámetros de célula solo se usan cuando están definidas por simetría de cristal. Se utiliza un tratamiento aproximado (isotrópico) de las células celulares para estimar las esds que involucran los planos l.s.
35	<i>Refinamiento.</i> Refinamiento de $F^2$ contra TODAS las reflexiones. El factor R ponderado $wR$ y la bondad del ajuste $S$ se basan en $F^2$ , los factores R convencionales $R$ se basan en $F$ , con $F$ puesto a cero para $F^2$ negativo. La expresión de umbral de $F^2 > 2\sigma(F_2)$ se usa solo para calcular los factores R (gt), etc. y no es relevante para la elección de las reflexiones para el refinamiento. Los factores R basados en $F^2$ son estadísticamente casi el doble que los basados en $F$ , y los factores R basados en TODOS los datos serán aún mayores.

# ES 2 702 288 T3

Tabla X-v: Coordenadas atómicas fraccionarias y parámetros de desplazamiento isotrópico isotrópico o equivalente (Å<sup>2</sup>)

	x	y	z	$U_{iso}/U_{eq}$	
5	C1	0,2708 (3)	0,8168 (4)	0,1302 (11)	0,197 (5)
	C2	0,3516 (3)	0,8099 (3)	0,1185 (11)	0,197 (5)
	C3	0,2429 (3)	0,7620 (4)	0,1281 (9)	0,183 (4)
10	N1	0,4387 (3)	0,8802 (2)	0,0983 (10)	0,226 (5)
	H1	0,4223	0,8979	0,0865	0,271*
	C4	0,4097 (3)	0,8311 (3)	0,1168 (11)	0,209 (6)
	C5	0,3276 (3)	0,8423 (3)	0,1157 (13)	0,217 (6)
15	O2	0,4277 (2)	0,7989 (2)	0,1347 (11)	0,274 (6)
	C6	0,3197 (3)	0,7569 (3)	0,1298 (9)	0,173 (4)
	H6	0,3356	0,7356	0,1372	0,208*
	O1	0,3551 (2)	0,8934 (2)	0,1076 (9)	0,228 (5)
20	N2	0,2668 (2)	0,7333 (2)	0,1311 (6)	0,164 (3)
	H2	0,2477	0,6986	0,1340	0,197*
	C7	0,1863 (4)	0,7341 (5)	0,1360 (15)	0,244 (8)
	H7	0,1667	0,6965	0,1396	0,292*
25	C8	0,5250 (4)	0,9194 (3)	0,1741 (16)	0,228 (8)
	H8	0,5060	0,9049	0,2282	0,274*
	C9	0,2438 (4)	0,8470 (4)	0,1279 (14)	0,233 (7)
	H9	0,2629	0,8843	0,1202	0,280*
30	O3	0,6057 (3)	0,9569 (3)	0,2587 (12)	0,253 (6)
	H3	0,5836	0,9407	0,2996	0,380*
	C10	0,1619 (5)	0,7629 (6)	0,1383 (17)	0,270 (9)
	H10	0,1243	0,7450	0,1410	0,324*
	Cl	0,1907 (4)	0,8204 (5)	0,1369 (16)	0,263 (9)
35	H11	0,1721	0,8393	0,1422	0,316*
	C12	0,6673 (4)	1,0096 (4)	0,1039 (14)	0,227 (7)
	C13	0,6068 (4)	0,9709 (4)	0,1014 (15)	0,220 (7)
	C14	0,6792 (3)	1,0569 (4)	0,1638 (14)	0,229 (7)
40	H14A	0,6564	1,0445	0,2170	0,344*
	H14B	0,6723	1,0818	0,1304	0,344*
	H14C	0,7164	1,0747	0,1823	0,344*
	C15	0,5781 (4)	0,9486 (3)	0,1736 (16)	0,228 (8)
45	C37	0,5243 (15)	0,9305 (18)	-0,1442 (11)	0,57 (3)
	H37A	0,5473	0,9689	-0,1506	0,857*
	H37B	0,4974	0,9174	-0,1915	0,857*
	H37C	0,5457	0,9132	-0,1493	0,857*
50	C17	0,5782 (4)	0,9571 (5)	0,0208 (16)	0,279 (12)
55					
60					
65					

	x	y	z	$U_{iso}^*/U_{eq}$	
5	H17	0,5998	0,9664	-0,0312	0,334*
	C18	0,5182 (5)	0,9296 (5)	0,0001 (12)	0,289 (10)
	C19	0,6974 (4)	0,9824 (4)	0,1357 (16)	0,247 (8)
	H19A	0,7322	1,0090	0,1585	0,371*
	H19B	0,7020	0,9634	0,0855	0,371*
10	H19C	0,6774	0,9572	0,1836	0,371*
	C20	0,6882 (5)	1,0244 (10)	0,007 (2)	0,336 (17)
	H20A	0,6658	0,9950	-0,0336	0,504*
	H20B	0,7247	1,0313	0,0039	0,504*
15	H20C	0,6873	1,0562	-0,0118	0,504*
	C21	0,4997 (5)	0,9114 (4)	0,0947 (14)	0,209 (7)
	C22	0,5057 (8)	0,9220 (8)	-0,0808 (11)	0,266 (9)
	C23	0,4695 (12)	0,864 (2)	-0,109 (5)	0,68 (7)
20	H23A	0,4703	0,8408	-0,0635	1,018*
	H23B	0,4818	0,8581	-0,1666	1,018*
	H23C	0,4332	0,8577	-0,1161	1,018*
	C24	0,4561 (6)	0,9358 (7)	-0,0824 (14)	0,252 (8)
25	H24A	0,4709	0,9742	-0,0812	0,378*
	H24B	0,4334	0,9199	-0,0298	0,378*
	H24C	0,4351	0,9212	-0,1370	0,378*
30	C31	0,3177 (9)	0,7343 (12)	0,873 (2)	0,333 (15)
	C32	0,2650 (16)	0,731 (2)	0,856 (6)	0,64 (7)
	C33	0,267 (2)	0,7790 (16)	0,891 (2)	0,78 (9)
	C35	0,190 (2)	0,8034 (12)	0,892 (4)	1,05 (18)
	C36	0,1312 (16)	0,7838 (11)	0,889 (3)	0,325 (16)
35	C34	0,214 (2)	0,770 (2)	0,864 (2)	0,53 (4)
	C38	0,3078 (14)	0,6793 (14)	0,898 (3)	0,40 (2)
	C41	0,1040 (18)	0,8161 (9)	0,885 (2)	1,05 (7)
	C42	0,077 (3)	0,846 (3)	0,884 (5)	0,73 (8)
40	O51	0,3333	0,6667	0,024 (2)	0,325 (13)
	O52	0,152 (5)	0,937 (4)	0,186 (6)	0,97 (13)

Tabla X-vi: Parámetros de desplazamiento atómico (Å<sup>2</sup>)

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$	
45	C1	0,058 (4)	0,076 (5)	0,449 (17)	0,027 (4)	0,016 (7)	0,001 (7)
	C2	0,075 (4)	0,062 (4)	0,453 (16)	0,033 (3)	-0,024 (7)	-0,083 (7)
	C3	0,060 (4)	0,077 (5)	0,400 (14)	0,026 (4)	0,019 (6)	-0,012 (7)
50	N1	0,054 (3)	0,062 (3)	0,550 (16)	0,020 (3)	0,024 (6)	-0,045 (6)
	C4	0,058 (4)	0,059 (4)	0,501 (17)	0,022 (3)	0,005 (7)	-0,063 (7)
	C5	0,059 (4)	0,057 (4)	0,527 (19)	0,023 (3)	-0,009 (7)	-0,036 (7)
	O2	0,065 (3)	0,067 (3)	0,684 (19)	0,030 (3)	-0,002 (6)	-0,084 (6)
55	C6	0,067 (4)	0,060 (4)	0,380 (13)	0,023 (3)	0,001 (6)	0,006 (6)
	O1	0,067 (3)	0,059 (3)	0,555 (14)	0,029 (2)	0,057 (5)	-0,008 (5)
	N2	0,066 (3)	0,054 (3)	0,359 (9)	0,022 (3)	0,033 (4)	0,016 (4)
	C7	0,056 (4)	0,104 (7)	0,56 (2)	0,030 (5)	0,017 (9)	0,026 (11)
	C8	0,067 (5)	0,052 (4)	0,57 (3)	0,036 (4)	0,000 (10)	-0,038 (8)
60	C9	0,061 (4)	0,092 (6)	0,54 (2)	0,032 (4)	0,034 (9)	0,023 (9)
	O3	0,054 (4)	0,077 (4)	0,614 (19)	0,022 (3)	0,042 (7)	0,033 (7)
	C10	0,076 (6)	0,127 (9)	0,57 (3)	0,020 (7)	0,021 (11)	0,021 (14)

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$	
5	C11	0,072 (5)	0,108 (7)	0,62 (3)	0,050 (5)	0,050 (11)	0,021 (12)
	C12	0,059 (5)	0,100 (7)	0,52 (2)	0,036 (5)	0,049 (9)	0,004 (10)
	C13	0,050 (5)	0,074 (5)	0,53 (2)	0,022 (5)	0,024 (10)	-0,057 (10)
10	C14	0,061 (4)	0,077 (5)	0,53 (2)	0,016 (4)	0,009 (8)	-0,061 (9)
	C15	0,050 (5)	0,041 (4)	0,58 (3)	0,014 (4)	0,073 (11)	-0,022 (8)
	C37	0,55 (5)	1,09 (9)	0,138 (9)	0,46 (6)	0,021 (16)	-0,21 (2)
15	C17	0,057 (6)	0,150 (10)	0,58 (3)	0,017 (6)	0,097 (12)	-0,125 (15)
	C18	0,239 (14)	0,157 (8)	0,45 (2)	0,085 (8)	0,227 (15)	-0,110 (10)
20	C19	0,065 (4)	0,096 (6)	0,59 (3)	0,046 (4)	-0,008 (9)	-0,014 (10)
	C20	0,072 (7)	0,26 (3)	0,63 (5)	0,053 (11)	0,022 (15)	-0,10 (3)
25	C21	0,080 (6)	0,090 (6)	0,48 (2)	0,057 (5)	0,005 (10)	-0,056 (9)
	C22	0,314 (17)	0,332 (18)	0,194 (10)	0,193 (14)	0,098 (11)	-0,123 (11)
	C23	0,25 (4)	1,05 (18)	0,89 (11)	0,45 (8)	-0,23(6)	-0,40 (12)
30	C24	0,136 (10)	0,189 (13)	0,384 (18)	0,046 (10)	0,038 (11)	-0,106 (14)
	C31	0,159 (17)	0,27 (3)	0,48 (3)	0,035 (19)	0,089 (18)	0,06 (3)

35 **Caracterización del Compuesto 1:gliceriltrimiristato**

**XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato:**

40 **[0391]** Se adquirió un ejemplo de patrón de XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato que se muestra en la Figura 30 usando el difractómetro Panalytical Empyrean II. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato como se observa en el patrón de XRPD se proporcionan en la Tabla X a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 1% de la intensidad máxima de pico.

45 Tabla X

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,5
2	6,0
3	6,8
4	7,4
5	8,3
6	9,2
7	9,9
8	10,9
9	12,0
10	12,5
11	13,2
12	13,7
13	14,9
14	16,2
15	16,9

	Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
5	16	17,6
	17	18,0
	18	18,5
	19	19,4
10	20	20,0
	21	21,2
	22	22,1
	23	23,2
	24	24,1
15	25	25,1
	26	26,4
	27	27,2
	28	27,7
20	29	28,3
	30	29,2
	31	29,7
	32	31,0
25	36	32,7

**$^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato:**

30 **[0392]** En la Figura 31 se muestra un ejemplo de espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato. Una lista de algunos de los picos de  $^{13}\text{C}$  RMNss para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato se proporcionan en la Tabla Y a continuación.

Tabla Y

	Nº de pico	$^{13}\text{C}$ desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
35	1	178,1
	2	171,4
40	3	169,8
	4	165,0
	5	155,0
	6	142,9
45	7	139,5
	8	137,2
	9	134,6
	10	133,1
50	11	127,3
	12	126,0
	13	119,9
	14	117,4
55	15	112,0
	16	67,0
	17	63,7
	18	61,4
60	19	35,6

**DSC para el Compuesto 1:gliceriltrimiristato:**

65 **[0393]** En la Figura 32 se muestra un ejemplo de termograma de DSC para el Compuesto 1:glicerilestistearato. El termograma de Compuesto 1:gliceriltrimiristato en la Figura 32 tiene una endoterma a  $59,2^\circ\text{C}$  que corresponde a la masa fundida de gliceril-trimistato. Este evento es seguido por una exoterma amplia a  $134,4^\circ\text{C}$  que se superpone

con una endoterma. Este evento es seguido por una exotermia a 171,3°C correspondiente a la cristalización del Compuesto 1 nulo. Otra endotermia a 280,1°C corresponde a la masa fundida de una forma neta del Compuesto 1.

#### **Caracterización del Compuesto 1:gliceriltrihexanoato**

5

#### **XRPD para el Compuesto 1:gliceriltrihexanoato:**

[0394] Se adquirió un modelo de XRPD ejemplar para el Compuesto 1:gliceriltrihexanoato que se muestra en la Figura 33 usando el difractor Panalytical Empyrean II. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltrihexanoato como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla Z a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 1% de la intensidad máxima de pico.

10

Tabla Z

15

Nº de pico	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	4,7
2	6,5
3	9,2
4	9,9
5	11,8
6	12,5
7	14,5
8	15,1
9	15,6
10	17,4
11	18,7
12	19,9
13	21,4
14	23,0
15	24,4
16	25,2
17	26,5
18	28,3
19	29,1
20	30,5
21	35,6

20

25

30

35

40

#### **Caracterización del Compuesto 1:gliceriltridecanoato**

#### **XRPD para el Compuesto 1:gliceriltridecanoato:**

45

[0395] Se adquirió un modelo de XRPD ejemplar para el Compuesto 1:gliceriltridecanoato mostrado en la Figura 34 usando el difractor Bruker D8 Advance. Los picos representativos para el Compuesto 1:gliceriltridecanoato tal como se observa en el patrón XRPD se proporcionan en la Tabla AA a continuación. Todos los picos enumerados a continuación son superiores al 1% de la intensidad máxima de pico.

50

Tabla AA

55

Nº	Ángulo $2\theta$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
1	3,5
2	6,1
3	6,9
4	9,2
6	10,9
7	11,8
8	12,1
9	12,6
10	13,2

60

65

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

Nº	Ángulo 2 $\lambda$ , en grados ( $\pm 0,2^\circ$ )
12	13,8
12	14,9
13	16,3
14	16,9
15	18,1
16	18,5
17	19,4
18	19,8
19	20,3
20	21,7
21	23,4
22	23,9
23	25,2
24	25,8
25	27,2
26	28,4

**<sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltridecanoato:**

**[0396]** En la Figura 35 se muestra un ejemplo de espectro de <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltridecanoato. Un listado de algunos de los picos de <sup>13</sup>C RMNss para el Compuesto 1:gliceriltridecanoato se proporcionan en la Tabla AB a continuación.

Tabla AB

Nº de pico	<sup>13</sup> C desplazamiento químico ( $\pm 0,1$ ppm)
1	178,5
2	171,6
3	169,9
4	165,0
5	155,0
6	143,3
7	139,5
8	137,2
9	134,9
10	133,0
11	127,3
12	126,1
13	119,5
14	117,6
15	112,1
16	67,2
17	64,0
18	59,8
19	35,7
20	34,7
21	31,7
22	30,5
23	25,8
24	23,5

**Análisis por HPLC de los co-cristales de triglicéridos del Compuesto 1****Preparación de la muestra**

5 **[0397]** Se pesaron 30 mg de compuesto de triglicéridos del Compuesto 1 y se cuantificaron cuantitativamente en un  
matraz volumétrico ámbar de 100 mL. Se agregaron 50 ml de diluyente y la preparación de la muestra se sonicó  
durante 15 minutos. Cada preparación de muestra se agitó en un agitador mecánico durante 30 minutos a 200  
movimientos/seg. Se agregaron otros 40 ml de diluyente y la preparación de la muestra se agitó en un agitador  
10 mecánico durante 30 minutos a 200 movimientos/seg. La preparación de la muestra del Compuesto 1-  
gliceriltriocanoato se disolvió completamente, se dejó que volviera a la temperatura ambiente, luego se diluyó a  
volumen con diluyente y se mezcló bien. Las preparaciones de muestra del Compuesto 1-gliceriltriocanoato y el  
Compuesto 1-gliceriltriocanoato no se disolvieron completamente. Estas dos preparaciones de muestra se sonicaron  
cada una durante 15 minutos y luego se agitaron durante 30 minutos a 200 movimientos/seg. Las dos preparaciones  
15 de la muestra todavía no estaban disueltas. Se añadieron 8 ml de acetonitrilo a cada una y las preparaciones de  
la muestra se sonicaron durante 15 minutos y luego se agitaron durante 30 minutos a 200 movimientos/seg. Las dos  
preparaciones de la muestra todavía no estaban disueltas. Se añadió 1 ml de metanol a cada una y las dos  
preparaciones de la muestra se sonicaron durante 15 minutos y luego se agitaron durante 30 minutos a 200  
movimientos/seg. Las dos preparaciones de la muestra todavía no estaban disueltas. Se dejó que las preparaciones  
20 de muestra volvieran a temperatura ambiente, se diluyeron a volumen con metanol y se mezclaron bien. Ambas  
preparaciones de la muestra estaban turbias. Una parte alícuota de las soluciones se filtró a través de un filtro  
Whatman PVDF de 0,45 mm. Los primeros 2 mL del filtrado se desecharon antes de recoger en viales HPLC ámbar  
para su análisis.

25 **[0398]** Se realizaron preparaciones de muestra para el método de HPLC descrito a continuación.

**Método de HPLC**

30 **[0399]** Las muestras se analizaron usando los parámetros del método descritos a continuación. La fase móvil A era  
ácido fosfórico en agua al 0,1%. La fase móvil B era ácido fosfórico en ácido acetonitrilo al 0,1%. La tabla AC a  
continuación muestra el programa de gradiente utilizado.

**Tabla AC: Programa de gradiente para el método de HPLC.**

Tiempo (min.)	%A	%B
0,0	80	20
7,0	40	60
9,0	40	60
9,1	0	100
12,0	0	100
12,1	80	20
16,0	80	20

45 **[0400]** La HPLC se realizó utilizando una columna Waters Symmetry Shield RP18, 4,6 x 50 mm, columna de 3,5 mm  
(P/N 186000177) en un instrumento Agilent 1260 HPLC. El diluyente fue 70:30 Acetonitrilo:Agua. El caudal fue de  
1,5 mL/minuto. La temperatura de la columna fue de 35°C. El lavado de agujas utilizado fue 90:10 (acetonitrilo:  
agua). El volumen de inyección fue de 10 µL. La longitud de onda del detector fue de 235 nm. El tiempo de  
50 adquisición de datos fue de 10,0 minutos. La temperatura del vial fue a temperatura ambiente o 25°C. El tiempo de  
ejecución fue de 16 minutos. El filtro de jeringa utilizado fue un filtro de jeringa PVDF de 0,45 mm. La muestra y la  
estabilidad estándar fueron ambas de 2 días. Se prepararon y utilizaron dos patrones de Compuesto 1 (75,12 mg de  
Compuesto 1 en 250 mL de diluyente y 75,29 mg de Compuesto 1 en 250 mL de diluyente).

55 **[0401]** La pureza se determinó para cada co-cristal totalizando las intensidades relativas integradas de los picos de  
impureza y restando del 100%. El co-cristal de Compuesto 1: gliceriltriocanoato y el co-cristal de Compuesto  
1:gliceriltriocanoato fueron cada uno de 99,9% (p/p). El co-cristal de Compuesto 1:gliceriltriocanoato fue de 99,5% (p/p).  
El límite de detección de impurezas por HPLC es de 0,005%.

60 **[0402]** La estequiometría para cada co-cristal también se determinó a partir de este ensayo de HPLC. Como se  
muestra en la Tabla AD a continuación, la estequiometría determinada fue consistente con los resultados del estado  
de solución <sup>1</sup>H RMN y el análisis termogravimétrico.

65



TABLA AD

Compuesto 1: gliceciltrioctanoato				
	Compuesto 1 % w:w	Estequiometría Compuesto 1:Triglicérido	Nota	
5	Solución 1H RMN	71,9	3,1	Compuesto 1 % p:p calculado basado en estequiometría observada
10	TGA pérdida de peso	71,8	3,1	Estequiometría calculada basada en % de pérdida de peso de gliceciltrioctanoato observado
	Ensayo HPLC	72,1	3,1	Estequiometría calculada basada en Ivacaftor % p:p observado
Compuesto 1: gliceriltrioleato				
	Compuesto 1 % w:w	Estequiometría Compuesto 1:Triglicérido	Nota	
20	Solución 1H RMN	71,4	5,6	Compuesto 1 % p:p calculado basado en estequiometría observada
	Ensayo HPLC	72,4	5,9	Estequiometría calculada basada en Ivacaftor % p:p observado
Compuesto 1: gliceriltrilinoleato				
	Compuesto 1 % w:w	Estequiometría Compuesto 1:Triglicérido	Nota	
25	Solución 1H RMN	71,6	5,7	Compuesto 1 % p:p calculado basado en estequiometría observada
30	Ensayo HPLC	68,6	4,9	Estequiometría calculada basada en Ivacaftor % p:p observado

## ENSAYOS DE ACTIVIDAD

### 35 A. PROTOCOLO 1

#### Ensayos para detectar y medir las propiedades de potenciación de $\Delta F508$ -RTFQ de los compuestos

40 Métodos ópticos de potencial de membrana para ensayar las propiedades de modulación de  $\Delta F508$ -RTFQ de los compuestos

45 **[0403]** El ensayo utiliza tintes de detección de voltaje fluorescentes para medir cambios en el potencial de membrana usando un lector de placas fluorescentes (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como una lectura del aumento en  $\Delta F508$ -RTFQ funcional en células NIH 3T3. La fuerza impulsora para la respuesta es la creación de un gradiente de ión cloruro junto con la activación del canal por un solo paso de adición de líquido después de que las células hayan sido tratadas previamente con compuestos y posteriormente cargadas con un tinte sensor de voltaje.

#### 50 Identificación de compuestos potenciadores

55 **[0404]** Para identificar los potenciadores de  $\Delta F508$ -RTFQ, se desarrolló un formato de ensayo HTS de doble adición. Este ensayo HTS utiliza tintes de detección de voltaje fluorescentes para medir los cambios en el potencial de membrana en el FLIPR III como una medida para el aumento en la activación (conductancia) de  $\Delta F508$  RTFQ en células corrF508 RTFQ NIH3T3 con corrección de temperatura. La fuerza impulsora para la respuesta es un gradiente de iones de Cl en combinación con la activación del canal con forskolina en un solo paso de adición de líquido usando un lector de placas fluorescentes como FLIPR III después de que las células hayan sido tratadas previamente con compuestos potenciadores (o control con vehículo DMSO) y posteriormente cargado con un tinte de redistribución.

#### 60 Soluciones

**[0405]** Solución de baño n.º 1: (en mM) NaCl 160, KCl 4,5, CaCl<sub>2</sub> 2, MgCl<sub>2</sub> 1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

65 **[0406]** Solución de baño sin cloruro: las sales de cloruro en la solución de baño n.º 1 (arriba) están sustituidas con sales de gluconato.

Cultivo de células

**[0407]** Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente  $\Delta F508$ -RTFQ se usan para mediciones ópticas del potencial de membrana. Las células se mantienen a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con glutamina 2mM, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y 25 mM HEPES en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a aproximadamente 20.000/pocillo en placas recubiertas con matrigel de 384 pocillos y se cultivaron durante 2 horas a 37°C antes de cultivar a 27°C durante 24 horas para el ensayo potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27°C o 37°C con y sin compuestos durante 16 a 24 horas.

**[0408]** Ensayos electrofisiológicos para ensayar las propiedades de modulación de compuestos  $\Delta F508$ -RTFQ de los compuestos.

Ensayo de cámara de Ussing

**[0409]** Los experimentos en cámara de ussing se realizaron en células epiteliales de las vías aéreas polarizadas que expresaban  $\Delta F508$ -RTFQ para caracterizar adicionalmente los moduladores  $\Delta F508$ -RTFQ identificados en los ensayos ópticos. Los epitelios de las vías respiratorias FQ y que no son FQ se aislaron de tejido bronquial, se cultivaron como se describió anteriormente (Galletta, LJV, Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, GA y Zegarra-Moran, O. (1998) *In vitro* Cell. Dev. Biol. 34, 478-481), y se colocaron en placas sobre filtros Costar® Snapwell™ que se recubrieron previamente con medios acondicionados con NIH3T3. Después de cuatro días, se retiraron los medios apicales y las células se cultivaron en una interfaz de aire líquido durante >14 días antes de su uso. Esto dio lugar a una monocapa de células columnares totalmente diferenciadas que estaban ciliadas, características que son características de los epitelios de las vías respiratorias. HBE no de FQ se aislaron de no fumadores que no tenían ninguna enfermedad pulmonar conocida. Se aislaron FQ-HBE de pacientes homocigotos para  $\Delta F508$ -RTFQ.

**[0410]** HBE crecido en Costar® Snapwell™, los insertos de cultivo celular se montaron en una cámara de ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), y la resistencia transepitelial y la corriente de cortocircuito en presencia de un gradiente de Cl<sup>-</sup> (ISC) basolateral a apical se midió utilizando un sistema de fijación de voltaje (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). Brevemente, los HBE se examinaron en condiciones de registro de tensión de sujeción (V<sub>hold</sub> = 0 mV) a 37°C. La solución basolateral contenía (en mM) 145 NaCl, 0,83 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3,3 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH) y la solución apical contenía (en mM) 145 NaGluconato, 1,2 MgCl<sub>2</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH).

Identificación de compuestos potenciadores

**[0411]** El protocolo típico utilizó un gradiente de concentración de Cl<sup>-</sup> de la membrana basolateral a apical. Para establecer este gradiente, se utilizaron anilladores normales en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se reemplazó por gluconato de sodio equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración de Cl<sup>-</sup> a través del epitelio. La forskolina (10 mM) y todos los compuestos de ensayo se agregaron al lado apical de los insertos de cultivo celular. La eficacia de los supuestos potenciadores de  $\Delta F508$ -RTFQ se comparó con la del potenciador conocido, la genisteína.

Grabaciones de pinza de parche

**[0412]** La corriente de Cl<sup>-</sup> total en células  $\Delta F508$ -NIH3T3 se monitorizó usando la configuración de registro de parches perforados como se describió previamente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., y Watsky, M. (1991) *J. Neurosci. Methods* 37, 15-26). Las grabaciones de la pinza de voltaje se realizaron a 22°C usando un amplificador de pinza Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La solución de la pipeta contenía (en mM) 150 N-metilo-D-glucamina (NMDG)-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 EGTA, 10 HEPES y 240  $\mu$ g/mL de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con HCl). El medio extracelular contenía (en mM) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con HCl). La generación de impulsos, la adquisición de datos y el análisis se realizaron utilizando una PC equipada con una interfaz Digidata 1320 A/D junto con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar  $\Delta F508$ -RTFQ, se agregaron 10 mM de forskolina y 20 mM de genisteína al baño y se controló la relación de corriente-voltaje cada 30 segundos.

Identificación de compuestos potenciadores

**[0413]** La capacidad de los potenciadores de  $\Delta F508$ -RTFQ para aumentar la corriente Cl<sup>-</sup> macroscópica de  $\Delta F508$ -RTFQ ( $I_{\Delta F508}$ ) en células NIH3T3 que expresan de forma estable  $\Delta F508$ -RTFQ también se investigó utilizando técnicas de registro de parches perforados. Los potenciadores identificados a partir de los ensayos ópticos provocaron un aumento dependiente de la dosis en  $I_{\Delta F508}$  con una potencia y eficacia similares observadas en los ensayos ópticos. En todas las células examinadas, el potencial de inversión antes y durante la aplicación del potenciador fue de alrededor de -30 mV, que es la E<sub>Cl</sub> calculada (-28 mV).

Cultivo de células

5 [0414] Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente  $\Delta F508$ -RTFQ se usan para grabaciones de células completas. Las células se mantienen a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con glutamina 2mM, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y 25 mM HEPES en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para registros de células completas, se sembraron 2.500 - 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 horas a 27°C antes del uso para probar la actividad de los potenciadores; e incubado con o sin el compuesto corrector a 37°C para medir la actividad de los correctores.

Grabaciones de un solo canal

15 [0415] La actividad de activación de wt-RTFQ y  $\Delta F508$ -RTFQ corregida por la temperatura expresada en células NIH3T3 se observó utilizando registros de parches de membrana extirpados como se describió previamente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, RG, Pavirani, A., Lecocq, JP., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526 - 528) utilizando un amplificador de pinza de parche Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM): 150 NMDG, 150 de ácido aspártico, 5 CaCl<sub>2</sub>, 2 MgCl<sub>2</sub> y 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con base Tris). El baño contenía (en mM): 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 5 EGTA, 10 TES y 14 bases tris(pH ajustado a 7,35 con HCl). Después de la escisión, tanto el wt- como el  $\Delta F508$ -RTFQ se activaron mediante la adición de Mg-ATP 1 mM, 75 nM de la subunidad catalítica de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA; Promega Corp. Madison, WI), y NaF 10 mM para inhibir la proteína Fosfatasas, que impidieron la corriente de la corriente. El potencial de pipeta se mantuvo a 80 mV. La actividad del canal se analizó a partir de parches de membrana que contenían  $\leq 2$  canales activos. El número máximo de aberturas simultáneas determinó el número de canales activos durante el curso de un experimento. Para determinar la amplitud de la corriente de un solo canal, los datos registrados a partir de los 120 segundos de la actividad de  $\Delta F508$ -RTFQ se filtraron "fuera de línea" a 100 Hz y luego se usaron para construir histogramas de amplitud de todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas usando Bio-Patch Software de análisis (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad de apertura ( $P_o$ ) se determinaron a partir de 120 segundos de actividad del canal. El  $P_o$  se determinó utilizando el software Bio-Patch o de la relación  $P_o = I/i(N)$ , donde  $I$  = corriente media,  $i$  = amplitud de corriente de un solo canal y  $N$  = número de canales activos en el parche.

Cultivo de células

35 [0416] Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente  $\Delta F508$ -RTFQ se utilizan para los registros de pinzamiento de parche de membrana extirpados. Las células se mantienen a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con glutamina 2mM, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y 25 mM HEPES en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para grabaciones de un solo canal, se sembraron 2.500 - 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 horas a 27°C antes de su uso.

Actividad del Compuesto 1

45 [0417] Los compuestos de la presente divulgación son útiles como moduladores de transportadores de casetes de unión a ATP. La Tabla AD a continuación ilustra la CE50 y la eficacia relativa de ciertas realizaciones en la Tabla 1, En la Tabla AE a continuación, se aplican los siguientes significados. CE50: "+++" significa <10 uM; "++" significa entre 10 uM y 25 uM; "+" significa entre 25 uM y 60 uM. % de eficacia: "+" significa <25%; "++" significa entre 25% y 100%; "+++" significa >100%.

TABLA AE

Nº de comp.	CE50 (uM)	% de actividad
1	+++	++

**B. PROTOCOLO 2****Ensayos para detectar y medir las propiedades de potenciación de compuestos de  $\Delta F508$ -RTFQ****Métodos ópticos de potencial de membrana para evaluar las propiedades de modulación de  $\Delta F508$ -RTFQ de compuestos**

65 [0418] El ensayo utiliza tintes de detección de voltaje fluorescentes para medir cambios en el potencial de membrana usando un lector de placas fluorescentes (por ejemplo, FLIPR III, Molecular Devices, Inc.) como una lectura del aumento en  $\Delta F508$ -RTFQ funcional en células NIH 3T3. La fuerza impulsora para la respuesta es la

creación de un gradiente de ión cloruro junto con la activación del canal mediante un solo paso de adición de líquido después de que las células hayan sido tratadas previamente con compuestos y posteriormente cargadas con un tinte de detección de voltaje.

#### 5 Identificación de compuestos potenciadores

[0419] Para identificar los potenciadores de  $\Delta F508$ -RTFQ, se desarrolló un formato de ensayo HTS de doble adición. Este ensayo HTS utiliza tintes de detección de voltaje fluorescentes para medir los cambios en el potencial de membrana en el FLIPR III como una medida para el aumento en la activación (conductancia) de  $\Delta F508$  RTFQ en células  $\Delta F508$  RTFQ NIH 3T3 con corrección de temperatura. La fuerza impulsora para la respuesta es un gradiente de iones de  $\text{Cl}^-$  en combinación con la activación del canal con forskolina en un solo paso de adición de líquido usando un lector de placas fluorescentes como FLIPR III después de que las células hayan sido tratadas previamente con compuestos potenciadores (o control con vehículo DMSO) y posteriormente cargado con un tinte de redistribución.

#### 15 Soluciones

[0420] Solución de baño n.º 1: (en mM) NaCl 160, KCl 4,5,  $\text{CaCl}_2$  2,  $\text{MgCl}_2$  1, HEPES 10, pH 7,4 con NaOH.

20 [0421] Solución de baño sin cloruro: las sales de cloruro en la solución de baño n.º 1 (arriba) están sustituidas con sales de gluconato.

#### Cultivo de células

25 [0422] Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente  $\Delta F508$ -RTFQ se usan para mediciones ópticas del potencial de membrana. Las células se mantienen a 37°C en 5% de  $\text{CO}_2$  y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con glutamina 2mM, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA,  $\beta$ -ME, 1 X pen/strep y 25 mM HEPES en matraces de cultivo de 175  $\text{cm}^2$ . Para todos los ensayos ópticos, las células se sembraron a aproximadamente 20.000/pocillo en placas recubiertas con matrigel de 384 pocillos y se cultivaron durante 2 horas a 37°C antes de cultivar a 27°C durante 24 horas para el ensayo potenciador. Para los ensayos de corrección, las células se cultivan a 27°C o 37°C con y sin compuestos durante 16 a 24 horas.

[0423] Ensayos electrofisiológicos para ensayar las propiedades de modulación de  $\Delta F508$ -RTFQ de compuestos.

#### 35 Ensayo de cámara de Ussing

[0424] Los experimentos en cámara de Ussing se realizaron en células epiteliales de las vías aéreas polarizadas que expresaban  $\Delta F508$ -RTFQ para caracterizar adicionalmente los moduladores  $\Delta F508$ -RTFQ identificados en los ensayos ópticos. Los epitelios de las vías respiratorias que no son FQ y FQ se aislaron de tejido bronquial, se cultivaron como se describió anteriormente (Galiotta, LJV, Lantero, S., Gazzolo, A., Sacco, O., Romano, L., Rossi, GA y Zegarra-Moran, O. (1998) *In vitro* Cell. Dev. Biol. 34, 478-481), y se colocaron en placas sobre filtros Costar® Snapwell™ que se recubrieron previamente con medios acondicionados con NIH3T3. Después de cuatro días, se retiraron los medios apicales y las células se cultivaron en una interfaz de aire líquido durante >14 días antes de su uso. Esto dio lugar a una monocapa de células columnares totalmente diferenciadas que estaban ciliadas, características que son características de los epitelios de las vías respiratorias. HBE no FQ se aislaron de no fumadores que no tenían ninguna enfermedad pulmonar conocida. Se aislaron FQ-HBE de pacientes homocigotos para  $\Delta F508$ -RTFQ.

50 [0425] HBE crecido en Costar® Snapwell™, los insertos de cultivo celular se montaron en una cámara de ussing (Physiologic Instruments, Inc., San Diego, CA), y la resistencia transepitelial y la corriente de cortocircuito en presencia de un gradiente de  $\text{Cl}^-$  basolateral a apical (ISC) se midió utilizando un sistema de fijación de voltaje (Departamento de Bioingeniería, Universidad de Iowa, IA). Brevemente, los HBE se examinaron en condiciones de registro de tensión de sujeción ( $V_{\text{hold}} = 0$  mV) a 37°C. La solución basolateral contenía (en mM) 145 NaCl, 0,83  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 3,3  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,2  $\text{MgCl}_2$ , 1,2  $\text{CaCl}_2$ , 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH) y la solución apical contenía (en mM) 145 NaGluconato, 1,2  $\text{MgCl}_2$ , 1,2  $\text{CaCl}_2$ , 10 glucosa, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con NaOH).

#### Identificación de compuestos potenciadores

60 [0426] El protocolo típico utilizó un gradiente de concentración de membrana de  $\text{Cl}^-$  basolateral a apical. Para establecer este gradiente, se utilizaron anilladores normales en la membrana basolateral, mientras que el NaCl apical se reemplazó por gluconato de sodio equimolar (valorado a pH 7,4 con NaOH) para dar un gran gradiente de concentración de  $\text{Cl}^-$  a través del epitelio. La forskolina (10 mM) y todos los compuestos de ensayo se agregaron al lado apical de los insertos de cultivo celular. La eficacia de los supuestos potenciadores de  $\Delta F508$ -RTFQ se comparó con la del potenciador conocido, la ginstestina.

65

Registros de pinza de parche

5 **[0427]** La corriente de Cl<sup>-</sup> total en células ΔF508-NIH3T3 se monitorizó utilizando la configuración de registro de parches perforados como se describió previamente (Rae, J., Cooper, K., Gates, P., y Watsky, M. (1991) J. Neurosci. Methods 37, 15-26). Los registros de la pinza de voltaje se realizaron a 22°C usando un amplificador de pinza Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA). La solución de la pipeta contenía (en mM) 150 N-metilo-D-glucamina (NMDG)-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 EGTA, 10 HEPES y 240 μg/mL de anfotericina-B (pH ajustado a 7,35 con HCl). El medio extracelular contenía (en mM) 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con HCl). La generación de impulsos, la adquisición de datos y el análisis se realizaron utilizando una PC equipada con una interfaz Digidata 1320 A/D junto con Clampex 8 (Axon Instruments Inc.). Para activar ΔF508-RTFQ, se agregaron 10 mM de forskolina y 20 mM de genisteína al baño y se controló la relación de corriente-voltaje cada 30 segundos.

Identificación de compuestos potenciadores

15 **[0428]** La capacidad de los potenciadores de ΔF508-RTFQ para aumentar la corriente macroscópica de ΔF508-RTFQ ( $I_{\Delta F508}$ ) en células NIH3T3 que expresan de forma estable 8F508-RTFQ también se investigó utilizando técnicas de registro de parches perforados. Los potenciadores identificados a partir de los ensayos ópticos provocaron un aumento dependiente de la dosis en  $I_{\Delta F508}$  con una potencia y eficacia similares observadas en los ensayos ópticos. En todas las células examinadas, el potencial de inversión antes y durante la aplicación del potenciador fue de alrededor de -30 mV, que es la  $E_{Cl}$  calculada (-28 mV).

Cultivo de células

25 **[0429]** Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente ΔF508-RTFQ se usan para grabaciones de células completas. Las células se mantienen a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con glutamina 2mM, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA, β-ME, 1 X pen/strep y 25 mM HEPES en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para registros de células completas, se sembraron 2.500 - 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 horas a 27°C antes de usar para probar la actividad de los potenciadores; e incubado con o sin el compuesto corrector a 37°C para medir la actividad de los correctores.

Registros de un solo canal

35 **[0430]** La actividad de activación de wt-RTFQ y ΔF508-RTFQ con corrección de temperatura expresada en células NIH3T3 se observó utilizando registros de parches de membrana extirpados como se describió previamente (Dalemans, W., Barbry, P., Champigny, G., Jallat, S., Dott, K., Dreyer, D., Crystal, RG, Pavirani, A., Lecocq, JP., Lazdunski, M. (1991) Nature 354, 526 - 528) utilizando un amplificador de pinza de parche Axopatch 200B (Axon Instruments Inc.). La pipeta contenía (en mM): 150 NMDG, 150 de ácido aspártico, 5 CaCl<sub>2</sub>, 2 MgCl<sub>2</sub> y 10 HEPES (pH ajustado a 7,35 con base Tris). El baño contenía (en mM): 150 NMDG-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 5 EGTA, 10 TES y 14 bases tris(pH ajustado a 7,35 con HCl). Después de la escisión, tanto el wt- como el ΔF508-RTFQ se activaron mediante la adición de Mg-ATP 1 mM, 75 nM de la subunidad catalítica de la proteína quinasa dependiente de AMPc (PKA; Promega Corp. Madison, WI), y NaF 10 mM para inhibir las fosfatasas de proteína, que impidieron la corriente de la corriente. El potencial de pipeta se mantuvo a 80 mV. La actividad del canal se analizó a partir de parches de membrana que contenían ≤ 2 canales activos. El número máximo de aberturas simultáneas determinó el número de canales activos durante el curso de un experimento. Para determinar la amplitud de la corriente de un solo canal, los datos registrados a partir de los 120 segundos de la actividad de ΔF508-RTFQ se filtraron "fuera de línea" a 100 Hz y luego se usaron para construir histogramas de amplitud de todos los puntos que se ajustaron con funciones multigaussianas usando Bio-Patch Software de análisis (Bio-Logic Comp. Francia). La corriente microscópica total y la probabilidad de apertura ( $P_o$ ) se determinaron a partir de 120 segundos de actividad del canal. El  $P_o$  se determinó utilizando el software Bio-Patch o de la relación  $P_o = I/i(N)$ , donde  $I$  = corriente media,  $i$  = amplitud de corriente de un solo canal y  $N$  = número de canales activos en el parche.

Cultivo de células

55 **[0431]** Los fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan establemente ΔF508-RTFQ se usan para los registros de pinzamiento de parche de membrana extirpados. Las células se mantienen a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> y 90% de humedad en medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con glutamina 2mM, suero bovino fetal al 10%, 1 X NEAA, β-ME, 1 X pen/strep y 25 mM HEPES en matraces de cultivo de 175 cm<sup>2</sup>. Para registros de un solo canal, se sembraron 2.500 - 5.000 células en cubreobjetos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina y se cultivaron durante 24 - 48 horas a 27°C antes de su uso.

**DISOLUCIÓN**

65 **Disolución en fluido intestinal alimentado (FeSSIF)**

[0432] Las pruebas de disolución de los co-cristales del Compuesto 1 se realizaron en botellas de ámbar de 50 ml colocadas en recipientes encamisados. La temperatura del recipiente encamisado se controló mediante un baño de agua/enfriador Iso Temp 360 y se ajustó a 37°C. Se colocaron veinte mililitros de fluidos intestinales alimentados simulados en las botellas y se dejaron equilibrar a 37°C durante una hora mientras que se agitaba a 125 rpm. Cantidades previamente pesadas (véase Tabla AD, concentración diana del Compuesto 1 ~ 1 mg/ml) del co-cristal de Compuesto 1:triglicéridos luego se agregaron a cada botella y se dejaron agitar a 37°C durante la duración del estudio de disolución. Se recogieron muestras de un microlitro en puntos de tiempo seleccionados (5 y 30 minutos, y 1, 2, 3, 4, 6, 16 y 24 horas). Las muestras se filtraron utilizando filtros de jeringa Millex®-LH de 0,45 mm PTFE y se analizaron mediante HPLC para determinar los niveles de concentración.

[0433] Las pruebas de disolución del Compuesto 1 SDD y del Compuesto 1 amorfo se realizaron en un sistema de disolución Varian VK700. La temperatura del baño de disolución se controló y se ajustó a 37°C. Se colocaron quinientos mililitros de fluidos intestinales alimentados simulados en los recipientes de disolución y se dejaron equilibrar a 37°C mientras que se agitaba. Cantidades pre-pesadas (concentración diana del Compuesto 1 ~ 1 mg/ml) del Compuesto 1 se añadieron a continuación a cada recipiente y se dejaron agitar a 37°C durante la duración del estudio de disolución. Se recogieron muestras de tres mililitros en puntos de tiempo seleccionados (0,5, 1, 1,5, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 48 horas). Las muestras se filtraron utilizando Whatman 25 mm con filtros de jeringa PTFE de 0,45 mm y se analizaron mediante HPLC para determinar los niveles de concentración.

Tabla AF: Pesos de Compuesto agregados a cada recipiente para su disolución

Nº de experimento	de co-cristal de Compuesto 1:triglicérido [mg]
1	
2	31,6
3	32,0
4	33,1
5	32,5
6	31,2
7	30,2
8	32,0
9	34,1

[0434] La Figura 36 muestra la comparación de los perfiles de disolución hasta 24 horas del Compuesto 1:gliceriltriocanoato, el Compuesto 1:gliceriltrioleato y el Compuesto 1:gliceriltrinilinato de glicerilo con el Compuesto 1 amorfo y el SDD Compuesto 1 en FeSSIF.

#### **Materiales sólidos aislados de la mezcla de fórmula infantil y Compuesto amorfo 1**

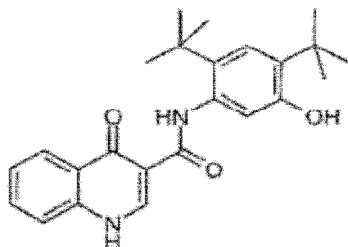
[0435] La fórmula infantil fortificada de Abbot Iron se mezcló con el Compuesto 1 amorfo en una proporción aproximada de 7% p/v de sólidos (es decir, 7 g del Compuesto 1 amorfo en 100 ml de fórmula reconstituida). La suspensión se suspendió en condiciones ambientales y los sólidos se aislaron por filtración al vacío. Los sólidos recuperados se secaron al aire durante al menos 1 hora antes del análisis.

[0436] La Figura 37 muestra ejemplos de patrones de XRPD de ángulo bajo de co-cristales del Compuesto 1 con diferentes triglicéridos puros y materiales sólidos aislados de la mezcla de fórmula infantil y Compuesto 1. Según los datos mostrados en la Figura 37, los materiales sólidos aislados de la mezcla de fórmula infantil y el Compuesto 1 pueden consistir en una mezcla de diferentes co-cristales del Compuesto 1:triglicéridos o un co-cristal del Compuesto 1 con un rango de triglicéridos en la estructura cristalina.

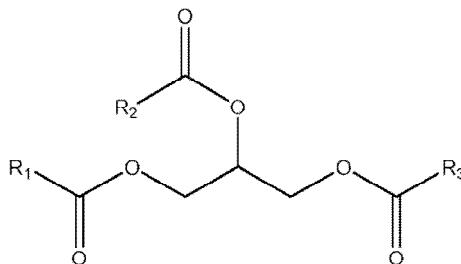
[0437] Además, basado en la intensidad de la señal del Compuesto 1 aromático en los espectros 13C CPMAS, una cantidad promedio de 22% del Compuesto 1 estaba presente en la forma de los materiales sólidos aislados de la mezcla de fórmula infantil durante los contactos que van desde 1 hora hasta 24 horas.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del Compuesto 1 y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde el Compuesto 1 se representa mediante la siguiente fórmula estructural:



y además, en donde al menos el 30% del Compuesto 1 está presente como un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:



en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$  alifáticos.

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en  $2\text{-theta} \pm 0,2$  grados en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9 y 10,9; o

en donde el co-cristal se caracteriza por tener un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos característicos expresados en 60,2 grados  $2\text{-theta}$  en las siguientes posiciones: 3,5, 6,9, 9,2, 10,9, 16,9, 18,0 y 23,8.

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el co-cristal se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en  $\text{ppm} \pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0 y 119,4; o en donde el co-cristal se caracteriza por tener un espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss con picos característicos expresados en  $\text{ppm} \pm 0,1$  en las siguientes posiciones: 178,6, 155,0, 130,5 y 119,4.

4. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la estequiometría del Compuesto 1 al triglicérido en el co-cristal es de 3 a 1 o de 6 a 1.

5. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el Compuesto 1 forma un hexámero en el co-cristal y además en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{7-29}$  alifáticos.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el triglicérido se elige entre: trioleato de glicerilo, triestidato de glicerilo, tridecanoato de glicerol, trihexanoato de glicerilo, tritridecanoato de glicerilo, trimiristato de glicerilo, tripalmitato de glicerilo, tributirato de glicerilo, trilinoleato de glicerilo, tridodecanoato de glicerilo, decanoato de glicerilo, tripalmitoleato de glicerilo, trierucato de glicerol, tripropionato de glicerilo, palmitodiolein, triarachidonin, trilinolenato de glicerilo, trierucin, triarachidato de glicerol, tri(cis-13-docosenoato) de glicerilo, tripetroselinato de glicerilo, tribehenato de glicerilo, trielaidato de glicerilo y triacetin.

7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la composición farmacéutica es una forma de dosificación sólida para administración oral.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en la que la forma de dosificación sólida para administración oral es una cápsula, una tableta, una píldora, un polvo o un gránulo.

9. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende además un agente terapéutico adicional seleccionado de un agente mucolítico, un broncodilatador, un antibiótico, un agente antiinfeccioso, un agente antiinflamatorio, un modulador de RTFQ distinto del Compuesto 1, o un agente nutricional, preferiblemente en donde el agente terapéutico adicional es un modulador de RTFQ distinto del Compuesto 1.

10. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, en la que el modulador de RTFQ es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridina)-2-ilo)ácido benzoico o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxi-propilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclo-propanocarboxamida.

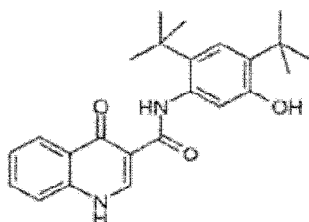
11. Una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para su uso en un método para tratar o disminuir la gravedad de una enfermedad en un paciente, en donde dicha enfermedad se selecciona de fibrosis quística, enfisema hereditario, EPOC o enfermedad de ojo seco, y en donde el método comprende la etapa de administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-10.

12. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que la enfermedad es fibrosis quística.

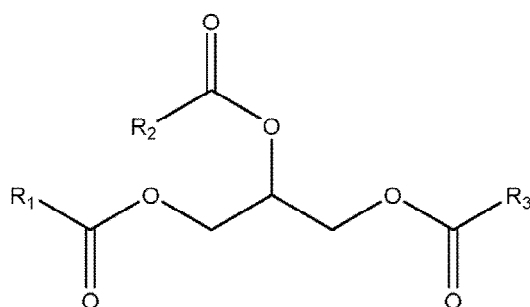
13. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en donde el método comprende además la administración conjunta de uno o más agentes terapéuticos adicionales al paciente, preferiblemente en el que el agente terapéutico adicional es (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxol)-5-ilo)ciclopropano-carboxamido)-3-metilpiridin-2-ilo)ácido benzoico o (R)-1-(2,2-difluorobenzo[d][1.3]dioxo1-5-ilo)-N-(1-(2,3-dihidroxi-propilo)-6-fluoro-2-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-ilo)-1H-indol-5-ilo)ciclopropanocarboxamida.

14. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que el agente terapéutico adicional se administra simultáneamente, antes o después de la composición farmacéutica.

15. Un método para preparar un co-cristal que comprende el Compuesto 1 y un triglicérido, en el que el Compuesto 1 se representa mediante la siguiente fórmula estructural:



y en donde el triglicérido se elige de la siguiente fórmula estructural:



en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son independientemente  $C_{1-29}$ alifáticos; que comprende los pasos de:

- (a) preparar una mezcla que comprende el Compuesto 1 y el triglicérido; y
- (b) calentar la mezcla.



Figura 1

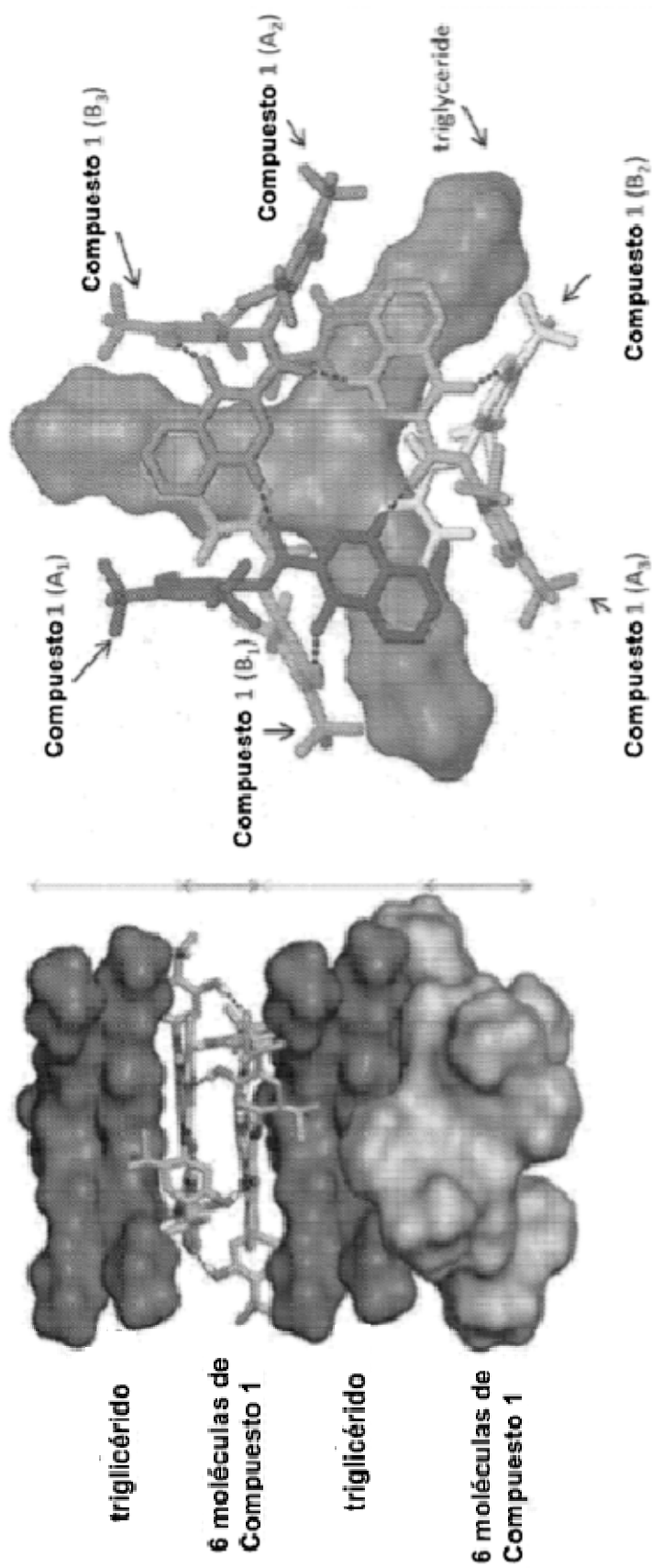
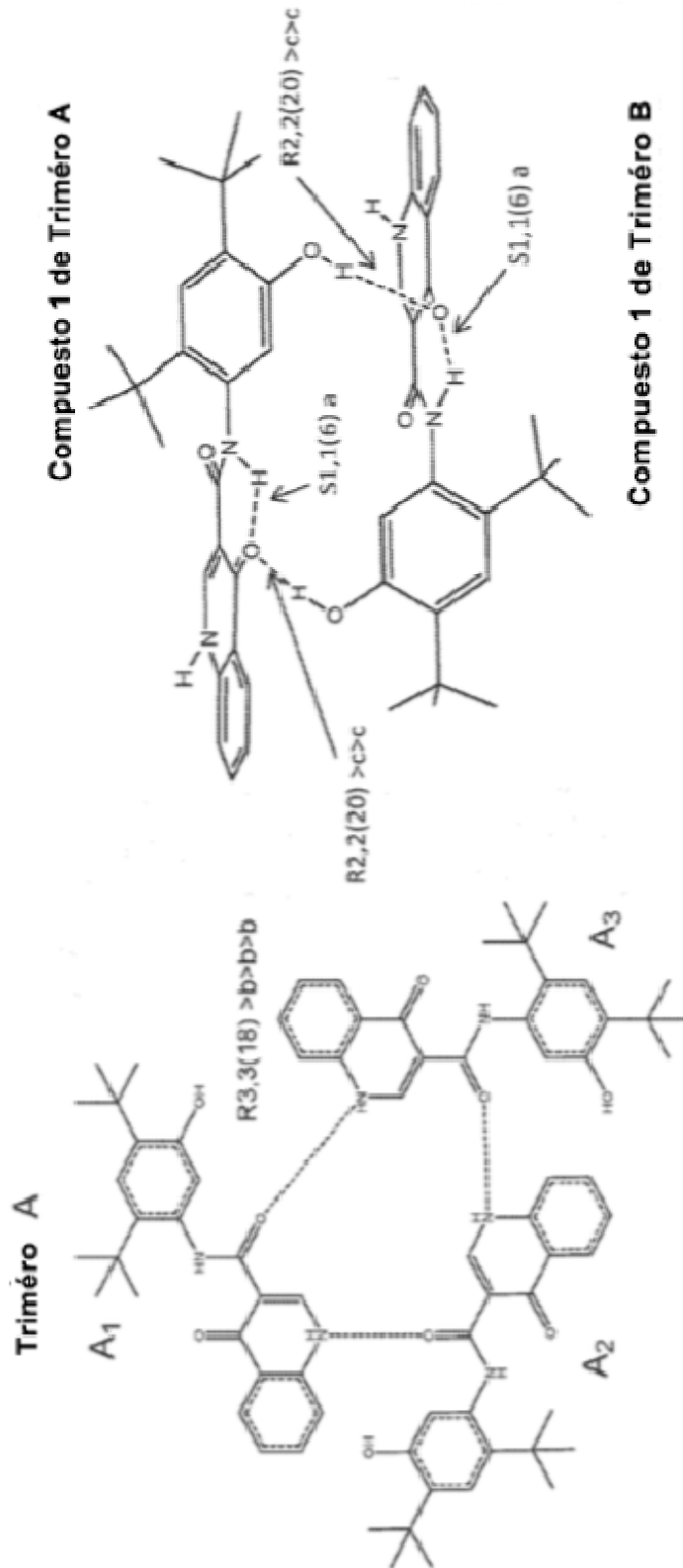
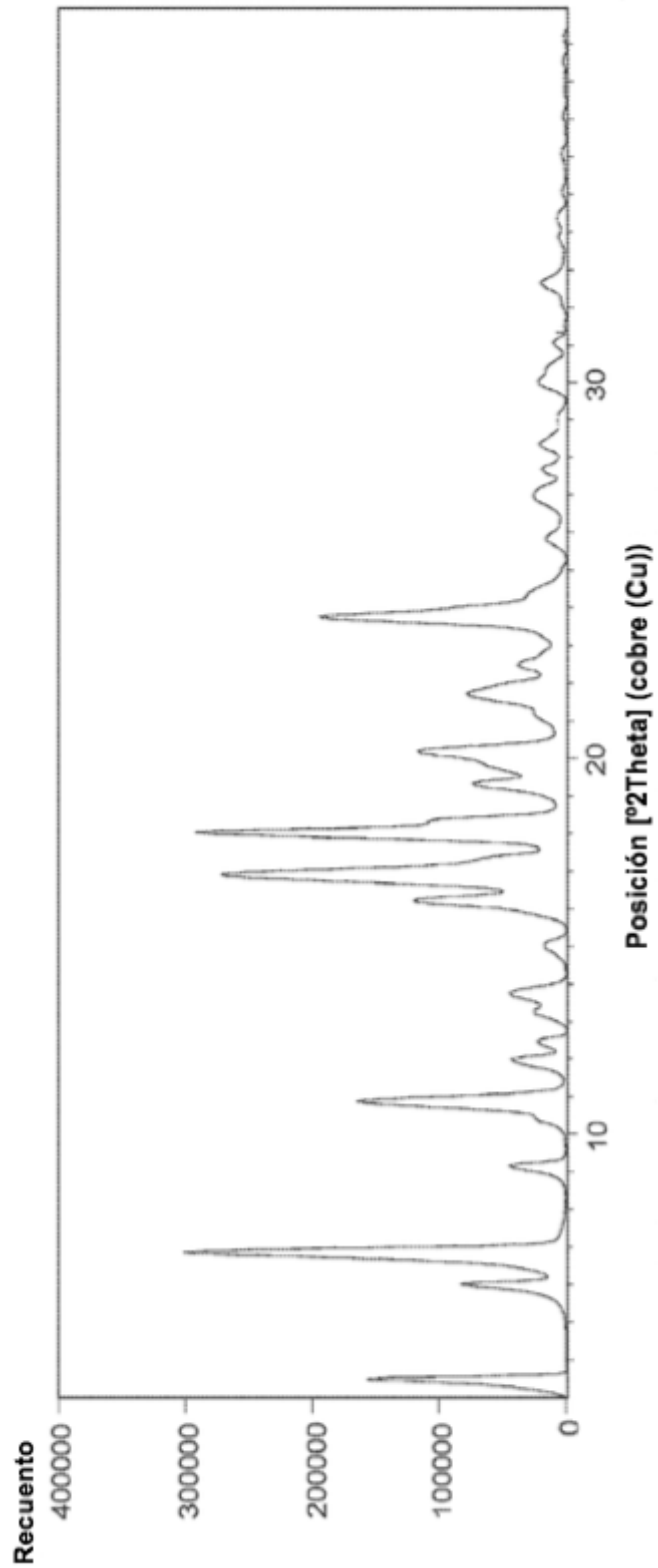


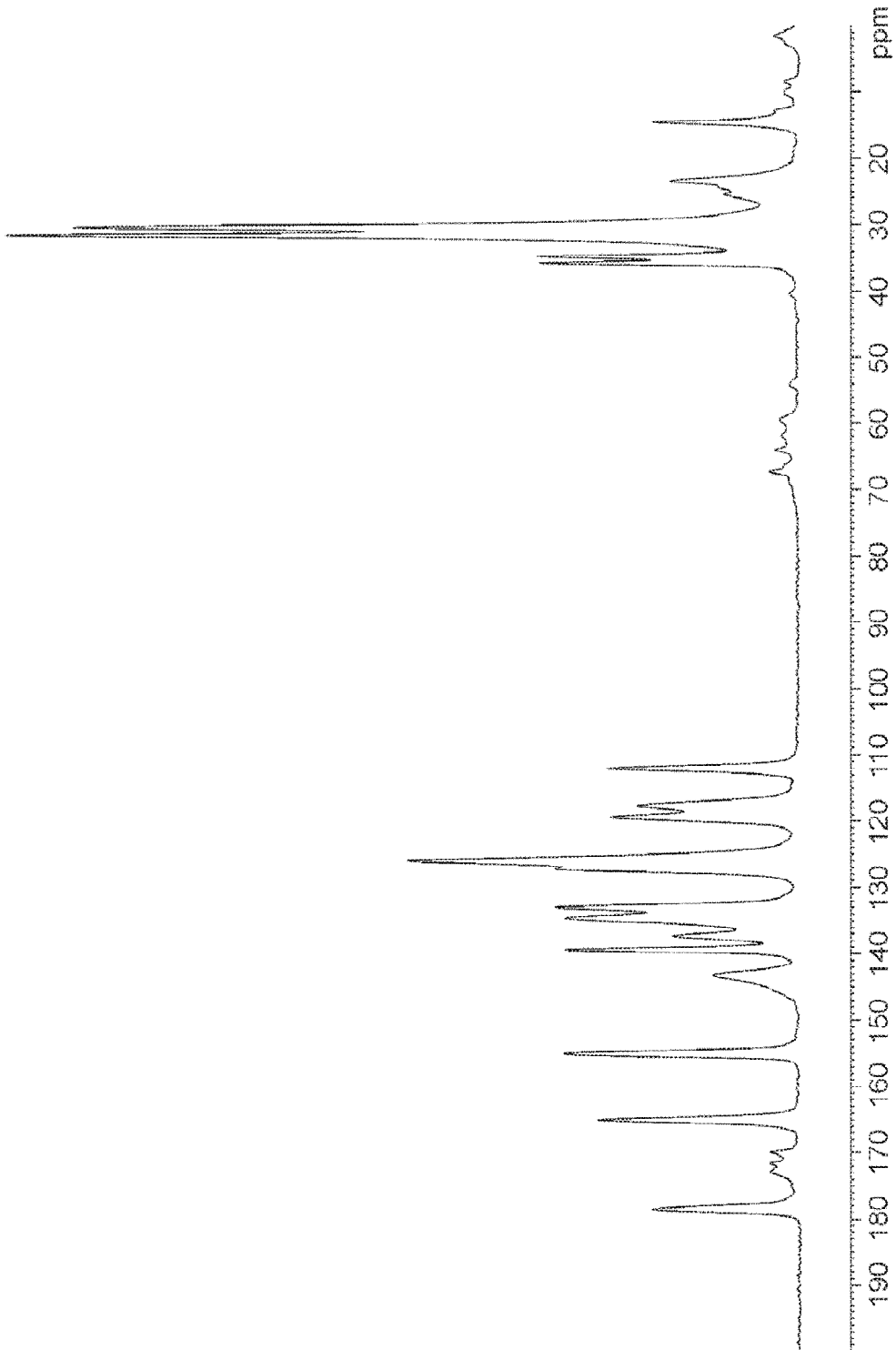
Figura 2



**Figura 3**  
**Método XRPD de Compuesto 1:Gliceriltrioctanoato**

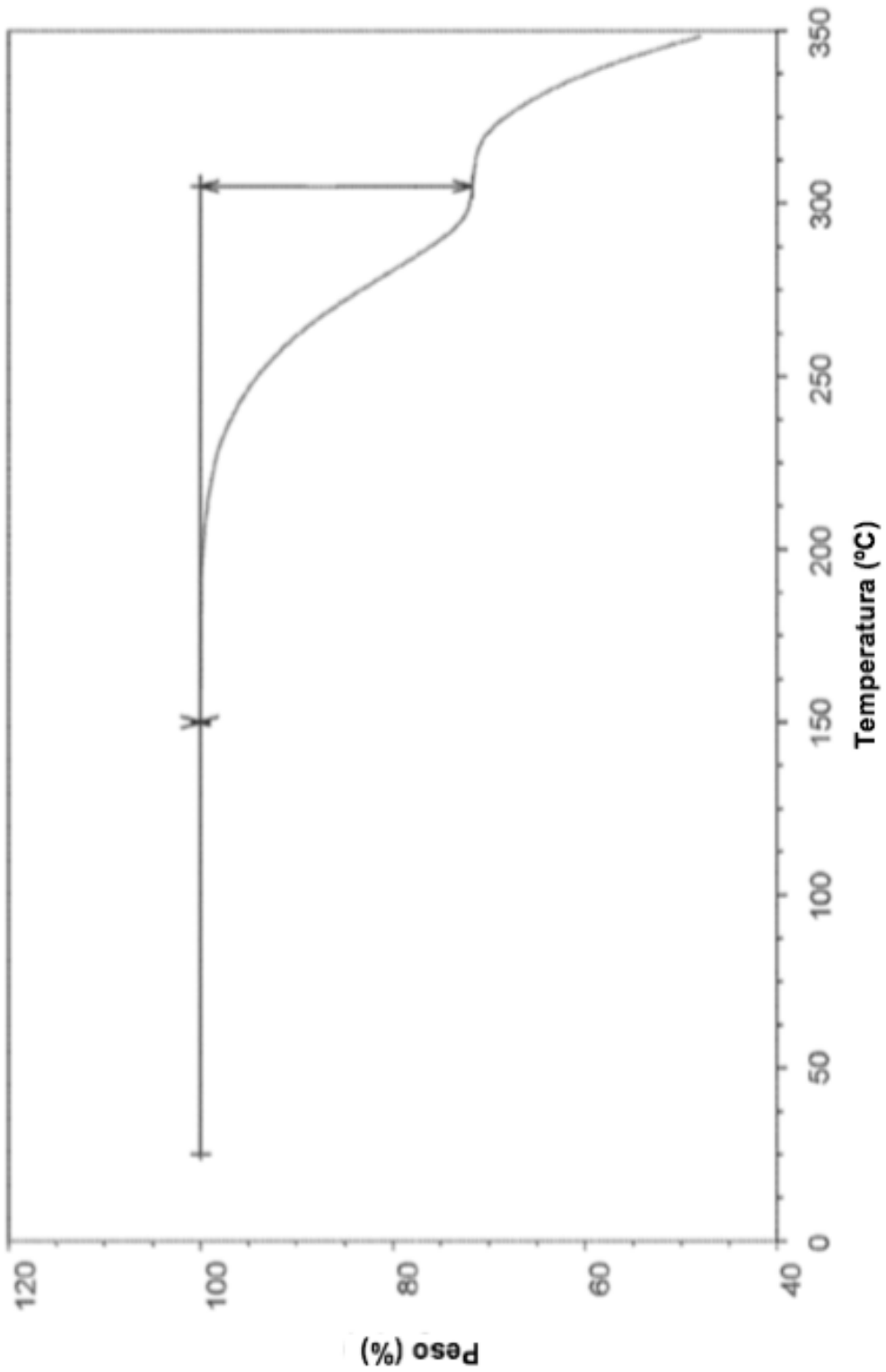


**Figura 4**  
**Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto**  
**1:Gliceriltrioctanoato**



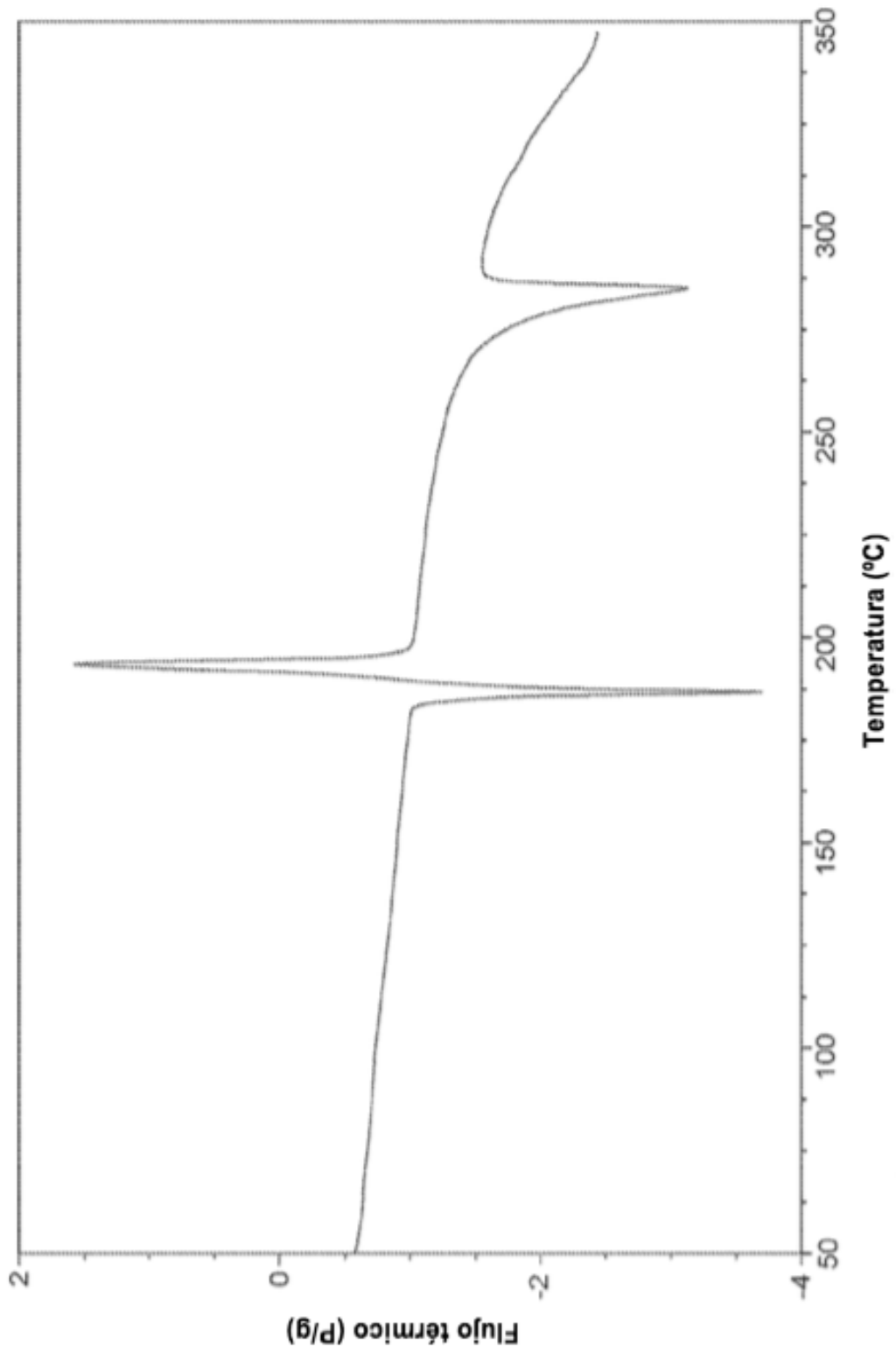
**Figura 5**

**Traza TGA de Compuesto 1: Gliceriltrioctanoato**



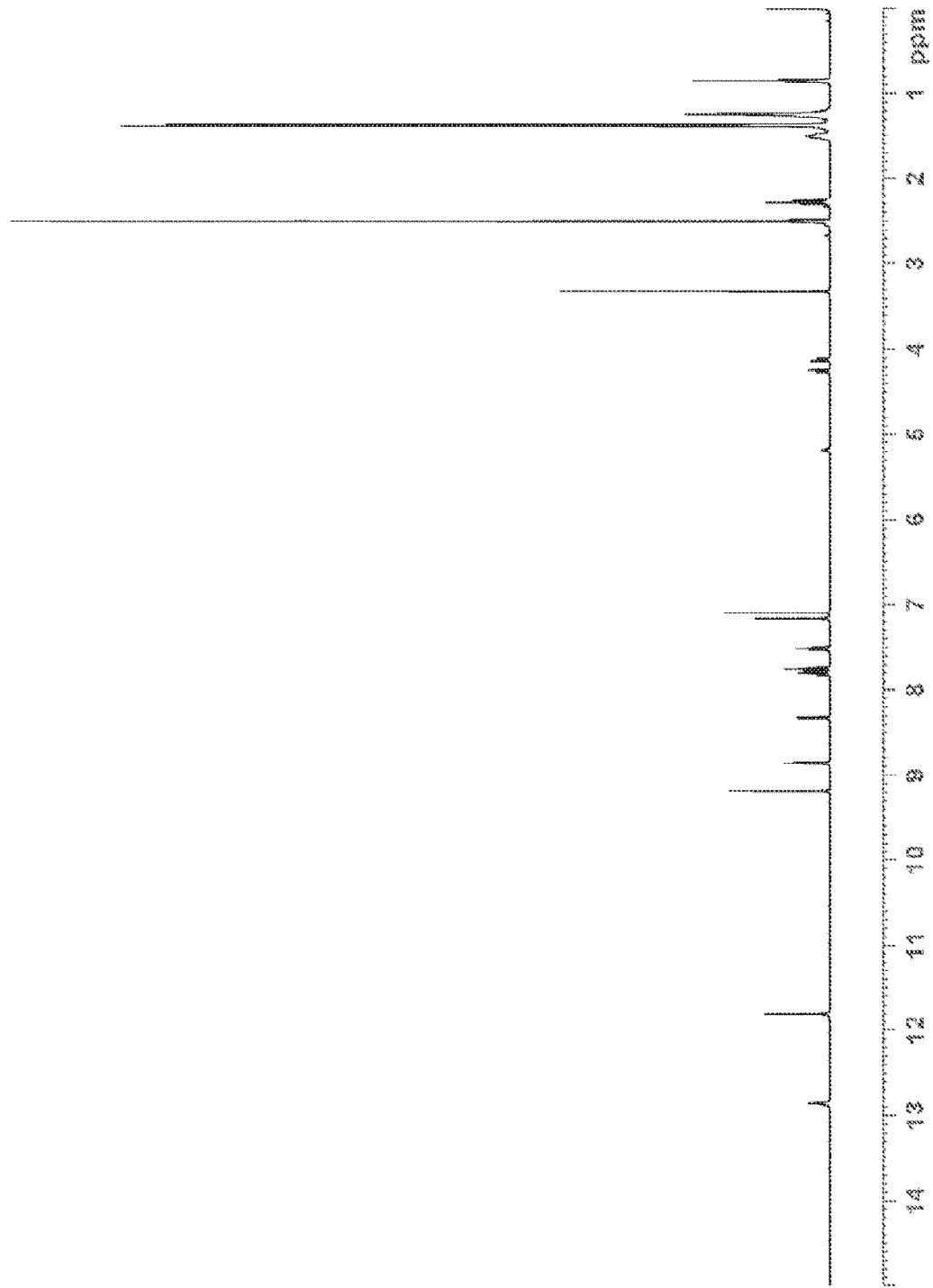
**Figura 6**

**Termograma DSC de Compuesto 1: Gliceriltrioctanoato**

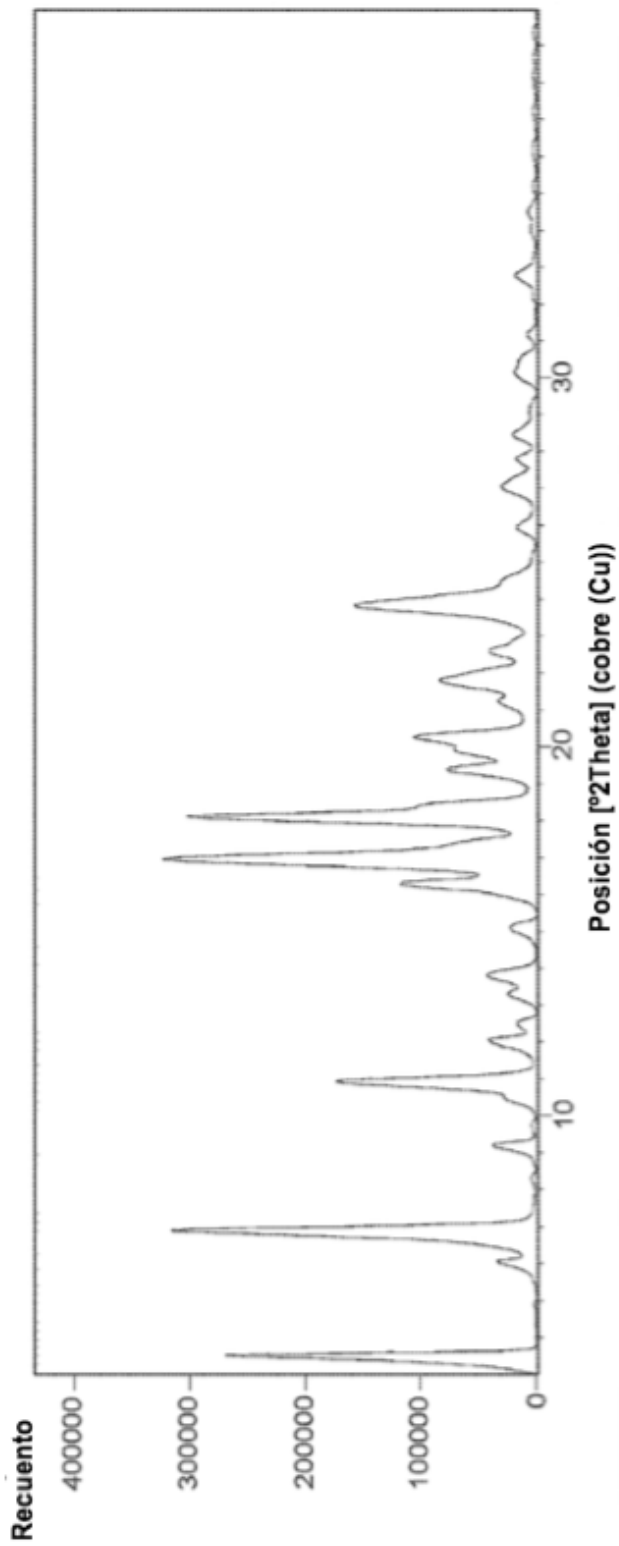


**Figura 7**

**Espectro de  $^1\text{H}$  RMN de Compuesto 1: Gliceriltrioctanoato**



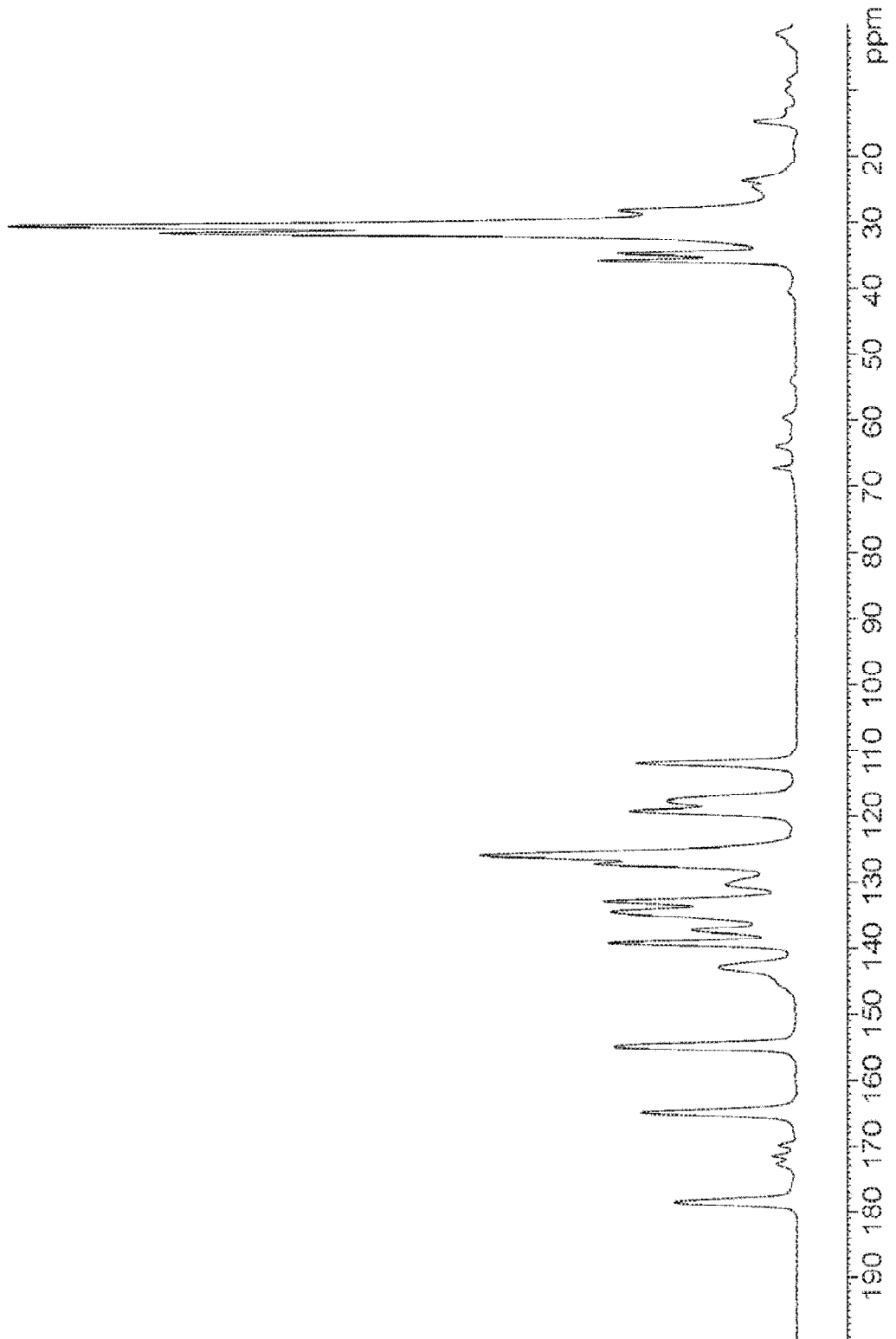
**Figura 8**  
**Método XRPD de Compuesto 1:**  
**Gliceriltrioleato**



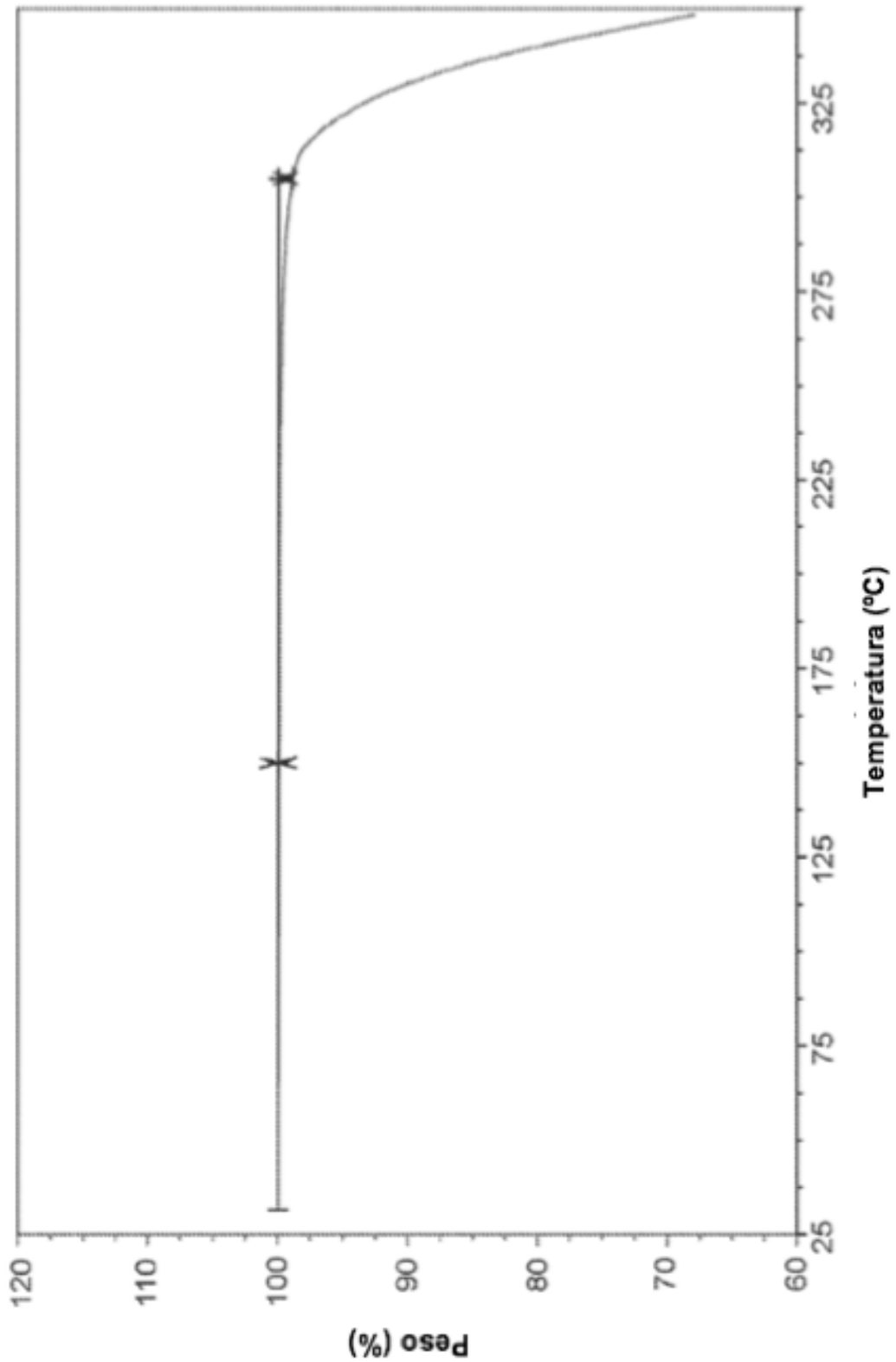


**Figura 9**

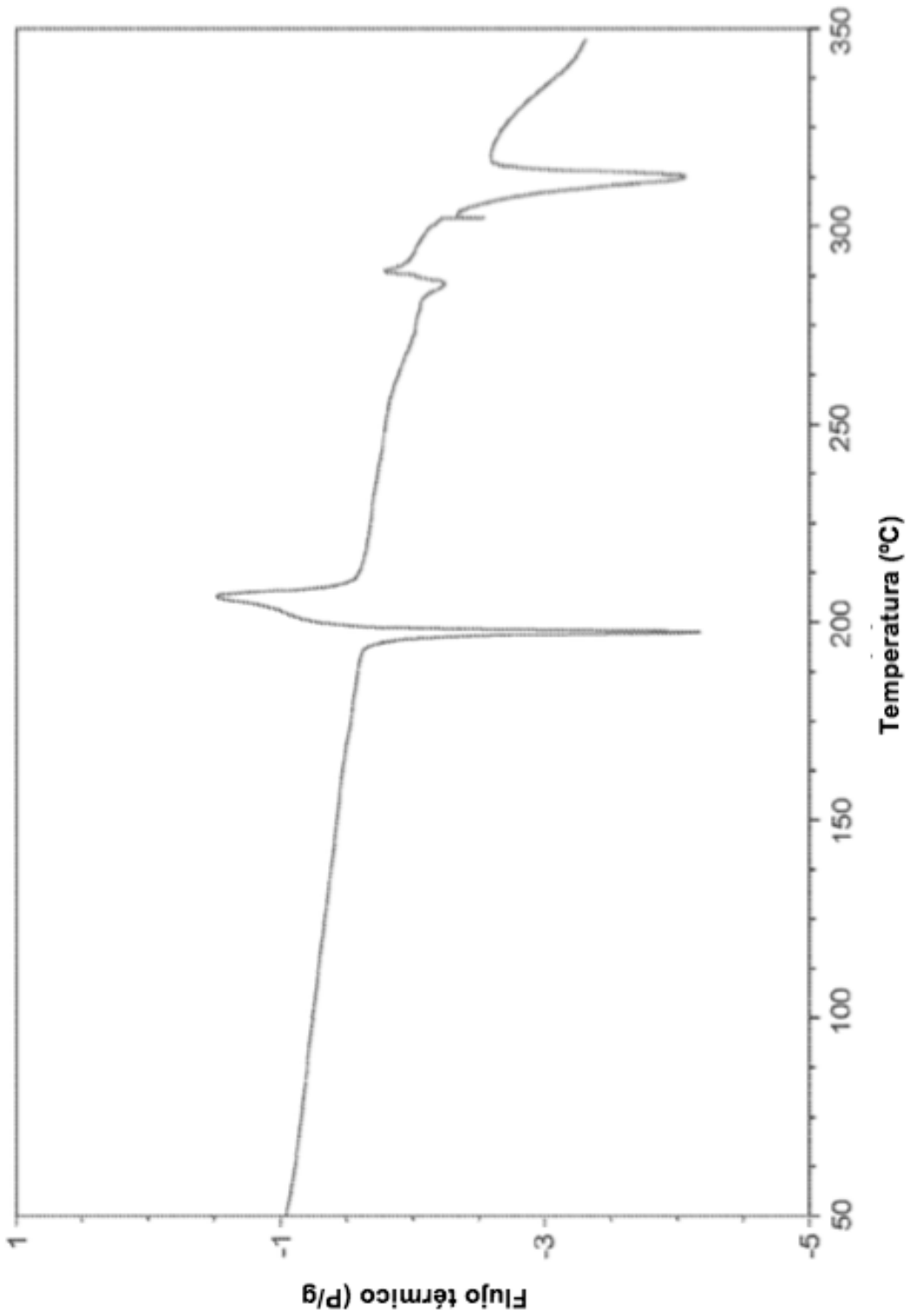
**Espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: Gliceriltrioleato**



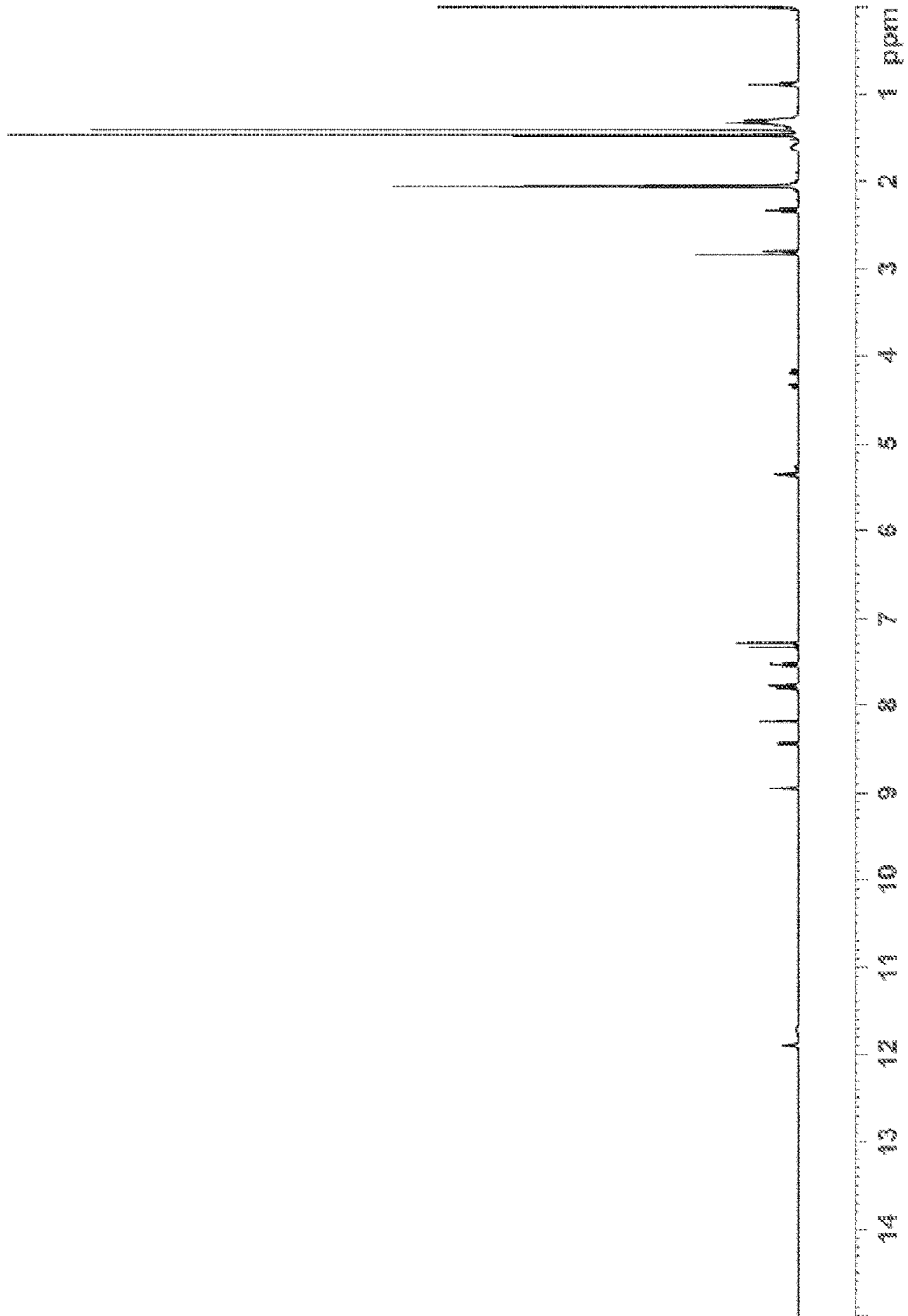
**Figura 10**  
**Traza TGA de Compuesto 1: Gliceriltri oleato**



**Figura 11**  
**Termograma DSC de Compuesto 1: Gliceriltrioleato**

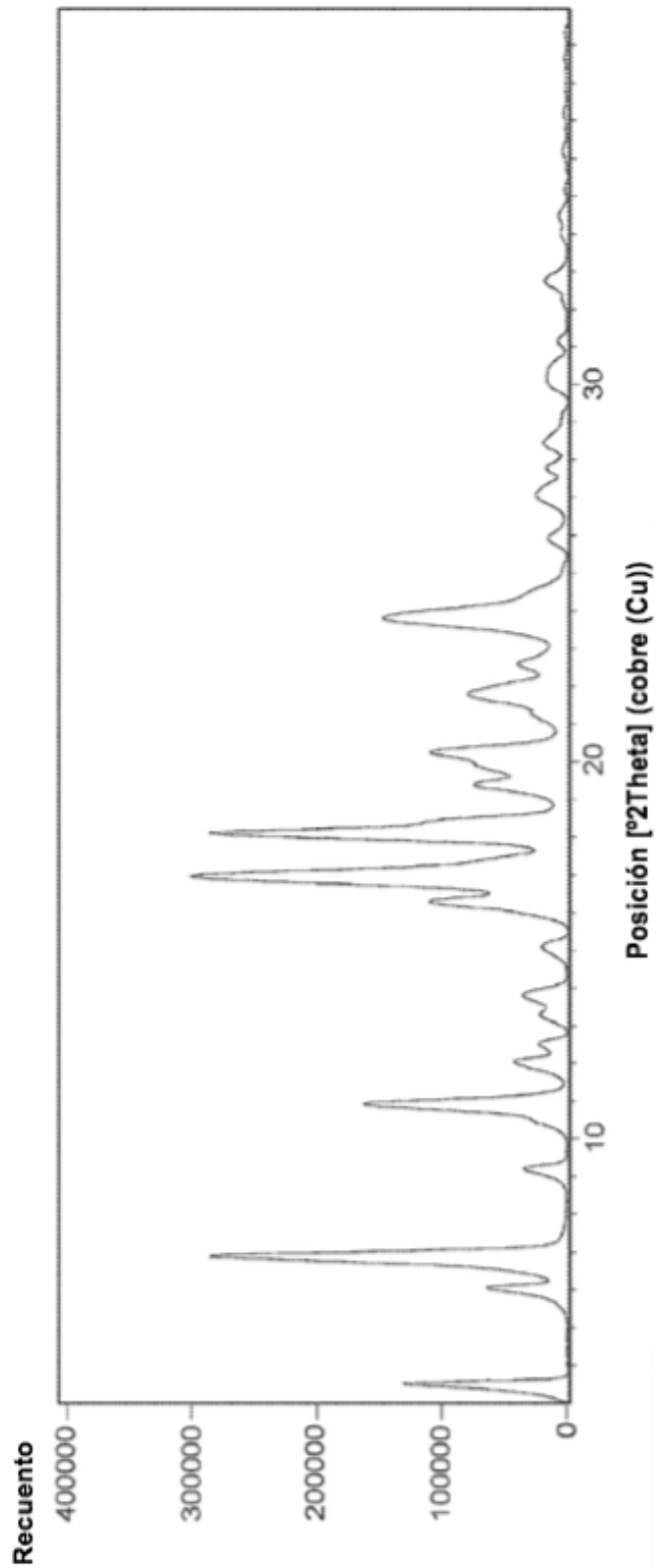


**Figura 12**  
**Espectro  $^1\text{H}$  RMN de Compuesto 1: Gliceriltrioleato**



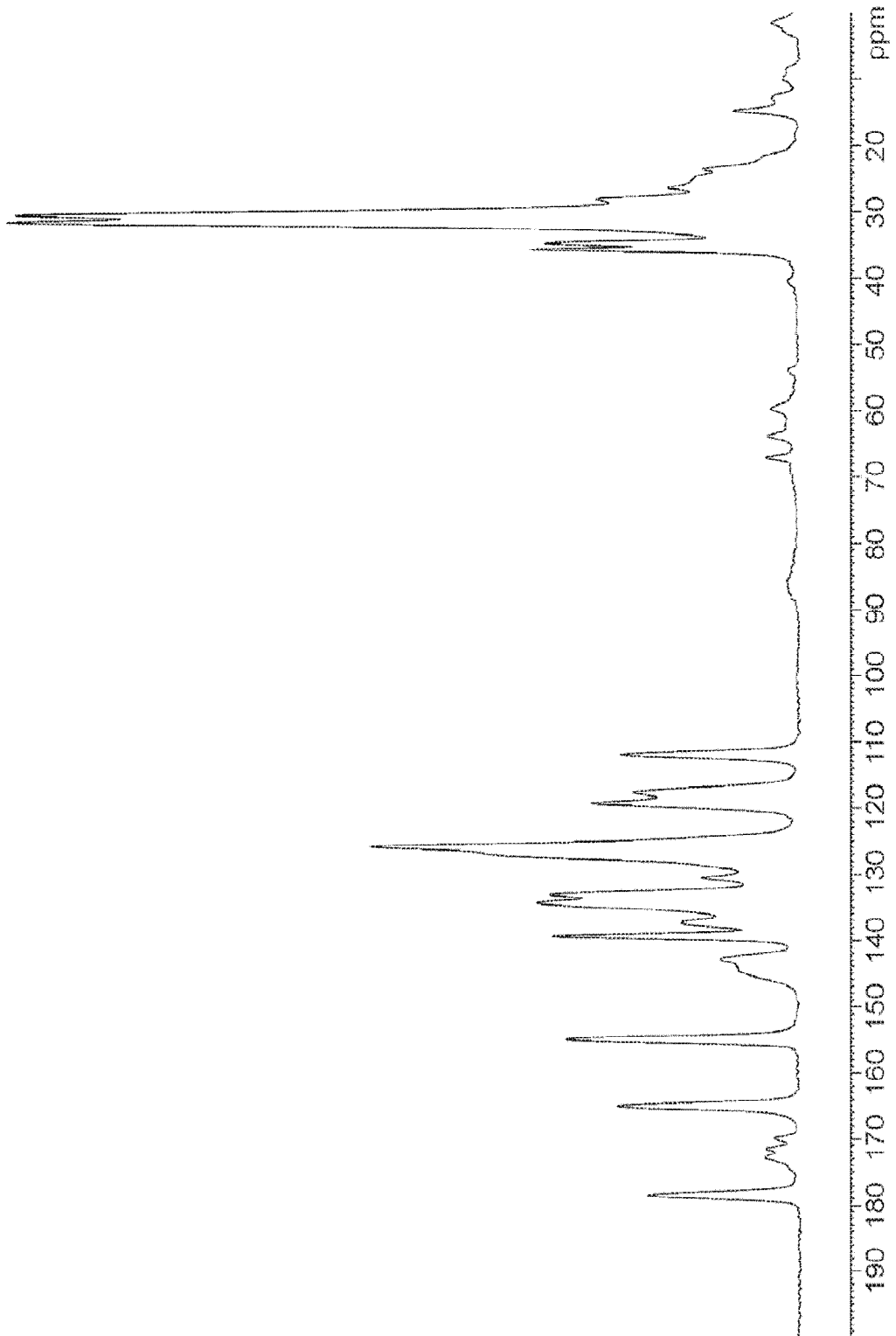
**Figura 13**

**Método XRPD de Compuesto 1: Gliceriltrilinooleato**

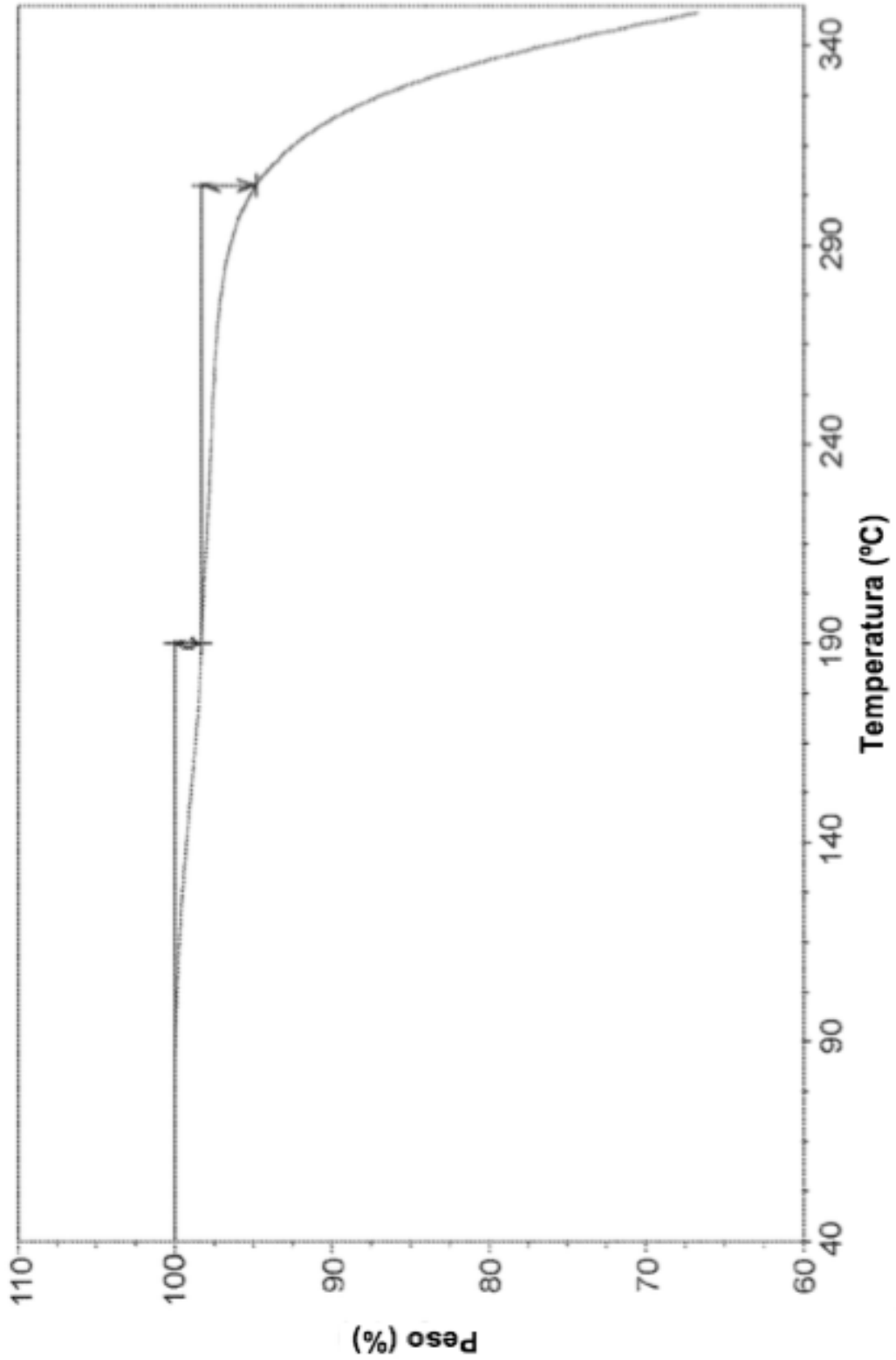


**Figura 14**

**Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: Gliceriltrilinooleato**

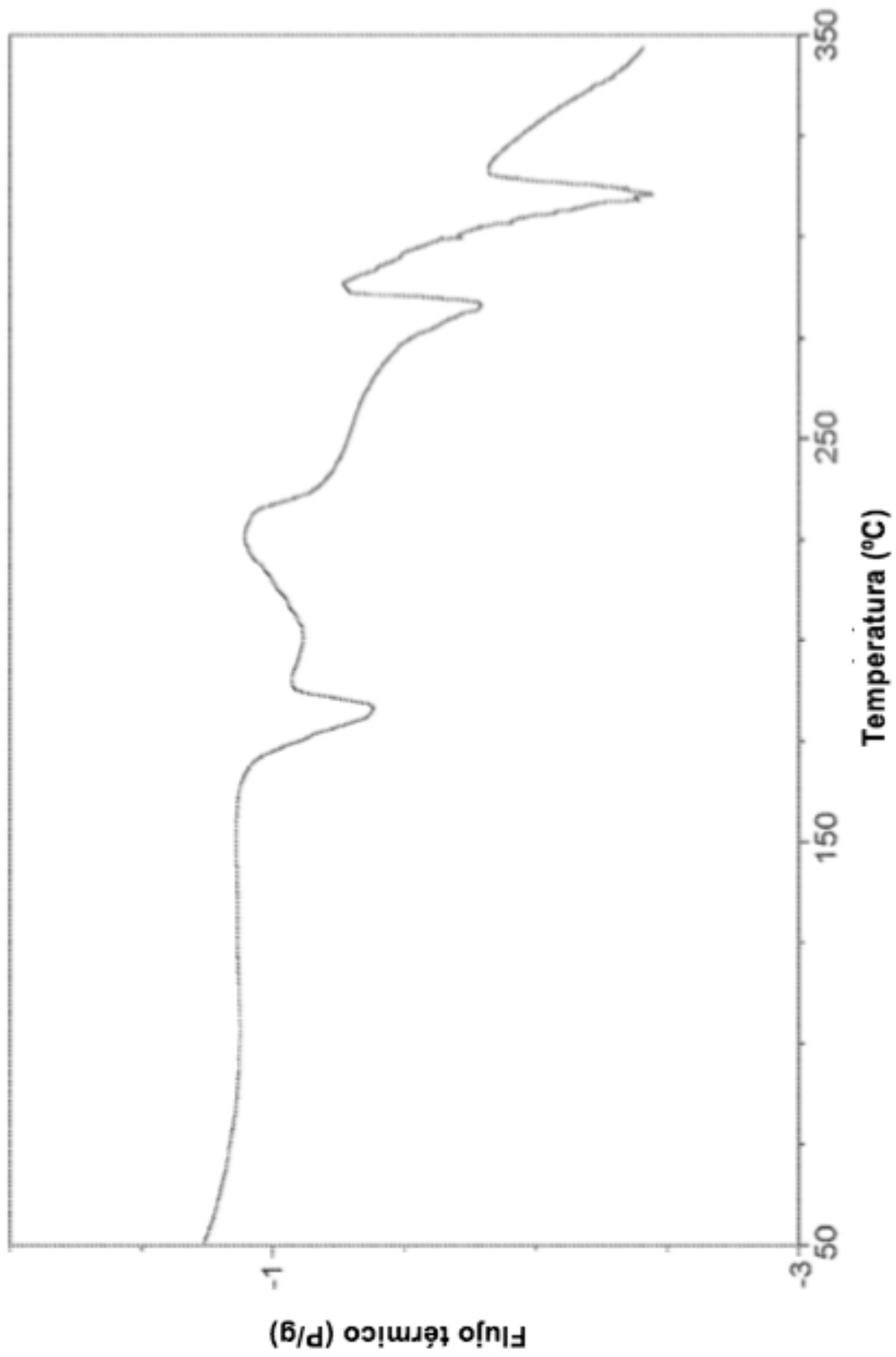


**Figura 15**  
**Traza TGA de Compuesto 1: Gliceriltrilinooleato**



**Figura 16**

**Termograma DSC de Compuesto 1: Gliceriltrilinooleato**





**Figura 17**

**Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de Compuesto 1: Gliceriltrilinooleato**

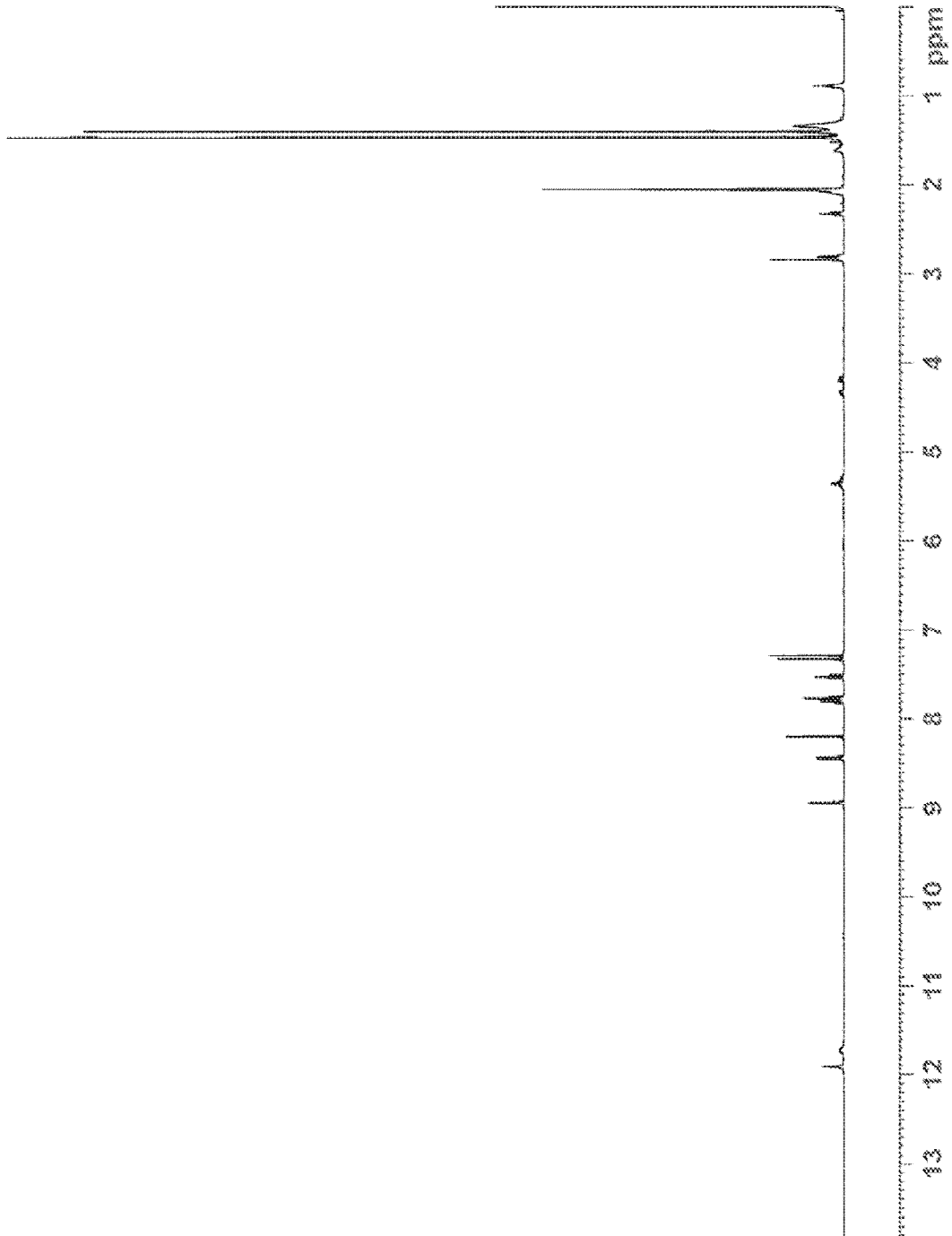
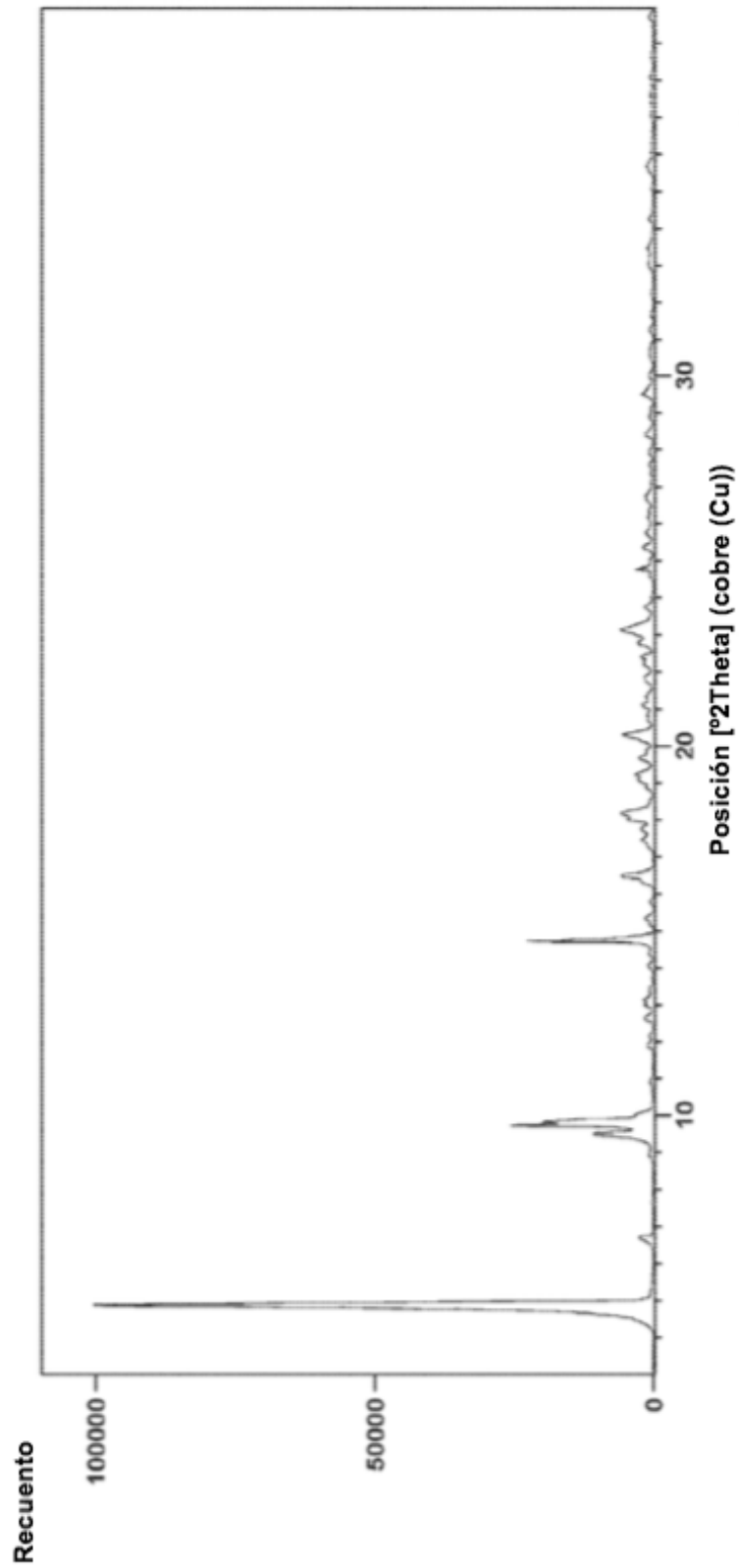
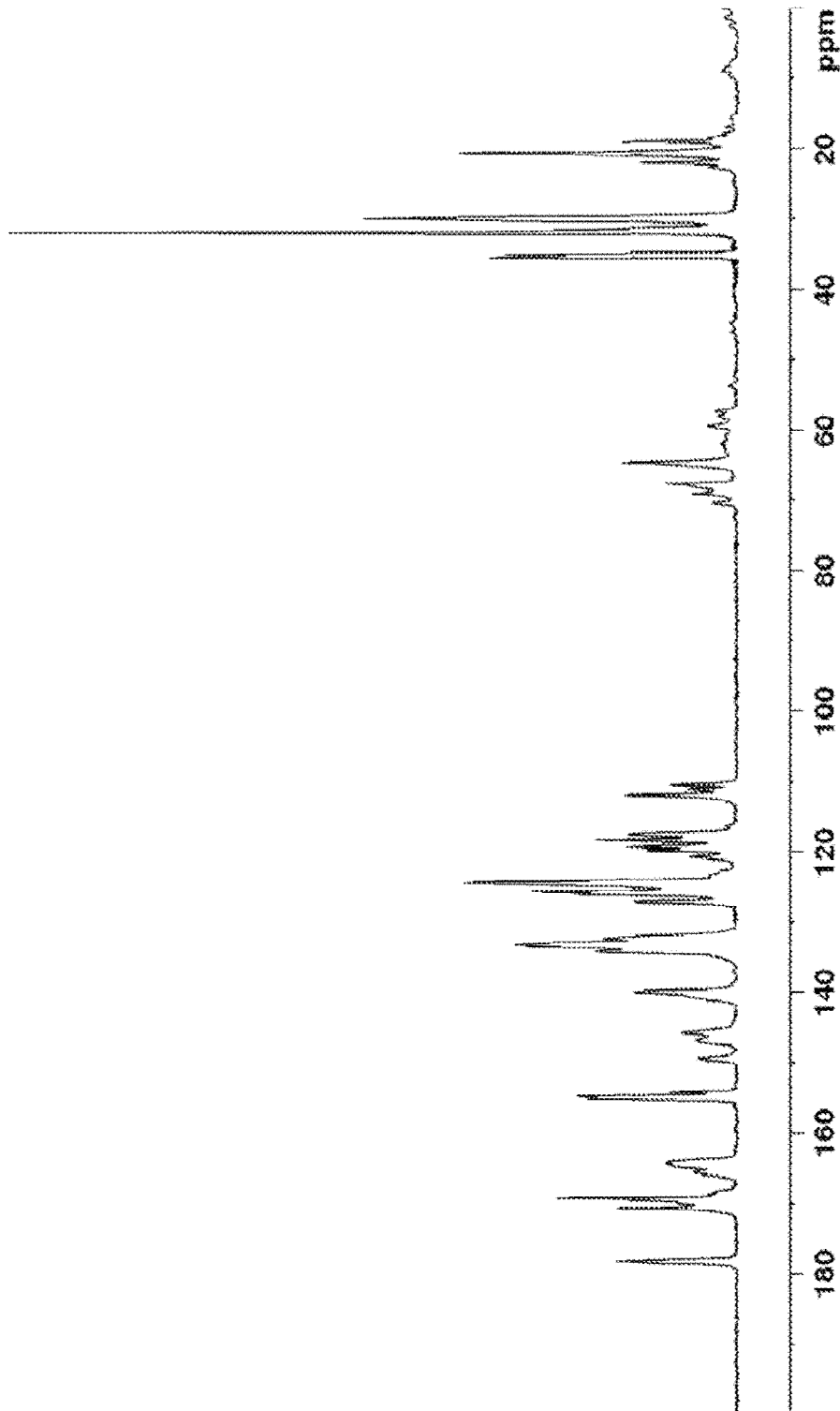


Figura 18

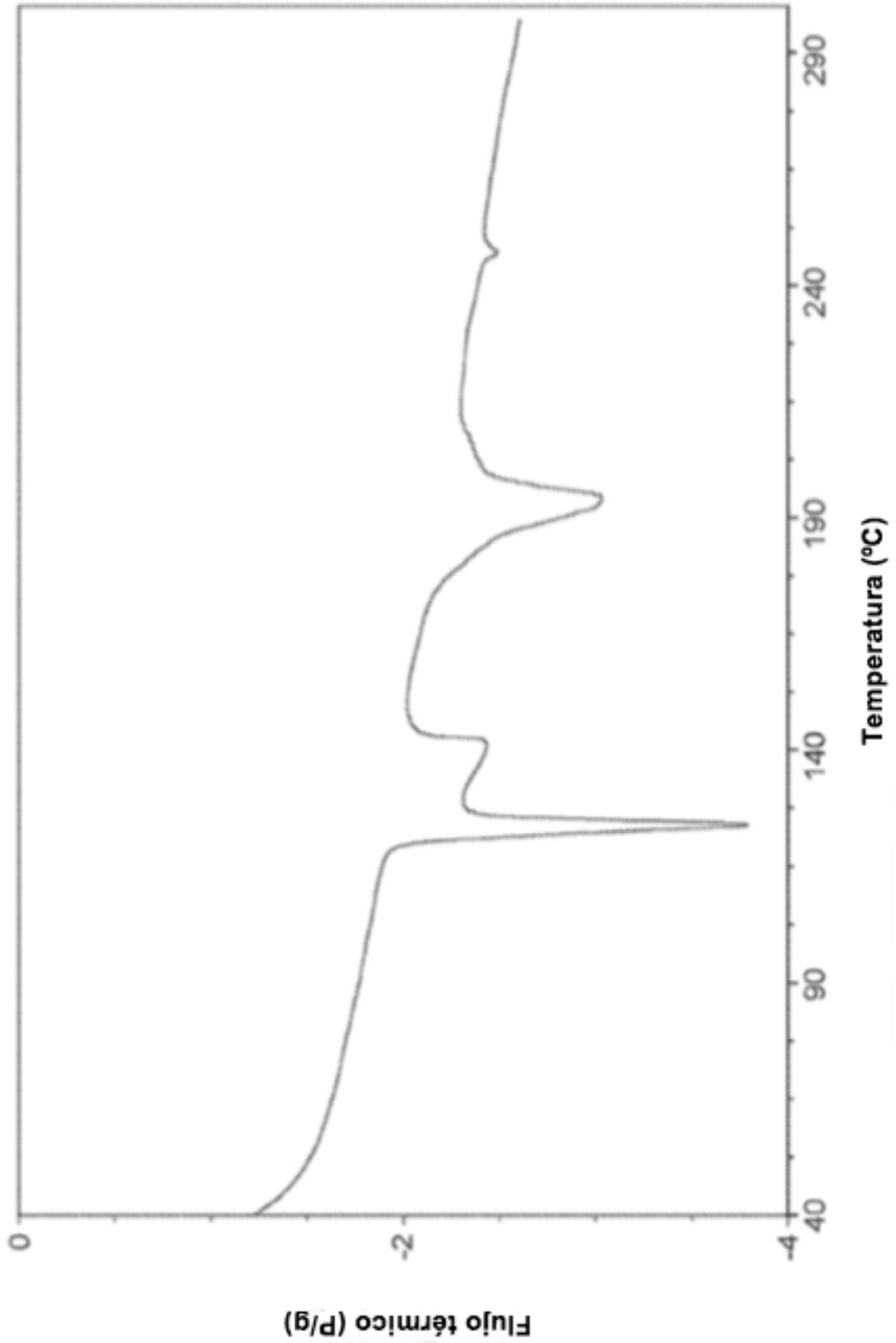
Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltriacetato (triacetin)



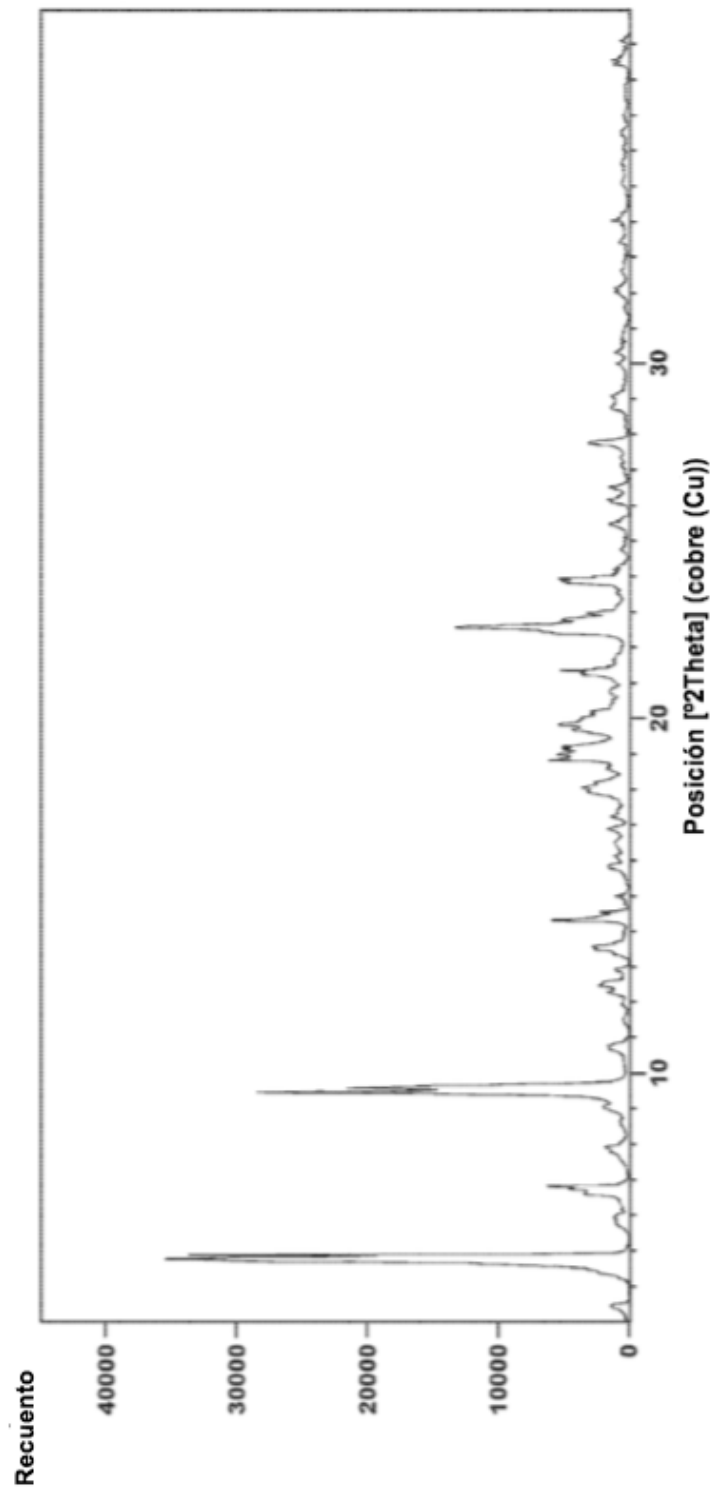
**Figura 19**  
**Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: triacetin**



**Figura 20**  
**Termograma DSC de Compuesto 1: triacetin**

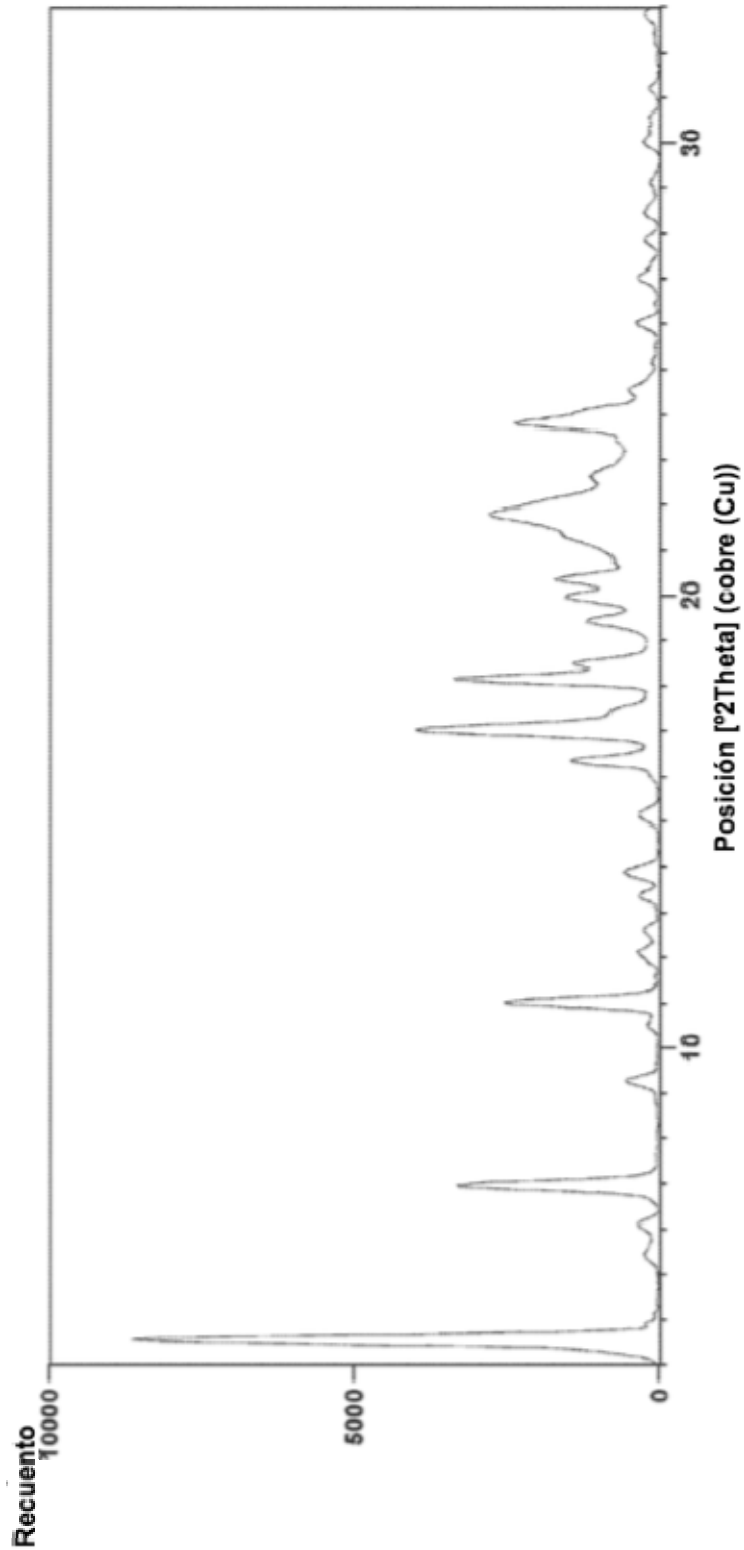


**Figura 21**  
**Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltributirato**



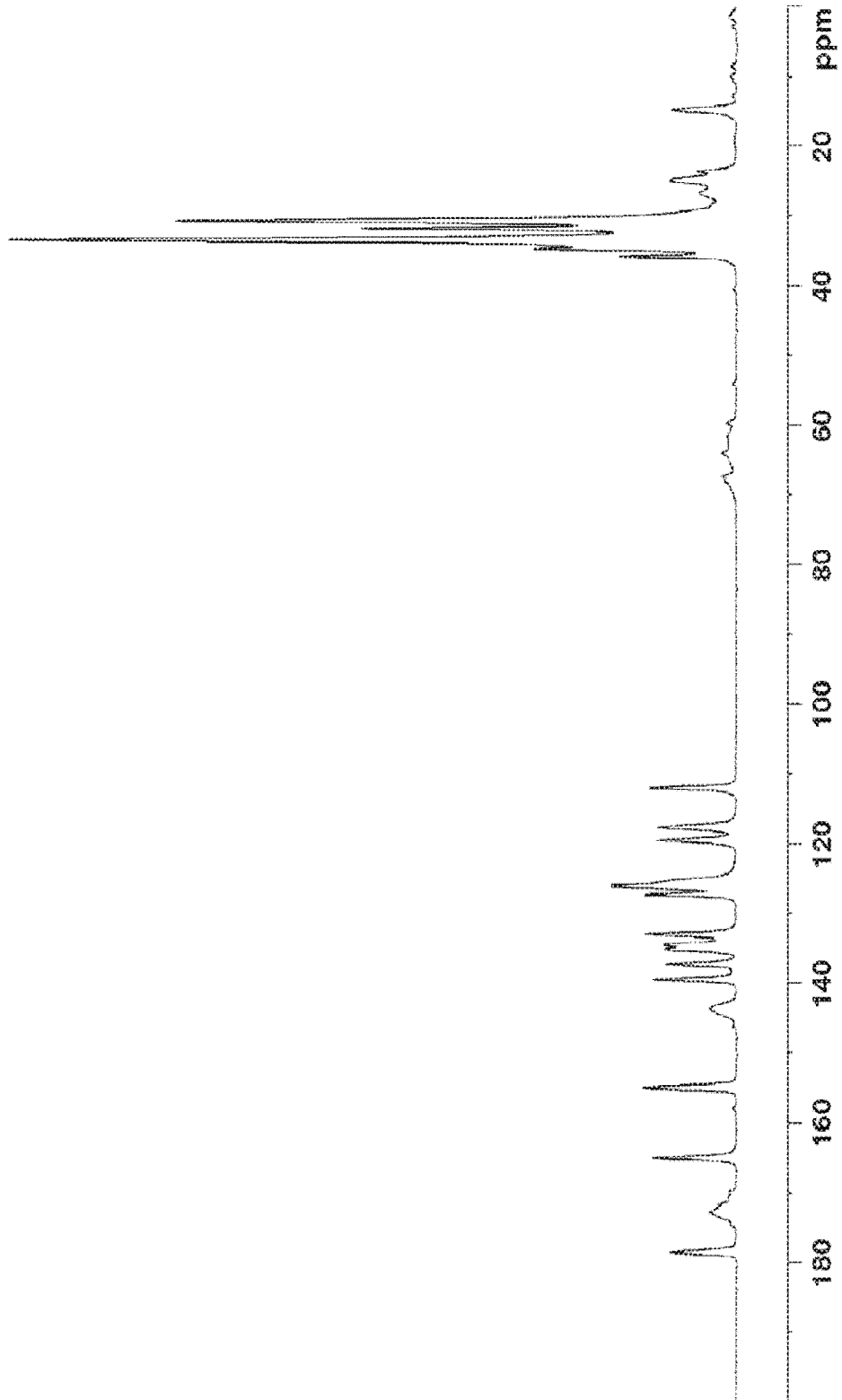
**Figura 22**

**Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltristearato**

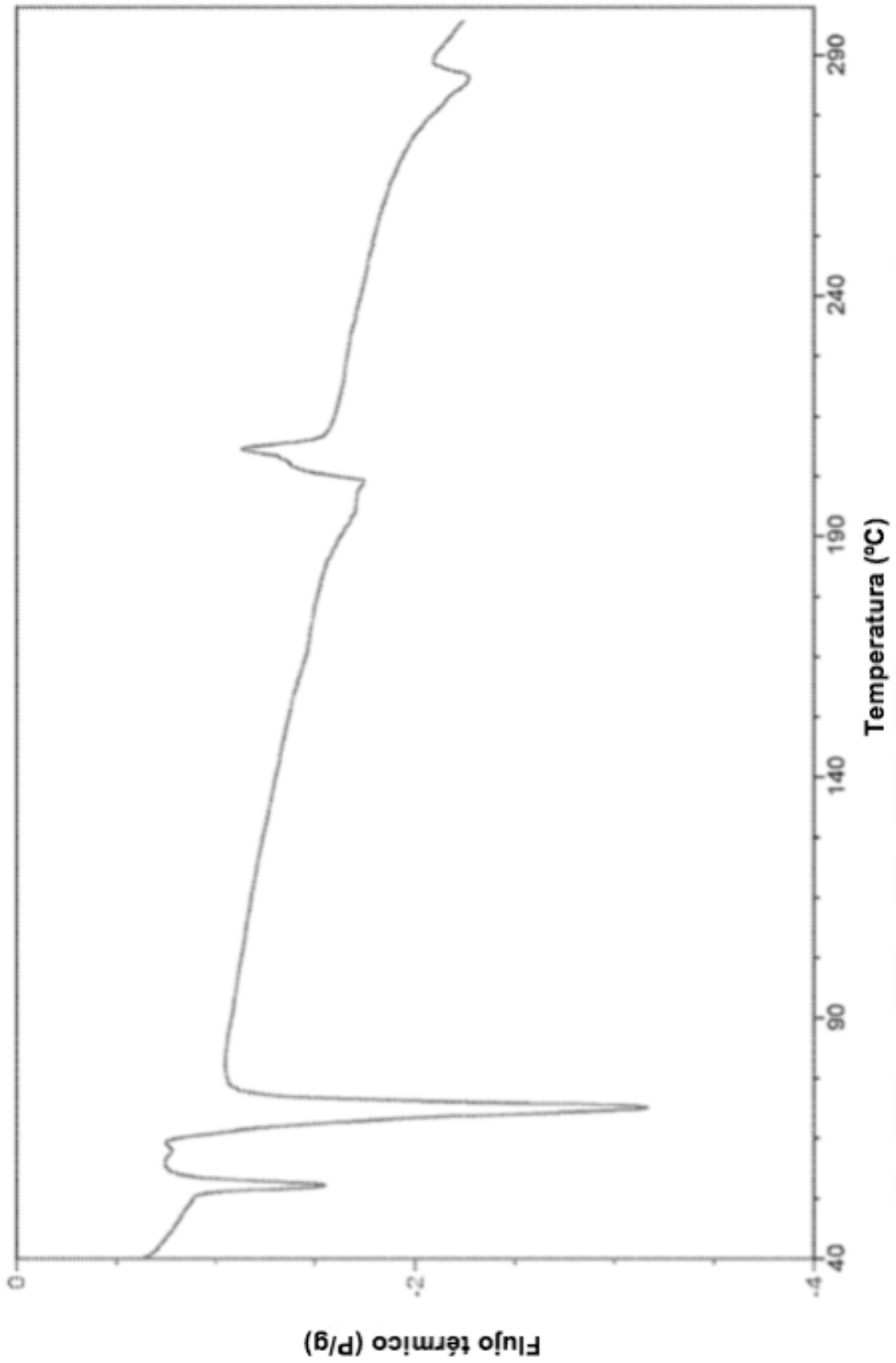


**Figura 23**

**Espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: gliceriltristearato**



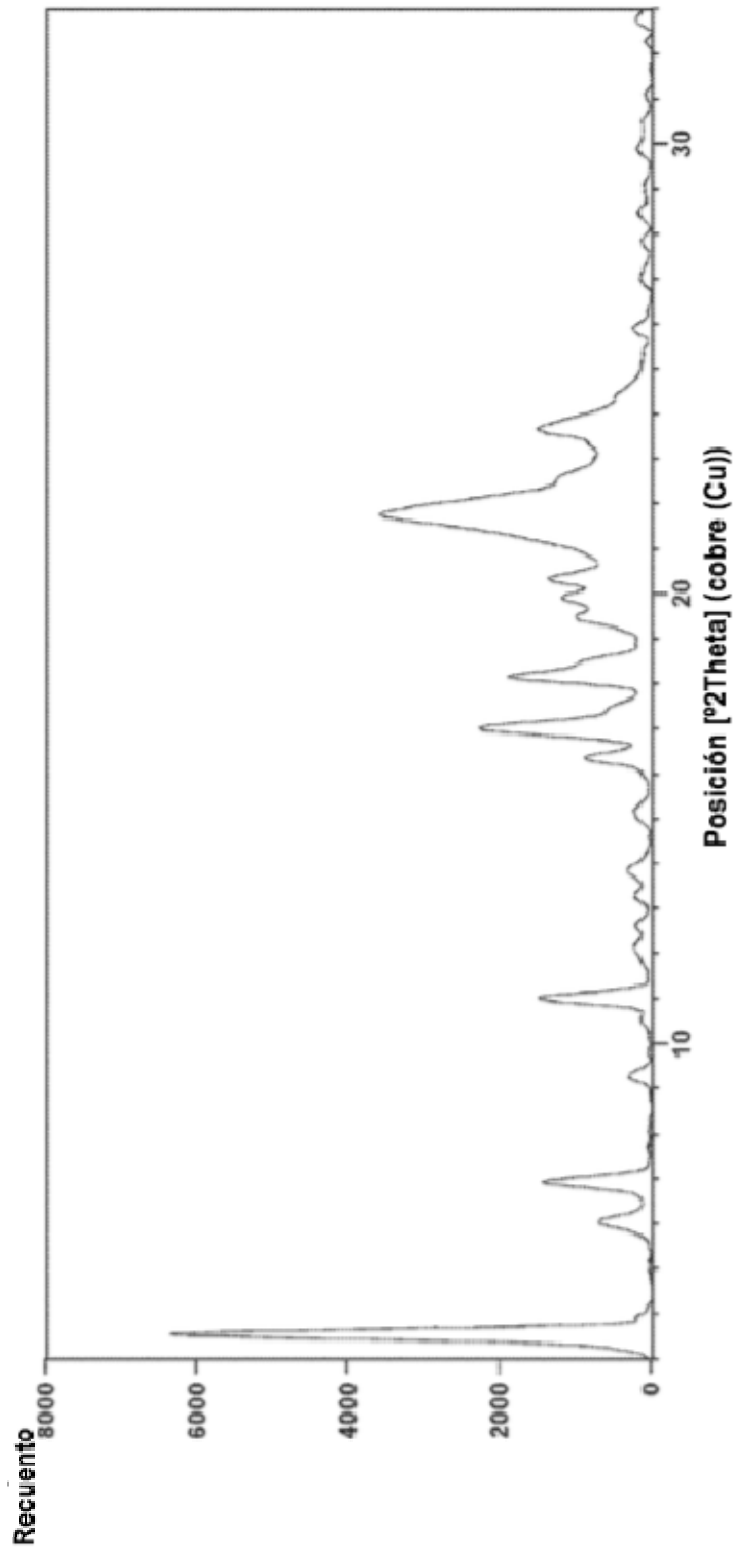
**Figura 24**  
**Termograma DSC de cocrystalos de Compuesto 1 con**  
**gliceriltristearato**





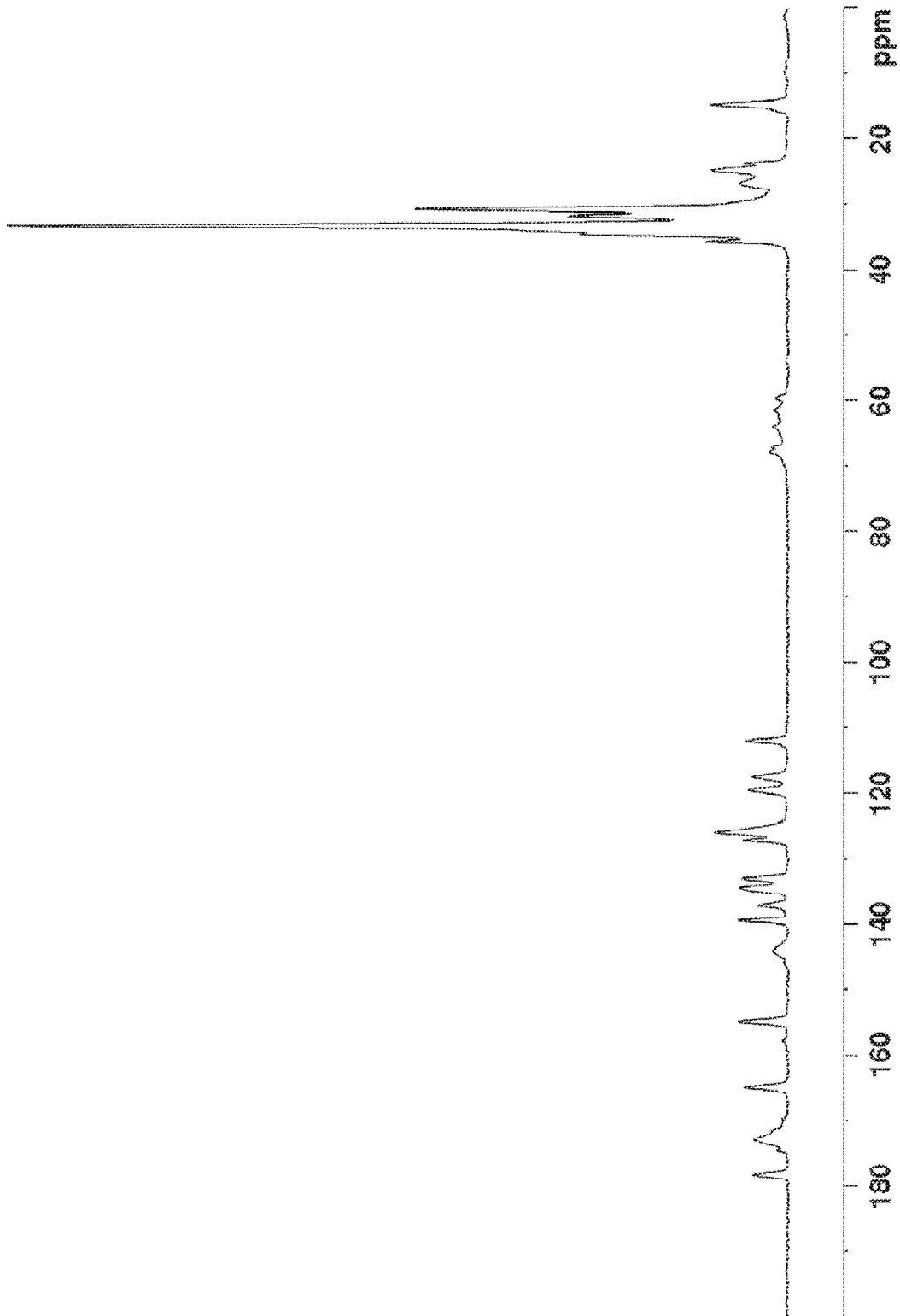
**Figura 25**

**Métodos de difracción XRPD de cocrisales de Compuesto 1 con gliceriltripalmitato**



**Figura 26**

**Espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: gliceriltripalmitato**



**Figura 27**

**Termograma DSC de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltripalmitato**

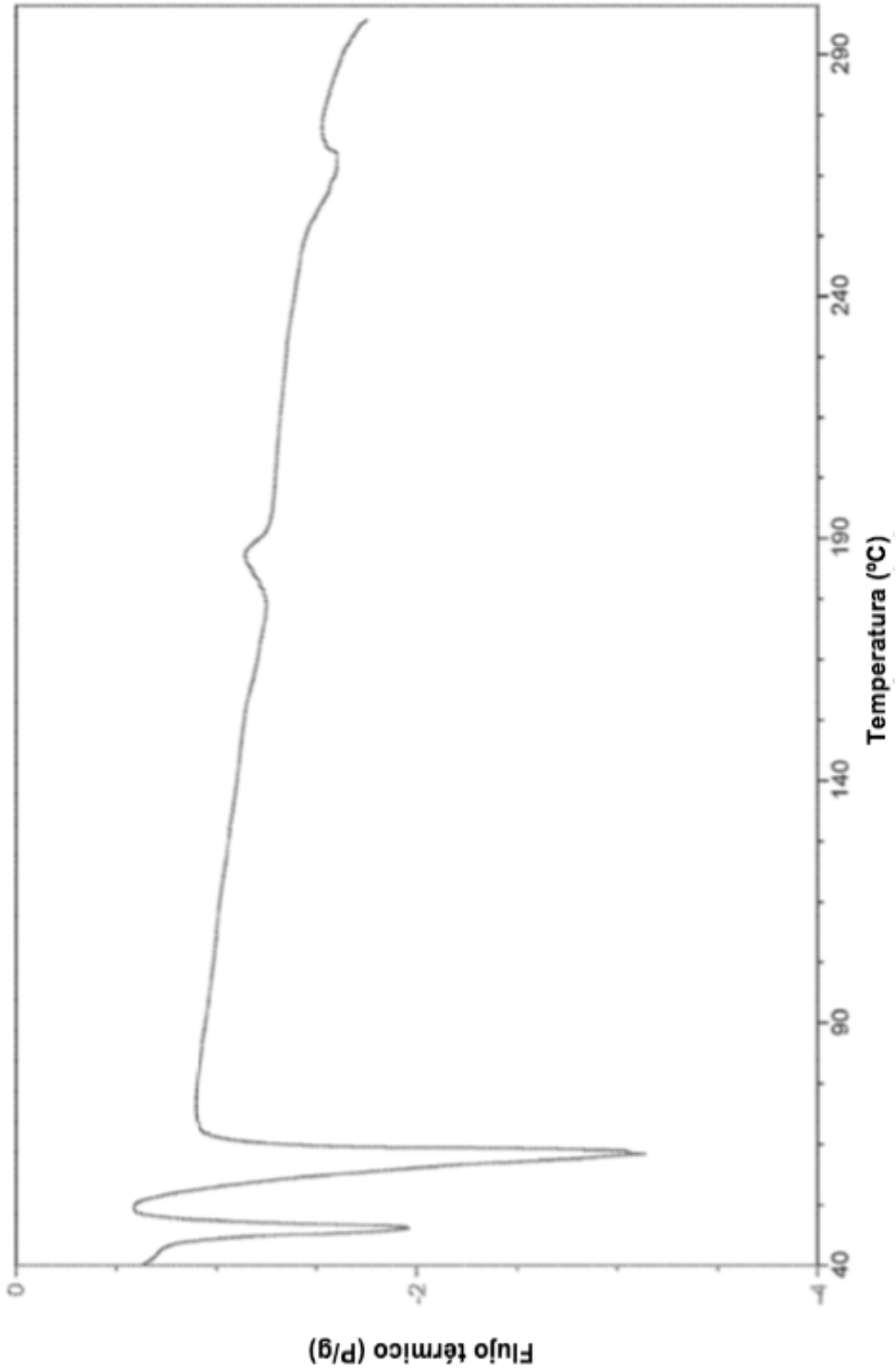
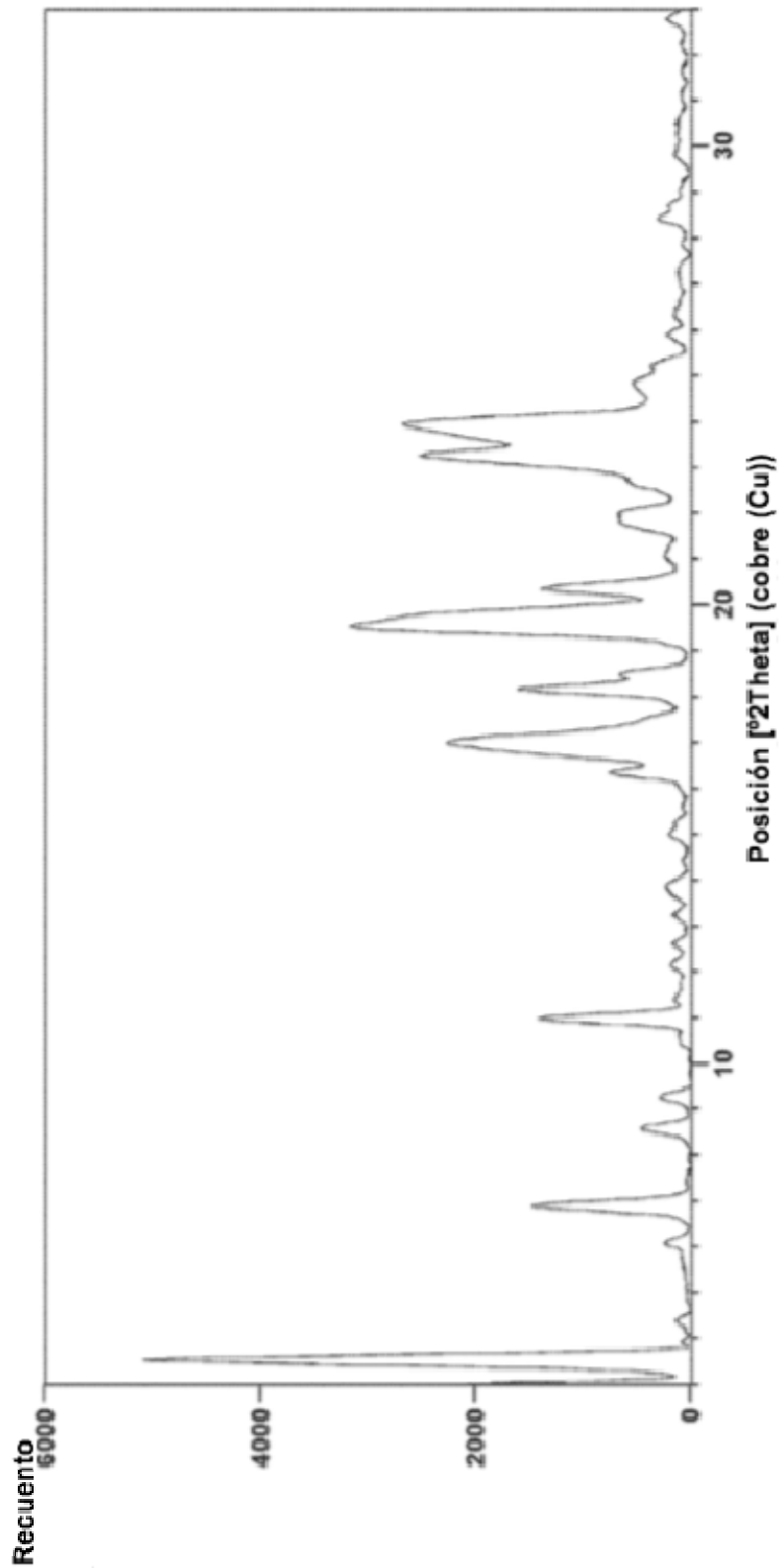


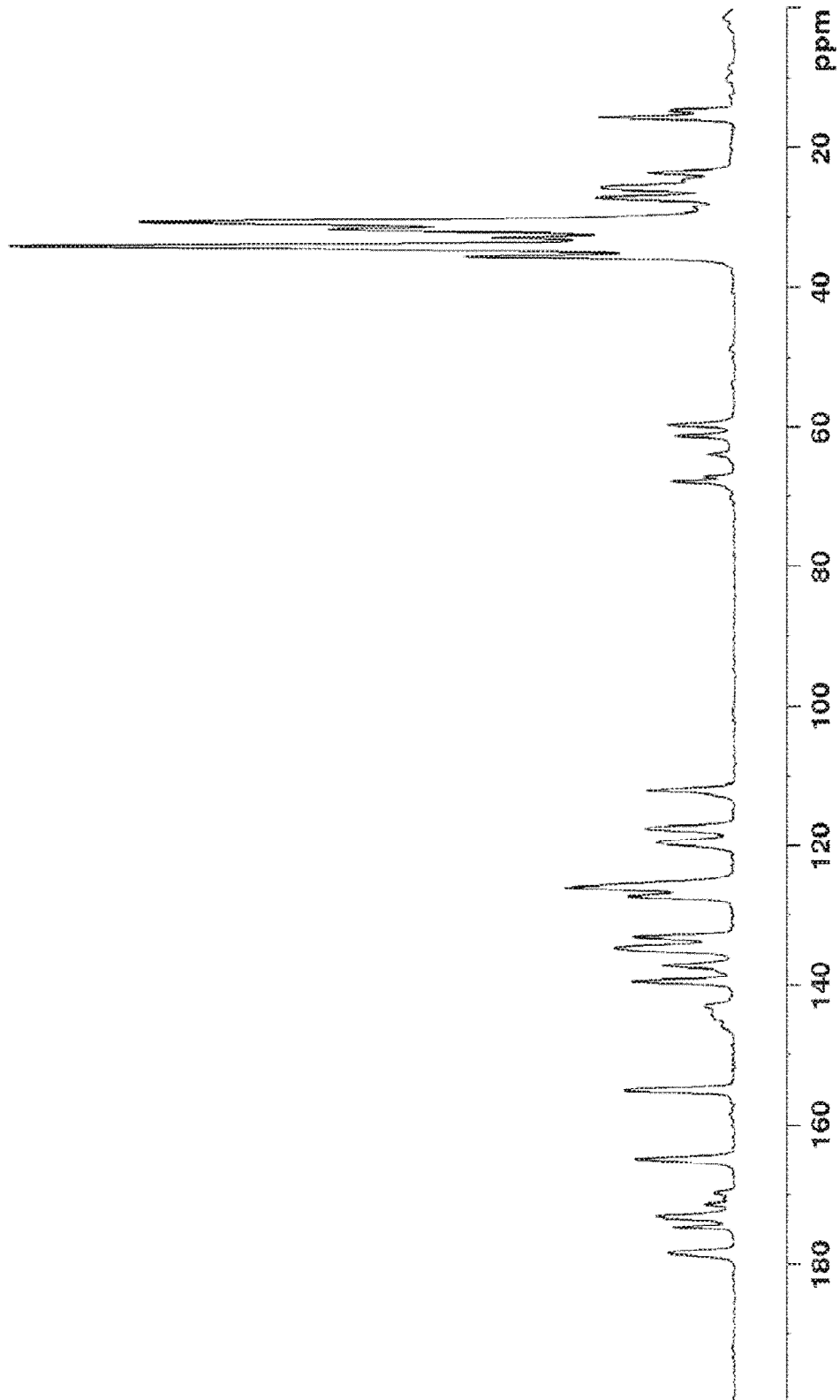
Figura 28

Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltridodecanoato



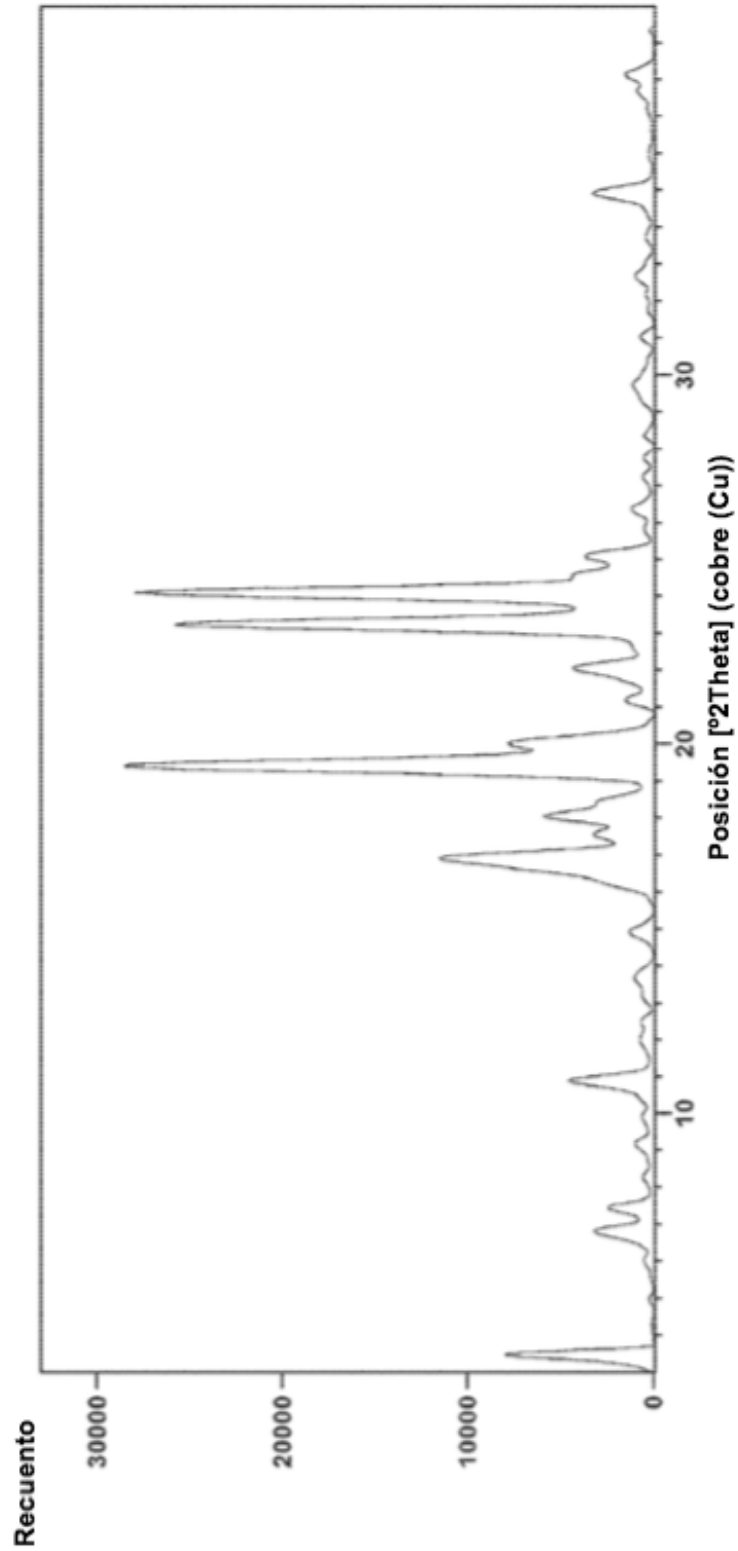
**Figura 29**

**Espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: gliceriltridodecanoato**



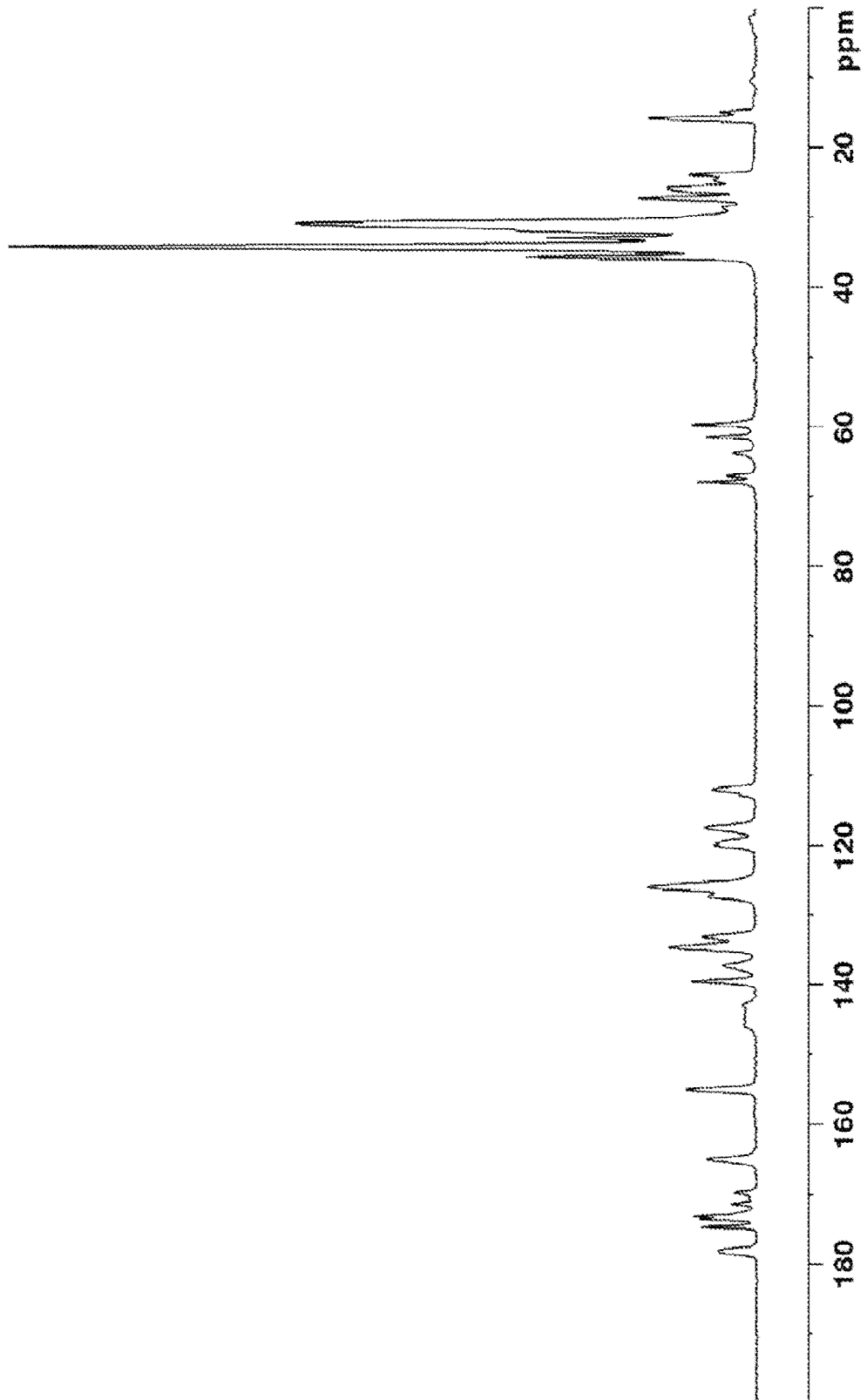
**Figura 30**

**Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltrimiristato**



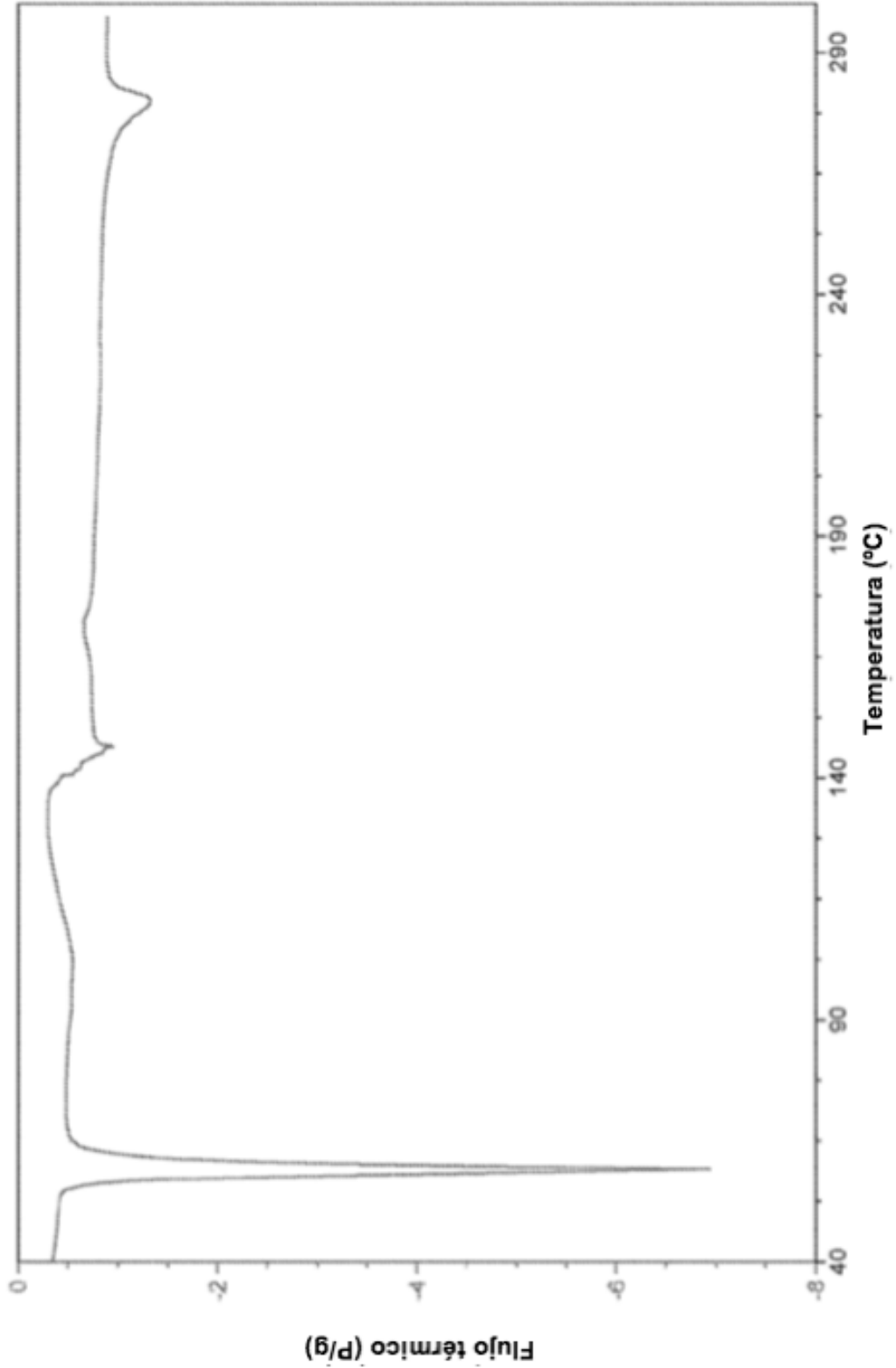
**Figura 31**

**Espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: gliceriltrimiristato**



**Figura 32**

**Termograma DSC de cocrisales de Compuesto 1 con gliceriltrimiristato**





**Figura 33**

**Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltrihexanoato**

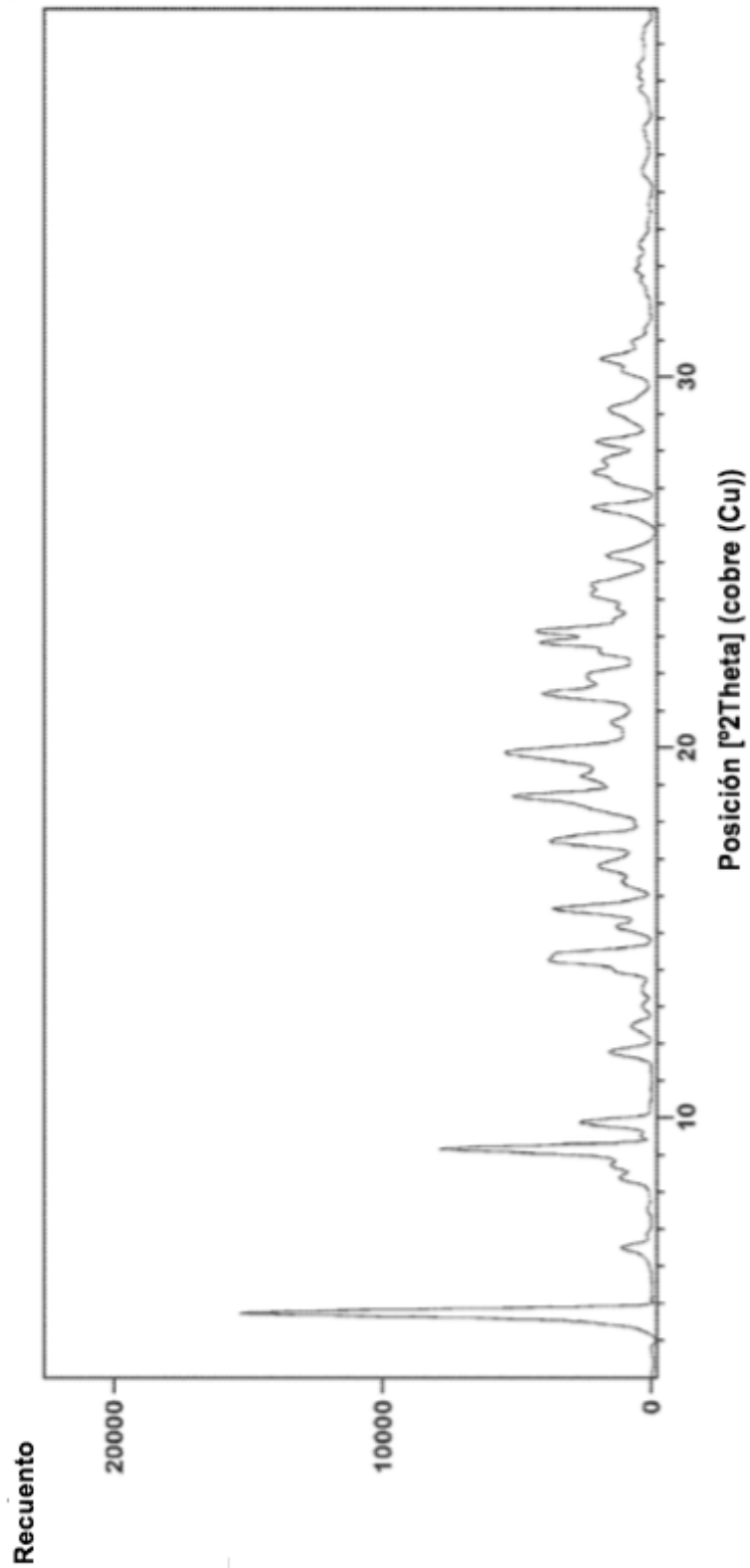
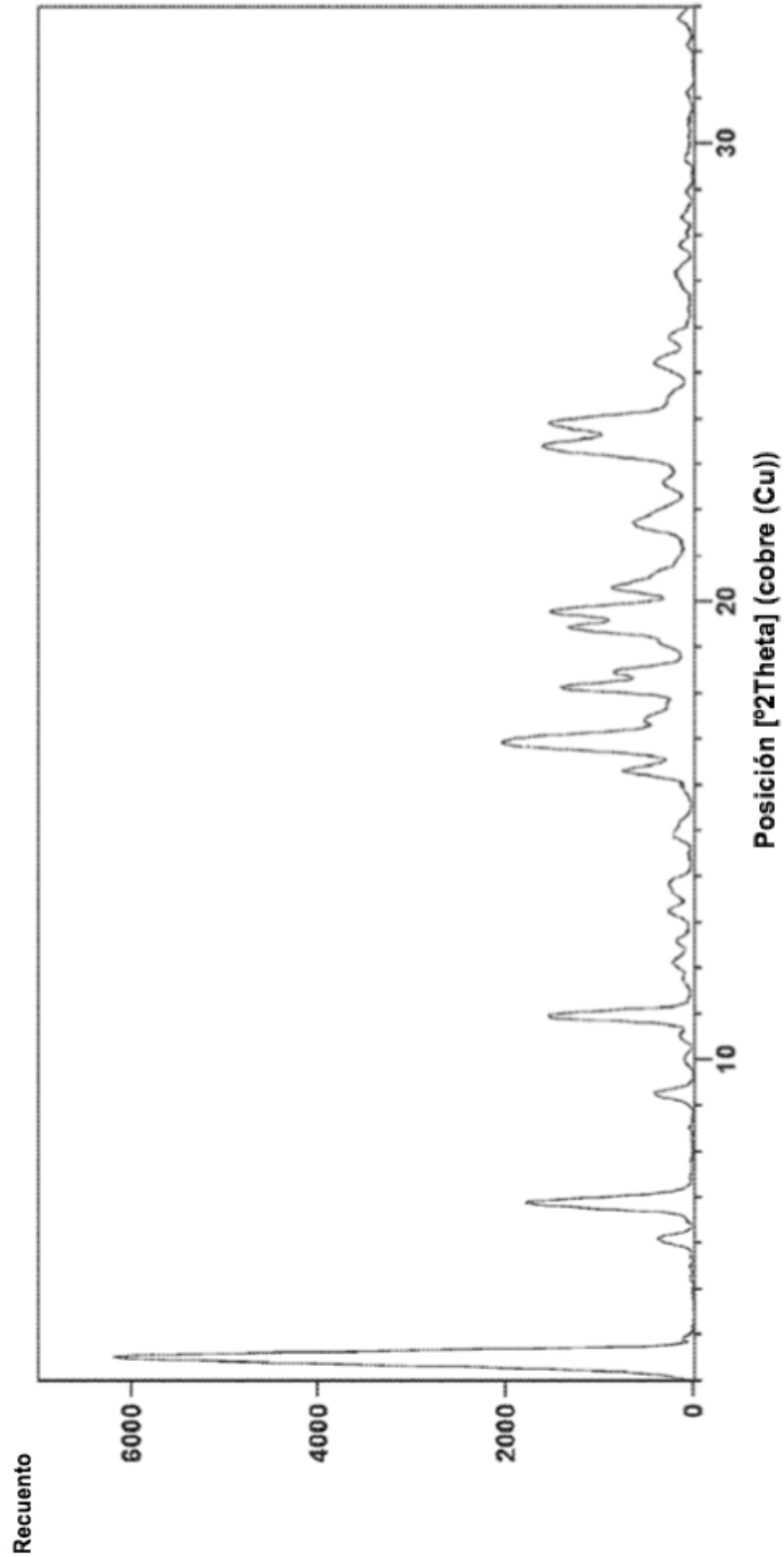


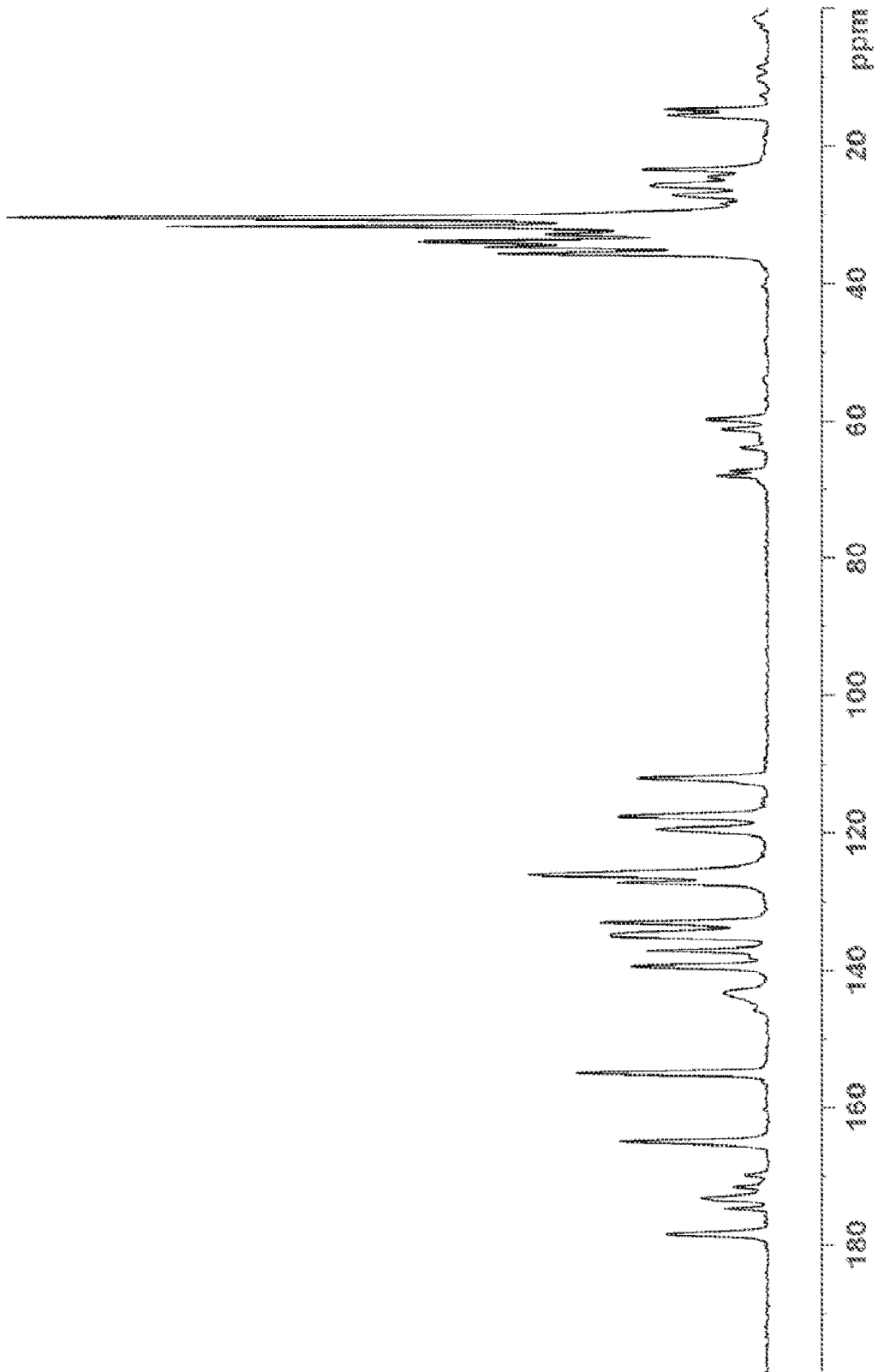
Figura 34

Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con gliceriltridecanoato

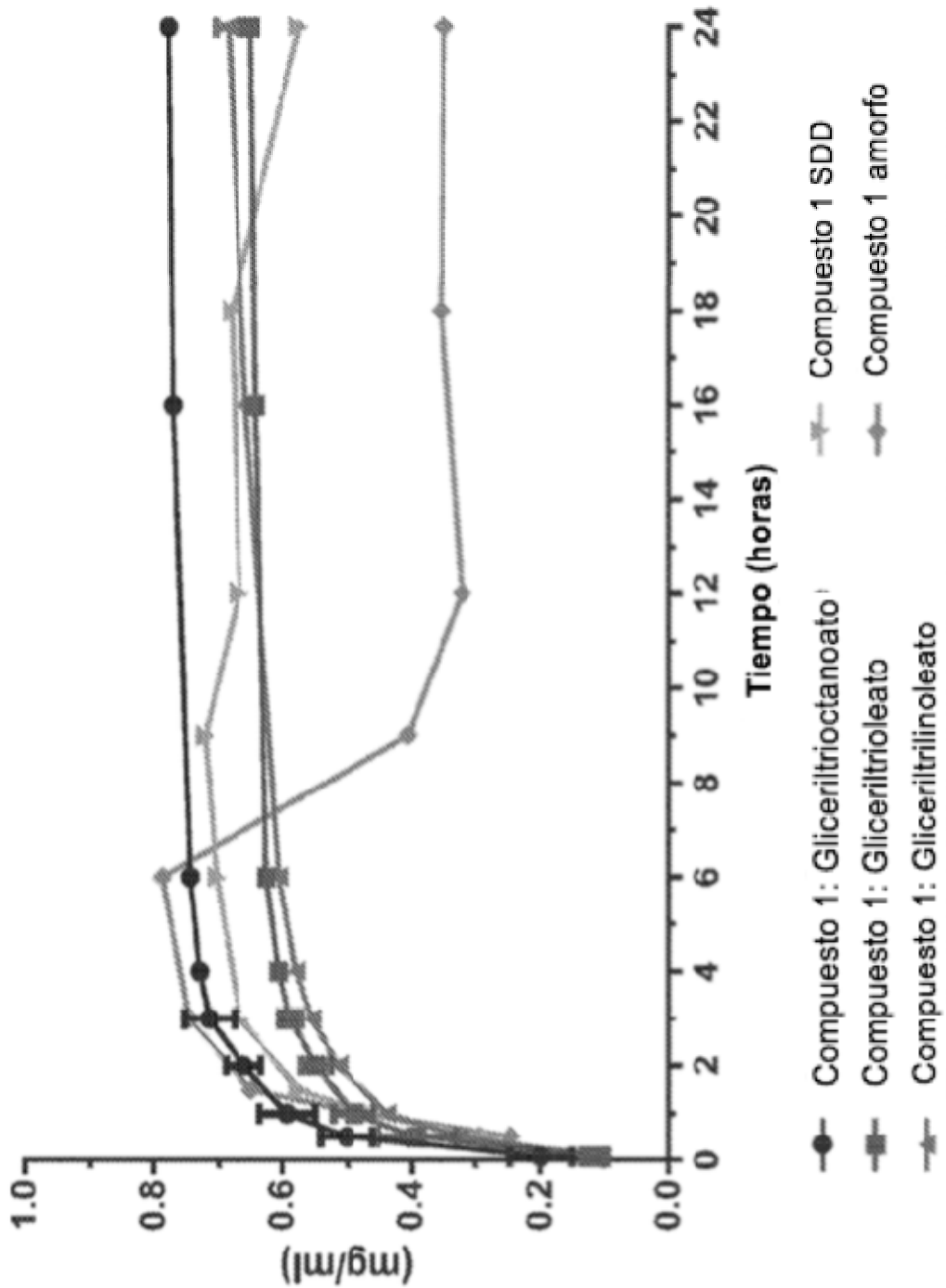


**Figura 35**

**Espectro  $^{13}\text{C}$  RMNss de Compuesto 1: gliceriltridecanoato**



**Figura 36**  
**Comparación de perfiles de disolución**



**Figura 37**

**Métodos de difracción XRPD de cocrystalos de Compuesto 1 con triglicéridos diferentes**

