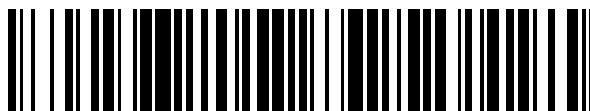


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 394**

51 Int. Cl.:

A61K 31/18 (2006.01) **A61P 11/00** (2006.01)
A61K 31/194 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/4418 (2006.01)
A61K 31/498 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2011** **E 11701683 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015** **EP 2531187**

54 Título: **Estimuladores de la GCs o activadores de la GCs solos y en combinación con inhibidores de la PDE5 para el tratamiento de la fibrosis quística**

30 Prioridad:

05.02.2010 EP 10152727

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

16.10.2015

73 Titular/es:

ADVERIO PHARMA GMBH (100.0%)
Willy-Brandt-Platz 2
12529 Schönefeld, DE

72 Inventor/es:

SANDNER, PETER;
VON DEGENFELD, GEORGES y
STASCH, JOHANNES-PETER

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

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 2 548 394 T3

DESCRIPCIÓN

Estimuladores de la GCs o activadores de la GCs solos y en combinación con inhibidores de la PDE5 para el tratamiento de la fibrosis quística

- 5 La presente invención se refiere al uso de estimuladores y activadores de la GCs como tratamiento autónomo o en combinación con inhibidores de la PDE5 para la preparación de medicamentos para el tratamiento de la fibrosis quística (CF).

Antecedentes de la invención

- 10 Los nucleótidos cíclicos, adenosina monofosfato cíclico (APMc) y guanosina monofosfato cíclico (GMPc) se descubrieron hace décadas y representan una de las vías de segundo mensajero más importantes dentro de las células. Está bien establecido que la regulación de las agrupaciones intracelulares de GMPc tiene un considerable impacto sobre la fisiología, y la patofisiología es un principio básico de la intervención farmacológica (Eugenov y col. 2006; Schmidt y col. 2009). Los nitratos y los inhibidores de la PDE5 (PDE5i) que podrían incrementar los niveles intracelulares de la GMPc ya son, por tanto, terapias aprobadas para angina, hipertensión arterial pulmonar (HAP) o disfunción eréctil (DE), respectivamente. Los estimuladores y activadores de la GCs descubiertos más recientemente están en un estado avanzado de desarrollo clínico para la HAP y la insuficiencia cardíaca. Por tanto, 15 apuntar a la vía de NO/GMPc mediante la producción de GMPc (nitratos, estimuladores de la GCs, activadores de la GCs) o degradación de la GMPc (PDE5i) se convirtieron en una estrategia de intervención farmacológica muy eficaz en varias enfermedades.

- 20 A nivel molecular, la producción de NO tiene como resultado la estimulación de la guanilato ciclasa soluble (GCs) que tiene como resultado la potenciación de la formación de la GMPc. Después, la GMPc regula diferentes dianas corriente abajo, principalmente proteínas quinasas reguladas por GMPc (quinasas G), fosfodiesterasas reguladas por GMPc (PDE) y canales iónicos regulados por GMPc que traduce la señal de NO y aumentan en la GMPc y en una disminución del calcio libre intracelular. Por tanto, la respuesta más prominente de incrementar la GMPc intracelular, especialmente en células de músculo liso (CML), es la relajación. Además, se analizan los efectos antiproliferativos, antifibróticos o proapoptóticos de la GMPc y podrían ampliar las opciones terapéuticas para los 25 inhibidores de la PDE5 (Sandner y col. 2007, Schmidt y col. 2009). Más recientemente, algunas líneas de evidencia mostraron que los inhibidores de la PDE5 podrían también influir sobre la secreción de cloruro a través del canal de cloruro CFTR y podrían ser útiles para el tratamiento de la fibrosis quística (Clarke 2008).

- 30 La fibrosis quística (FQ) es uno de los trastornos genéticos más prevalentes producidos por la mutación de un único gen, el canal CFTR, que afecta a 1 de 2.500-3.000 neonatos. En esta enfermedad, el transporte anormal de iones a través del epitelio respiratorio conduce a una superficie de las vías respiratorias deshidratada y mala eliminación del moco. Esto contribuye a que se produzcan infecciones crónicas de las vías respiratorias y a una elevada morbilidad y una mortalidad precoz. Hasta ahora, el tratamiento está centrado principalmente en el tratamiento antiinfeccioso y el trasplante de pulmón, pero no se dispone de terapia causal alguna centrada en la corrección y potenciación de la 35 alteración de la función de CFTR.

- A nivel molecular, una mutación en el gen CFTR tiene como resultado la FQ. Se ha identificado una amplia variedad de mutaciones causantes de la FQ en el gen CFTR. No obstante, la mutación más prevalente es una delección de la fenilalanina en la posición 508 de la secuencia de aminoácidos de CFTR y se denomina $\Delta F508$ -CFTR. Esta mutación se produce en aproximadamente el 70 %-80 % de los casos de FQ y está asociada con una enfermedad 40 grave.

- La delección del residuo 508 en $\Delta F508$ -CFTR previene el correcto procesamiento y plegamiento de la proteína madura. Esta CFTR con plegamiento erróneo no podía salir del RE, o no podía hacerlo completamente, y pasar a la membrana plasmática. Como resultado, el número de canales presentes en la membrana en pacientes con CFTR es mucho menor que el observado en las células que expresan el CFTR silvestre. Además, el canal mutado exhibió una 45 menor actividad del canal. Además, el menor número de canales en las membranas epiteliales y la menor actividad del canal tienen como resultado una alteración significativa del transporte de aniones a través del epitelio que conduce a un transporte defectuoso de iones y fluidos. Esto produce un desequilibrio en el transporte de fluidos epiteliales pulmonares y, por último, un exceso de acumulación de moco viscoso en los pulmones. Además, la alteración de la función de CFTR también afecta a, por ejemplo, la función pancreática, las funciones 50 gastrointestinales, la función hepática, las funciones de las glándulas secretoras o la secreción de insulina.

En resumen, la alteración de la función de CFTR por varias mutaciones produce fibrosis quística. Por tanto, la corrección y/o potenciación de la función de CFTR de estas mutaciones podrían presentar una opción terapéutica causal para la fibrosis quística (FQ).

- 55 Además de la corrección y/o potenciación de la función de CFTR podría presentar una opción terapéutica causal para la disfunción pancreática, la disfunción hepática, la sequedad de boca, la sequedad ocular, el síndrome de Sjögren y la diabetes inducida por FQ.

Se demostró que, en las células epiteliales pulmonares, el sildenafil, un potente y selectivo PDE5i, aumentó la secreción de cloruro dirigida por CFTR (Cobb y col., 2003). Además, el tráfico y la actividad funcional de los canales de CFTR mutados de la membrana celular podrían estar influidos por los PDE5i *in vitro* (Dormer y col., 2005, Carlile et al. 2007, Robert y col., 2008). De acuerdo con estos hallazgos se demostró que los inhibidores de la PDE5, cuando se usan en modelos animales de fibrosis quística (FQ) son capaces de reducir la secreción de mucina (Mc Pherson 1999) y podría afectar a la secreción de cloruro (Lubamba y col. 2008). Por tanto, se postuló la hipótesis de que los inhibidores de la PDE5 podrían usarse para el tratamiento de la fibrosis quística (Cobb 1999, Lubamba y col., 2008, Clarke 2008).

No obstante, el uso de inhibidores de la PDE5 es limitado, ya que solo podían inhibir la degradación de GMPc. En los casos en los que la producción de GMPc dependiente de NO es baja, su eficacia está alterada al menos parcialmente. Es muy interesante el hecho de que recientemente se han descrito compuestos que podrían superar esta limitación de los inhibidores de la PDE5 mediante estimulación directa o activación de la GCs.

En Chen Lan y col.: "Mechanisms of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activation by S-nitrosoglutathione", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 7 ABR 2006 LNKDPUBMED:16421 103, vol. 281, nº 14, 7 de abril de 2006 (2006-04-07), páginas 9190-9199 se muestra en células Calu3 que S-nitrosoglutathión puede modular de forma dependiente de GMPc la función de CFTR – según midieron Chen et al. *in vitro* usando experimentos en cámara – esto solo tenía un impacto limitado para los pacientes con FQ. Los pacientes con FQ tenían mutaciones en los canales de CFTR, es decir, delF508 CFTR es una de las mutaciones más extendidas entre ellos y la corrección de WT-CFTR según se expresa por las células Calu3 no es predictiva de la corrección de la función mutada, es decir, de deltaF508 CFTR. Por lo tanto, las conclusiones obtenidas de estos experimentos no se aplican a la función de CFTR en pacientes con fibrosis quística. Estas fueron las razones por las que se usaron las líneas celulares transfectadas con canales de CFTR mutantes para la caracterización de los compuestos de esta solicitud.

El documento WO 2009/1 49278 AI (SYNERGY PHARMACEUTICALS INC [US]; SHAILUBHAI KUNWAR [US]; JACOB GARY S) 10 de diciembre de 2009 (10-12-2009) divulga guanilina peptídica y análogos de uroganilina que dirigen la guanilato ciclasa unida a membrana (GC-C). La GC-C se expresa predominantemente en células epiteliales intestinales y sirve como el receptor para las hormonas gastrointestinales guanilina y uroganilina. Por lo tanto, las conclusiones sobre los efectos de estos péptidos, pero especialmente para los estimuladores de GCs y activadores de GCs, dirigidos a la guanilato ciclasa soluble que es un receptor diferente dentro de la célula, no pudieron obtenerse a partir de estos datos.

Se han identificado dos clases de compuestos que activan la GCs de forma independiente de NO, los estimuladores de la GCs dependientes de hemo, tales como BAY 41-2272 de acuerdo con el compuesto de la fórmula (4a), BAY 41-8543 de acuerdo con el compuesto de la fórmula (1) y BAY 63-2521 de acuerdo con el compuesto de la fórmula (3) y los activadores de la GCs independientes de hemo, tales como BAY 58-2667, de acuerdo con el compuesto de la fórmula (5) y HMR-1766 de acuerdo con el compuesto de la fórmula (6), (Stasch y col., 2001, para una revisión véase Evgenov y col., 2006).

Por tanto, los inventores investigaron combinaciones de estimuladores y activadores de la GCs, es decir BAY 41-2272, BAY 60-4552, de acuerdo con el compuesto de fórmula (4a, 4), solos o en combinaciones con inhibidores de la PDE5, es decir vardenafil, *in vitro* en células y también en muestras de tejido humano e *in vivo* en modelos animales transgénicos con CFTR.

En concreto, se analizaron los inhibidores de la PDE5, estimuladores y activadores de la GCs solos o combinaciones de los mismos:

- en células BHK que expresan un canal CFTR mutante, es decir un canal CFTR deltaF508 marcado, sobre la expresión en la superficie celular del delta F508 CFTR.
- en células HEK-293 que expresan un canal CFTR mutante, es decir un canal CFTR deltaF508 marcado, sobre la función de CFTR a través de la medición de la entrada de yodo mediante fluorescencia.
- en células HEK-293 que expresan un canal CFTR mutante, es decir un deltaF508CFTR, sobre la biosíntesis (banda B) y el procesamiento (banda C) potenciados.
- en células CFBE410 que expresan un canal CFTR mutante, es decir un delta F508CFTR, sobre la conductancia transepitelial al usar experimentos en cámara.
- en biopsias rectales de pacientes con FQ y comparadas con biopsias rectales de pacientes sin FQ sobre la conductancia transepitelial al usar experimentos en cámara.
- en ratones transgénicos que expresan el canal delta F508CFTR sobre la diferencia de potencial nasal y la salivación.
- en ratones transgénicos que no expresan el CFTR sobre la diferencia de potencial nasal y la salivación.

Los inventores pudieron demostrar por primera vez que los estimuladores y los activadores de la guanilato ciclasa soluble corregían y potenciaban la función de CFTR, de modo que se postulaban como una nueva opción terapéutica causal para pacientes con FQ. Además, los inventores encontraron de un modo completamente inesperado que las combinaciones de estimuladores y los activadores de la GCs con PDE5i mostraron efectos más

5 que aditivos sobre la corrección y la potenciación. Por tanto, las combinaciones podrían postularse como una primera terapia causal y eficaz para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

En concreto, los inventores encontraron que los inhibidores de la PDE5 podían corregir y potenciar la función del CFTR, es decir la función del delta F508 CFTR *in vitro*. Además, los inventores encontraron que los estimuladores y los activadores de la GCs, que no se han usado hasta ahora, podían corregir y potenciar la función del CFTR, es

10 decir la función del delta F508CFTR. Por último, los inventores han descubierto que las combinaciones de estimuladores y activadores de la GCs con inhibidores de la PDE5 son superiores a la monoterapia y mostraron efectos sobreaditivos sobre la función del CFTR, es decir la función del delta F508 CFTR.

En resumen, los inventores descubrieron que las combinaciones de estimuladores de la GCs o activadores de la GCs solos y en combinación con inhibidores de la PDE5 podían corregir y potenciar la función del CFTR *in vitro* e *in vivo*. Debido a esta eficacia de los estimuladores de la GCs o activadores de la GCs y de las combinaciones de

15 estimuladores de la GCs o activadores de la GCs con inhibidores de la PDE5, este tratamiento en monoterapia y de combinación podía usarse para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ). Los trastornos pulmonares abordados por los agentes terapéuticos de la invención que, en particular, y con una ventaja sustancial, se pueden tratar con los estimuladores de la GCs o activadores de la GCs mencionados anteriormente solos o en combinación con

20 inhibidores de la PDE5, son enfermedades pulmonares, que comprenden la fibrosis quística (FQ).

Los trastornos secretorios abordados por los agentes terapéuticos de la invención que, en particular, y con una ventaja sustancial, se pueden tratar con los estimuladores de la GCs o activadores de la GCs mencionados anteriormente solos o en combinación con inhibidores de la PDE5, que comprenden, entre otros, disfunción

25 pancreática, disfunción gastrointestinal, enfermedades hepáticas y diabetes mellitus relacionada con la fibrosis quística (CFRD).

Otras enfermedades abordadas por los agentes terapéuticos de la invención que, en particular, y con una ventaja sustancial, se pueden tratar con los estimuladores de la GCs o activadores de la GCs mencionados anteriormente solos o en combinación con inhibidores de la PDE5, incluidas, entre otras, enfermedad pulmonar obstructiva crónica

(EPOC), enfermedad del ojo seco, enfermedades de sequedad de boca y síndrome de Sjogren.

Todas las enfermedades abordadas por los agentes terapéuticos de la invención que, en particular, y con una ventaja sustancial, se pueden tratar con los estimuladores de la GCs o activadores de la GCs mencionados anteriormente solos o en combinación con inhibidores de la PDE5, son enfermedades en las que está implicada

30 como causa la alteración de la secreción de cloruro mediante el CFTR.

Divulgación de la invención

La invención proporciona estimuladores de la GCs o activadores de la GCs solos o en combinación con inhibidores de la PDE5 que son útiles para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ) y superiores en cuanto a eficacia sobre los

35 procedimientos de tratamiento ya conocidos.

La invención proporciona estimuladores de la GCs o activadores de la GCs solos o en combinación con inhibidores de la PDE5 que son útiles para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ) y superiores en cuanto al perfil de efectos

40 secundarios sobre los procedimientos de tratamiento ya conocidos.

El estimulador de la guanilato ciclasa (GCs) y el activador de la GCs es, preferentemente, un compuesto seleccionado del grupo que consiste en

- 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidin-diamina (1), descrita también como el ejemplo 16 en el documento WO 00/06569,

- 45 • 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidinamina (2), descrita también como el ejemplo 1 en el documento WO 02/42301.

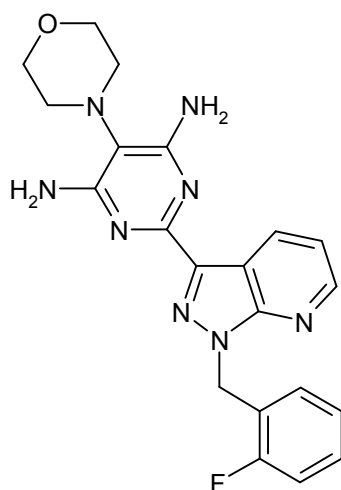
- metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-(metil)carbamato (3), descrito también como el ejemplo 8 en el documento WO 03/095451,

- 50 • metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4), descrito también como el ejemplo 5 en el documento WO 03/095451,

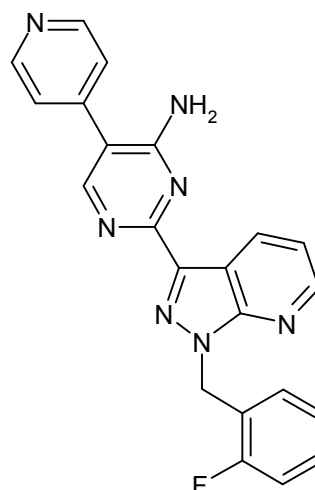
- 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a), descrita también como el ejemplo 1 en el documento WO 00/06568,

y

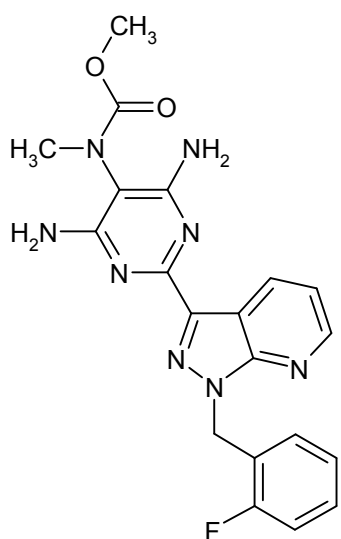
- ácido 4-((4-carboxibutil)[2-(2-1[4-(2-feniletíl)bencil]oxi)fenil]etil]amino metil) benzoico (5), descrito también como el ejemplo 8a en el documento WO 01/019780,
- Sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6) descrita en el documento WO 00/02851,
- 5 • 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7) descrita en el documento WO 00/02851,
- ácido 1-{6-[5-cloro-2-({4-[trans-4-}trifluorometil]ciclohexil)bencil]oxi}fenil]piridin-2-il}-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8), descritos en el documento WO 2009/032249,
- 10 • ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenol)benciloxi)-fenil]piridin-2-il}-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), descrito en el documento WO 2009/071504,
- ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), descrito en el documento WO 2009/068652,
- 15 • Ácido 1-({2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-({2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il}metil)benzoico (12) y ácido 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13) descrito en el documento WO 2009/123316.



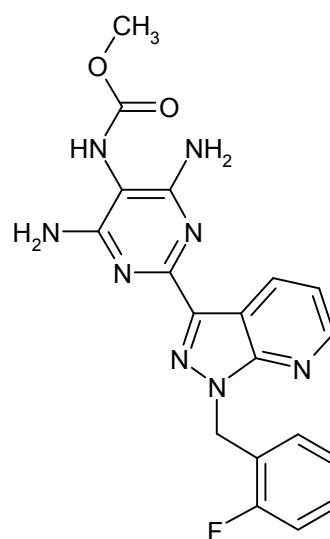
(1)



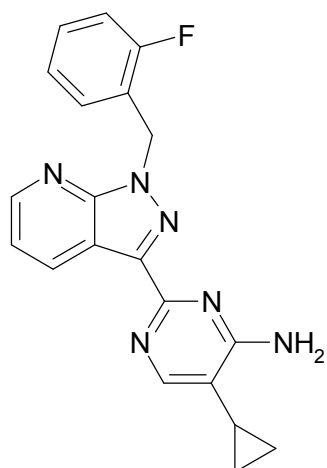
(2)



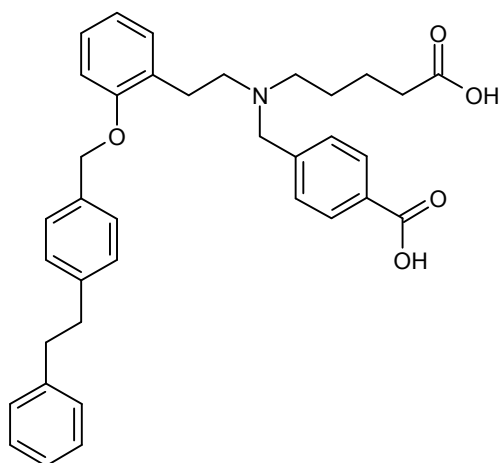
(3)



(4)

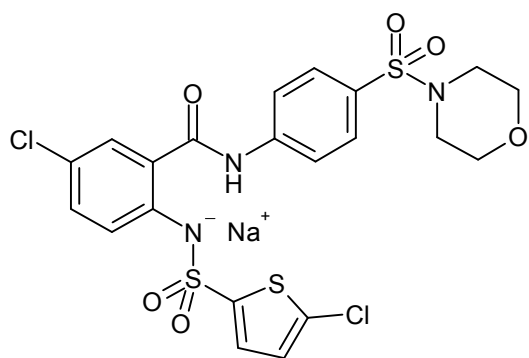


(4a)

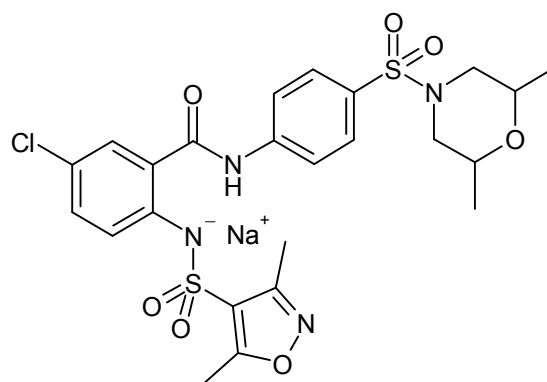


(5)

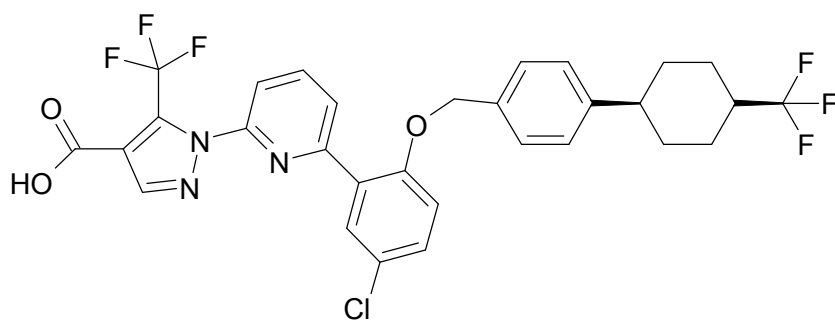
5



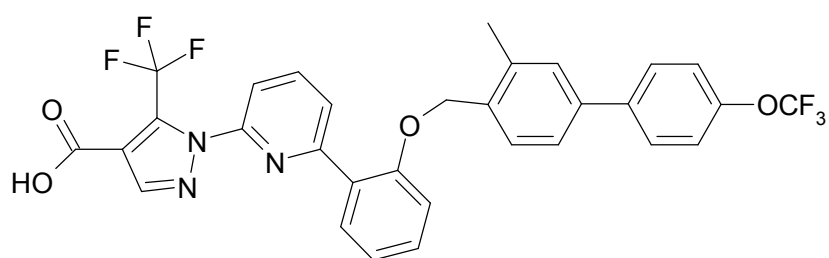
(6)



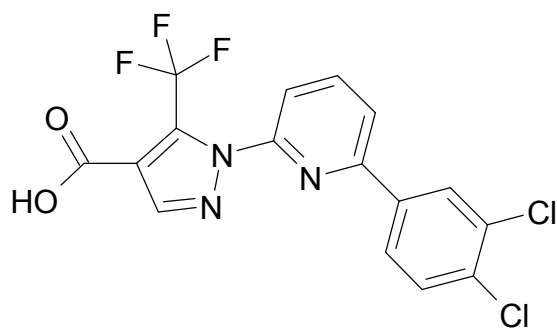
(7)



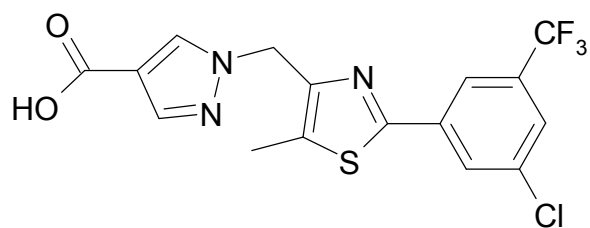
(8)



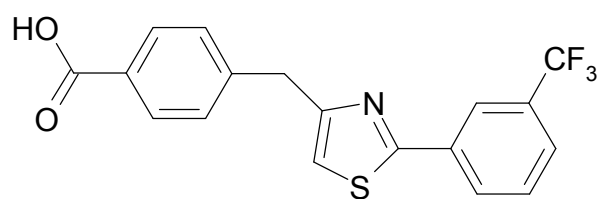
(9)



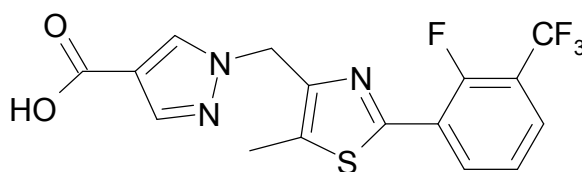
(10)



(11)



(12)



(13)

Los compuestos (1), (2), (3), (4) y (4a) son estimuladores conocidos de la guanilato ciclasa soluble (GCs) que se han descrito anteriormente para el tratamiento de la angina de pecho estable o la disfunción eréctil.

- 5 Los compuestos (5), (6), (7), (8), (9), (10), (11), (12) y (13) son activadores de la GCs conocidos. Los inhibidores de la PDE-5 que son útiles para el tratamiento combinado de los trastornos urológicos son, en particular, *Tadalafil* ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilen-dioxifenil)pirazino(1',2':1,6)pirido(3,4-b)indol-1,4-diona), *Vardenafilo* (2-(2-etoxi-5-(4-etilpiperazin-1-il-1-sulfonil)fenil)-5-metil-7-propil-3H-imidazo(5,1)(1,2,4)triazin-4-ona), *Sildenafil* (3-[2-etoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)sulfonil-fenil]-7-metil-1-9-propil-1-2,4,7,8-tetrazabicyclo[4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-ona), *Udenafilo* 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidiniletilamidosulfonil)fenil]-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazol(4,3-d)pirimidin-7-ona, *Dasantafilo* 7-(3-bromo-4-metoxibencil)-1-etil-8-[[[(1,2)-2-hidroxyciclopentil]amino]-3-(2-hidroxi-etil)-3,7-dihidro-1-purin-2,6-diona, *Avanafilo* 4-[[[(3-cloro-4-metoxifenil)metil]amino]-2-[(2S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]-N-(pirimidin-2-ilmetil)pirimidin-5-carboxamida, *Mirodenafilo*, *Lodenafilo*, UK 369.003, UK 371.800, *SLx 2101* de Surface Logix, *LAS 34179* Triazolo[1,2-*x*]xantina, 6-metil-4-propil-2-[2-propoxi-5-(4-metilpiperazino)sulfonil]fenil-, o sales, hidratos o hidratos de sales de los inhibidores de la PDE5 mencionados con anterioridad.

Una composición farmacéutica de la invención se formula para que sea compatible con su vía de administración destinada. Ejemplos de vías de administración incluyen administración parenteral por ejemplo intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (por ejemplo, inhalación), transdérmica (tópica), transmucosal y rectal. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles (cuando sean hidrosolubles) y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, un poliol farmacéuticamente aceptable como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, y mezclas adecuadas de los mismos. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, por el uso de un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y por el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede lograr por diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio, o polialcoholes tales como manitol y sorbitol, en la composición.

- 30 Las composiciones orales incluyen en general un diluyente inerte o un vehículo comestible. Se pueden encerrar en cápsulas de gelatina o comprimir en comprimidos. Para el fin de la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes y usar en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas. Las composiciones orales también se pueden preparar usando un vehículo fluido para su uso como colutorio, en el que el compuesto en el vehículo fluido se aplica por vía oral y se enjuaga y se expectora o se traga.
- 35 Se pueden incluir como parte de la composición compuestos de unión y/o materiales coadyuvantes farmacéuticamente compatibles. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante, tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente, tal como almidón o lactosa, un compuesto disgregante, tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante, tal como estearato de magnesio o Sterotex; un deslizante, tal como dióxido de silicio coloidal; un compuesto edulcorante, tal como sacarosa o sacarina; o un compuesto saborizante, tal como menta, salicilato de metilo o saborizante de naranja.

Para la administración mediante inhalación, los compuestos se liberan en forma de un pulverizador en aerosol a partir de un recipiente o dispensado presurizado que contiene un propelente adecuado, por ejemplo un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador.

- 45 La administración sistémica también puede ser por vía transmucosal o transdérmica. Para la administración transmucosal o transdérmica, en la formulación se usan penetrantes apropiados para la barrera que se va a permear. En general, estos penetrantes se conocen en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosal, detergentes, sales de bilis y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosal se puede conseguir mediante el uso de pulverizadores nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en ungüentos, salvas, geles o cremas, como en general se conocen en la técnica.

Los compuestos también se pueden preparar en forma de supositorios (por ejemplo, con bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para administración rectal.

En una realización, los compuestos activos se preparan con transportadores que protegerán al compuesto frente a la rápida eliminación del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluidos implantes y sistemas de liberación microencapsulada. Se pueden usar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilvinilo, polianhidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico.

- 5 En otra realización, la invención proporciona estimuladores de la GCs o activadores de la GCs en combinación con inhibidores de la PDE5 y su uso para la preparación de composiciones farmacéuticas para la fibrosis quística (FQ), de modo que estas combinaciones comprenden bien i) composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto que tiene una acción estimuladora o activadora de la GCs y actividad inhibitoria de la PDE-5 o bien ii) composiciones farmacéuticas que comprenden un estimulador y activador de la GCs y al menos un inhibidor de la PDE-5 como una combinación fija en una unidad de aplicación, o bien iii) un kit de partes que contiene al menos dos conjuntos de composiciones farmacéuticas, en el que cada conjunto consiste en al menos una preparación farmacéutica que comprende un inhibidor de la PDE-5 en unidades de al menos una dosis y al menos una preparación farmacéutica que comprende un y activador de la GCs y estimulador de la GCs en unidades de al menos una dosis, de modo que cada unidad de aplicación de dichas composiciones farmacéuticas se administra en combinación, secuencialmente, en forma de una única dosis o en múltiples dosis.

En particular, la presente invención proporciona:

Una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad comprendida en un grupo de enfermedades que consiste en fibrosis quística (FQ), que contiene al menos un compuesto seleccionado de

- 20 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidin-diamina (1),
2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidin-diamina (2),
metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-(metil)carbamato (3), y
metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4),
3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a),
y
25 sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6),
2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7),
y
Ácido 4-((4-carboxibutil)[2-(2-([4-(2-feniletíl)bencil]oxi)fenil)etil]amino)metil) benzoico (5)
ácido 1-[6-[5-cloro-2-([4-[trans-4-(trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi)fenil]piridin-2-il]-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-
30 carboxílico (8)
ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil]piridin-2-il]-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9)
ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10)
Ácido 1-([2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il]metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11)
ácido 4-([2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il]metil)benzoico (12)
35 ácido 1-([2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il]metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13)
y al menos un compuesto seleccionado de
Tadalafilo ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-Hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilen-dioxifenil)pirazino(1',2':1,6)pirido(3,4-b)indol-
1,4-diona), *Vardenafilo* (2-(2-etoxi-5-(4-etilpiperazin-1-il-1-sulfonil)fenil)-5-metil-7-propil-3H-imidazo(5,1-
f)(1,2,4)triazin-4-ona), *Sildenafil* (3-[2-etoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)sulfonil-fenil]-7-metil-1-9-propil-1-
40 2,4,7,8-tetrazabicyclo[4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-ona), *Udenafilo* 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidinil-
etilamidosulfonil)fenil]-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazol(4,3-d)pirimidin-7-ona, *Dasatafilo* 7-(3-bromo-4-
metoxibencil)-1-etil-8-[[1,2)-2-hidroxiciclopentil]amino]-3-(2-hidroxietyl)-3,7-dihidro-1-purin-2,6-diona, *Avanafilo* 4-[[3-
cloro-4-metoxifenil]metil]amino)-2-[(2S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]-N-(pirimidin-2-ilmetil)pirimidin-5-carboxamida,
Mirodenafilo, Lodenafilo, UK 369.003, UK 371.800, SLx 2101 de Surface Logix, y/o LAS 34179Triazolo[1,2-
45 xantina,6-metil-4-propil-2-[2-propoxi-5-(4-metilpiperazin)sulfonil]fenilo, o sales, hidratos o hidratos de sales de los
inhibidores de la PDE5 mencionados con anterioridad.

Se divulga adicionalmente una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad comprendida en un grupo de enfermedades en las que está implicada como causa la función alterada de CFTR, consiste en, entre otros, trastornos pancreáticos, trastornos gastrointestinales, trastornos hepáticos, diabetes relacionada con la fibrosis quística (CFRD), sequedad ocular, sequedad de boca, síndrome de Sjogren, que contienen al menos un compuesto seleccionado de

- 50 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidin-diamina (1),
2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidin-diamina (2),
metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-(metil)carbamato (3), y
55 metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4),
3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a),
y
sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6),
2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7),
60 y
Ácido 4-((4-carboxibutil)[2-(2-([4-(2-feniletíl)bencil]oxi)fenil)etil]amino)metil) benzoico (5)
ácido 1-[6-[5-cloro-2-([4-[trans-4-(trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi)fenil]piridin-2-il]-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-
carboxílico (8)

ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil)piridin-2-il]-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9)

ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10)

Ácido 1-({2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11)

ácido 4-({2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il}metil)benzoico (12)

5 ácido 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13)

y al menos un compuesto seleccionado de

Tadalafil ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-Hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilen-dioxifenil)pirazino(1',2':1,6)pirido(3,4-b)indol-1,4-diona), *Vardenafilo* (2-(2-etoxi-5-(4-etilpiperazin-1-il-1-sulfonil)fenil)-5-metil-7-propil-3H-imidazo(5,1-f)(1,2,4)triazin-4-ona), *Sildenafil* (3-[2-etoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)sulfonil-fenil]-7-metil-1-9-propil-1-

10 2,4,7,8-tetrazabicyclo[4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-ona), *Udenafilo* 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidinil-etilamidosulfonil)fenil]-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazolo(4,3-d)pirimidin-7-ona, *Dasantafilo* 7-(3-bromo-4-metoxibencil)-1-etil-8-[(1,2)-2-hidroxyciclopentil]amino)-3-(2-hidroxietyl)-3,7-dihidro-1-purin-2,6-diona, *Avanafilo* 4-[(3-cloro-4-metoxifenil)metil]amino)-2-[(2S)-2-(hidroximetil)pirrolidin-1-il]-N-(pirimidin-2-ilmetil)pirimidin-5-carboxamida,

Mirodenafilo, Lodenafilo, UK 369.003, UK 371.800, SLx 2101 de Surface Logix, y/o LAS 34179Triazolo[1,2-
15 xantina,6-metil-4-propil-2-[2-propoxi-5-(4-metilpiperazin)sulfonil]fenilo, o sales, hidratos o hidratos de sales de los

inhibidores de la PDE5 mencionados con anterioridad. El uso de un estimulador y activador de la GCs para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de fibrosis quística (CF).

Se divulga adicionalmente el uso de un estimulador y activador de la GCs para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de trastornos pancreáticos, trastornos gastrointestinales, trastornos hepáticos, diabetes relacionada con la fibrosis quística (CFRD), sequedad ocular, sequedad de boca, síndrome de Sjogren.

20 El uso de una combinación de al menos un estimulador o activador de la GCs y un inhibidor de la PDE5 para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

El uso de una combinación de al menos un estimulador o activador de la GCs y un inhibidor de la PDE5 para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

Se divulga adicionalmente el uso de una combinación de al menos un estimulador o activador de la GCs y al menos un inhibidor de la PDE5 para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de trastornos pancreáticos, trastornos hepáticos, diabetes relacionada con la fibrosis quística (CFRD), sequedad ocular, sequedad de boca, síndrome de Sjogren.

25 Se divulga adicionalmente el uso de una combinación de al menos un estimulador o activador de la GCs y al menos un inhibidor de la PDE5 para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de trastornos pancreáticos, trastornos hepáticos, diabetes relacionada con la fibrosis quística (CFRD), sequedad ocular, sequedad de boca, síndrome de Sjogren.

El uso del estimulador o el activador de la GCs seleccionados del grupo de estimuladores y activadores de la GCs de 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidindiamina (1), 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidinamina (2), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4), sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6), 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7), y ácido 4-(((4-carboxibutil)[2-(22[4-(2-feniletil) bencil]oxi)fenil]etil]amino)metil) benzoico (5), ácido 1-[6-[5-cloro-2-({4-trans-4-}trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi)fenil]piridin-2-il]-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8), ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil)piridin-2-il]-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), ácido 1-({2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-({2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il}metil)benzoico (12), ácido 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

40 El uso de una combinación de al menos un estimulador y activador de la GCs seleccionados del grupo de estimuladores y activadores de la GCs de 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidindiamina (1), 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidinamina (2), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4), 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridina (4a), sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6), 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7) y ácido 4-(((4-carboxibutil)[2-(2-({4-(2-feniletil) bencil]oxi)fenil]etil]amino)metil)benzoico (5), ácido 1-[6-[5-cloro-2-({4-trans-4-}trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi)fenil]piridin-2-il]-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8), ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil)piridin-2-il]-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), ácido 1-({2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-({2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il}metil)benzoico (12), ácido 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13)

45 y al menos un inhibidor de la PDE5 seleccionado del grupo de inhibidores de la PDE5 que consiste en Vardenafilo (2-(2-etoxi-5-(4-etilpiperazin-1-il-1-sulfonil)fenil)-5-metil-7-propil-3H-imidazo (5,1) (1,2,4) triazin-4-ona, Sildenafil (3-[2-etoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)sulfonil-fenil]-7-metil-1-9-propil-1-2,4,7,8-tetrazabicyclo [4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-ona) y Tadalafil ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilen-dioxifenil) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

50 y al menos un inhibidor de la PDE5 seleccionado del grupo de inhibidores de la PDE5 que consiste en Vardenafilo (2-(2-etoxi-5-(4-etilpiperazin-1-il-1-sulfonil)fenil)-5-metil-7-propil-3H-imidazo (5,1) (1,2,4) triazin-4-ona, Sildenafil (3-[2-etoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)sulfonil-fenil]-7-metil-1-9-propil-1-2,4,7,8-tetrazabicyclo [4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-ona) y Tadalafil ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilen-dioxifenil) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

55 y al menos un inhibidor de la PDE5 seleccionado del grupo de inhibidores de la PDE5 que consiste en Vardenafilo (2-(2-etoxi-5-(4-etilpiperazin-1-il-1-sulfonil)fenil)-5-metil-7-propil-3H-imidazo (5,1) (1,2,4) triazin-4-ona, Sildenafil (3-[2-etoxi-5-(4-metilpiperazin-1-il)sulfonil-fenil]-7-metil-1-9-propil-1-2,4,7,8-tetrazabicyclo [4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-ona) y Tadalafil ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahidro-2-metil-6-(3,4-metilen-dioxifenil) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

60 Se divulga adicionalmente un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de las enfermedades mencionadas con anterioridad, en la que el estimulador y activador de la guanilato ciclasa soluble se selecciona del grupo de compuestos que consiste en 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazol[3,4-b]piridin-

3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidindiamina (1),
 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidinamina (2), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4), 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazol[3,4-b]piridina (4a), sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofeno-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6), 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7),
 5 ácido 4-({(4-carboxibutil)[2-(2-{[4-(2-feniletíl) bencil]oxi}fenil)etil]amino}metil) benzoico (5), ácido 1-{6-[5-cloro-2-({4-trans-4-}trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi}fenil]piridin-2-il}-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8), ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil]piridin-2-il}-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), ácido 1[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), ácido 1-({2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-({2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il}metil)benzoico (12),
 10 ácido 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13).

El uso de una composición farmacéutica como se ha mencionado con anterioridad para la estimulación y activación de la guanilato ciclasa soluble en un mamífero que tiene fibrosis quística (FQ).

- 15 El uso de una composición farmacéutica como se ha mencionado con anterioridad para la estimulación y activación de la guanilato ciclasa soluble y para la regulación de la actividad de la PDE en un mamífero que tiene fibrosis quística (FQ).

Una composición farmacéutica que contiene al menos metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4) y/o ácido 4-({(4-carboxibutil)[2-(2-{[4-(2-feniletíl) bencil]oxi}fenil)etil]amino}metil) benzoico (5) y al menos Sildenafil, Tadalafil, Udenafil, Dasatafil, Avanafil, Mirodenafil, Lodenafil, UK 369.003, UK 371.800, SLx2101 y LAS34179 y, preferentemente, Vardenafil o una sal, un hidrato o un hidrato de una sal de los inhibidores de la PDE5 para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

25 Con el fin de aclarar el efecto de los estimuladores y activadores de la GCs solos y en combinación con vardenafil se realizaron experimentos.

En concreto, los estimuladores de la GCs y los activadores de la GCs, es decir metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4), solos y en combinación con inhibidores de la PDE5, es decir Vardenafil, se analizaron *in vitro* e *in vivo*:

- 30 • en células BHK que expresan un canal CFTR mutante, es decir un canal CFTR deltaF508 marcado, sobre la expresión en la superficie celular del delta F508 CFTR.
- en células HEK-293 que expresan un canal CFTR mutante, es decir un canal CFTR deltaF508 marcado, sobre la función de CFTR a través de la medición de la entrada de yodo mediante fluorescencia.
- en células HEK-293 que expresan un canal CFTR mutante, es decir un deltaF508CFTR, sobre la biosíntesis (banda B) y el procesamiento (banda C) potenciados.
- 35 • en células CFBE410 que expresan un canal CFTR mutante, es decir un delta F508CFTR, sobre la conductancia transepitelial al usar experimentos en cámara.
- en biopsias rectales de pacientes con FQ y comparadas con biopsias rectales de pacientes sin FQ sobre la conductancia transepitelial al usar experimentos en cámara.
- 40 • en ratones transgénicos que expresan el canal delta F508CFTR sobre la diferencia de potencial nasal y la salivación.
- en ratones transgénicos que no expresan el CFTR sobre la diferencia de potencial nasal y la salivación.

Las combinaciones de estimuladores y activadores de la GCs, es decir metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4) con inhibidores de la PDE5, es decir vardenafil, son seguras y tienen un perfil hemodinámico similar al vardenafil.

45 La realización preferida de la invención es una combinación de al menos un estimulador o activador de la GCs seleccionados del grupo que comprende 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidindiamina (1), 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidinamina (2), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4), 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazol[3,4-b]piridina (4a), sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofeno-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6), 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7) y ácido 4-({(4-carboxibutil)[2-(2-{[4-(2-feniletíl) bencil]oxi}fenil)etil]amino}metil)benzoico (5), ácido 1-{6-[5-cloro-2-({4-trans-4-}trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi}fenil]piridin-2-il}-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8),
 50 ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil]piridin-2-il}-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), ácido

1[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), ácido 1-({2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-({2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il}metil)benzoico (12), ácido 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13) con un inhibidor de la PDE5 seleccionado del grupo que comprende vardenafilo, sildenafilo, tadalafilo, udenafilo, dasantafilo, avanafilo, midodenafilo, lodenafilo, UK 369.003, UK 371.800, SLx2101 y LAS34179 en la que la combinación comprende de 0,1 a 1 mg del estimulador o activador de la GCs y de 2,5 a 20 mg del inhibidor de la PDE5.

Otra realización preferida de la invención es una combinación de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el estimulador de la GCs es metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-(metil)carbamato (3) o metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil carbamato (4).

Otra realización preferida de la invención es una combinación como se ha divulgado con anterioridad, en la que el inhibidor de la PDE5 es vardenafilo o sildenafilo.

Otra realización preferida de la invención es una combinación como se ha divulgado anteriormente en la que el estimulador de la GCs es metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-(metil)carbamato (3) o metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil carbamato (4) y el inhibidor de la PDE5 es vardenafilo.

Otra realización preferida de la invención es una combinación de acuerdo con las realizaciones divulgadas anteriormente para usar como medicamento.

Otra realización preferida de la invención es el uso de una combinación tal como se ha divulgado con anterioridad para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).

Otra realización preferida de la invención es una formulación farmacéutica que comprende al menos una combinación tal como se ha divulgado con anterioridad.

Otra realización preferida de la invención es una formulación farmacéutica que comprende al menos una combinación como se ha divulgado con anterioridad para el uso en la fibrosis quística (FQ).

Tabla 1:

Las tasas de salivación se expresan como el incremento porcentual medio tras el tratamiento con vardenafilo (0,07, 0,14, 0,42 mg/kg i.p.) y BAY 41-2272 (compuesto de acuerdo con la fórmula (4a)) (0,01, 0,03, 0,1, 0,3 mg/kg i.p.) en comparación con el tratamiento con placebo, ***/* quiere decir estadísticamente significativo con valores $p < 0.05 / < 0.01 / < 0.001$ analizados mediante una prueba ANOVA de una vía, seguida por un análisis post-hoc de Bonferroni.

Tabla 1

Tabla 1: Tasas de salivación en ratones deltaF508 CFTR en porcentaje de placebo

	Tasa de salivación [%]	Significación estadística	número de ratones [n]
Placebo	100		49
Vardenafilo - 0,07 mg/kg	111	n.s.	25
Vardenafilo - 0,14 mg/kg	215	***	39
Vardenafilo - 0,42 mg/kg	202	***	30
BAY 41-2272 - 0,01 mg/kg	142	n.s.	40
BAY 41-2272 - 0,03 mg/kg	164	**	59
BAY 41-2272 - 0,10 mg/kg	179	***	59
BAY 41-2272 - 0,30 mg/kg	200	***	40

Ejemplo 1:

Efectos de vardenafilo y el estimulador de la GCs en ratones transgénicos que expresan el canal delta F508 CFTR sobre la salivación.

Ensayo de secreción salival en ratones delta(Δ)508-CFTR

En este ensayo se usaron ratones macho y hembra, homocigotos y heterocigotos para Δ508-CFTR (retrocruzados sobre el fondo genético de FVB en más de 12 generaciones, obtenidos originariamente de la Universidad de Erasmus, Rotterdam; van Doorninck y col.) de 10-14 semanas de edad y de 18-36 g de peso.

- 5 Se prepararon soluciones de vardenafilo a concentraciones de 0,07, 0,14 y 0,42 mg/kg de PC en solución salina estéril, mientras que el estimulador de la GCs BAY 41-2272 se disolvió hasta 0,01, 0,03, 0,1 y 0,3 mg/kg de PC en un disolvente que contiene 50 % de ddH₂O, 40 % de PEG 400 (polietilenglicol 400) y 10 % de etanol. Las sustancias o los vehículos adecuados se administran a los ratones mediante inyección intraperitoneal (5 ml/kg de PC) 60 minutos antes del ensayo de secreción salival. Tras 60 minutos se anestesió a los ratones con una combinación de ketamina y diazepam. La solución se preparó de modo que contuviera 1 ml de 5 mg/ml de diazepam y 1 ml de 100 mg/ml de ketamina en 8 ml de solución salina estéril. La anestesia se indujo mediante inyección intraperitoneal de la solución (10 ml/kg de PC). Tras la anestesia se trató previamente a los ratones con una inyección subcutánea de atropina 1 mM (50 µl) en el carrillo izquierdo con el fin de evitar una estimulación cruzada de receptores colinérgicos. Tiras pequeñas de papel de filtro Whatman se colocaron dentro del carrillo previamente inyectado durante 4 minutos para absorber toda la saliva secretada tras la inyección de atropina. Esta primera pieza de papel de filtro se retiró y reemplazó con un segundo papel de filtro previamente pesado. A continuación, se inyectaron 50 µl de una solución que contiene isoprenalina 100 µM y atropina 1 mM en el carrillo izquierdo en el mismo sitio para inducir la secreción salival mediante mecanismos adrenérgicos. El momento de la inyección de isoprenalina se tomó como tiempo cero y las tiras de papel de filtro se reemplazaron cada 10 minutos durante un periodo de recolección total de 30 minutos. Cada pieza de papel de filtro se colocó inmediatamente y se selló en un vial previamente pesado. Una vez recogidas todas las muestras, cada vial se volvió a medir y se registraron los pesos de todas las muestras. La diferencia en el peso total del vial más el papel medido antes y después de recoger la saliva se tomó como el peso neto de la saliva secretada durante el periodo de recolección. Las cantidades totales de secreción salival se calcularon como el peso de la saliva dividido por el número de minutos requeridos para cada recolección y, después, normalizado con la masa del ratón en gramos. Los resultados se expresan en la tabla 1 como el incremento porcentual medio de n ratones en comparación con el tratamiento del placebo. La estadística se analizó mediante una prueba ANOVA de una vía, seguido por un análisis post-hoc de Bonferroni; */**/** quiere decir estadísticamente significativo con valores p <0,05/<0,01/0,001 y n.s. significa no significativo.

Referencias:

- 30 Carlile GW, Robert R, Zhang D (2007): Correctors of protein trafficking defects identified by a novel high-throughput screening assay. *Chem Bio Chem* 8: 1012-1020
- Clarke LL (2008): Phosphodiesterase 5 Inhibitors and Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 469-472
- Cobb BR, Fan L, Kovacs TE (2003): Adenosine receptors and phosphodiesterase inhibitors stimulate Cl⁻ secretion in Calu-3 cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29: 410-418
- 35 Dormer RL, Harris CM, Clark Z y col., (2004) : Sildenafil (Viagra) corrects ΔF508-CFTR location in nasal epithelia cells from patients with cystic fibrosis. *Thorax* 60: 55-59
- Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM y col., (2006) NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov* 5(9): 755-68
- 40 Lubamba B, Lecourt H, Lebacqz J (2008): Preclinical evidence that sildenafil and vardenafil activate chloride transport in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 506-515
- McPherson MA, Pereira MMC, Mills CL y col., (1999): A cyclic nucleotide PDE5 inhibitor corrects defective mucin secretion in submandibular cells containing antibody directed against the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein. *FEBS Letters* 464: 48-52
- 45 Robert R, Carlile GW, Pavel C y col., (2008): Structural analog of sildenafil identified as a novel corrector of the F508del-CFTR trafficking defect. *Mol Pharmacol* 73: 478-489.
- Sandner P, Hütter J, Tinel H y col., (2007): PDE5 inhibitors beyond erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 19(6): 533-543
- Schmidt HHHW., Hoffmann F, Stasch JP, Editores (2009): cGMP: Generators, Effectors and therapeutic implications. *Handbook of Experimental Pharmacology* Vol. 191
- 50 Stasch JP, Becker EM, Alonso-Alija C y col., (2001): NO-independent regulatory site on soluble guanylate cyclase. *Nature* 410: 212-215

REIVINDICACIONES

1. Uso de un estimulador o activador de la GCs seleccionados del grupo que comprende 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidindiamina (1), 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidinamina (2), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4), 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a), sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6), 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolina-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7) y/o ácido 4-((4-carboxibutil)[2-(2-{[4-(2-feniletil) bencil]oxi}fenil)etil]amino)metil)benzoico (5), ácido 1-{6-[5-cloro-2-(4-trans-4-}trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi}fenil]piridin-2-il]-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8), ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil]piridin-2-il]-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), ácido 1-((2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il]metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-((2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il]metil)benzoico (12), ácido 1-((2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il]metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 de un estimulador de la GCs seleccionado del grupo que comprende metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4), 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).
3. Uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2 de metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).
4. Uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2 de 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).
5. Formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4, para su uso en pacientes que sufren fibrosis quística (FQ).
6. Combinación de al menos un estimulador o activador de la GCs seleccionados del grupo que comprende 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-morfolinil)-4,6-pirimidin-diamina (1), 2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-(4-piridinil)-4-pirimidin-diamina (2), metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3), y metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil-carbamato (4), 3-(4-amino-5-ciclopropilpirimidin-2-il)-1-(2-fluorobencil)1H-pirazolo[3,4-b]piridina (4a), y sal de sodio de 5-cloro-2-(5-clorotiofen-2-sulfonilamino-N-(4-(morfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (6), 2-(4-cloro-fenilsulfonilamino)-4,5-dimetoxi-N-(4-(tiomorfolin-4-sulfonil)-fenil)-benzamida (7), y/o ácido 4-((4-carboxibutil)[2-(2-{[4-(2-feniletil)bencil]oxi}fenil)etil]amino)metil)benzoico (5), ácido 1-{6-[5-cloro-2-(4-[trans-4-(trifluorometil)ciclohexil]bencil]oxi}fenil]piridin-2-il]-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (8), ácido 1-[6-(2-(2-metil-4-(4-trifluorometoxifenil)benciloxi)-fenil]piridin-2-il]-5-trifluorometil-pirazol-4-carboxílico (9), ácido 1-[6-(3,4-diclorofenil)-2-piridinil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (10), ácido 1-((2-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il]metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (11), ácido 4-((2-[3-(trifluorometil)fenil]-1,3-tiazol-4-il]metil)benzoico (12), ácido 1-((2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-5-metil-1,3-tiazol-4-il]metil)-1H-pirazol-4-carboxílico (13), con un inhibidor de la PDE5 seleccionado del grupo que comprende Vardenafilo, Sildenafil, Tadalafilo, Udenafilo, Dasantafilo, Avanafilo, Mirodenafilo, Lodenafilo, UK 369.003, UK 371.800, SLx 2101 y LAS 34179 en el que la combinación comprende de 0,01 a 10 mg del estimulador o activador de la GCs y de 2,5 a 20 mg del inhibidor de la PDE5.
7. Combinación de acuerdo con la reivindicación 6 en la que el estimulador de la GCs es metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinil(metil)carbamato (3) o metil-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobencil)-1H-pirazolo[3,4-b]piridin-3-il]-5-pirimidinilcarbamato (4).
8. Combinación de acuerdo con las reivindicaciones 6 y 7, en la que el inhibidor de la PDE5 es Vardenafilo o Sildenafil.
9. Combinación de acuerdo con las reivindicaciones 6 a 8, para su uso como medicamento.
10. Uso de la combinación de acuerdo con las reivindicaciones 6 a 9 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis quística (FQ).
11. Combinación de acuerdo con las reivindicaciones 6 a 9 para su uso en pacientes que sufren fibrosis quística (FQ).
12. Formulación farmacéutica que comprende al menos una combinación de acuerdo con las reivindicaciones 6 a 8.