

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 683**

51 Int. Cl.:
C07C 279/18 (2006.01)
C07C 277/08 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 31/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06742574 .4**
96 Fecha de presentación: **12.04.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1874726**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.01.2008**

54 Título: **Compuestos orgánicos**

30 Prioridad:
14.04.2005 GB 0507577

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.10.2012

73 Titular/es:
**Novartis AG
Lichtstrasse 35
4056 Basel , CH y
IRM LLC**

72 Inventor/es:
**DANAHAY, Henry L.;
LEGRAND, Darren M.;
TULLY, David, C.;
HARRIS, Jennifer, Leslie;
HEUERDING, Silvia;
SINGH, Dilraj;
MAAS, Janet C.;
ROETTELE, Juergen;
REBER, Jean-Louis y
MONNIER, Stéphanie**

74 Agente/Representante:
Carvajal y Urquijo, Isabel

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).

ES 2 388 683 T3

DESCRIPCIÓN

Compuestos Orgánicos

Esta invención se relaciona con compuestos orgánicos, sales, formulación y procesos y su uso como productos farmacéuticos.

- 5 La Solicitud de Patente Estadounidense No. US 2002/142956 describe camostato (base libre) como un agente que estimula la liberación de secretina y describe un método de tratamiento de fibrosis quística que implica agentes que activan el eflujo de anión por medio de la activación de un receptor de secretina.

- 10 La invención proporciona, en un aspecto, el uso de un inhibidor de proteasa serina, mesilato de casmostato, para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de una proteasa que activa el canal (CAP). La enfermedad es en forma adecuada una enfermedad respiratoria, más adecuadamente fibrosis quística.

Ejemplos de proteasas serina adecuadas, cuyos inhibidores están implicados en los usos de la presente invención, incluyen tripsina, matriptasa, prostasina (PRSS8), plasmina, tPA, uPA, Xa, IXa, trombina, factor de tejido, factores de complemento, triptasa, HNE, calicreina (plasma y tejido), matriptasa y TRMPSS 3 y 4.

- 15 La invención proporciona N,N-dimetil-carbamoilmetil-p-(p-guanidinobenzoiloxi)-fenilacetato, que tiene el nombre genérico camostato, en el tratamiento o fibrosis quística. El mesilato de casmostato (Foipan™) es una forma particularmente preferida de camostato y es un inhibidor de proteasa serina similar a tripsina conocido que se utiliza para tratar síntomas agudos de pancreatitis crónica. Este compuesto se prepara utilizando el método descrito en el Ejemplo 13 de la especificación de patente Estadounidense US 4,021,472.

- 20 El inhibidor de proteasa serina es preferiblemente un inhibidor de proteasa serina similar a tripsina sintético, especialmente un inhibidor prostasina tal como camostato, o una sal adecuada del mismo.

El tratamiento de enfermedades mediadas por la inhibición de una proteasa que activa el canal de acuerdo con la invención puede ser profiláctico o sintomático.

- 25 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se puede utilizar mesilato de casmostato y formulaciones del mismo en el tratamiento de enfermedades mediadas por la inhibición de una proteasa que activa el canal, especialmente mediante una proteasa serina similar a tripsina, tal como prostasina. Tales enfermedades incluyen enfermedades asociadas con la regulación de volúmenes de fluido a través de las membranas epiteliales. Por ejemplo, el volumen del líquido de la superficie de las vías respiratorias es un regulador clave de depuración mucociliar y el mantenimiento de la salud del pulmón. La inhibición de una proteasa que activa el canal promoverá la acumulación de fluidos en el lado mucoso del epitelio de las vías respiratorias promoviendo por lo tanto depuración del moco y evitando la acumulación de moco y esputo en los tejidos respiratorios (que incluye vías respiratorias del pulmón). Dichas enfermedades incluyen enfermedades respiratorias tales como fibrosis quística.
- 30

- 35 La conveniencia de un inhibidor de proteasa que activa el canal, tal como un inhibidor prostasina, para el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de una proteasa que activa el canal, se puede probar al determinar el efecto inhibitorio del inhibidor de proteasa que activa el canal en: (1) la proteasa que activa el canal natural, aislada, purificada o recombinante utilizando un formato de ensayo bioquímico adecuado utilizando el método descrito en Shipway et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004; 324(2): 953-63, y/o (2) la función de transporte de ión /canal de ión en células aisladas adecuadas o epitelio confluyente utilizando los métodos descritos en Bridges et al., *American Journal of Physiology Lung Cell Molecular Physiology* 2001; 281(1): L16-23 y Donaldson et al., *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277(10): 8338-45).
- 40

- 45 Los inhibidores de proteasa que activan en canal, especialmente mesilato de casmostato también son útiles como agentes coterapéuticos para uso en combinación con otras sustancias de fármaco tales como sustancias de fármaco anti-inflamatorias, broncodilatadoras, antihistamínicas o antitusígenas, particularmente en el tratamiento de fibrosis quística o enfermedades de las vías respiratorias obstructivas o inflamatorias tales como aquellas mencionadas aquí anteriormente, por ejemplo como potenciadores de la actividad terapéutica de tales fármacos o como un medio para reducir la dosificación requerida o los efectos colaterales potenciales de tales fármacos.

Se puede mezclar mesilato de casmostato para uso en la presente invención con otra sustancia de fármaco en una composición farmacéutica fija o se puede administrar en forma separada, antes, simultáneamente con o después de la otra sustancia de fármaco.

De acuerdo con lo anterior la invención incluye una combinación de mesilato de casmostato con una sustancia de fármaco anti-inflamatoria, broncodilatadora, antihistamínica, antitusígena, antibiótica o DNasa, dicho inhibidor de proteasa que activa el canal y dicha sustancia de fármaco en la misma o composición farmacéutica diferente.

5 Los fármacos anti-inflamatorios adecuados incluyen esteroides, en particular glucocorticosteroides tales como budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, furoato de ciclesonida o mometasona, o los esteroides descritos en las solicitudes de patente internacionales WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (especialmente aquellas de los Ejemplos 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 y 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 y WO 04/66920; agonistas del receptor glucocorticoide no esteroide, tales como aquellos descritos en los documentos DE 10261874, 10 WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 y WO 04/26248; antagonistas LTD4 tal como montelukast y zafirlukast; inhibidores PDE4 tales como cilomilast (Ariflo® GlaxoSmithKline), Roflumilast (Byk Gulden), V- 11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), Arofilina (Almirall Prodesfarma), PD189659 / PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SelCID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 15 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo), y aquellos descritos en los documentos WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 y WO 04/037805; y antagonistas del receptor de adenosina A2B tales como aquellos descritos en el documento WO 02/42298.

Los fármacos broncodilatadores adecuados incluyen agonistas del adrenoceptor beta-2 tales como albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, fenoterol salmeterol, procaterol, y especialmente, formoterol, carmoterol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y compuestos (en forma libre o sal o solvato) de la fórmula I del documento WO 00/75114, cuyo documento se incorpora aquí como referencia, preferiblemente compuestos de los 25 Ejemplos de los mismos, especialmente un compuesto (5-[(R)-2-(5,6-Dietil-indan-2-ilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona) y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, así como también compuestos (en forma libre o sal o solvato) de la fórmula I del documento WO 04/16601, y también compuestos de los documentos EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, US 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/ 70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, 30 WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618 WO 04/46083 y WO 04/80964.

Los fármacos broncodilatadores adecuados también incluyen agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, sales de tiotropio y CHF 4226 (Chiesi), y glicopirrolato, pero también aquellos descritos en los documentos EP 424021, US 3714357, US 5171744, WO 01/04118, WO 02/00652, 35 WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 y WO 04/05285.

Los fármacos broncodilatadores y anti-inflamatorios duales adecuados incluyen agonistas del adrenorreceptor beta-2 duales/antagonistas muscarínicos tales como aquellos descritos en los documentos US 2004/0167167, WO 04/74246 y WO 04/74812.

40 Las sustancias de fármaco antihistamínico adecuadas incluyen clorhidrato de cetirizina, acetaminofén, fumarate de clemastina, prometazina, loratidina, desloratidina, difenhidramina y clorhidrato de fexofenadina, activastina, astemizol, azelastina, ebastina, epinastina, mizolastina y tefenadina así como también aquellas descritas en los documentos JP 2004107299, WO 03/099807 y WO 04/026841.

Los antibióticos adecuados incluyen antibióticos macrolida, por ejemplo tobramicina (TOBI™).

45 Las sustancias de fármaco DNasa adecuadas incluyen alfa dornasa (Pulmozyme™), una solución altamente purificada de desoxirribonucleasa I humana recombinante (rhDNasa), que divide selectivamente el ADN. Se utiliza alfa dornasa para tratar fibrosis quística.

Las combinaciones adecuadas adicionales con fármacos anti-inflamatorios son aquellos con antagonistas de los 50 receptores quimioquina por ejemplo CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 y CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, particularmente antagonistas CCR-5 tales como antagonistas de Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 y SCH-D, antagonistas de Takeda tales como cloruro de N-[[4-[[[6,7-dihidro-2-(4-metil-fenil)-5H-benzo-ciclohepten-8-il]carbonil]amino] fenil]-metil]tetrahydro-N,N-dimetil-2H-piran-4-aminio (TAK-770), y antagonistas CCR-5 descritos en el documento US 6166037 (particularmente las reivindicaciones 18

y 19), WO 00/66558 (particularmente la reivindicación 8), WO 00/66559 (particularmente la reivindicación 9), WO 04/018425 y WO 04/026873.

También se puede combinar mesilato de casmostato con osmolitos inhalados, tales como solución salina hipertónica, manitol o dextrano.

- 5 También se puede combinar mesilato de casmostato con antagonistas o agonistas P2Y2, activadores CLC2, inhibidores ENaC o inhibidores PDE-5.

El mesilato de casmostato también se puede combinar con un NSAID, tal como ibuprofeno.

- 10 Se puede administrar mesilato de casmostato mediante cualquier ruta apropiada, por ejemplo oralmente, por ejemplo en forma de comprimido, cápsula o líquido, parenteralmente, por ejemplo en la forma de una solución o suspensión inyectable, o intranasalmente por ejemplo en la forma de un aerosol u otra formulación atomizable utilizando un dispositivo de suministro intranasal apropiado, por ejemplo un rociado nasal tal como aquellos conocidos en la técnica, o mediante inhalación, que se prefiere, especialmente para uso con un nebulizador.

- 15 Se puede administrar mesilato de casmostato en una composición farmacéutica junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden ser, por ejemplo polvos secos, comprimidos, cápsulas y líquidos, pero también soluciones de inyección, soluciones de infusión o polvos para inhalación, soluciones o suspensiones basadas en propulsores y acuosos, que se pueden preparar utilizando otros ingredientes de formulación y técnicas conocidas en el arte.

- 20 La dosificación del mesilato de casmostato puede depender de diversos factores, tales como la actividad y la duración de la acción de ingrediente activo, la severidad de la afección que se va a tratar, el modo de administración, la especie, sexo, origen étnico, edad y peso del sujeto y/o su condición individual. En un caso normal la dosis diaria para administración, por ejemplo administración oral, a un animal de sangre caliente, particularmente un humano, que pesa aproximadamente 75 kg se estima que es de aproximadamente 0.7 mg a aproximadamente 1400 mg, especialmente de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg. Esta dosis se puede administrar, por ejemplo, en una dosis única o en diversas partes de dosis de, por ejemplo, de 5 a 200 mg.

- 25 Cuando la composición comprende una formulación de aerosol, contiene preferiblemente, por ejemplo, un propulsor hidro-fluoroalcano (HFA) tal como HFA134a o HFA227 o una mezcla de estos, y puede contener uno o más co-solventes conocidos en la técnica tal como etanol (hasta 20 % en peso), y/o uno o más tensoactivos tales como ácido oleico o trioleato de sorbitán, y/o uno o más agentes formadores de volumen tal como lactosa. Cuando la composición comprende una formulación en polvo seca, esta contiene preferiblemente, por ejemplo, el inhibidor de proteasa que activa el canal que tiene un diámetro de partícula de hasta 10 micras, opcionalmente junto con un diluyente o portador, tal como lactosa, de la distribución de tamaño de partícula deseado y un compuesto que ayuda a proteger contra el deterioro del desempeño del producto debido a la humedad por ejemplo estearato de magnesio. Cuando la composición comprende una formulación nebulizada, esta contiene preferiblemente, por ejemplo, el inhibidor de proteasa que activa el canal ya sea disuelto, o suspendido, en un vehículo que contiene agua, un co-solvente tal como etanol o propilenglicol y un estabilizante, que puede ser un tensoactivo.

- 40 La invención incluye (A) mesilato de casmostato en forma inhalable, por ejemplo en una composición de aerosol u otra composición atomizable o en partículas inhalable, por ejemplo forma micronizada, (B) un medicamento inhalable que comprende mesilato de casmostato en forma inhalable; (C) un producto farmacéutico que comprende mesilato de casmostato en forma inhalable en asociación con un dispositivo de inhalación; y (D) un dispositivo de inhalación que contiene mesilato de casmostato en forma inhalable.

- 45 En otra realización, la ruta de inhalación de administración está en una forma de polvo. El ingrediente activo se puede utilizar como un polvo con un tamaño de partícula de 0.5 a 10 micrómetros, preferiblemente 0.5-5 micrómetros que se puede producir mediante una variedad de técnicas convencionales, tal como molido de chorro, secado por rociado, precipitación de solvente, y similares. Un método de formulación ampliamente utilizado es mezclar las partículas de fármaco activo finas con un polvo voluminoso grueso con un tamaño de partícula de 10 a 500 µm. El polvo voluminoso se selecciona de sacáridos, preferiblemente lactosa, sacarosa, glucosa, galactosa, fructosa, trehalosa y raffinosa, más preferiblemente lactosa. Preferiblemente el tamaño de partícula del polvo sólido finamente dividido debe tener por razones fisiológicas menos de 25 micras y preferiblemente menos de aproximadamente 10 micras de diámetro. El tamaño de partícula del polvo para terapia de inhalación debe estar más preferiblemente en el rango de 2 a 10 micras.

- 50

Otras realizaciones de la presente invención incluyen formulaciones de aerosol que comprenden el ingrediente activo suspendido o disuelto en un propulsor de aerosol adecuado, tal como un clorofluorocarbono (CFC) o un hidrofluorocarbono (HFC). Los propulsores CFC adecuados incluyen tricloromonofluorometano (propulsor 11), diclorotetrafluorometano (propulsor 114), y diclorodifluorometano (propulsor 12). Los propulsores HFC adecuados incluyen tetrafluoroetano (HFC- 134a) y heptafluoropropano (HFC-227). El propulsor comprende 40 a 90 % en peso de la composición de inhalación total. Un propulsor todavía adecuado adicional es etanol.

Preferiblemente, para incorporación en el propulsor de aerosol, el ingrediente activo, por ejemplo camostato o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se procesará en partículas respirables como se describe para las formulaciones de polvo seco. Las partículas luego se suspenden en el propulsor, típicamente se recubren con un tensoactivo para mejorar sus propiedades de dispersión. Dichos tensoactivos incluyen tiroleato de sorbitan, alcohol oleilo, ácido oleico, lecitina o aceites derivados de fuentes naturales, tales como, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de semilla de algodón y aceite de semilla de girasol son útiles en mantener las partículas suspendidas en forma aglomerada.

Como un aspecto adicional de la invención, el mesilato de casmostato para uso en la presente invención se puede preparar como una formulación adecuada para nebulización. Dichas formulaciones contienen excipientes fisiológicamente compatibles con el epitelio bronquial, que consiste usualmente de co-solventes, conservantes, agentes quelantes, reguladores de pH y tonicidad y tensoactivos. Dichos excipientes incluyen pero no se limitan a, propilenglicol, etanol, glicerina, cloruro de benzalconio, edentato de sodio, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, cloruro de sodio, ácido oleico, y lecitina. La formulación nebulizada se puede preparar mediante técnicas de fabricación estándar.

Como un aspecto adicional de la invención, el mesilato de casmostato para uso en la presente invención, se puede preparar en una forma liofilizada para reconstitución posterior en un vehículo fisiológicamente aceptable para inhalación inmediatamente antes de administración. La formulación liofilizada puede incluir los siguientes excipientes adicionales opcionales, lactosa, manitol y glucosa. El producto liofilizado se puede preparar mediante un proceso aséptico que implica primero disolver el ingrediente activo y los excipientes en un vehículo acuoso. La solución resultante luego se carga en frascos de vidrio y posteriormente se seca por congelamiento. El camostato liofilizado incluye de manera adecuada lactosa, adecuadamente en una relación de camostato o una forma de sal: lactosa de 1:1 a 1:10.

Como un aspecto adicional de la invención, una formulación para uso en la presente invención, preferiblemente una formulación nebulizada de mesilato de casmostato, puede enmascarar el sabor mediante diversos métodos que incluyen la adición de excipientes adicionales adecuados en la formulación de solución o como un ingrediente en la forma liofilizada o vehículo para reconstitución. Los excipientes adecuados para enmascarar el sabor de acuerdo con la invención incluyen pero no se limitan a, sacarina de sodio, aspartame, mentol y polialcoholes tales como sorbitol y xilitol. La formulación que enmascara el sabor se puede preparar mediante técnicas estándar y conocidas, por ejemplo de acuerdo con los métodos descritos en el documento WO 2005/037246 y Manfred Keller, Antonio Manuel Fernandes Raposo et al. "Taste masking of a pentoxifylline formulation for pulmonary application (solicitud de patente). La formulación que enmascara el sabor de camostato comprende de manera adecuada sacharina de sodio, de manera adecuada en un camostato o forma de sal: relación de sacarina de sodio de 100:1 a 1:5.

Ejemplos Biológicos

El inhibidor de proteasa que activa el canal, mesilato de casmostato, inhibe prostasina (humano y conejillo de indias) y matriptasa (humano), atenúa la corriente de cortocircuito mediada por ENaC sensible a amilorida en células epiteliales bronquiales humanas cultivadas, y atenúa la diferencia potencial la tráquea en el conejillo de indias.

Ensayos bioquímicos: Se generan prostasina y matriptasa humana recombinante y prostasina de conejillo de indias de acuerdo con los métodos descritos en Shipway et al., Biochemical and Biophysical Research Communications 2004; 324 (2): 953-63). Las enzimas recombinantes se incuban en un regulador de electrolito que contiene los compuestos de prueba o vehículo en una placa de ensayo de múltiples pozos adecuada tal como una placa de 96 o 384 pozos. En un momento definido después de mezcla de la enzima con el compuesto o vehículo, se agrega un sustrato de péptido fluorescente adecuado a la mezcla de ensayo. Cuando el sustrato se llega a dividir mediante la enzima activa, la fluorescencia (medida utilizando el lector de placa de fluorescencia adecuado) aumenta y se puede cuantificar el índice de recambio del sustrato (es decir la actividad de la enzima y) y así el efecto inhibidor de cualquier compuesto de prueba. La eficacia de los compuestos de prueba se expresa como la concentración que induce una atenuación del 50 % en la actividad de la enzima (K_i).

Transporte de ión epitelial: Se cultivan células epiteliales bronquiales humanas de acuerdo con los métodos descritos en Danahay et al., American Journal of Physiology Lung Cell Molecular Physiology 2002; 282(2): L226-36).

- 5 Cuando las células epiteliales se diferencian en forma adecuada (días 14-21 después de establecer una interfaz de aire apical) se tratan con ya sea vehículo, aprotinina (200 µg/ml) o el compuesto de prueba durante 90 minutos. Luego se ponen los epitelios en Cámaras de Ussing como se describe en Danahay et al., American Journal of Physiology Lung Cell Molecular Physiology 2002; 282(2): L226-36) manteniendo la concentración de vehículo, aprotinina o el compuesto de prueba en el lado apical del epitelio. La corriente de corto circuito (ISC) luego se mide el epitelio mediante pinzamiento de voltaje a cero milivoltios. El ISC sensible a amilorida luego se mide mediante la adición de amilorida (10 µM) en la superficie apical del epitelio. La potencia del compuesto de prueba se expresa como la concentración que induce una inhibición de 50 % del componente sensible a aprotinina total del ISC sensible a amilorida.
- 10 Diferencia potencial traqueal (in vivo): Se anestesian conejillos de indias utilizando una anestesia de inhalación de acción corta tal como halotano y N₂O. Mientras que bajo anestesia de acción corta se inserta una aguja de sonda nasogástrica oral en la tráquea por medio de la ruta orofaríngea. Una vez dentro de la tráquea, se instila un volumen pequeño (50-200 µl) de vehículo o compuesto de prueba, en un diluyente con base en acuoso adecuado, en las vías respiratorias. Los animales luego se recuperan y llegan a ser completamente ambulatorios. Alternativamente los
- 15 compuestos de prueba se pueden administrar a los animales utilizando dosificación de aerosol o polvo seco. En un momento definido después de dosificación, los animales se anestesian quirúrgicamente utilizando anestesia adecuada tal como cetamina y xilazina. La tráquea luego se expone y se inserta un electrodo de puente de agar plástico en el lumen traqueal. También se inserta un electrodo de referencia en las capas de músculo en el cuello del animal. La diferencia potencial traqueal luego se mide utilizando un voltímetro de alta impedancia adecuado como
- 20 se describe en Takahashi et al., Toxicol Appl Pharmacol. 1995; 131(1): 31-6. La potencia del compuesto de prueba se expresa como la dosis que induce una reducción de 50 % en el componente sensible de la diferencia potencial de la tráquea.

Los resultados se muestran en las tablas 1 y 2 adelante:

Tabla 1 Resumen de datos in vitro & in vivo con Mesilato de casmostato

rh-prostasina (Ki)	rh-matriptasa (Ki)	rGPig-prostasina (Ki)	HBEC (IC ₅₀)	PD traqueal GPig in vivo (ED ₅₀)
0.429 µM	0.005 µM	0.098 µM	0.05 µM	2 hr = 3.3 µg/kg (i.t.) 5 hr = 26 µg/kg (i.t.)

25

Tabla 2 Efectos de Mesilato de casmostato en diferencia potencial traqueal de conejillos de indias in vivo

	Dosis de mesilato de casmostato (µg/kg) mediante administración intra-traqueal							
	0	1	3	10	30	100	300	1000
2 hr	-10.3 ± 0.6	-10.0 ± 0.7	-7.3 ± 0.5	-6.4 ± 0.5	-5.3 ± 0.3	-4.7 ± 0.5		
5 hr	-9.9 ± 0.6	-10.8 ± 1.0	-9.7 ± 1.5	-7.5 ± 0.4	-6.5 ± 0.3	-5.2 ± 0.3	-5.7 ± 0.4	

Valores absolutos medios de la diferencia de potencial traqueal (± e.e. de la media) se muestran en 2 o 5 horas después de dosificación intra-traqueal con vehículo o mesilato de casmostato.

Ejemplos de Formulación Farmacéutica

- 30 Los siguientes no son ejemplos limitantes de las formulaciones de la presente invención adecuadas para nebulización. Para evitar la duda, 'camostato' como se utiliza adelante se refiere a mesilato de casmostato.

Ejemplo 1

Camostato 25 mg

Lactosa 125 mg

sacarina de sodio 25 mg

5 reconstitución con 5 ml de solución salina isotónica

Ejemplo 2

Camostato 2.5 mg

Lactosa 125 mg

sacarina de sodio 2.5 mg

10 reconstitución con 5 ml de solución salina isotónica

Ejemplo 3

Camostato 25 mg

Lactosa 125 mg

reconstitución con 5ml de solución salina isotónica + sacarina de sodio 25 mg

15 **Ejemplo 4**

Camostato 2.5 mg

Lactosa 125 mg

reconstitución con 5ml de solución salina isotónica + sacarina de sodio 2.5 mg

REIVINDICACIONES

1. Mesilato de casmostato, o un solvato del mismo, para el tratamiento de fibrosis quística.
2. Un proceso para formar una forma liofilizada de mesilato de casmostato de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende
- 5 (i) formar una solución acuosa que comprende mesilato de casmostato, en donde la solución acuosa incluye un excipiente seleccionado de lactosa, manitol y glucosa y
(ii) someter la solución acuosa a secado por congelamiento.
3. Un proceso para formar una formulación de nebulizador de mesilato de casmostato de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende el proceso de acuerdo con la reivindicación 2 y la etapa adicional (iii) reconstituir la forma liofilizada en un vehículo acuoso.
- 10 4. Una formulación que enmascara sabor que comprende mesilato de casmostato y un excipiente que enmascara el sabor.
5. Una formulación que enmascara sabor de acuerdo con la reivindicación 4, que incluye uno o más excipientes seleccionados de sacarina de sodio, aspartame, mentol y polialcoholes tales como sorbitol y xilitol.
- 15 6. Una formulación que enmascara sabor de acuerdo con la reivindicación 4 o 5 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de fibrosis quística.
7. Una formulación de nebulizador que comprende mesilato de casmostato de acuerdo con la reivindicación 1 y uno o más excipientes seleccionados de co-solventes, conservantes, agentes quelantes, reguladores de pH y tonicidad y tensoactivos.
- 20 8. Una formulación de nebulizador de acuerdo con la reivindicación 7 en donde los excipientes se seleccionan de uno o más de propilenglicol, etanol, glicerina, cloruro de benzalconio, edentato de sodio, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, cloruro de sodio, ácido oleico, y lecitina.
9. Una formulación de nebulizador de acuerdo con la reivindicación 7 o 8 que comprende adicionalmente uno o más excipientes que enmascaran el sabor seleccionados de sacarina de sodio, aspartame, mentol y polialcoholes tales como sorbitol y xilitol.
- 25 10. Una formulación de nebulizador de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-9 para el tratamiento de fibrosis quística.