

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 177**

51 Int. Cl.:

A01N 47/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.06.2012 PCT/US2012/044372**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2013 WO13003444**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.06.2012 E 12803924 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017 EP 2723176**

54 Título: **Dipéptido química y metabólicamente estable que presenta una potente actividad bloqueadora de los canales de sodio**

30 Prioridad:

27.06.2011 US 201161501524 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.09.2017

73 Titular/es:

**PARION SCIENCES, INC. (100.0%)
2800 Meridian Parkway Suite 195
Durham, NC 27713, US**

72 Inventor/es:

JOHNSON, MICHAEL, ROSS

74 Agente/Representante:

POLO FLORES, Carlos

ES 2 633 177 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

Dipéptido química y metabólicamente estable que presenta una potente actividad bloqueadora de los canales de sodio

5

Campo de la invención

La presente descripción se refiere a un bloqueador de los canales de sodio epiteliales 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-

- 10 (4-((S)-3-(dimetilamino)-4-((S)-1-(dimetilamino)-6-guanidino-1-oxohexano-2-ilamino)-4-oxobutil)fenil)butil)carbamimidoil)pirazina-2-carboxamida (I). La presente descripción también incluye varios procedimientos de tratamiento utilizando este novedoso bloqueador de los canales de sodio. La presente descripción también se refiere a nuevos compuestos para el tratamiento del ojo seco, incluyendo particularmente 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-((S)-3-(dimetilamino)-4-((S)-1-(dimetilamino)-6-guanidino-1-oxohexano-2-ilamino)-4-oxobutil)fenil)butil)carbamimidoil)pirazina-2-carboxamida (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables, útiles como
- 15 bloqueadores de los canales de sodio, composiciones que contienen el mismo, procedimientos terapéuticos y usos para el mismo y procesos para la elaboración del mismo.

Descripción de los antecedentes

- 20 Las superficies mucosas en la interconexión entre el ambiente y el cuerpo han desarrollado varias “defensas innatas”, es decir, mecanismos de protección. Una forma importante de dicha defensa innata es limpiar esas superficies con líquido. Generalmente, la cantidad de la capa líquida en una superficie mucosa refleja el equilibrio entre la secreción del líquido epitelial, reflejando frecuentemente la secreción de anión (Cl⁻ y/o HCO₃⁻) junto con agua (y un contraión catión), y la absorción del líquido epitelial, reflejando frecuentemente la absorción de Na⁺, junto
- 25 con agua y contraanión (Cl⁻ y/o HCO₃⁻). Muchas enfermedades de las mucosas nasales están provocadas por la escasez de líquido protector en esas superficies mucosas que se crea por el desequilibrio entre la secreción (muy poca) y la absorción (relativamente demasiado). Los procesos defectuosos de transporte de sales que caracterizan estas disfunciones de las mucosas residen en la capa epitelial de la superficie mucosa.
- 30 Un enfoque para reponer la capa líquida protectora en las superficies mucosas es “re-equilibrar” el sistema mediante el bloqueo de los canales de Na⁺ y la absorción de líquido. La proteína epitelial que media la etapa limitante de la tasa de absorción de Na⁺ y de líquido es el canal de sodio (ENaC, por sus siglas en inglés). El ENaC está situado en la superficie apical del epitelio, es decir, la interconexión entre la superficie de la mucosa y el ambiente. Por consiguiente, para inhibir la absorción de Na⁺ y de líquido mediado por los ENaC, un bloqueador del tipo amilorida
- 35 (que bloquea desde el dominio extracelular de los ENaC) se debe llevar a la superficie de la mucosa y, muy importante, mantenerse en ese lugar, para conseguir una utilidad terapéutica. La presente descripción describe enfermedades caracterizadas por la escasez de líquido en las superficies mucosas y bloqueadores “tópicos” de los canales de sodio diseñados para mostrar un aumento de la potencia, reducción de la absorción en las mucosas, y una lenta separación (“desunión” o desprendimiento) de los ENaC necesarios para terapias utilizadas en estas
- 40 enfermedades.

Las enfermedades pulmonares obstructivas crónicas se caracterizan por la deshidratación de las superficies de las vías respiratorias y la retención de secreciones mucosas en los pulmones. Los ejemplos de estas enfermedades incluyen fibrosis quística, bronquitis crónica y discinesia ciliar primaria o secundaria. Estas enfermedades afectan

45 aproximadamente a 15 millones de pacientes en los Estados Unidos y son la sexta causa principal de muerte. Otras enfermedades de las vías respiratorias o pulmonares se caracterizan por la acumulación de secreciones mucosas retenidas incluyen sinusitis (inflamación de los senos paranasales asociada a una infección de las vías respiratorias altas) y neumonía.

- 50 La bronquitis crónica (BC), incluyendo la forma genética letal más común de bronquitis crónica, la fibrosis quística (FQ) son enfermedades que reflejan el fallo del cuerpo para aclarar la mucosidad en los pulmones, lo que finalmente produce una infección crónica de las vías respiratorias. En un pulmón normal, la principal defensa contra las infecciones intrapulmonares crónicas de las vías respiratorias (bronquitis crónica) está mediada por el aclaramiento continuo de mucosidad de las superficies bronquiales de las vías respiratorias. Esta función, en un estado sano,
- 55 elimina eficazmente de los pulmones toxinas y patógenos potencialmente nocivos. Estudios recientes indican que el problema inicial, es decir, el “defecto básico”, tanto en la BC como en la FQ, es la incapacidad para aclarar la mucosidad de las superficies de las vías respiratorias. La incapacidad para aclarar la mucosidad refleja un desequilibrio entre la cantidad de líquido y mucina en las superficies de las vías respiratorias. Este “líquido de las superficies de las vías respiratorias” (ASL, de sus siglas en inglés) está compuesto principalmente de sal y agua en
- 60 proporciones similares a las plasma (es decir, isotónico). Las macromoléculas de mucina se organizan en una “capa

mucosa” bien definida que normalmente atrapa las bacterias inhaladas y se transportan al exterior del pulmón a través de las acciones de los cilios que baten en una solución acuosa de baja viscosidad denominada “líquido periciliar” (LPC). En el estado patológico, existe un desequilibrio entre las cantidades de mucosidad y ASL en las superficies de las vías respiratorias. Esto provoca una reducción relativa de ASL que conduce a la concentración de la mucosidad, reducción de la actividad del lubricante del LPC y el fallo para aclarar la mucosidad a través de la actividad ciliar hacia la boca. La reducción del aclaramiento mecánico de mucosidad en los pulmones conduce a una colonización bacteriana crónica de mucosidad adherida a las vías respiratorias. Es la retención crónica de bacterias, el fallo crónico por parte de sustancias antimicrobianas locales de aclarar las bacterias atrapadas en la mucosidad, y las respuestas inflamatorias crónicas consecuentes del cuerpo a este tipo de infecciones en las superficies, lo que conduce a los trastornos de BC y FQ.

Actualmente, la población afectada en los EE.UU. es de 12.000.000 de pacientes que padecen una forma adquirida (principalmente debido a la exposición al humo del tabaco) de bronquitis crónica y aproximadamente 30.000 pacientes con la forma genética, fibrosis quística. Aproximadamente los mismos números en ambas poblaciones están presentes en Europa. En Asia, existe poca FQ pero la incidencia de BC es elevada y, como en el resto del mundo, está aumentando.

Actualmente existe una gran necesidad no cubierta de productos que específicamente traten la BC y la FQ a nivel del defecto básico que provocan estas enfermedades. Las terapias actuales para la bronquitis crónica y la fibrosis quística se centran en el tratamiento de los síntomas y/o los efectos secundarios de estas enfermedades. Por consiguiente, para la bronquitis crónica, los agonistas- β , los esteroides inhalados, los agentes anticolinérgicos y teofilinas por vía oral e los inhibidores de la fosfodiesterasa están todos en proceso de desarrollo. Sin embargo, ninguno de estos fármacos trata de manera eficaz el problema fundamental del fallo para aclarar la mucosidad en los pulmones. De forma similar, en la fibrosis quística, se utiliza el mismo espectro de fármacos. Estas estrategias se han complementado con estrategias más recientes diseñadas para aclarar el pulmón con FQ del ADN (“Pulmozyme”; Genentech) que se ha depositado en el pulmón por los neutrófilos que han intentado inútilmente matar la bacteria que crece en las masas de mucosidad adherida y a través del uso de antibióticos inhalados (“TOBI”) diseñados para aumentar los mecanismos de aclaramiento propios de los pulmones y deshacerse de las placas de mucosidad adherente de las bacterias. Un principio general del cuerpo es que, si la lesión inicial no se trata, en este caso la retención/obstrucción de mucosidad, las infecciones bacterianas se vuelven crónicas y cada vez más refractarias a las terapias antimicrobianas. Por consiguiente, la gran necesidad no cubierta de terapias para las enfermedades pulmonares tanto BC como FQ es un medio eficaz de rehidratación de la mucosidad en las vías respiratorias (es decir, restablecimiento/ampliación del volumen de ASL) y promover su aclaramiento, junto a la bacteria, de los pulmones.

R. C. Boucher, en el documento U.S. 6.264.975, describe la utilización de piracinoilguanidinas como bloqueadores de los canales de sodio para la hidratación de las superficies mucosas. Estos compuestos, clasificados como los bien conocidos diuréticos amilorida, benzamilo y fenamilo, son eficaces. Sin embargo, estos compuestos presentan el inconveniente significativo que son (1) relativamente poco potentes, lo cual es importante ya que la cantidad de fármaco que los pulmones pueden inhalar es limitada; (2) se absorben rápidamente, lo cual limita la vida media del fármaco en la superficie mucosa; y (3) se pueden disociar libremente del ENaC. La suma de estos inconvenientes representados en estos diuréticos bien conocidos produce compuestos con una potencia y/o una vida media eficaz insuficiente en las superficies mucosas para presentar beneficios terapéuticos de hidratación de las superficies mucosas.

R. C. Boucher, en la patente U.S. No. 6.926.911, recomienda el uso de bloqueadores de los canales de sodio relativamente poco potentes, como amilorida, con osmolitos para el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias. Esta combinación no proporciona ventajas prácticas sobre ningún tratamiento único y no es clínicamente útil, ver Donaldson et. al., N. Eng. J. Med., 2006; 353:241-250. Se descubrió que la amilorida bloqueaba la permeabilidad al agua de las vías respiratorias y anulaba el beneficio potencial de la utilización simultánea de solución salina hipertónica y amilorida.

La patente U.S. No. 5.817.028 de Anderson describe un procedimiento de provocación del estrechamiento de las vías respiratorias (para evaluar la susceptibilidad al asma) y/o la inducción de esputo en sujetos a través de la inhalación de manitol. Se cree que la misma técnica se puede utilizar para inducir esputo y promover el aclaramiento mucociliar. Las sustancias recomendadas incluyen cloruro sódico, cloruro potásico, manitol y glucosa.

Claramente, lo que se necesita son fármacos que sean más eficaces a la hora de restablecer el aclaramiento de la mucosidad en los pulmones de pacientes con BC/FQ. El valor de estas nuevas terapias se reflejará en mejoras en la calidad de vida y la durabilidad tanto de las poblaciones con BC como las poblaciones con FQ.

Otras superficies mucosas en el cuerpo presentan ligeras diferencias en la fisiología normal de los líquidos protectores de las superficies en sus superficies, pero la fisiopatología de la enfermedad refleja un tema recurrente, es decir, escasez del líquido protector de las superficies. Por ejemplo, en la xerostomía (boca seca) la cavidad bucal está mermada de líquido debido a un fallo de las glándulas parótida sublingual y submandibular para secretar líquido a pesar de la absorción de líquido mediado por el transporte de Na^+ (ENaC) de la cavidad bucal.

De forma similar, la queratoconjuntivitis sira (ojo seco) está provocada por el fallo de las glándulas lacrimales a la hora de secretar líquido para hacer frente a la absorción continua de líquido dependiente de Na^+ en las superficies conjuntivas. La queratoconjuntivitis sicca (QS) o enfermedad crónica del ojo seco (EOS) es una de las enfermedades oculares diagnosticadas más frecuentemente y que tiene como resultado una irritación dolorosa, inflamación de la superficie ocular y disminución de la visión. La QS/EOS es el resultado de un fluido lacrimal acuoso inadecuado en los ojos. El ojo seco es una de las enfermedades oculares más frecuentemente diagnosticadas y afecta a más de 5 millones de personas solamente en los EE.UU. El ojo seco es una enfermedad multifactorial resultado de la etiología común de una película lacrimal insuficiente que provoca daños en la superficie ocular y síntomas de incomodidad ocular. Las pocas terapias existentes actualmente, que incluyen agentes inmunodepresores y lagrimales artificiales que se adquieren sin receta, no son lo suficientemente eficaces para muchos pacientes y sólo proporcionan un alivio transitorio de los síntomas del ojo seco. Por consiguiente, el desarrollo de nuevos agentes para el tratamiento del ojo seco supondría un gran beneficio en el ámbito terapéutico. El volumen de película lacrimal en la superficie ocular representa un equilibrio entre la liberación de fluido lacrimal y la pérdida de fluido debido al drenaje, evaporación o absorción epitelial. Al igual que otros tejidos epiteliales, el epitelio de la conjuntiva y la córnea son capaces de regular el estado de hidratación de la superficie mucosa mediante el transporte de sal activa y agua. El canal de sodio epitelial (ENaC) es un regulador clave de la absorción de sodio (y agua) en numerosos tejidos incluidos los ojos. Con la inhibición del ENaC en el ojo se espera conservar las secreciones lacrimales y mantener la hidratación de la superficie ocular.

En la rinosinusitis, existe un desequilibrio, como en la BC, entre la secreción de mucina y una relativa disminución de ASL. Finalmente, en el tracto gastrointestinal, el fallo en la secreción de Cl^- (y líquido) en el intestino delgado proximal, combinado con un aumento de absorción de Na^+ (y líquido) en el íleon terminal conduce al síndrome de obstrucción intestinal distal (DIOS). En pacientes ancianos una absorción excesiva de Na^+ (y volumen) en el colon descendiente produce estreñimiento y diverticulitis.

La bibliografía publicada incluye varias solicitudes de patente y patentes concedidas a Parion Sciences Inc., dirigidas hacia los análogos de la piracinoilguanidina como bloqueadores de los canales de sodio. Ejemplos de estas publicaciones incluyen las Publicaciones de patentes según PCT Nos. WO2003/070182, WO2003/070184, WO2004/073629, WO2005/025496, WO2005/016879, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2006/023573, WO2006/023617, WO2007/018640, WO2007/146869, WO2008/031028, WO2008/031048, y las Patentes US Nos. 6858614, 6858615, 6903105, 7064129, 7186833, 7189719, 7192958, 7192959, 7192960, 7241766, 7247636, 7247637, 7317013, 7332496, 7368447, 7368450, 7368451, 7375102, 7388013, 7399766, 7410968, 7807834, 7842697 y 7868010.

Todavía existe la necesidad de nuevos compuestos bloqueadores de los canales de sodio en los tejidos mucosos con una potencia y una eficacia mejoradas. También existe todavía la necesidad de compuestos bloqueadores de los canales de sodio que proporcionen un efecto terapéutico pero que minimicen o eliminen el inicio o el avance de hiperpotasemia en los pacientes que los reciben.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

El objetivo de la presente invención está definido en el presente documento mediante las reivindicaciones 1 a 21.

Un objetivo de la presente descripción es describir un compuesto que es estable en formulaciones líquidas adecuado para su administración tópica.

Un objetivo de la presente descripción es describir un compuesto que es más potente *in vivo* y/o absorbido menos rápidamente por las superficies mucosas, y/o es menos reversible en comparación con los compuestos conocidos como amilorida, benzamilo y fenamilo.

Otro objetivo de la presente descripción es describir compuestos que son (1) absorbidos menos rápidamente por las superficies mucosas, especialmente las superficies de las vías respiratorias, en comparación con los compuestos conocidos y; (2) cuando es absorbido por las superficies mucosas después de su administración a superficies

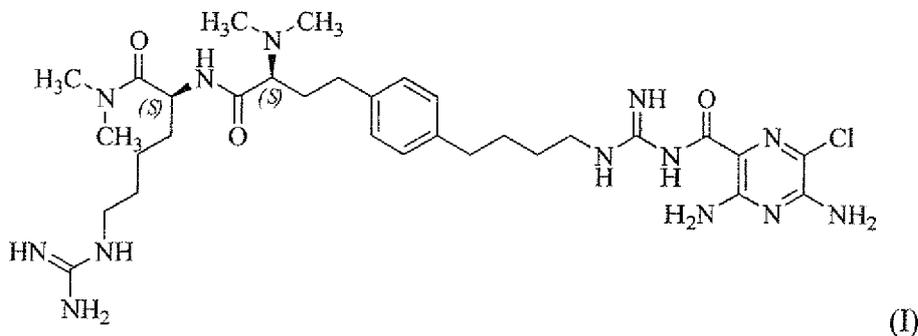
mucosas, no son absorbidos renalmente en gran cantidad de forma que evitan los efectos secundarios renales como la hiperpotasemia.

Otro objetivo de la presente descripción es describir procedimientos para el tratamiento que aprovechen las propiedades farmacológicas de los compuestos descritos anteriormente.

En particular, es un objetivo de la presente descripción describir procedimientos para el tratamiento que dependan de la rehidratación de las superficies mucosas.

En particular, es un objetivo de la presente descripción describir procedimientos para el tratamiento del ojo seco y enfermedades oculares relacionadas.

Los objetivos de la presente descripción se pueden conseguir con una piracinoilguanidina representada por el compuesto de la fórmula (I):



15

La presente descripción también describe unas composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto descrito en el presente documento.

20 La presente descripción también describe un procedimiento para promover la hidratación de las superficies mucosas, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en una superficie mucosa de un sujeto.

25

La presente descripción también describe un procedimiento para restaurar la defensa de la mucosa, que comprende:

la administración por vía tópica de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en una superficie mucosa de un sujeto que lo necesite.

30

La presente descripción también describe un procedimiento para bloquear el ENaC, que comprende:

el contacto de los canales de sodio con una cantidad eficaz del compuesto I representado por la descripción en el presente documento.

35

La presente descripción también describe un procedimiento para promover el aclaramiento de mucosidad en las superficies mucosas, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en una superficie mucosa de un sujeto.

40

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la bronquitis crónica, que comprende:

45 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la fibrosis quística, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

5 La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la rinosinusitis, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

10 La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la deshidratación nasal, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en las vías nasales de un sujeto que lo necesite.

15

En una forma de realización específica, la deshidratación nasal está causada por la administración de oxígeno seco al sujeto.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la sinusitis, que comprende:

20

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la neumonía, que comprende:

25

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la neumonía asociada a la ventilación mecánica, que comprende:

30

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto mediante un sistema de ventilación.

35 La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento del asma, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

40 La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la discinesia ciliar primaria, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

45

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la otitis media, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

50

La presente descripción también describe un procedimiento para inducir el esputo con fines de diagnóstico, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

55

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que comprende:

60 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo

necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento del enfisema, que comprende:

- 5 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento del ojo seco, que comprende:

- 10 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en el ojo de un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para promover la hidratación ocular, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en el ojo del sujeto.

15

La presente descripción también describe un procedimiento para promover la hidratación de la córnea, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en el ojo del sujeto.

20

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento del Síndrome de Sjögren, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

25

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de sequedad vaginal, que comprende:

- 30 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en el tracto vaginal de un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la piel seca, que comprende:

- 35 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en la piel de un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la boca seca (xerostomía), que comprende:

40

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en la boca de un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, que comprende:

45

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

- 50 La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la esofagitis, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

- 55 La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la bronquiectasia, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

60

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento del estreñimiento, que comprende:

la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite. En una forma de realización de este procedimiento, el compuesto se administra bien por vía oral o como
5 supositorio o enema.

La presente descripción también describe un procedimiento para el tratamiento de la diverticulitis crónica, que comprende:

10 la administración de una cantidad eficaz del compuesto I descrito en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

La presente descripción también describe tratamientos que utilizan el bloqueador de los canales de sodio cuando se administran con un potenciador osmótico. Por consiguiente, un bloqueador de los canales de sodio como el de la Fórmula I, cuando se utiliza junto con osmolitos proporcionará una vida media farmacodinámica prolongada en las
15 superficies mucosas en comparación con otro compuesto utilizado por separado.

La presente descripción también describe tratamientos que utilizan el bloqueador de los canales de sodio de la Fórmula (I) y osmolitos conjuntamente que son absorbidos menos rápidamente por las superficies mucosas, especialmente las superficies de las vías respiratorias.

20 La presente descripción también describe composiciones que contienen un bloqueador de los canales de sodio de la Fórmula (I) y osmolitos.

Los objetivos de la descripción se pueden conseguir con un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad mejorado mediante el aumento del aclaramiento mucociliar y la hidratación de las mucosas que comprende la
25 administración de una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula (I) definida en el presente documento y un osmolito en un sujeto que requiera un aumento del aclaramiento mucociliar y la hidratación de las mucosas.

Los objetivos de la descripción también se pueden conseguir con un procedimiento para inducir el esputo con fines de diagnóstico, que comprende la administración de una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula (I) definida en el presente documento y un osmolito en un sujeto que lo necesite.

Los objetivos de la descripción también se pueden conseguir con un procedimiento para el tratamiento contra el ántrax, que comprende la administración de una cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula (I) definida en el presente documento y un osmolito en un sujeto que lo necesite.

Los objetivos de la descripción también se pueden conseguir con un procedimiento de tratamiento de profilaxis, profilaxis post-exposición, preventiva o terapéutica contra enfermedades o estados provocados por patógenos, particularmente patógenos que pueden ser utilizados en bioterrorismo, que comprenden la administración de una
40 cantidad eficaz del compuesto de la Fórmula (I) definida en el presente documento en un sujeto que lo necesite.

Los objetivos de la descripción también se pueden conseguir con una composición, que comprende el compuesto de la Fórmula (I) definido en el presente documento y un compuesto osmóticamente activo.

45 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: curva dosis respuesta de la inhibición de ENaC con P-1046 (I) y amilorida. La potencia de P-1046 en comparación con la amilorida se generó en estudios en cámara Ussing utilizando cultivos primarios de células epiteliales bronquiales caninas. La P-1046 es más de 100 veces más potente que la amilorida tal como indica el
50 cambio hacia la izquierda de la curva de respuesta a la dosis.

Figura 2: Los efectos de P-1046 (Fórmula I, 15) concentración en la producción de lágrimas en ratas ExLac. Los valores de partida PRT de producción de lágrimas se muestran en el panel izquierdo y los valores corregidos con los valores de referencia se muestran en el panel derecho. En todas las concentraciones, P-1046 aumentó la producción de lágrimas en ratas ExLac 15 minutos post-dosis o ligeramente por debajo de los valores de producción de lágrimas observados en las ratas normales. Los efectos todavía se observaban 2 horas después de la dosis, con la excepción del grupo de dosis de 0,1 mM. En todos los grupos n=4.

Figura 3: El aclaramiento de P-1046 (Fórmula I, 15) de la superficie ocular. La concentración de P-1046 se determinó utilizando los procedimientos descritos anteriormente mediante la determinación de la masa de P-1046 extraída de cada hebra y determinando la concentración basada en el volumen de fluido introducido en la hebra. Para todas las
60 concentraciones ensayadas, P-1046 muestra un aclaramiento bifásico evidente, a través del cual la mayoría de

fármacos son aclarados de la superficie ocular en 30 minutos post-dosis, seguido por una fase de aclaramiento lento desde 30 a 120 minutos post-dosis. Cabe destacar que la concentración de P-1046 durante la fase de aclaramiento lento para la concentración ≥ 1 mM se sitúa bien por encima de la CI50 para P-1046 (5,3 nM), por lo que proporciona un aumento duradero en el volumen de las lágrimas.

5 Figura 4: Figura 4. Los efectos de P-1046 10 mM (Fórmula I, 15) en la producción de lágrimas en ratas ExLac. Los valores de partida PRT de producción de lágrimas se muestran en el panel izquierdo y los valores corregidos con los valores de referencia se muestran en el panel derecho. Una sola dosis de 10 mM de P-1046 produjo un aumento de volumen de lágrimas en relación a los controles de vehículo. Mientras los datos de producción cruda de lágrimas no son significativos más allá de los 60 minutos (reflejando los valores de referencias superiores para los animales control en relación con los animales tratados con P-1046), los datos corregidos con los valores de referencia son estadísticamente significativos en todos los tiempos post-dosis ($p < 0,03$). En ambos grupos $n=3$.

10 Figura 5: Análisis HPLC de P-1046 (Fórmula I, 15), solubilidad/estabilidad de las muestras a Día 1 y al día 10. No se observó degradación de P-1046 después de 10 días a 50°C a pH 4,2 en tampón citrato con NaCl al 2,8%. P-1046 es totalmente soluble en este tampón a la mayor concentración probada 8,8 mg/ml.

15 Figura 6: Resumen de la tolerancia ocular de P-1046. (A) La puntuación acumulativa de Draize para cada grupo de dosis y para cada intervalo de dosificación (los datos son la suma de todas las puntuaciones de la escala de Draize para el ojo derecho). Ambos regímenes de dosis para P-1046 muestran sólo aumentos ligeros en la escala de Draize que no son mayores que los observados en los animales tratados con vehículo. Por comparación, un compuesto identificado como irritante en el mismo estudio se muestra en amarillo. (B) La tasa de parpadeo media para cada grupo de dosis en cada intervalo de dosificación. Ambos regímenes de dosis para P-1046 muestran sólo aumentos ligeros en algunos tiempos, de forma similar a los animales tratados con vehículo. Estos datos sugieren que P-1046 a 10 y 30 mM no provoca escozor en el momento de la instalación.

20 Figura 7: Niveles plasmáticos de P-1046 después de la dosis ocular. (A) Los niveles plasmáticos de los animales individuales durante y después de 8 dosis de P-1046 10 mM (50 ul/dosis). (B) Los niveles plasmáticos de animales individuales durante y después de 4 dosis de P-1046 30 mM (50 ul/dosis).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVECIÓN

La presente descripción se basa en el descubrimiento de que el compuesto de la Fórmula (I) es más potente y/o es absorbido menos rápidamente por las superficies mucosas, especialmente las superficies de las vías respiratorias, en comparación con los bloqueadores de los canales de sodio conocidos, como amilorida, benzamilo y fenamilo. Por consiguiente, el compuesto de la Fórmula (I) presenta una vida media más larga en las superficies de las mucosas en comparación con estos compuestos.

35 La presente descripción se basa también en el descubrimiento de que algunos compuestos englobados en la Fórmula (I) son (1) absorbidos menos rápidamente por las superficies mucosas, especialmente las superficies oculares en comparación con compuestos conocidos y (2) cuando son absorbidos por las superficies mucosas después de su administración en las superficies mucosas, son excretados principalmente de forma no renal para minimizar las posibilidades de hiperpotasemia.

40 La presente descripción se basa también en el descubrimiento de que algunos compuestos englobados en la Fórmula (I) proporcionan procedimientos para el tratamiento que aprovechan las propiedades farmacológicas de los compuestos descritos anteriormente.

45 En particular, la presente descripción se basa también en el descubrimiento de que algunos compuestos englobados en la Fórmula (I) rehidratan las superficies mucosas.

En particular, la presente descripción se basa también en el descubrimiento de que algunos compuestos englobados en la Fórmula (I) son útiles para el tratamiento del ojo seco y enfermedades oculares relacionadas.

50 El Compuesto I descrito en el presente documento se puede preparar y utilizar como la base libre. Alternativamente, el compuesto se puede preparar y utilizar como una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales que retienen o mejoran la actividad biológica deseada del compuesto madre y no transmiten efectos tóxicos no deseados. Ejemplos de estas sales son (a) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares; (b) sales formadas con ácidos orgánicos como, por ejemplo, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido alginico, ácido poliglutámico, ácido naftalenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido

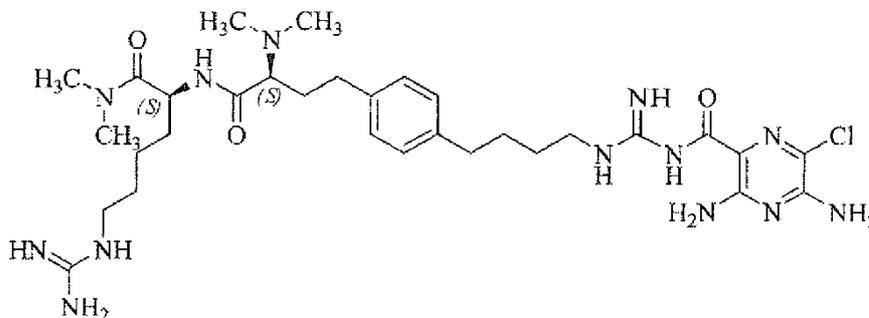
mandélico, ácido láctico y similares; y (c) sales formadas a partir de aniones elementales como por ejemplo, cloro, bromuro y yodo.

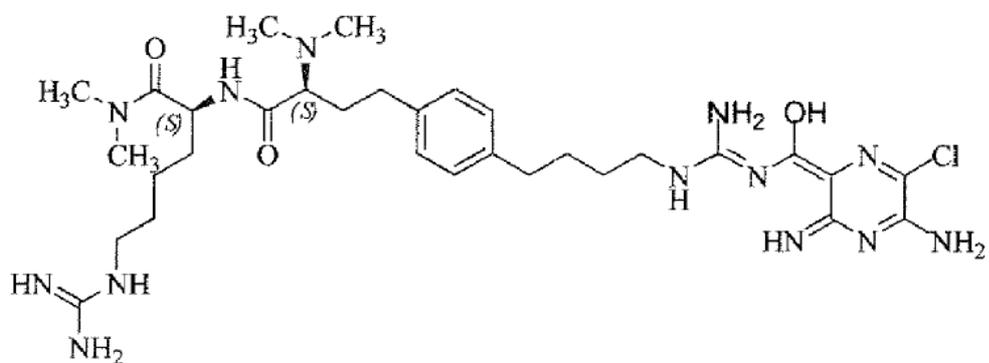
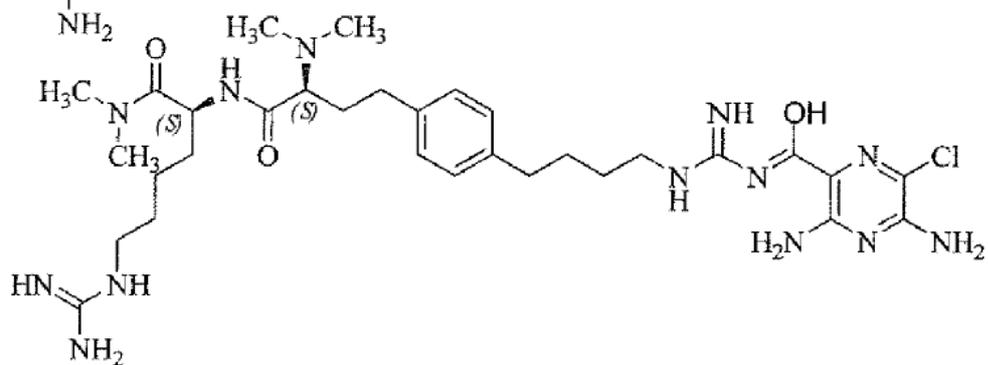
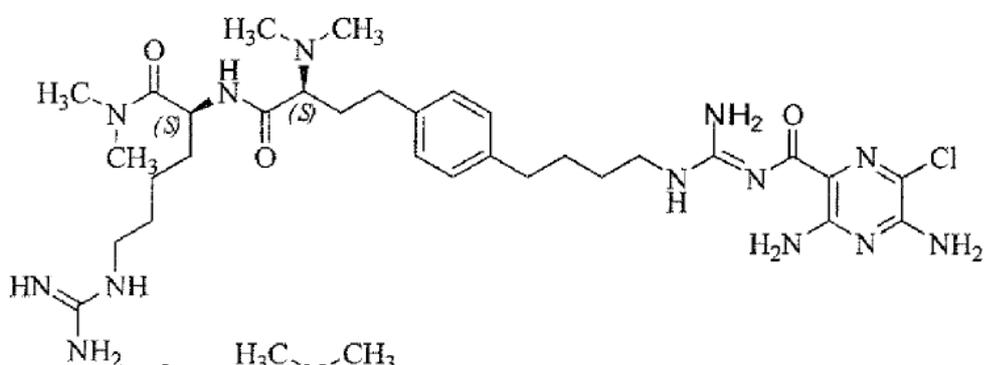
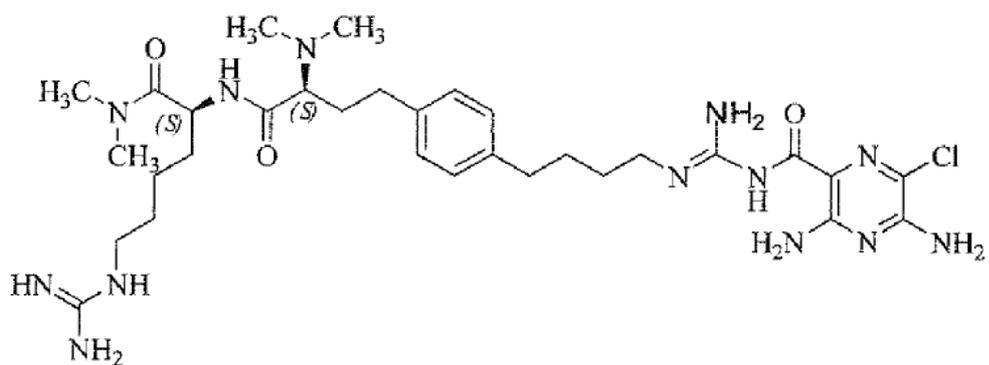
Se debe destacar que todos los enantiómeros, diastereómeros y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto dentro del alcance de la Fórmula (I) están englobados en la presente descripción. Todas las mezclas de estos enantiómeros y diastereómeros están dentro del alcance de la presente descripción.

Un compuesto de la Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir como distintos polimorfos o pseudopolimorfos. Tal y como se utiliza en el presente documento, polimorfismo cristalino significa la capacidad de un compuesto cristalino de existir en diferentes estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino puede ser el resultado de las diferencias en el empaquetamiento cristalino (polimorfismo de empaquetamiento) o diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (polimorfismo conformacional). Tal y como se utiliza en el presente documento, pseudopolimorfismo cristalino significa la capacidad de un hidrato o disolvente de un compuesto de existir en diferentes estructuras cristalinas. Los pseudopolimorfismos de la descripción presente pueden existir debido a diferencias en el empaquetamiento cristalino (pseudopolimorfismo de empaquetamiento) o debido a diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (pseudopolimorfismo conformacional). La descripción presente comprende todos los polimorfismos y pseudopolimorfismos de los compuestos de la Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Un compuesto de la Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables puede existir como un sólido amorfo. Tal y como se utiliza en el presente documento, un sólido amorfo es un sólido en el que no existe un orden de largo alcance de las posiciones de los átomos en el sólido. Esta definición se aplica también cuando el tamaño del cristal es de dos nanómetros o inferior. Los aditivos, incluyendo disolventes, se pueden utilizar para crear las formas amorfas de la descripción presente. La descripción presente comprende todas las formas amorfas de los compuestos de la Fórmula I-III y sus sales farmacéuticamente aceptables.

El compuesto de la Fórmula I puede existir en diferentes formas tautoméricas. Un experto en la técnica sabe que las guanidinas pueden existir en formas tautoméricas. A modo de ejemplo y sin que sirva de limitación, los compuestos de la Fórmula I pueden existir en varias formas tautoméricas tal y como se muestra a continuación:





Todas las formas tautoméricas posibles de las guanidinas y guanidinas de acilo y todas las formas de realización de la Fórmula I están dentro del alcance de la descripción presente.

Los "enantiómeros" se refieren a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superpuestas el uno del otro.

Las definiciones estereoquímicas y normas utilizadas en el presente documento generalmente siguen el S.P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; y Eliel, E. Y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, presentan la capacidad de hacer girar el plano de la luz polarizada. En la descripción de un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S se utilizan para indicar la configuración absoluta de la molécula sobre su centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l, D y L, o (+) y (-) se utilizan para designar el signo de rotación del plano de la luz polarizada por el compuesto, en el caso de S, (-) o 1 significa que el compuesto es levo-rotatorio mientras que un compuesto con un prefijo R, (+) o d es dextro-rotatorio. Para una estructura química determinada, estos estereoisómeros son idénticos excepto que son imágenes especulares el uno del otro. Un estereoisómero específico también se puede denominar enantiómero, y a la mezcla de estos isómeros se la denomina frecuentemente una mezcla enantiomérica. A una mezcla de enantiómeros al 50:50 se la denomina mezcla racémica o un racemato, que puede ocurrir cuando no ha habido estereoselectividad o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovista de actividad óptica.

Un solo estereoisómero, por ejemplo, un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero se puede obtener mediante la resolución de la mezcla racémica utilizando un procedimiento como el de la formación de diastereómeros utilizando agentes de resolución ópticamente activos ("Stereochemistry of Carbon Compounds", (1962) por E.L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C.H. (1975) J. Chromatogr., 113:(3) 283-302). Las mezclas racémicas de los compuestos quirales de la descripción se pueden separar y aislar mediante cualquier procedimiento adecuado, incluyendo: (1) la formación de sales diastereoméricas iónicas con compuestos quirales y la separación mediante cristalización fraccional u otros procedimientos, (2) la formación de compuestos diastereoméricos con reactivos quirales de derivación, separación de los diastereómeros y conversión en estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente bajo condiciones quirales.

El término "diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares de otro. Los diastereómeros presentan diferentes propiedades físicas, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros se pueden separar mediante procedimientos analíticos de alta resolución como electroforesis y cromatografía.

Sin limitarnos a una teoría en particular, se cree que el compuesto de la Fórmula (I) *in vivo* como bloqueadores de los canales de sodio. Mediante el bloqueo de los canales epiteliales de sodio presentes en las superficies mucosas los compuestos de la Fórmula (I) reducen la absorción de agua por parte de las superficies mucosas. Este efecto aumenta el volumen de los líquidos protectores en las superficies mucosas, reequilibra el sistema y, por consiguiente, trata la enfermedad.

La presente descripción también describe procedimientos para el tratamiento que aprovechan las propiedades de los compuestos descritos en el presente documento tal como se ha comentado anteriormente. Por consiguiente, los sujetos que pueden ser tratados con los procedimientos de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a ellos, pacientes afectados de fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquiectasia, pacientes con ventilación artificial, pacientes con neumonía grave, etc. La presente invención se puede utilizar para obtener una muestra de esputo de un paciente mediante la administración de los compuestos activos en por lo menos un pulmón del paciente y, después, inducir o recoger una muestra de esputo de ese paciente. Generalmente, la invención se administrará en las superficies mucosas respiratorias mediante un vaporizador (líquido o polvos secos) o lavado.

Los sujetos que pueden ser tratados con el procedimiento de la presente descripción también incluyen pacientes a los que se les administra oxígeno por vía nasal (un tratamiento que tiende a secar las vías respiratorias); pacientes afectados por una enfermedad o respuesta alérgica (por ejemplo, una respuesta alérgica al polen, polvo, pelo animal o partículas, insectos o partículas de insectos, etc.) que afecta a las superficies nasales respiratorias; pacientes afectados por una infección bacteriana, por ejemplo, infecciones por estafilococos como las infecciones por *Staphylococcus aureus*, infecciones por *Hemophilus influenzae*, infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, etc) de las superficies vías respiratorias nasales; pacientes que padecen enfermedades inflamatorias que afectan a las superficies de las vías respiratorias nasales; o pacientes que padecen sinusitis (en la que el agente o los agentes activos se administran para promover el drenaje de secreciones mucosas congestionadas en los senos nasales mediante la administración de una cantidad eficaz para promover el drenaje

del fluido congestionado en las senos nasales), o una combinación, rinosinusitis. La invención se puede administrar en las superficies rinosenales por vía tópica, incluyendo aerosoles y gotas.

- La presente invención se puede utilizar para hidratar otras superficies de las mucosas que no sean las superficies de las vías respiratorias. Estas otras superficies de las mucosas incluyen las superficies gastrointestinales, las superficies orales, las superficies genito-uretrales, las superficies oculares o las superficies de los ojos, el oído interno y el oído medio. Por ejemplo, los compuestos activos de la presente descripción se pueden administrar mediante cualquier mecanismo adecuado, incluyendo por vía local/tópica, oral o rectal, en una cantidad eficaz.
- 10 La presente descripción se refiere principalmente al tratamiento de personas, pero también se puede utilizar para el tratamiento de otros mamíferos, como perros y gatos, con fines veterinarios.

Tal y como se ha indicado anteriormente, los compuestos utilizados para preparar las composiciones de la presente descripción pueden estar en la forma de una base libre farmacéuticamente aceptable. Como la base libre del compuesto es generalmente menos soluble en soluciones acuosas que la sal, las composiciones de base libre se utilizan para proporcionar una liberación más sostenida del agente activo en los pulmones. Un agente activo presente en los pulmones en forma de partículas que no se ha disuelto en una solución no es capaz de inducir una respuesta fisiológica, pero sirve como depósito del fármaco biodisponible que se disuelve gradualmente en la solución.

20 La presente descripción también describe una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de la Fórmula (I) en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, un vehículo en solución acuosa). Generalmente, el compuesto de la Fórmula (I) está incluido en la composición en una cantidad eficaz para inhibir la reabsorción de agua por parte de las superficies mucosas.

25 Sin limitarnos a una teoría en particular, se cree que los bloqueadores de los canales de sodio de la presente invención bloquean los canales epiteliales de sodio presentes en las superficies mucosas. El bloqueador de los canales de sodio descrito en el presente documento reduce la absorción de sal y agua por parte de las superficies mucosas. Este efecto aumenta el volumen de los líquidos protectores en las superficies mucosas, reequilibra el sistema y, por consiguiente, trata la enfermedad. Este efecto aumenta cuando se utiliza en combinación con osmolitos.

35 Los compuestos de la Fórmula (I) también se pueden utilizar conjuntamente con osmolitos y así hacer disminuir la dosis del compuesto necesaria para hidratar las superficies mucosas. Esta propiedad importante significa que el compuesto presentará una menor tendencia a provocar efectos secundarios no deseados debido al bloqueo de los canales de sodio situados en localizaciones que no son diana en el cuerpo del receptor, por ejemplo, en los riñones cuando se utiliza en combinación con un osmolito.

40 Los osmolitos activos de la presente descripción son moléculas o compuestos que son osmóticamente activos (es decir, son "osmolitos"). Los compuestos "osmóticamente activos" de la presente descripción son impermeables a la membrana (es decir, esencialmente no absorbibles) en la superficie epitelial pulmonar o de las vías respiratorias. Los términos "superficie de las vías respiratorias" y "superficie pulmonar", tal y como se utilizan en el presente documento, incluyen superficies pulmonares de las vías respiratorias como bronquios y bronquiolos, superficies alveolares y superficies nasales y de los senos nasales. Los compuestos activos de la presente descripción pueden ser osmolitos iónicos (es decir, sales) o pueden ser osmolitos no iónicos (es decir, azúcares, alcoholes de azúcar y osmolitos orgánicos). Está específicamente previsto que ambas formas racémicas de los compuestos activos que son racémicos por naturaleza estén incluidos en el grupo de compuestos activos que son útiles en la presente descripción. Hay que destacar que todos los racematos, enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, polimorfos y pseudopolimorfos y mezclas racémicas de los compuestos osmóticamente activos están dentro del alcance de la presente descripción.

45 Los osmolitos activos útiles en la presente descripción que son osmolitos iónicos incluyen cualquier sal de un anión farmacéuticamente aceptable y de un catión farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, ninguno (o ambos) de los aniones y cationes son no absorbibles (es decir, osmóticamente activo y no sometido a un transporte activo rápido) en relación con las superficies de las vías respiratorias en las que se administra. Estos compuestos incluyen, pero no se limitan a, aniones y cationes que están contenidos en las sales comercialmente disponibles aprobadas por la FDA, ver, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II, pag. 1457 (19th Ed. 1995), y se pueden utilizar en cualquier combinación que incluye sus combinaciones convencionales.

60 Los aniones osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables que se pueden utilizar para llevar a cabo la

- presente invención incluyen, pero no se limitan a, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio, camsilato (camforsulfonato), carbonato, cloruro, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato (1,2-etanodisulfonato), estolato (lauril sulfato), esilato (1,2-etanodisulfonato), fumarato, glucoheptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato (*p*-glicolamidofenillarsonato), hexilresorcinato, hidrabramina (*N,N'*-Di(deshidroabietil)etilendiamina), hidrobromuro, hidrocloreuro, hidroxinaftoato, yodo, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, nitrito, pamoato (embonato), pantoténtato, fosfato o difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclorato (8-cloroteofilinato), trietiodida, bicarbonato, etc. Los aniones particularmente preferidos incluyen cloruro, sulfato, nitrato, gluconato, yoduro, bicarbonato, bromuro y fosfato.
- 10 Los cationes farmacéuticamente aceptables que se pueden utilizar para llevar a cabo la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, cationes orgánicos como benzatina (*N,N'*-dibenciletildiamina), cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metil D-glucamina), procaína, D-lisina, L-lisina, D-arginina, L-arginina, trietilamonio, N-metil D-glicerol y similares. Los cationes orgánicos particularmente preferidos son los cationes
- 15 orgánicos 3-carbono, 4-carbono, 5-carbono y 6-carbono. Los cationes metálicos útiles para la realización de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, zinc, hierro, amoníaco y similares. Los cationes particularmente preferidos incluyen sodio, potasio, colina, litio, meglumina, D-lisina, amoníaco, magnesio y calcio.
- 20 Los ejemplos específicos de sales osmóticamente activas que se pueden utilizar con los bloqueadores de los canales de sodio descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, cloruro sódico, cloruro potásico, cloruro de colina, yoduro de colina, cloruro de litio, cloruro de meglumina, cloruro de L-lisina, cloruro de D-lisina, cloruro de amoníaco, sulfato de potasio, nitrato de potasio, gluconato de potasio, yoduro de potasio, cloruro férrico, cloruro ferroso, bromuro de potasio, etc. Para llevar a cabo la presente descripción, se pueden utilizar tanto una sal
- 25 por separado como una combinación de diferentes sales osmóticamente activas. Se prefieren las combinaciones de diferentes sales. Cuando se utilizan diferentes sales, uno de los aniones o cationes puede ser el mismo entre las diferentes sales.
- Los compuestos osmóticamente activos de la presente descripción también incluyen osmolitos no iónicos como
- 30 azúcares, alcoholes de azúcares y osmolitos orgánicos. Los azúcares y alcoholes de azúcares útiles para la realización de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, azúcares de 3 carbonos (por ejemplo, glicerol, dihidroxiacetona); azúcares de 4 carbonos (por ejemplo, ambas formas D y L de eritrosa, treosa y eritrosa); azúcares de 5 carbonos (por ejemplo, ambas formas D y L de ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, psicosa, fructosa, sorbosa y tagatosa); y azúcares de 6 carbonos (por ejemplo, ambas formas D y L de altosa, alosa, glucosa, manosa,
- 35 gulosa, idosa, galactosa y talosa, y las formas D y L de alo-heptulosa, alo-hepulososa, gluco-heptulosa, mano-heptulosa, gulo-heptulosa, ido-heptulosa, galacto-heptulosa, talo-heptulosa). Los azúcares adicionales útiles en la realización de la presente invención incluyen rafinosa, series refinosas de oligosacáridos y estaquiosa. Ambas formas D y L de la forma reducida de cada azúcar/ alcoholes de azúcar útiles en la presente descripción también son compuestos activos dentro del alcance de la descripción. Por ejemplo, la glucosa, al reducirla, se convierte en
- 40 sorbitol; dentro del alcance de la descripción, sorbitol y otras formas reducidas de azúcar/alcoholes de azúcar (por ejemplo, manitol, dulcitol, arabitol) son por consiguiente compuestos activos de la presente descripción.
- Los compuestos osmóticamente activos de la presente descripción incluyen adicionalmente la familia de osmolitos no iónicos denominados "osmolitos orgánicos". El término "osmolitos orgánicos" se utiliza generalmente para
- 45 referirse a moléculas utilizadas para controlar la osmolaridad intracelular en los riñones. Ver, por ejemplo, J. S. Handler et al., *Comp. Biochem. Physiol.*, 117, 301-306 (1997); M. Burg, *Am. J. Physiol.* 268, F983-F996 (1995). Aunque el inventor no desea comprometerse con una teoría en particular de la descripción, parece ser que estos osmolitos orgánicos son útiles para controlar el volumen extracelular en las superficies de las vías respiratorias/pulmonares. Los osmolitos orgánicos útiles como compuestos activos en la presente descripción
- 50 incluyen, pero no se limitan a, tres grandes clases de compuestos: polioles (alcoholes polihídricos), metilaminas y aminoácidos. Los osmolitos orgánicos de poliol considerados útiles en la realización de esta descripción incluyen, pero no se limitan a, inositol, mio-inositol y sorbitol. Los osmolitos orgánicos de metilamina útiles en la realización de esta descripción incluyen, pero no se limitan a, colina, betaina, carnitina (formas L-, D- y DL), fosforilcolina, lisofosforilcolina, glicerofosforilcolina, creatina y fosfato de creatina. Los osmolitos orgánicos de aminoácidos de la
- 55 descripción incluyen, pero no se limitan a, las formas D- y L- de glicina, alanina, glutamina, glutamato, aspartato, prolina y taurina. Los osmolitos adicionales útiles en la realización de la presente descripción incluyen tihulosa y sarcosina. Se prefieren los osmolitos orgánicos de mamíferos, siendo los más preferidos los osmolitos orgánicos humanos. Sin embargo, algunos osmolitos orgánicos tiene un origen bacteriano, de levadura y de origen animal marino, y estos compuestos también son compuestos activos útiles dentro del alcance de la presente descripción.
- 60

Bajo algunas circunstancias, se puede administrar al sujeto un precursor del osmolito; por consiguiente, estos compuestos también son compuestos activos útiles en la realización de la descripción. El término "precursor del osmolito", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a un compuesto que es convertido en un osmolito mediante una etapa metabólica, tanto catabólica como anabólica. Los precursores del osmolito de esta descripción incluyen, pero no se limitan a, glucosa, polímeros de glucosa, glicerol, colina, fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina y fosfatos inorgánicos, que son precursores de polioles y metilaminas. Los precursores de osmolitos de aminoácidos dentro del alcance de esta descripción incluyen proteínas, péptidos y poliaminoácidos, que se hidrolizan para producir osmolitos de aminoácidos, y precursores metabólicos que se pueden convertir en osmolitos de aminoácidos mediante una etapa metabólica como la transaminación. Por ejemplo, un precursor del aminoácido glutamina es poli-L-glutamina, y un precursor del glutamato es el ácido poli-L-glutámico.

También están previstos dentro del alcance de esta descripción los osmolitos químicamente modificados o precursores de los osmolitos. Estas modificaciones químicas implican unir al osmolito (o precursor) un grupo químico adicional que altera o mejora el efecto del osmolito o del precursor del osmolito (por ejemplo, inhibe la degradación de la molécula del osmolito). Estas modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y son conocidas en la técnica. (Ver, por ejemplo, U. S. Pat. Nos. 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. et. al., J. Med. Chem. 19:113-117 (1976); Bodor, N. et. al., J. Pharm. Sci. 67:1045-1050 (1978); Bodor, N. et. al., J. Med. Chem. 26:313-318 (1983); Bodor, N. et. al., J. Pharm. Sci. 75:29-35 (1986).

En general, los compuestos osmóticamente activos de la presente descripción (ambos iónicos y no iónicos) que no promueven, o de hecho deterioran o retardan el crecimiento bacteriano son los preferidos.

Los compuestos de la Fórmula (I) descritos en el presente documento y los compuestos osmóticamente activos dados a conocer en el presente documento se pueden administrar en cualquier orden y/o conjuntamente en las superficies mucosas como el ojo, la nariz y las superficies de las vías respiratorias incluyendo las fosas nasales, los senos nasales y los pulmones de un sujeto mediante cualquier medio adecuado conocido en la técnica, como gotas nasales, nebulizaciones, aerosoles, cánulas nasales nocturnas continuas, etc. En una forma de realización de la descripción, los compuestos de la Fórmula (I) y los compuestos osmóticamente activos de la presente descripción se administran conjuntamente mediante un lavado transbroncoscópico. En una forma de realización preferida de la descripción, los compuestos de la Fórmula (I) y los compuestos osmóticamente activos de la presente descripción se depositan en las superficies respiratorias del pulmón mediante la administración por inhalación de un aerosol de partículas respirables que comprende los compuestos de la Fórmula (I) y los compuestos osmóticamente activos, en la que los compuestos de la Fórmula (I) pueden preceder o seguir el suministro independiente de un compuesto osmóticamente activo en un corto periodo de tiempo suficiente para que sus efectos sean aditivos. Las partículas respirables quedan ser líquidas o sólidas. Existen muchos inhaladores conocidos para la administración de las partículas en los pulmones de un sujeto. En otra forma de realización preferida de la descripción, los compuestos de la Fórmula (I) y los compuestos osmóticamente activos se pueden administrar conjuntamente tal y como se ha explicado en el presente documento.

Los compuestos de la Fórmula (I) y los compuestos osmóticamente activos de la presente descripción se administran secuencialmente (en cualquier orden) o conjuntamente en el sujeto que lo necesite. Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "conjuntamente" significa suficientemente seguidos en el tiempo como para producir un efecto combinado (es decir, conjuntamente puede ser simultáneamente o pueden ser dos o más eventos que ocurren en un espacio de tiempo corto antes o después de cada uno). Conjuntamente también abarca el suministro de los compuestos de la Fórmula (I) y osmolitos en forma de mezcla o solución de los dos componentes, así como cuando se suministran desde dos nebulizadores distintos. Un ejemplo de esto sería suministro del compuesto 1 en un pulverizador y la solución hipertónica en un segundo pulverizador conectado mediante una pieza en T. Cuando se administra con otros agentes activos, los compuestos activos de la presente descripción pueden funcionar como vehículo o transportador del otro agente activo o simplemente se puede administrar conjuntamente con el otro agente activo. El compuesto activo de la presente descripción se puede utilizar como un vehículo seco o líquido para administrar otros ingredientes activos en las superficies de las vías respiratorias. Estos otros agentes activos se pueden administrar para el tratamiento de la enfermedad o trastorno para el que son diseñados, en su forma o dosis convencional, en combinación con los compuestos activos de la presente descripción, que se pueden considerar como vehículo o transportador del otro agente activo. Se puede utilizar cualquier otro ingrediente activo como estos, particularmente cuando la hidratación de las superficies de las vías respiratorias (es decir, la actividad de los compuestos osmóticamente activos de la presente invención) facilita la actividad del otro ingrediente activo (por ejemplo, facilitando o mejorando la toma del ingrediente activo, mediante la contribución al mecanismo de acción del otro ingrediente activo, o mediante cualquier otro mecanismo). En una forma de realización preferida de la descripción, cuando el compuesto activo de la presente descripción se administra conjuntamente con otro agente activo, el compuesto activo de la presente descripción presenta un efecto aditivo en relación al otro agente activo; es

decir, el efecto deseado del otro agente activo es mejorado por la administración conjunta de los compuestos activos de la presente descripción.

Los compuestos de la Fórmula (I) de la presente descripción también son útiles para el tratamiento de infecciones transmitidas a través de aire. Los ejemplos de infecciones transmitidas a través del aire incluyen, por ejemplo, el VRS. Los compuestos de la Fórmula (I) de la presente invención también son útiles para el tratamiento contra la infección por ántrax. La presente descripción se refiere al uso de los compuestos de la Fórmula (I) de la presente descripción para el tratamiento profiláctico, de profilaxis post exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o estados provocados por patógenos. En una forma de realización preferida, la presente descripción se refiere a la utilización de los compuestos de la Fórmula (I) para el tratamiento profiláctico, de profilaxis post exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o estados provocados por patógenos que pueden ser utilizados en bioterrorismo.

En los últimos años se han puesto en marcha diferentes programas de investigación y medidas de biodefensa para hacer frente a la inquietud causada por el uso de agentes biológicos en actos de terrorismo. Estas medidas están dirigidas a gestionar la inquietud causada por el bioterrorismo o por el uso de microorganismos o toxinas biológicas para matar a personas, propagar el miedo y perturbar a la sociedad. Por ejemplo, el National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) (el Instituto nacional de alergia y enfermedades infecciosas) ha desarrollado un plan estratégico para la investigación en biodefensa (Strategic Plan for Biodefense Research) que describe planes para abordar la necesidad de investigaciones en la gran área del bioterrorismo y enfermedades infecciosas emergentes y las que aparecen. Según el plan, la exposición deliberada de la población civil de los Estados Unidos a las esporas del *Bacillus anthracis* ha revelado una grieta en la preparación general de la nación contra el bioterrorismo. Además, el informe detalla que estos ataques desvelaban una necesidad no conocida de test para un diagnóstico rápido, vacunas e inmunoterapias para prevenir, y fármacos y productos biológicos para curar enfermedades causadas por agentes del bioterrorismo.

Gran parte de la centro de atención de los distintos esfuerzos llevados a cabo en investigación se han dirigido al estudio de la biología de los patógenos identificados como potencialmente peligrosos como agentes de bioterrorismo, estudiando la respuesta del huésped a estos agentes, desarrollando vacunas contra enfermedades infecciosas, evaluando las terapias disponibles actualmente y en investigación contra estos agentes, y desarrollando diagnósticos para identificar los signos y síntomas de agentes amenazadores. Estos esfuerzos son loables pero, dado el gran número de patógenos que se han identificado como potencialmente disponibles para el bioterrorismo, estos esfuerzos no han conseguido todavía proporcionar respuestas satisfactorias para todas las amenazas bioterroristas posibles. Adicionalmente, muchos de los patógenos identificados como potencialmente peligrosos como agentes de bioterrorismo no proporcionan incentivos económicos adecuados para el desarrollo de medidas terapéuticas o preventivas por parte de la industria. Además, incluso en el caso de que medidas preventivas como vacunas estuvieran disponibles para cada patógeno que se pudiera utilizar en bioterrorismo, el coste de administrar todas esas vacunas a la población en general es prohibitivo.

Hasta cuando existan tratamientos disponibles adecuados y eficaces contra cualquier amenaza bioterrorista, existe una gran necesidad de tratamientos preventivos, profilácticos o terapéuticos que puedan evitar o reducir el riesgo de infección por agentes patógenos.

La presente descripción describe estos procedimientos para el tratamiento profiláctico. En un aspecto, se proporciona un procedimiento para el tratamiento profiláctico que comprende la administración de una cantidad profilácticamente eficaz de los compuestos de la Fórmula (I) a un individuo que necesite tratamiento profiláctico contra una infección por uno o más patógenos que se transmitan por el aire. Un ejemplo en particular de un patógeno que se transmite por aire es ántrax.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para el tratamiento profiláctico para reducir el riesgo de infección por un patógeno que se transmite por el aire que puede causar una enfermedad en humanos y que dicho procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la Fórmula (I) en los pulmones de la persona que puede estar en riesgo de infección por un patógeno transmitido por el aire pero no presenta síntomas de la enfermedad, en el que la cantidad eficaz de un bloqueador de los canales de sodio y un osmolito es suficiente para reducir el riesgo de infección en la persona. Un ejemplo en particular de un patógeno que se transmite por el aire es ántrax.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para el tratamiento profiláctico post exposición o tratamiento terapéutico de una infección por un patógeno transmitido por el aire que comprende la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la Fórmula (I) en los pulmones de un individuo que necesite este tratamiento contra una infección causada por un patógeno que se transmite por el aire. Los patógenos contra los que se puede

proteger mediante los procedimientos para el tratamiento profiláctico post exposición, de rescate y terapéutico de la descripción incluye cualquier patógeno que pueda entrar en el cuerpo a través de la boca, la nariz o las fosas nasales y después dirigirse así a los pulmones. Normalmente, los patógenos serán patógenos que se transmiten por el aire, tanto de forma natural o mediante la formación de aerosoles. Los patógenos pueden surgir de forma natural o pueden haber sido introducidos en el medio ambiente intencionadamente después de una atomización u otro procedimiento de introducción de patógenos en el medio ambiente. Muchos patógenos que no se transmiten de forma natural por el aire han sido o serán atomizados para su uso en bioterrorismo. Los patógenos para los que el tratamiento de la descripción puede ser útil incluyen, pero no se limita a, patógenos prioritarios de categoría A, B y C expuestos por el NIAID. Estas categorías corresponden generalmente a las listas recopiladas por los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (Centros para el control de enfermedades y para la prevención). De acuerdo con la CDC, los agentes de categoría A son los que se pueden diseminar o transmitir fácilmente de persona a persona, provocan una gran mortalidad y presentan un gran potencial de impacto para la salud pública. Los agentes de Categoría B son los siguientes en orden de prioridad e incluyen los agentes que se pueden diseminar de forma moderadamente fácil y provocan una morbilidad moderada y una mortalidad baja. La Categoría C consiste en patógenos emergentes que se podrían diseñar para una diseminación masiva en el futuro debido a su disponibilidad, facilidad de producción y diseminación y potencial para causar una morbilidad y mortalidad elevadas. Los ejemplos particulares de estos patógenos son ántrax y peste. Los patógenos adicionales contra los que se puede proteger o contra los que se puede reducir el riesgo de infección incluyen los virus de la gripe, los rinovirus, los adenovirus y los virus sincitiales respiratorios y similares. Otro patógeno contra el que se puede proteger es el coronavirus, que se cree puede causar síndrome respiratorio agudo severo (SARS).

Los compuestos de la presente descripción también se pueden utilizar conjuntamente con un agonista del receptor P2Y2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (denominada a veces también "agente activo" en el presente documento). La composición puede comprender además un agonista del receptor P2Y2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (denominada a veces también "agente activo" en el presente documento). El agonista del receptor P2Y2 se incluye generalmente en una cantidad eficaz para estimular la secreción de cloruro y de agua por parte de las superficies de las vías respiratorias, particularmente las superficies de las vías respiratorias nasales. Los agonistas del receptor P2Y2 adecuados están descritos en las columnas 9-10 de los documentos U.S. 6.264.975, U.S. 5.656.256 y U.S. 5.292.498.

También se pueden utilizar broncodilatadores en combinación con compuestos de la presente invención. Estos broncodilatadores incluyen, pero no se limitan a, agonistas β -adrenérgicos que incluyen, pero no se limitan a, epinefrina, isoproterenol, fenoterol, albuterol, terbutalina, pirbuterol, bilolterol, metaprotenerol, ioetarina, xinofoato de salmeterol, así como agentes anticolinérgicos que incluyen, pero no se limitan a, bromuro de ipratropio, así como compuestos como teofilina y aminofilina. Estos compuestos se pueden administrar según las técnicas conocidas, ya sea antes o bien conjuntamente con los compuestos activos descritos en el presente documento.

Otro aspecto de la presente descripción es una formulación farmacéutica que comprende un compuesto activo como el descrito anteriormente en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una solución acuosa como vehículo). En general, el compuesto activo está incluido en la composición en una cantidad eficaz para el tratamiento de las superficies mucosas, como inhibir la reabsorción de agua por parte de las superficies mucosas, incluyendo las superficies de las vías respiratorias y otras.

Los compuestos activos descritos en el presente documento se pueden administrar en las superficies mucosas mediante cualquier mecanismo adecuado, incluyendo vía tópica, vía oral, vía rectal, vía vaginal, vía ocular y vía dérmica, etc. Por ejemplo, para el tratamiento del estreñimiento, los compuestos activos se pueden administrar por vía oral o por vía rectal a la superficie mucosa gastrointestinal. El compuesto activo se puede combinar con un vehículo farmacéuticamente aceptable en cualquier forma adecuada, como solución salina fisiológica estéril o diluida, solución tópica, en gotas, en comprimido o similares para una administración por vía oral, como un supositorio para una administración rectal o genitouretral, etc. Si se desea, se pueden incluir excipientes en la formulación para aumentar la solubilidad de los compuestos activos.

Los compuestos activos descritos en el presente documento se pueden administrar en las superficies de las vías respiratorias de un paciente mediante cualquier medio adecuado, incluyendo en forma de spray, nebulización o gotas de los componentes activos en un vehículo farmacéuticamente aceptable como las soluciones salinas fisiológicas o diluidas o agua destilada. Por ejemplo, los compuestos activos se pueden preparar como formulaciones y administrarse como se describe en el documento U.S. Patent No. 5.789.391 para Jacobus.

Los agentes activos en partículas sólidas o líquidas preparados para realizar la presente descripción podrían, como se ha indicado anteriormente, incluir partículas de un tamaño respirable o no respirable; es decir, para las partículas

- respirables, partículas de un tamaño suficientemente pequeño como para pasar a través de la boca y la laringe al ser inhalados y en los bronquios y alveolos de los pulmones, y para las partículas no respirables, partículas suficientemente grandes como para ser retenidas en las vías respiratorias de las fosas nasales en lugar de pasar a través de la laringe y en los bronquios y alveolos de los pulmones. En general, las partículas con un tamaño dentro de un intervalo de entre aproximadamente 1 a 5 micras (más particularmente, inferior a aproximadamente 4,7 micras de tamaño) son respirables. El tamaño de las partículas no respirables es superior a aproximadamente 5 micras, hasta llegar al tamaño de gotas visibles. Por consiguiente, para una administración nasal, se puede utilizar un tamaño de partícula dentro de un intervalo de 10-500 µm para garantizar la retención en la cavidad nasal.
- 5
- 10 En la elaboración de una formulación según la descripción, normalmente, los agentes activos o las sales fisiológicamente aceptables o sus bases libres se mezclan con, entre otros, un vehículo aceptable. Por supuesto, el vehículo debe ser compatible con cualquiera de los otros ingredientes en la formulación y no debe ser perjudicial para el paciente. El vehículo puede estar en estado sólido o líquido, o ambos, y se formula preferentemente con el compuesto en una formulación de dosis unitaria, por ejemplo, una cápsula, que puede contener entre 0,5% y 99%
- 15 en peso del compuesto activo. En las formulaciones de la descripción, se pueden incorporar uno o más compuestos activos y las formulaciones se pueden preparar utilizando cualquiera de las bien conocidas técnicas farmacéuticas que consisten esencialmente en una mezcla de los componentes.

- Las composiciones que contienen partículas secas respirables o no respirables de un agente activo micronizado se pueden preparar moliendo el agente activo seco con un mortero y pistilo y pasando después la composición micronizada a través de un tamiz de malla 400 para romper o separar los aglomerados grandes.
- 20

- La composición del agente activo en partículas puede contener opcionalmente un dispersante que sirve para facilitar la formulación de un aerosol. Un dispersante adecuado es la lactosa, que se puede mezclar con el agente activo en cualquier proporción adecuada (por ejemplo, una proporción de 1 a 1 en peso).
- 25

- Los agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar en las superficies de las vías respiratorias incluyendo las fosas nasales, los senos nasales y los pulmones de un sujeto mediante cualquier medio adecuado conocido en la técnica, como mediante gotas para la nariz, nebulizaciones, etc. En una forma de realización de la descripción, los compuestos activos de la presente descripción se administran mediante un lavado transbroncoscópico. En una forma de realización preferida de la descripción, los compuestos activos de la presente descripción se depositan en las superficies de las vías respiratorias de los pulmones administrando una suspensión de aerosol de partículas respirables que comprenden el compuesto activo que el sujeto inhala. Las partículas respirables pueden ser sólidas o líquidas. Se conocen muchos inhaladores para la administración de las partículas en aerosol en los pulmones del sujeto.
- 30
- 35

- Se pueden utilizar inhaladores como los desarrollados por Inhale Therapeutic Systems, Palo Alto, California, USA que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las Patentes U.S. Nos. 5.740.794; 5.654.007; 5.458.135; 5.775.320; y 5.785.049. También se pueden utilizar inhaladores como los desarrollados por Dura Pharmaceuticals, Inc., San Diego, California, USA que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las Patentes US 5.622.166; 5.577.497; 5.645.051 y 5.492.112. Además, se pueden utilizar los inhaladores como los desarrollados por Aradigm Corp., Hayward, California, USA, que incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las Patentes U.S. Nos. 5.826.570; 5.813.397; 5.819.726; y 5.655.516. Estos equipos son particularmente adecuados como inhaladores de partículas secas.
- 40

- Los aerosoles de partículas líquidas que comprenden el compuesto activo se pueden producir gracias a los medios adecuados, como los nebulizadores de aerosol con presión (L C Star) o un nebulizador ultrasónico (Pari eFlow). Ver, por ejemplo, el documento US Patent N° 4.501.729. Los nebulizadores son dispositivos disponibles comercialmente disponibles que transforman soluciones o suspensiones del ingrediente activo en una nebulización de aerosol terapéutico ya sea mediante la aceleración de gas comprimido, generalmente aire u oxígeno, a través de un orificio de venturi estrecho o mediante una agitación ultrasónica. Las formulaciones adecuadas para su utilización en nebulizadores consisten en el ingrediente activo en un vehículo líquido, el ingrediente activo que comprende hasta un 40% p/p de la formulación, pero preferentemente menos del 20% p/p. El vehículo es generalmente agua (y más preferentemente estéril, agua apirógena) o una solución acuosa diluida. También se pueden utilizar los vehículos de perfluorocarbono. Los aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no es estéril, por ejemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, agentes aromatizantes, aceites volátiles, agentes tampón y agentes tensioactivos.
- 45
- 50
- 55

- Los aerosoles de partículas sólidas que comprenden el compuesto activo se pueden producir asimismo con cualquier generador de aerosol en forma de medicamento en forma de partícula sólida. Los generadores de aerosol para la administración de medicamentos en forma de partículas sólidas en un sujeto producen partículas que son
- 60

respirables, como se ha explicado anteriormente, y generan un volumen de aerosol que contiene una dosis medida predeterminada de un medicamento a una velocidad adecuada para su administración en personas. Un tipo ilustrativo de generador de aerosol de partículas sólidas es un insuflador. Las formulaciones adecuadas para la administración por insuflación incluyen polvos finamente fraccionados que se pueden liberar mediante un insuflador o llevados a la cavidad nasal en forma de aspiración. En el insuflador, el polvo (por ejemplo, una dosis medida del mismo eficaz para llevar a cabo los tratamientos descritos en el presente documento) está contenido en cápsulas o cartuchos, normalmente hechos de gelatina o plástico, que se agujerean o abren *in situ* y el polvo se libera mediante el aire recogido a través del dispositivo en el momento de la inhalación o mediante un mecanismo de bombeo manual. El polvo utilizado en el insuflador consiste solamente en el ingrediente activo o en una mezcla de polvo que comprende el agente activo, un diluyente de polvo adecuado, como la lactosa, y un agente tensioactivo opcional. El ingrediente activo normalmente comprende de 0,1 a 100% p/p de la formulación. Un segundo tipo ilustrativo de generador de aerosol comprende un inhalador de dosis medida. Los inhaladores de dosis medida son dispensadores de aerosoles presurizados, que contienen normalmente una formulación en suspensión o solución del ingrediente activo en un propulsor líquido. Durante su uso, estos dispositivos descargan la formulación mediante una válvula adaptada para proporcionar un volumen medido, normalmente de entre 10 a 150 μl , para producir un spray de partículas finas que contienen el ingrediente activo. Los propulsores adecuados incluyen algunos compuestos de clorofluorocarbono, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano y sus mezclas. La formulación puede contener adicionalmente uno o más cosolventes, por ejemplo, etanol, agentes tensioactivos, como ácido oleico o triolato de sorbitán, antioxidantes y agentes aromatizantes adecuados.

El aerosol, formado a partir de partículas sólidas o a partir partículas líquidas, se puede producir mediante el generador de aerosol a una tasa de entre aproximadamente 10 a 150 litros por minuto, más preferentemente entre 30 a 150 litros por minuto, y más preferentemente aproximadamente 60 litros por minuto. Los aerosoles que contienen cantidades más elevadas de medicamento se pueden administrar más rápido.

La dosis de los compuestos activos descritos en el presente documento variarán dependiendo de la enfermedad que se está tratando y del estado del sujeto, pero generalmente puede ser de entre aproximadamente 0,01, 0,03, 0,05; 0,1 a 1; 5; 10 ó 20 mg del agente farmacéutico, depositado en las superficies de las vías respiratorias. La dosis diaria se puede dividir entre una o múltiples unidades de dosis de administración. El objetivo es conseguir una concentración de los agentes farmacéuticos en las superficies de las vías respiratorias del pulmón de entre 10^{-9} – 10^4 M.

En otra forma de realización, se administran con una administración de una suspensión en aerosol de partículas respirables o no respirables (preferentemente partículas no respirables) que comprende el compuesto activo, que el sujeto inhala a través de la nariz. Las partículas respirables o no respirables pueden ser líquidas o sólidas. La cantidad de agente activo incluido debe ser una cantidad suficiente para conseguir concentraciones disueltas de agente activo en las superficies de las vías respiratorias del sujeto de entre aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} ó 10^{-7} hasta aproximadamente 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} moles/litro, y más preferentemente de entre aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

La dosis del compuesto activo variará en función de la enfermedad que se trate y del estado del sujeto, pero generalmente puede ser una cantidad suficiente para conseguir concentraciones disueltas de compuesto activo en las superficies de las vías respiratorias nasales del sujeto de entre aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} hasta aproximadamente 10^{-3} , 10^{-2} ó 10^{-1} moles/litro, y más preferentemente de entre aproximadamente 10^{-7} hasta aproximadamente 10^{-4} moles/litro. Dependiendo de la solubilidad de una formulación en particular del compuesto activo administrado, la dosis diaria se puede dividir entre una o varias dosis de administración. La dosis diaria en peso puede oscilar entre aproximadamente 0,01, 0,03, 0,1, 0,5 ó 1,0 a 10 ó 20 miligramos de partículas de agente activo para una persona, dependiendo de la edad y el estado del sujeto. Una unidad de dosis actualmente preferida es de aproximadamente 0,5 miligramos de agente activo administradas en un régimen de 2-10 administraciones por día. La dosis se puede suministrar como una unidad pre-empaquetada mediante cualquier mecanismo adecuado (por ejemplo, capsulado en una cápsula de gelatina).

En una forma de realización de la descripción, la composición de agente activo en partículas puede contener ambas, una base libre del agente activo y una sal farmacéuticamente aceptable para proporcionar tanto una liberación rápida como una liberación prolongada del agente activo para su disolución en las secreciones mucosas de la nariz. Esta composición sirve para proporcionar tanto un alivio rápido al paciente como un alivio prolongado en el tiempo. Se espera que el alivio prolongado, mediante la disminución del número de administraciones diarias necesarias, aumente la conformidad del paciente a lo largo del tratamiento con agentes activos.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración en las vías respiratorias incluyen formulaciones

de soluciones, emulsiones, suspensiones y extractos. Ver generalmente, J. Nairn, Solutions, Emulsions and Extracts, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy cap. 86 (19ª Ed. 1995). Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para una administración nasal se pueden preparar como se describe en las Patentes U.S. Nos. 4.389.393 para Schor; 5.707.644 para Illum; 4.294.829 para Suzuki; y 4.835.142 para Suzuki.

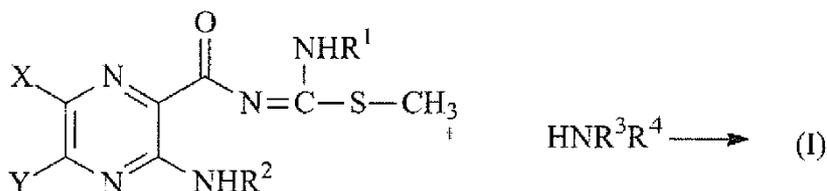
5

Se pueden producir nebulizaciones o aerosoles de partículas líquidas que comprenden el compuesto activo utilizando cualquier medio adecuado, como mediante un simple vaporizador nasal con el ingrediente activo en un vehículo acuoso farmacéuticamente aceptable, como una solución salina estéril o agua estéril. La administración se puede realizar con nebulizador de aerosol a presión o un nebulizador ultrasónico. Ver, por ejemplo, la Patente U.S. NO. 4.501.729 y 5.656.256. Las formulaciones adecuadas para su utilización en unas gotas nasales o un frasco con spray o en nebulizadores consiste en el ingrediente activo en un vehículo líquido, el ingrediente activo que comprende hasta un 40% p/p de la formulación, pero preferentemente menos de un 20% p/p. Normalmente, el vehículo es agua (y más preferentemente agua estéril apirógena) o una solución acuosa alcohólica diluida, preferentemente preparada en una solución de cloruro sódico del 0,12% al 0,8%. Los aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no se ha preparado de forma estéril, por ejemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, agentes aromatizantes, aceites volátiles, agentes tampón, agentes osmóticamente activos (por ejemplo, manitol, xilitol, eritritol) y agentes tensioactivos.

Las composiciones que contienen partículas secas respirables o no respirables del agente activo micronizado se pueden preparar moliendo el agente activo seco con un mortero y pistilo y pasando después la composición micronizada a través de un tamiz de malla 400 para romper o separar los aglomerados grandes.

La composición en partículas puede contener opcionalmente un dispersante que sirve para facilitar la formación de un aerosol. Un dispersante adecuado es la lactosa, que se puede mezclar con el agente activo en cualquier proporción adecuada (por ejemplo, una proporción en peso de 1 a 1).

El compuesto de la Fórmula I se puede sintetizar según los procedimientos conocidos en la técnica. En el esquema a continuación se muestra un procedimiento sintético representativo:



30

Estos procedimientos se describen en, por ejemplo, E.J. Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and Its Analogs" Capítulo 3) en Amiloride and Its ANALogs, pp. 25-36. Otros procedimientos de preparación de los compuestos se describen en el documento U.S. 3.313.813. Ver en particular los procedimientos A, B, C y D descritos en el documento U.S. 3.313.813. Los procedimientos adicionales para la preparación de productos intermedios utilizados en la preparación de los compuestos de la presente descripción se describen en los documentos US 7.064.129, US 6.858.615, US 6.903.105, WO 2004/073629, WO 2007/146869 u WO 2007/018640.

Se pueden realizar varios ensayos para caracterizar los compuestos de la presente invención. Los ensayos representativos se discuten a continuación.

Medición in vitro de la actividad y reversibilidad del bloqueador de los canales de sodio

Un ensayo utilizado para evaluar el mecanismo de acción y/o potencia de los compuestos de la presente descripción implica la determinación de la inhibición luminal del fármaco de las corrientes de sodio en el epitelio respiratorio medida en un cortocircuito de corriente (I_{sc}) utilizando unas monocapas del epitelio respiratorio en cámaras Ussing. Las células obtenidas por extracción de las vías respiratorias humanas, de perro, de oveja o de roedor se siembran en pocillos Snapwell™ Inserts (CoStar) de 0,4 micras, se cultivan en condiciones de interfase aire-líquido (ALI) en un medio hormonalmente definido, y se prueba la actividad de transporte de sodio (I_{sc}) mientras se baña en una solución Krebs Ringer bicarbonato (KBR) en cámaras Ussing. Todas las adiciones de fármaco se realizan en el baño luminal siguiendo los protocolos de adición semilogarítmica de dosis (desde 1×10^{-11} M a 3×10^{-5} M), y se registra el cambio acumulado en I_{sc} (inhibición). Todos los fármacos se preparan en sulfóxido de dimetilo como solución madre en una concentración de 1×10^{-2} M y almacenada a -20°C . Normalmente se llevan a cabo ocho preparaciones en paralelo; dos preparaciones por ejecución incorporan amilorida y/o benzamilo como controles positivos. Después de

50

que se administre la concentración máxima (5×10^{-5} M), el baño luminal se reemplaza tres veces con una solución fresca de KBR sin fármacos y se mide la ISC resultante después de que cada lavado durante aproximadamente 5 minutos. La reversibilidad está definida como el valor del porcentaje de retorno a la línea de referencia para la corriente de sodio después del tercer baño. Todos los datos de las pinzas de voltaje se recopilan a través de una interfaz del ordenador y se analizan off-line.

5 Las relaciones dosis-efecto para todos los compuestos son consideradas y analizadas con el programa informático Prism 3.0. Los valores CI₅₀, las concentraciones eficaces máximas y la reversibilidad se calculan en comparación con amilorida y benzamilo como controles positivos. En la Tabla 2 se muestra la potencia de la actividad del bloqueo de los canales de sodio de los compuestos representativos en células acabadas de extraer de las vías respiratorias
10 de un perro.

Tabla 2. Medición *in vitro* de la actividad del bloqueo de los canales de sodio

Compuesto	CI ₅₀ (nM)
I	5,3
Amilorida	781

15 Ensayos farmacológicos de absorción

(1) Ensayo de desaparición apical

Las células bronquiales (de perro, humanas, de oveja o de roedor) se siembran a una densidad de $0,25 \times 10^6/\text{cm}^2$ en una membrana porosa recubierta de colágeno Transwell-Col con un área de crecimiento de $1,13 \text{ cm}^2$ de crecimiento en una interfaz aire-líquido en un medio hormonalmente definido que promueve un epitelio polarizado. Entre 12 a 20 días después del desarrollo de una interfaz aire-líquido (ALI) se espera que una cantidad >90% de los cultivos se hayan ciliado, y que las mucinas se acumulen en las células. Para garantizar la integridad de las preparaciones primarias de células epiteliales de las vías respiratorias, se miden las diferencias entre la resistencia transepitelial (R_t) y la potencia transepitelial (PD), que son indicadores de la integridad de la naturaleza polarizada del cultivo.
25 Para realizar estudios sobre las tasas de absorción de superficies apicales, se prefieren los sistemas de células humanas. El ensayo de desaparición se realiza bajo condiciones que imitan las películas "delgadas" *in vivo* (~25 μl) y se inicia mediante la adición de bloqueadores experimentales de los canales de sodio o controles positivos (amilorida, benzamilo, fenamilo) a la superficie apical a una concentración inicial de 10 μM . Se recogen una serie de
30 muestras (volumen de 5 μl por muestra) en varios puntos de tiempo, incluyendo 0, 5, 20, 40, 90 y 240 minutos. Las concentraciones se determinan midiendo la fluorescencia intrínseca de cada bloqueador de los canales de sodio utilizando un fluorímetro para microplacas o mediante HPLC. Los análisis cuantitativos utilizan una curva estándar generada a partir de materiales estándares de referencia de concentración y pureza conocidas. El análisis de los
35 datos sobre la tasa de desaparición se realiza utilizando una regresión no lineal, una disminución exponencial monofásica (Prism V 3.0).

2. Ensayo con microscopio confocal de la absorción de congéneres de amilorida

Prácticamente todas las moléculas parecidas a la amilorida son fluorescentes bajo luz ultravioleta. Esta propiedad de estas moléculas se puede utilizar para medir directamente la absorción celular utilizando un microscopio confocal x-z. Las concentraciones equimolares de compuestos experimentales y los controles positivos incluyendo la amilorida y compuestos que muestran una rápida absorción en el interior del compartimento celular (benzamilo y fenamilo) se colocan sobre la superficie apical de los cultivos de vías respiratorias en la platina del microscopio confocal. Después de un tiempo, se obtienen unas imágenes seriadas x-z y se cuantifica la magnitud de fluorescencia acumulada en el
45 compartimento celular y se representa gráficamente como un cambio en la fluorescencia *versus* tiempo.

3. Ensayos *in vitro* del metabolismo del complejo

Las células epiteliales de las vías respiratorias tienen la capacidad de metabolizar fármacos durante el proceso de absorción transepitelial. Además, aunque menos probable, es posible que los fármacos se puedan metabolizar en las superficies epiteliales de las vías respiratorias mediante la actividad de ectoenzimas específicas. Quizás más probable como un evento ecto-superficie, los compuestos se pueden metabolizar mediante las secreciones infectadas que ocupan el lumen de las vías respiratorias de pacientes con enfermedades pulmonares, por ejemplo, fibrosis quística. Por consiguiente, se realizan una serie de ensayos para caracterizar el metabolismo del compuesto
55 que resulta de la interacción de los compuestos del ensayo con el epitelio de las vías respiratorias humanas y/o productos del lumen epitelial de las vías respiratorias humanas.

En la primera serie de ensayos, la interacción de los compuestos del ensayo en la KBR como un estimulante "ASL" se aplica en la superficie apical de las células epiteliales de las vías respiratorias humanas que han crecido en el sistema de inserto T-Col. Para la mayoría de compuestos, se prueba el metabolismo (generación de nuevas especies) utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para resolver las especies químicas y las propiedades fluorescentes endógenas de estos compuestos para estimar las cantidades relativas del compuesto del ensayo y nuevos metabolitos. En un ensayo general, una solución de prueba (25 µl de KBR, que contienen 10 µM del compuesto de prueba) se coloca en la superficie epitelial luminal. Se obtienen muestras secuenciales de 5 a 10 µl de los compartimentos luminal y serosal para el análisis por HPLC de (1) la masa del compuesto de prueba del baño luminal y serosal y (2) la potencial formación de metabolitos del compuesto madre. En los casos en los que las propiedades de fluorescencia de la molécula de prueba no son adecuadas para dicha caracterización, se usan para estos ensayos unos compuestos radio-marcados. A partir de los datos de HPLC, se cuantifica la tasa de desaparición y/o formación de compuestos metabolitos nuevos en la superficie luminal y la aparición del compuesto de prueba y/o metabolitos nuevos en la solución basolateral. Los datos relacionados con la movilidad cromatográfica de los metabolitos nuevos potenciales en referencia al compuesto madre se cuantifican también.

Para analizar el metabolismo potencial de los compuestos de ensayo mediante esputo de FQ, se recoge una mezcla "representativa" de esputo de FQ obtenidos de 10 pacientes con FQ (bajo aprobación de IRB). El esputo se solubiliza en una mezcla 1:5 de solución de KBR mediante vórtex fuerte, después la mezcla se dividió en alícuotas de esputo "limpio" y una alícuota se sometió a ultracentrifugación de modo que se obtuvo el "sobrenadante2 (Limpio = celular; sobrenadante = fase líquida). Los estudios generales del metabolismo del compuesto mediante esputo de FQ implica la adición de unas masas conocidas del compuesto de prueba al esputo de FQ "limpio" y las alícuotas de "sobrenadante" del esputo de FQ se incubó a 37°C, seguida de un muestreo secuencial de alícuotas para cada tipo de esputo para la caracterización de la estabilidad/metabolismo del compuesto mediante análisis por HPLC como se ha descrito anteriormente. Como antes, después se lleva a cabo el análisis de la desaparición del compuesto, las tasas de formación de compuestos nuevos y las movilidades en HPLC de los compuestos nuevos.

4. Efectos farmacológicos y mecanismo de acción del fármaco en animales

El efecto de los compuestos para mejorar el aclaramiento mucociliar (MCC) se pueden medir utilizando un modelo *in vivo* descrito por Sabater et al., Journal of Applied Physiology, 1999, pp. 2191-2196.

Métodos

Preparación animal: Unas ovejas adultas (con un peso que varía de 25 a 35 Kg) se contuvieron en una posición erguida en un arnés especial para el cuerpo adaptado a un carro de la compra modificado. Los animales = las cabezas fueron inmovilizados y se indujo anestesia local del paso nasal utilizando lidocaína al 2%. Los animales se intubaron nasalmente con un tubo endotraqueal (TET) de 7,5 mm de diámetro interno. El manguito del TET se colocó justo por debajo de las cuerdas vocales y su posición se verificó con un broncoscopio flexible. Después de la intubación se permitió que los animales se equilibraran durante aproximadamente 20 minutos antes de iniciar las mediciones de aclaramiento mucociliar.

Administración del Radio-aerosol: los aerosoles de seroalbúmina humana ^{99m}Tc (3,1 mg/ml; que contienen aproximadamente 20 mCi) se generaron utilizando un nebulizador Raindrop por goteo que produce una pequeña gota con un diámetro aerodinámico medio de 3,6 µm. El nebulizador se conectó a un dosímetro que consistía en una válvula solenoide y una fuente de aire comprimido (20 psi). La salida del nebulizador estaba dirigida hacia un conector T de plástico; uno de cuyos extremos estaba conectado al tubo endotraqueal, el otro estaba conectado a un émbolo respirador. El sistema se activó durante un segundo en el inicio del ciclo respiratorio= inspiratorio. El respirador se ajustó a un volumen corriente de 500 mL, una proporción de inspiración a expiración de 1:1; y a una velocidad de 20 respiraciones por minuto para maximizar la deposición de la vía respiratoria central. Las ovejas respiraron el aerosol radio-marcado durante 5 minutos. Se utilizó una cámara gamma para medir el aclaramiento de la seroalbúmina humana ^{99m}Tc de las vías respiratorias. La cámara se situó por encima del lomo de los animales con las ovejas en una posición erguida natural sujetadas en un carro de forma que el campo de visión era perpendicular en relación a la médula espinal del animal=s. Se colocaron marcadores externos radio-marcados en las ovejas para garantizar un alineamiento adecuado bajo la cámara gamma. Todas las imágenes se guardaron en un ordenador integrado en la cámara gamma. Se trazó una región de interés sobre la imagen que se correspondía con el pulmón derecho de la oveja y se guardaron los recuentos. Los recuentos se corrigieron por la disminución y se expresaron en porcentaje de radioactividad presente en la imagen inicial de la línea de referencia. El pulmón izquierdo se excluyó del análisis porque sus contornos estaban superpuestos sobre el estómago y los recuentos se pueden tragar y entrar en el estómago como mucosidad radio-marcada.

Protocolo de tratamiento (Evaluación de actividad a t-cero): Inmediatamente después de la administración del radio-

aerosol se obtuvo una imagen de deposición de referencia. En el tiempo cero, después de obtener la imagen de la línea de referencia, el control de vehículo (agua destilada), el control positivo (amilorida), o compuestos experimentales se atomizaron a partir de un volumen de 4 mL utilizando un nebulizador Pari LC JetPlus permitiendo que los animales respiraran libremente. El nebulizador esta de aire comprimido a un flujo de 8 litros por minuto. El tiempo para liberar la solución fue de 10 a 12 minutos. Los animales se extubaron inmediatamente después de la liberación de la dosis total para evitar falsas elevaciones en los recuentos causadas por un exceso de aspiración del radio-trazador del TET. Se obtuvieron una serie de imágenes del pulmón a intervalos de 15 minutos durante las primeras 2 horas después de la dosis y cada hora durante las siguientes 6 horas después de la dosis durante un periodo total de observación de 8 horas. Las sesiones de dosificación con diferentes agentes experimentales se separaron por un periodo de por lo menos 7 días de lavado.

Protocolo de tratamiento (Evaluación de actividad a t-4horas): La siguiente variación del protocolo estándar se utilizó para evaluar la duración de la respuesta después de una sola exposición al control de vehículo (agua destilada), a los compuestos control positivo (amilorida) o a los agentes de la investigación. En el punto de tiempo cero, el control de vehículo (agua destilada), el control positivo (amilorida) o los compuestos de la investigación se atomizaron a un volumen de 4 mL utilizando un nebulizador Pari LC JetPlus permitiendo que los animales respiraran libremente. El nebulizador estaba dirigido mediante aire comprimido con un flujo de 8 litros por minuto. El tiempo de suministro de la solución fue de 10 a 12 minutos. Los animales estaban sujetos en una posición vertical en un arnés corporal especial durante 4 horas. Al final del periodo de 4 horas los animales recibieron una sola dosis de seroalbúmina humana ^{99m}Tc (3,1 mg/ml; que contienen aproximadamente 20 mCi) de un nebulizador Raindrop por goteo. Los animales se extubaron inmediatamente después del suministro de la dosis total del radio-trazador. Inmediatamente después de la administración del radio-aerosol se obtuvo una imagen de deposición de referencia. Se obtuvieron una serie de imágenes del pulmón a intervalos de 15 minutos durante las primeras 2 horas después del radio-trazador (lo que representa las horas 4 hasta 6 después de la administración del fármaco) y cada hora durante las siguientes 2 horas después de la dosis durante un periodo total de observación de 4 horas. Las sesiones de dosificación con diferentes agentes experimentales se separaron por un periodo de por lo menos 7 días de lavado.

Estadísticas: los datos se analizaron utilizando el programa SYSTAT para Windows, versión 5. Los datos se analizaron utilizando un ANOVA de medidas repetidas de dos vías (para evaluar los efectos generales), seguido de un test-t de datos apareados para identificar las diferencias entre parejas específicas. Se aceptó un valor significativo cuando P fue inferior a o igual a 0,05. Los valores de la pendiente (calculados a partir de los datos recopilados durante los 45 minutos iniciales después de la dosis en la evaluación en el punto del t-cero) para la media de las curvas MCC se calcularon utilizando una regresión lineal del mínimo cuadrado para evaluar las diferencias en las tasas iniciales durante la fase de aclaramiento rápido.

EJEMPLOS

Habiendo descrito de forma general la descripción, se puede obtener una mayor comprensión mediante la referencia a algunos ejemplos específicos que se proporcionan en el presente documento con fines ilustrativos y que no pretenden ser limitativos a no ser que se indique lo contrario.

Preparación de los bloqueadores de los canales de sodio

Materiales y métodos. Todos los reactivos y disolventes se obtuvieron de Aldrich Chemical Corp. y se utilizaron sin purificación adicional. Los espectros RMN de protón y carbono se obtuvieron en un espectrómetro Bruker AC 300 a 300 MHz y 75 MHz, respectivamente. Los espectros de protones se compararon con el tetrametilsilano como un estándar interno y los espectros de carbono se compararon con CDCl₃, CD₃OD, acetona-d₆ o DMSO-d₆ (obtenidos de Aldrich o Cambridge Isotope Laboratories, a no ser que se indique lo contrario). Los puntos de fusión se obtuvieron en un aparato Mel-Temp II y no se corrigieron. Los espectros de masa ESI se obtuvieron en un espectrómetro de masas Shimadzu LCMS-2010 EV. Los análisis con HPLC se obtuvieron utilizando una columna analítica Waters XTerra RP C18 detectada a 220 nm (o no ser que se indique lo contrario) en un sistema HPLC Shimadzu Prominence. Se utilizó el siguiente tiempo para el programa, con una velocidad de flujo de 1,0 mL por minuto:

Tiempo	Porcentaje A (H ₂ O con TFA al 0,05%)	Porcentaje B (CH ₃ CN con TFA al 0,05%)
0:00	90	10
20:00	10	90
30:00	10	90
35:00	90	10

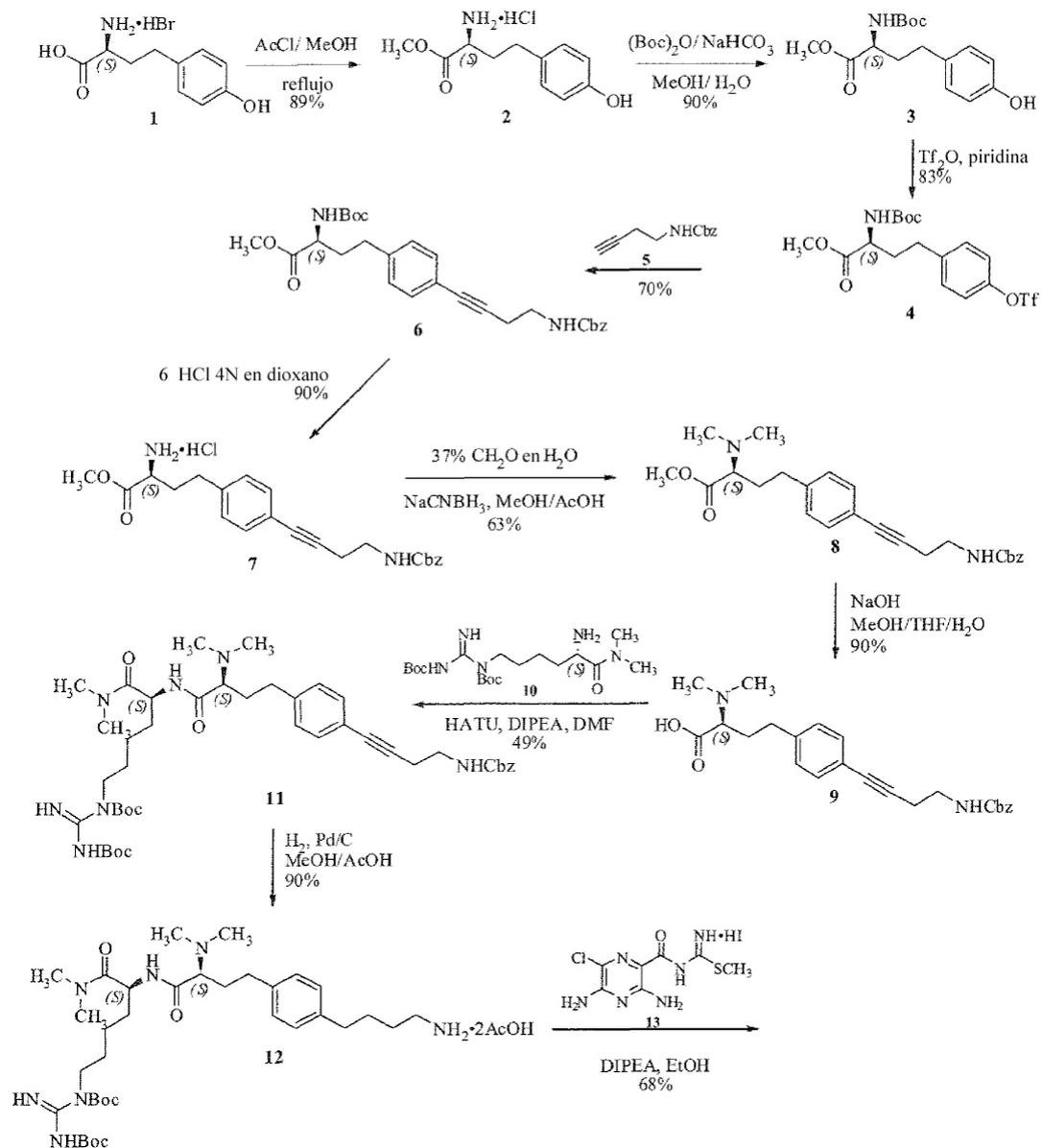
55

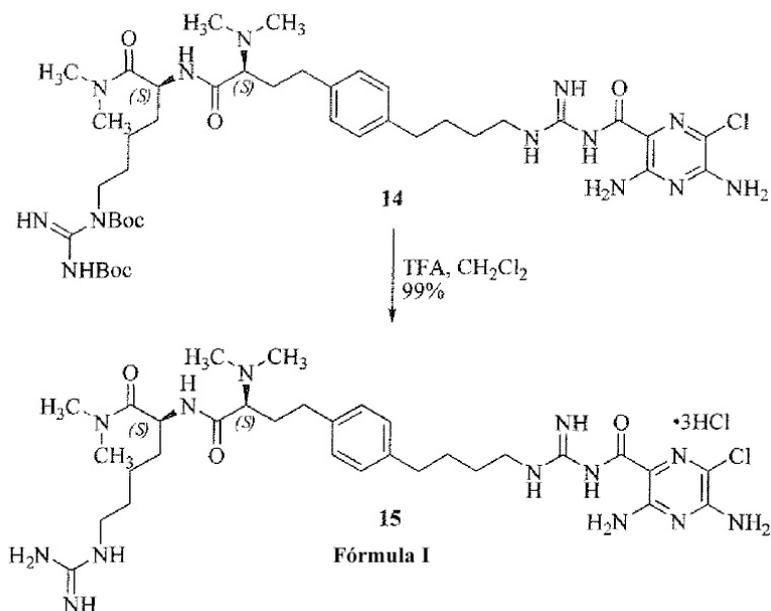
A no ser que se indique lo contrario, se aplican las definiciones de abreviaturas siguientes.

Abreviatura	Definición
THF	tetrahidrofurano
Cbz	Benciloxycarbonilo, es decir, -(CO)O-bencilo
AUC	Área bajo la curva o pico
EtOAc	Acetato de etilo
R _f	Factor retardante
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
MTBE	metil terc-butil éter
t _R	Tiempo de retención
GC-MS	Cromatografía de gases- espectrometría de masas
% en peso	Porcentaje en peso
H	Horas
Min	Minutos
MHz	Megahercios
MeOH	Metanol
TFA	Ácido trifluoroacético
UV	Ultravioleta

Preparación de la Fórmula I (15)

5





Preparación del Compuesto 2;

5 Se añadió cloruro de acetilo (27,1 mL, 380,1 mmol) en gotas a MeOH (225 mL) a temperatura ambiente y se añadió el compuesto 1 (15,0 g, 54,3 mmol). La solución resultante se sometió a reflujo durante la noche y se concentró, después se separaron los hexanos (700 mL) para conseguir el compuesto 2 deseado (14,0 g, 89%) como un sólido blanco: RMN H^1 (300 MHz, CD_3OD) δ 7,07 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 6,71 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,02 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H) 3,68 (s, 3H), 2,75-2,57 (m, 2H), 2,22-2,05 (m, 2H).

10

Preparación del Compuesto 3;

A una solución del compuesto 2 (14,0 g, 48,2 mmol) en MeOH/ H_2O (140 mL/70 mL) se le añadió $NaHCO_3$ (28,5 g, 337,4 mmol) y Boc_2O (11,5 g, 53,0 mmol) a $0^\circ C$. La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se partió entre EtOAc (300 mL) y agua (300 mL). Se separó la capa acuosa y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto 3 (13,5 g, 90%) como un sólido blanco: RMN H^1 (300 MHz, CD_3OD) δ 6,98 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,67 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,03 (t, $J = 4,5$ Hz, 1H) 3,68 (s, 3H), 2,65-2,40 (m, 2H), 1,92-1,82 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

20

Preparación del Compuesto 4;

A una solución del compuesto 3 (13,5 g, 43,6 mmol) en piridina (150 mL) se añadió triflato (7,3 mL, 43,6 mmol) a $0^\circ C$ y la mezcla de reacción se agitó a $0^\circ C$ durante 3 horas. Después de que se concentrara, la mezcla de reacción se partió entre EtOAc (300 mL) y agua (300 mL). Se separó la capa acuosa y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 95:5 $CHCl_3/MeOH$) para conseguir el compuesto 4 deseado (16,0 g, 83%) como un sólido marrón: RMN H^1 (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,26-7,23 (m, 2H), 7,20-7,17 (m, 2H), 5,08 (br s, 1H), 4,36 (br s, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,73-2,67 (m, 2H), 2,21-2,13 (m, 1H), 1,99-1,87 (m, 1H), 1,45 (s, 9H).

30

Preparación del Compuesto 6;

A una solución del compuesto 4 (16,0 g, 36,2 mmol) en CH_3CN anhidra (160 mL) se le añadió TEA (20,9 mL, 144,8 mmol), (t-BU) $_3P$ al 10% en hexanos (1,4 g, 7,2 mmol), but-3-inilcarbamatato de bencilo (5, 8,8 g, 43,8 mmol) y CuI (340 mg, 1,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con Argón durante 3 minutos y se añadió rápidamente $Pd(PPh_3)_4$ (4,1 g, 3,6 mmol) en una porción. Después de desgasificar con Argón durante 5 minutos, la mezcla resultante se calentó a $60^\circ C$ durante 12h. La mezcla resultante se concentró al vacío y el residuo se purificó en columna (gel de sílice, hexanos 40:60/EA) para conseguir el compuesto 6 (16,0, 70) como un aceite

35

marrón RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) δ 7,36-7,28 (m, 8H), 7,07 (d, J=8,4 Hz, 2H), 5,12 (br s, 4H), 4,33 (br s, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,46-3,39 (m, 2H), 2,68-2,59 (m, 4H), 2,14-2,20 (m, 1H), 1,96-1,84 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 7;

5 El compuesto **6** (8,0 g, 16,1 mmol) se disolvió en HCl 4N en dioxano (60 ml) a temperatura ambiente y la mezcla resultante se agitó durante 1 hora. Después de que se concentrara, el residuo se separó del MTBE para conseguir la sal de ácido clorhídrico **7** (6,75 g, 90%) como un sólido blanco: RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) δ 7,32-7,28 (m, 7H), 7,18 (d, J=8,1 Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,04 (d, J=6,3 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,31-3,29 (m, 2H), 2,82-2,67 (m, 2H), 2,58 (d, J=6,9 Hz, 2H), 2,26-2,08 (m, 2H).

10

Preparación del Compuesto 8;

A una solución del compuesto **7** (6,75 g, 15,6 mmol) en MeOH/AcOH (70 ml/15 ml) se añadió CH₂O al 37% en H₂O (25,2 ml, 312 mmol) y cianoborohidruro de sodio (7,84 g, 124,8 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche. Después de que se concentrara, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1; CHCl₃/MeOH/NH₄OH 10:1:0,1) para conseguir el compuesto deseado **8** (3,8 g, 63%) como un sólido blanco: RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) δ 7,36-7,26 (m, 7H), 7,11 (d, J=8,1 Hz, 2H), 5,11 (s, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,45-3,39 (m, 2H), 3,10 (t, J=7,5 Hz, 1H), 2,65-2,60 (m, 4H), 2,32 (s, 6H), 2,01-1,88 (m, 2H).

20 Preparación del Compuesto 9;

A una solución de metil éster **8** (3,80 g, 8,9 mmol) en THF/MeOH/H₂O (30 ml/30 ml/10 ml) se añade NaOH (3,50 g, 89,0 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche. Después de que se concentrara, el residuo se disolvió en H₂O (50 ml) y se le añadió HCl ac. 1N para ajustar el pH a 5. El precipitado resultante se filtró y se secó para obtener el compuesto deseado **9** (3,25 g, 90%) como un sólido blanco: RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) δ 7,32-7,28 (m, 7H), 7,17 (d, J=8,4 Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 3,46-3,42 (m, 1H), 3,45-3,39 (m, 2H), 2,83-2,70 (m, 8H), 2,58 (t, J=6,9 Hz, 2H), 2,15-2,05 (m, 2H).

25

Preparación del Compuesto 11;

30 A una solución del compuesto **9** (1,80 g, 4,4 mmol) en DMF anhidra (20 ml) se le añadió HATU (3,3 g, 8,8 mmol) y DIPEA (4,4 ml, 22,0 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas y se le añadió amina **10** (2,1 g, 5,2 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y se dividió entre EtOAc (200 ml) y agua (200 ml). Se separó la capa acuosa y se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 95:5 CHCl₃/MeOH) para conseguir el compuesto **11** deseado (1,70 g, 49%) como un sólido blanco: RMN H¹ (300 MHz, CDCl₃) δ 7,36-7,28 (m, 7H), 7,10 (d, J=8,1 Hz, 2H), 5,10 (s, 3H), 4,97-4,90 (m, 1H), 3,86 (t, J=6,6 Hz, 2H), 3,45-3,35 (m, 2H), 3,12 (s, 3H), 3,09-3,00 (m, 2H), 2,96 (s, 3H), 2,91-2,71 (m, 2H), 2,62 (t, J=6,3 Hz, 2H), 2,30 (s, 6H), 1,97-1,31 (m, 26H).

40

Preparación de Compuesto 12;

Una suspensión del compuesto **11** (1,7 g, 2,1 mmol) y Pd/C al 10% (800 mg) en MeOH/AcOH (25 mL/1,0 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío y se separó de MTBE para conseguir la sal acética **12** (1,45 g, 90%) como un aceite incoloro: RMN H¹ (400 MHz, CD₃OD) δ 7,12 (s, 4H), 4,97-4,90 (m, 2H), 3,90-3,85 (m, 2H), 3,29 (s, 3H), 2,95 (s, 3H), 2,91 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,63 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,57-2,50 (m, 8H), 1,95 (s, 6H), 2,02-1,96 (m, 2H), 1,80-1,62 (m, 10H), 1,50 (s, 9H), 1,45 (s, 9H).

45

50

Preparación de Compuesto 14;

A una solución de la sal de ácido acético **12** (1,45 g, 2,1 mmol) y una sal del ácido metilo 3,5-diamino-6-cloropiracina-2-carbonil-carbamimidato hidriódico (**13**, 1,28 g, 3,3 mmol) en EtOH (20 mL) se añadió DIPEA (2,17 g, 16,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 horas, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en

55

columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para conseguir el compuesto deseado **14** (1,15 g, 68%) como un sólido amarillo: RMN H¹ (400 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (s, 4H), 4,87-4,82 (m, 2H), 3,86 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,24-3,18 (m, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,96-2,91 (m, 4H), 2,64-2,47 (m, 4H), 2,30 (t, 6H), 1,99-1,72 (m, 10H), 1,55-1,32 (m, 20H).

5

Preparación del Compuesto 15 [Fórmula I]-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-((S)-3-(dimetilamino)-4-((S)-1-(dimetilainino)-6-guanidino-1-oxohexano-2-ilamino)-4-oxobutil)fenil)butil)carbamidooil)piracina-2-carboxamida;

10

A una solución del compuesto **14** (670 mg, 0,7 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL) se añadió TFA (5,0 mL) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se azeotropó con HCl ac. 1N, 3 veces para conseguir una sal de ácido clorhídrico de **15 (Fórmula I)**, 600 mg, 99%) como un sólido higroscópico amarillo: RMN H¹ (400 MHz, D₂O) δ 7,16-7,15 (m, 4H), 3,84-3,81 (m, 1H), 3,26 (br s, 2H), 3,13-3,11 (m, 5H), 2,91-2,86 (m, 9H), 2,61-2,53 (m, 4H), 2,25-2,11 (m, 2H), 1,74-1,23 (m, 10H).

15

Resumen de los datos in vitro del Compuesto 15:

- Potencia (CI 50) en células epiteliales bronquiales caninas: 5,3 ± 3,3 nM (n=5) (Figura 1)
- Reversión del efecto máximo en células epiteliales bronquiales caninas: 6,8 ± 5,1% (n=3) del efecto se perdió después de 3 lavados
- Tasa de absorción de las células epiteliales bronquiales humanas: 0,12 ± 0,05 nM/cm²/min (n=3)
- Metabolismo del epitelio bronquial humano: no se detectaron metabolitos apicales o basolaterales
- Estabilidad del plasma humano: no se detectó metabolismo transcurridas 4 horas
- Durabilidad de la retención de líquido en las superficies de las vías respiratorias en células epiteliales bronquiales caninas: 94 ± 5% (n=3) de fluido retenido 8 horas después del suministro del fármaco; 56 ± 6% (n=2) de líquido retenido 24 horas después del suministro del fármaco
- Metabolismo de hepatocitos de rata: sin muestras de un metabolismo significativo durante las 24 horas de incubación
- Unión de proteínas plasmáticas humanas: 80 ± 5% (n=6) unido a proteínas plasmática.

20

25

30

En la Figura 1 se muestra una curva dosis respuesta de la inhibición de ENaC con P-1046 (I) y amilorida.

DATOS OCULARES Y PROCEDIMIENTOS para el Compuesto 15 (Fórmula I, también denominado I, también denominado P-1046, también denominado 1046):

35

En la Figura 2 se muestran los efectos de P-1046 (Fórmula I, 15) de concentración en la producción de lágrimas en ratas ExLac.

En la Figura 3 se muestra el aclaramiento de P-1046 (Fórmula I, 15) en la superficie ocular.

40

En la Figura 4 se muestran los efectos de P-1046 10 nM (Fórmula I, 15) en la producción de lágrimas en ratas ExLac.

Procedimientos para la medición de producción de lágrimas con Hilo de rojo de fenol (PRT):

45

Especie animal / Cepa: ratas, Sprague Dawley (SD); glándula lacrimal extirpada quirúrgicamente (ExLac).

Número de animal / Sexo: 3-4 hembras/grupo.

50

Formulación del compuesto de prueba: todas las soluciones madre para cada brazo de dosis se prepararon no más de 48 horas antes del comienzo del estudio. La concentración de los bloqueadores de ENaC en todas las soluciones del artículo de prueba se confirmaron mediante espectrofotometría.

55

Administración del compuesto de prueba: tanto los ojos ipsilaterales como los contralaterales recibieron una dosis de 5 □ 1 de la solución del compuesto de prueba.

Prueba del hilo de rojo de fenol (PRT): la producción de lágrimas se midió utilizando un hilo de algodón de tinción ZoneQuick impregnado con tinte rojo fenol. El extremo plegado del hilo se sostuvo en el fondo del saco conjuntival lateral-ventral durante 10 segundos. La longitud de la diseminación de la lágrima sobre el hilo se determinó midiendo la longitud del hilo que cambia de color amarillo a rojo. El uso de un estereomicroscopio sirvió de ayuda para una

medición precisa (registrada en milímetros) de la diseminación / cambio de color.

Procedimiento para P-1046 Compuesto 15 (Fórmula I, también denominada I, también denominada P-1046, también denominada 1046):

5

Extracción de los hilos de PRT

Todos los hilos de PRT se recogieron en tubos eppendorf y se almacenaron a -20°C hasta el momento del análisis de la concentración de fármaco. La P-1046 se extrajo de los hilos y se analizó de la siguiente forma:

10

1. Se añadieron 20 µL de 70% de ACN (70% de ACN, 30% de H₂O) en los tubos de muestras que tenían hilos en ellos.
2. Los tubos de la Etapa 1 se agitaron durante 30 segundos y se sonicaron durante 1 minuto para conseguir una inmersión completa de los hilos.
- 15 3. Las soluciones de muestra se incubaron durante 4 horas a temperatura ambiente.
4. Las muestras se volvieron a agitar durante 30 segundos.
5. Se extrajeron 75 µL de cada solución de muestra (de la Etapa 4) y se colocaron en una placa UPLC de 96 pocillos con 75 µL adicionales de una fase móvil A (formato de amonio 5mM, ácido fórmico al 0,1% en H₂O) añadidos en cada pocillo de la muestra.
- 20 6. Los estándares analíticos (10 mM, 1mM, 100µM, 10µM, 1µM, 100nM, tampón) se prepararon de forma idéntica a las soluciones de los hilos.
7. Las concentraciones de fármaco en todas las muestras se analizaron mediante UPLC.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD Y ESTABILIDAD para el Compuesto 15 (Fórmula I, también denominada I, también denominada P-1046, también denominada 1046):

25

Procedimiento para la evaluación de solubilidad y estabilidad:

- 30 1. Preparar NaCl al 2,8% y tampón citrato a 25 mM, pH de la solución es 4,2. La osmolaridad de la solución es aproximadamente 940 mOsM.
2. Añadir una cantidad adecuada de solución tamponada a un compuesto de prueba para obtener una concentración aproximada de 10 mg/mL.
3. Agitar la solución durante 15 segundos, sonicar durante 30 segundos, volver a agitar durante 60 segundos y observar visualmente la solución.
- 35 4. Calcular la concentración final de la solución con un espectrofotómetro.
 - Extraer una porción de la solución y diluirla a una proporción de 1:10. Colocar esta solución a 50°C para un estudio acelerado de estabilidad durante 10 días.
 - Obtener los datos de estabilidad mediante análisis por HPLC.
- 40 5. Preparar NaCl al 2,8% y tampón citrato a 25 mM, pH de la solución es 4,2. La osmolaridad de la solución es aproximadamente 940 mOsM.
6. Añadir una cantidad adecuada de solución tamponada a un compuesto de prueba para obtener una concentración aproximada de 10 mg/mL.
7. Agitar la solución durante 15 segundos, sonicar durante 30 segundos, volver a agitar durante 60 segundos y observar visualmente la solución.
- 45 8. Calcular la concentración final de la solución con un espectrofotómetro.
 - Extraer una porción de la solución y diluirla a una proporción de 1:1. Colocar esta solución a 50°C para un estudio acelerado de estabilidad durante 10 días.
 - Obtener los datos de estabilidad mediante análisis por HPLC.

50

La Figura 5 muestra el análisis por HPLC de P-1046 (Fórmula I, 15) de solubilidad/estabilidad de las muestras el Día 1 y el Día 10.

RESUMEN DE SEGURIDAD Y TOLERANCIA para el Compuesto 15 (Fórmula I, también denominada I, también denominada P-1046, también denominada 1046):

55

Estudio de toxicidad ocular aguda no-GLP en conejos blancos de Nueva Zelanda con P-1046

OBJETIVO:

60

El propósito de este estudio fue evaluar la tolerancia ocular y la exposición sistémica de P-1046, un inhibidor de los canales epiteliales de sodio (ENaC), cuando se administra como una instilación tópica en conejos blancos de Nueva Zelanda.

5 MÉTODOS:

Los compuestos de prueba (P-1046) se proporcionaron como un polvo de color blanco ligeramente amarillo. Después, los compuestos de prueba se prepararon en soluciones de dosificación para una aplicación ocular tópica. Veintiocho conejos machos blancos de Nueva Zelanda naif para el experimento, de aproximadamente 4 meses de edad al comienzo del estudio y que pesaban 2,6-3,1 kilogramos de forma aleatoria se asignaron a grupos de tratamiento tal y como se muestra en la tabla siguiente:

Grupo	Concentración de P-1046 (ojo derecho)*	Número de dosis**	Número de animales
1. Vehículo	0	8	4
6. P-1046 – dosis baja	10	8	4
7. P-1046 – dosis alta	30	4	4

*A cada dosis, se instilaron 50 µl del vehículo o de la solución del compuesto de prueba en el ojo derecho y 50 µl de solución salina se instilaron en el ojo izquierdo
 ** Las dosis se administraron ocho veces (1 hora entre dosis, grupos de dosis de 10 mM) o cuatro veces (2 horas entre cada dosis, grupos de dosis de 30 mM) durante un solo día

Se administraron a los animales 50 µl del vehículo de prueba o del control en el globo ocular del ojo derecho y 50 µl de solución salina en el globo ocular del ojo izquierdo ocho veces (aproximadamente una hora entre cada dosis) en los Grupos 1 y 6 y cuatro veces (aproximadamente dos horas entre cada dosis) en el Grupo 7. La mortalidad y las observaciones clínicas se registraron diariamente. Se registraron los pesos corporales seleccionados aleatoriamente y antes del sacrificio el Día 2. Para medir la tasa de parpadeo, se contaron los pestañeos en el ojo derecho durante sólo 3 minutos antes del inicio del tratamiento y después de cada dosis. Los gestos de dolor y frotamiento en los ojos durante los 3 minutos del periodo de observación del parpadeo se registraron como observaciones clínicas. El consumo de comida de comida se registró diariamente. Los ojos se puntuaron siguiendo el test de Draize antes del tratamiento, después de cada dosis y el Día 2 aproximadamente 24 horas después de la dosis. Se recogieron muestras de sangre para su evaluación toxicocinética de los animales del Grupo 2-7 antes de la dosis, 30 minutos después de la dosis del medio, (4ª dosis en los grupos 3, 5 y 6; 2ª dosis en los grupos 2, 4 y 7) y a los 30, 60, 120 y 240 minutos después de la dosis final el Día 1. Se recogieron muestras de sangre para su evaluación de parámetros químicos de suero antes del inicio del tratamiento y 120 y 240 minutos después de la dosis final. Se recogieron muestras de orina durante un periodo de 4 horas después de la dosis final. Todos los animales fueron sacrificados después de la finalización de los procedimientos del estudio el Día 2.

30 RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

Los animales del estudio parecían estar en un buen estado general de salud a juzgar por las observaciones clínicas, pesos corporales y consumo de alimentos.

35 Se evaluó la irritación ocular mediante la medición de la tasa de parpadeo, evaluación siguiendo el test de Draize y observaciones clínicas. La irritación asociada a cada tratamiento se discute a continuación.

Vehículo

40 El vehículo fue bien tolerado con signos sólo de una irritación ocular menor y transitoria después de la dosis. Los animales con el control de vehículo presentaban enrojecimiento conjuntival en ambos ojos (puntuación máxima de Draize = 1) y episodios aislados de gestos de dolor y frotamiento en los ojos. La incidencia de enrojecimiento conjuntival fue ligeramente superior en los ojos tratados con el vehículo (ojo derecho), en comparación con los ojos tratados con solución salina (ojo izquierdo), lo que sugiere que el enrojecimiento observado puede haber sido el resultado del efecto de ambos vehículos y del procedimiento de dosificación (Figura 6). Todos los ojos parecían normales el Día 2.

P-1046 10 y 30 mM

50 Las formulaciones de P-1046 fueron bien toleradas. Se observó un enrojecimiento conjuntival después de la dosis,

pero la severidad y la incidencia de este signo fue comparable con los resultados de los controles. Todos los ojos en el grupo 10mM parecían normales el Día 2.

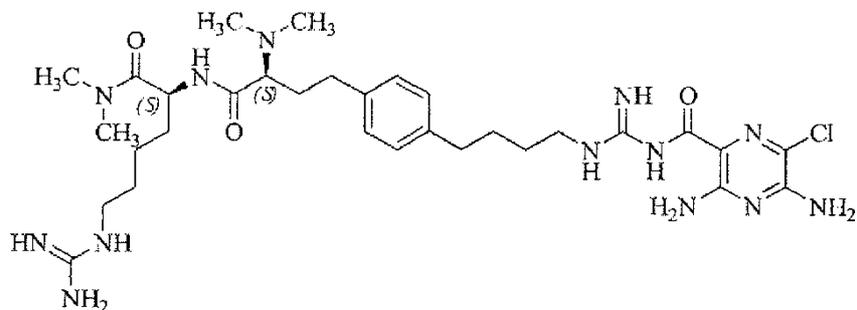
En la Figura 6 se muestra un resumen de la tolerancia ocular para P-1046.

5

La Figura 7 muestra los niveles plasmáticos de P-1046 después de la dosis ocular.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto representado por la Fórmula (I):



5

y racematos, enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 10 2. Compuesto según la reivindicación 1, que es una sal de adición ácida de un ácido inorgánico o un ácido orgánico seleccionado de entre el grupo que consiste en ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácido naftalensulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico y ácido láctico.

3. Composición farmacéutica, que comprende el compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20

4. Composición, que comprende:

el compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2; y un agonista del receptor P2Y_P.

25

5. Composición, que comprende:

el compuesto de la reivindicación 1 o reivindicación 2; y un broncodilatador.

30

6. Compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso en la promoción de la hidratación de las superficies mucosas, en el que una cantidad eficaz del compuesto de las reivindicaciones 1 ó 2 se administra en la superficie mucosa de un sujeto.

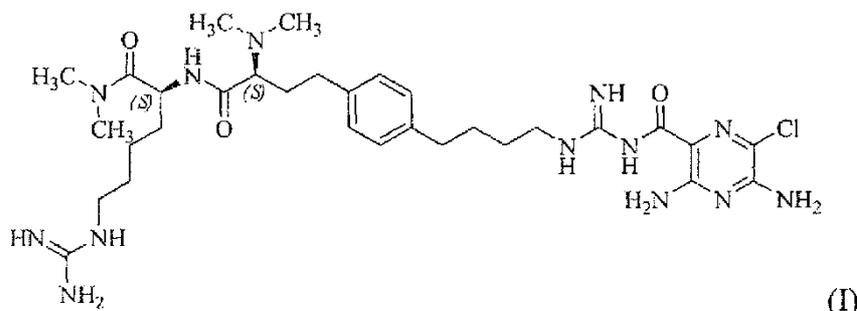
- 35 7. Compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso en el tratamiento de la bronquitis crónica, tratamiento de la bronquiectasia, tratamiento de la fibrosis quística, tratamiento de la sequedad vaginal, tratamiento del ojo seco, promoción de la hidratación ocular, la promoción de la hidratación de la córnea, la promoción del aclaramiento de la mucosidad en las superficies mucosas, tratamiento de la enfermedad de Sjögren, tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, tratamiento de la piel seca, tratamiento de la esofagitis, tratamiento de la boca seca, tratamiento de la deshidratación nasal, tratamiento de la neumonía inducida por la ventilación, tratamiento del asma, tratamiento de la discinesia ciliar primaria, tratamiento de la otitis media, la inducción al esputo con fines de diagnóstico, tratamiento de la enfermedad obstructiva pulmonar crónica, tratamiento del enfisema, tratamiento de la neumonía, tratamiento del estreñimiento, tratamiento de la diverticulitis crónica o tratamiento de la rinosinusitis.

45

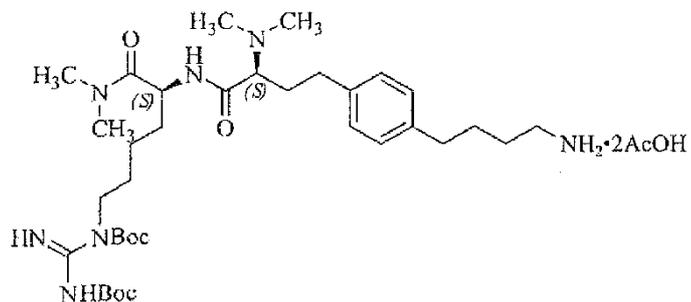
8. Composición que comprende un osmolito y el compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso en el tratamiento de uno o más estados seleccionados de entre el grupo que consiste en bronquitis crónica, bronquiectasia, fibrosis quística, sinusitis, sequedad vaginal, ojo seco, enfermedad de Sjögren, síndrome de obstrucción intestinal distal, piel seca, esofagitis, boca seca (xerostomía), deshidratación nasal, asma, discinesia

ciliar primaria, otitis media, enfermedad obstructiva pulmonar crónica, enfisema, neumonía, rinosinusitis e infecciones transmitidas por el aire.

9. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el compuesto se administra a un sujeto 5 antes de la administración del osmolito.
10. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el compuesto se administra a un sujeto simultáneamente con la administración del osmolito.
- 10 11. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el compuesto se administra a un sujeto después de la administración del osmolito.
12. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el osmolito es una solución salina hipertónica o manitol.
- 15 13. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el osmolito es cloruro sódico que se proporciona a un sujeto en forma de partícula micronizada de tamaño respirable.
14. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que una cantidad eficaz de un osmolito y un 20 bloqueador de los canales de sodio se administra a un sujeto mediante aerosolización utilizando un dispositivo capaz de liberar la formulación en las fosas nasales o las vías respiratorias pulmonares en la que el aerosol tiene un tamaño respirable.
15. Composición, que comprende:
- 25 (a) el compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 y (b) un compuesto osmóticamente activo.
16. Compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso en la inducción de esputo, en el que una cantidad eficaz de un osmolito y el compuesto de las reivindicaciones 1 ó 2 se administra en un sujeto que necesite 30 un aumento del aclaramiento mucociliar e hidratación de las mucosas.
17. Compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2 para su uso en el tratamiento profiláctico, profiláctico post exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o estados causados por patógenos, en el que una cantidad eficaz del compuesto de las reivindicaciones 1 ó 2 se administra en un sujeto que necesite aclaramiento 35 mucociliar e hidratación de las mucosas.
18. Compuesto para su uso de la reivindicación 17, en el que el patógeno es ántrax o peste.
19. Composición que comprende un osmolito y un compuesto según las reivindicaciones 1 ó 2 para su 40 uso en el tratamiento profiláctico, profiláctico post exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o estados causados por patógenos, en el que una cantidad eficaz osmolito y un compuesto de las reivindicaciones 1 ó 2 se administra en un sujeto que necesite un aumento del aclaramiento mucociliar e hidratación de las mucosas.
20. Composición para su uso según la reivindicación 19, en el que el patógeno es ántrax o peste.
- 45 21. Procedimiento para la preparación del compuesto de la Fórmula I

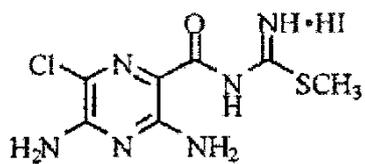


- 50 que comprende la etapa de reacción de un compuesto de la fórmula siguiente:

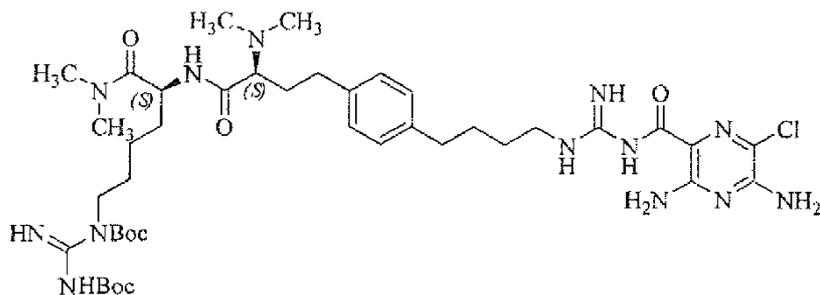


con un compuesto de la fórmula siguiente:

5



en presencia de DIPEA, en EtOH, para obtener el compuesto siguiente como producto intermedio:



10

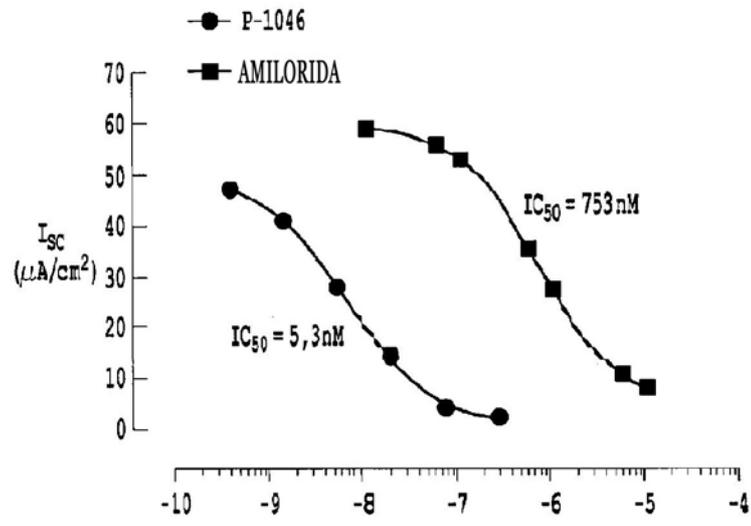


Fig.1

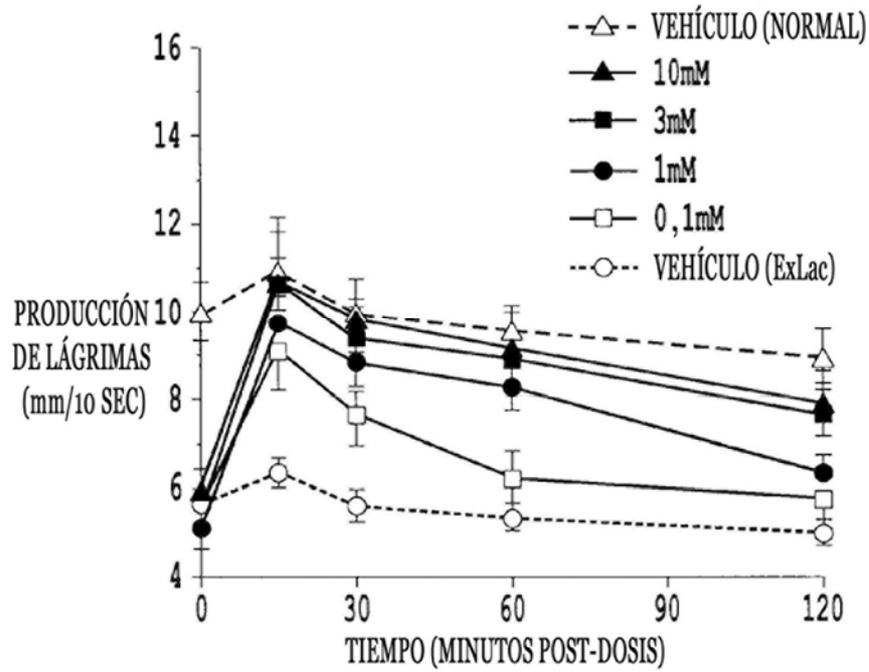


Fig. 2A

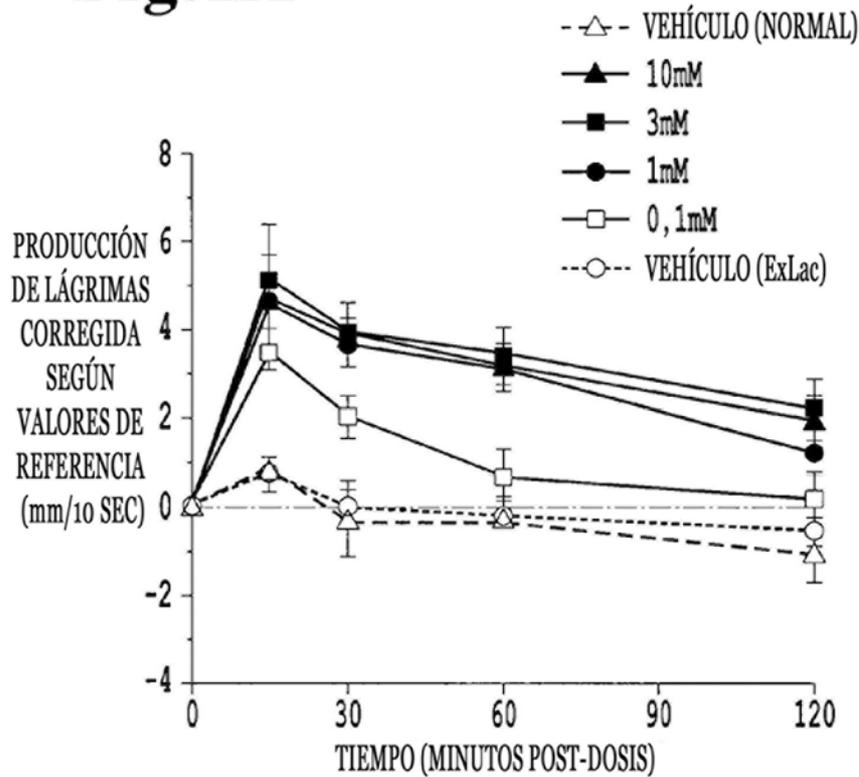


Fig. 2B

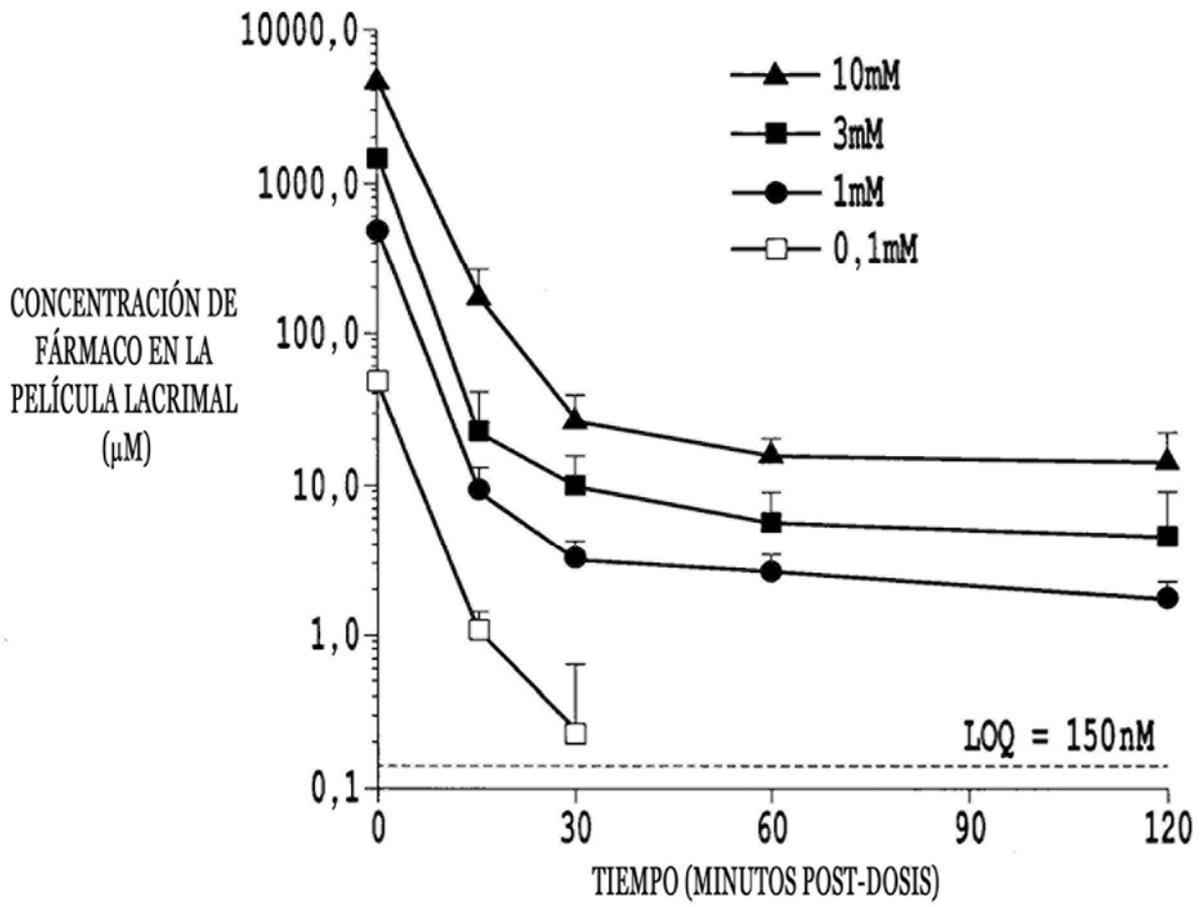


Fig.3

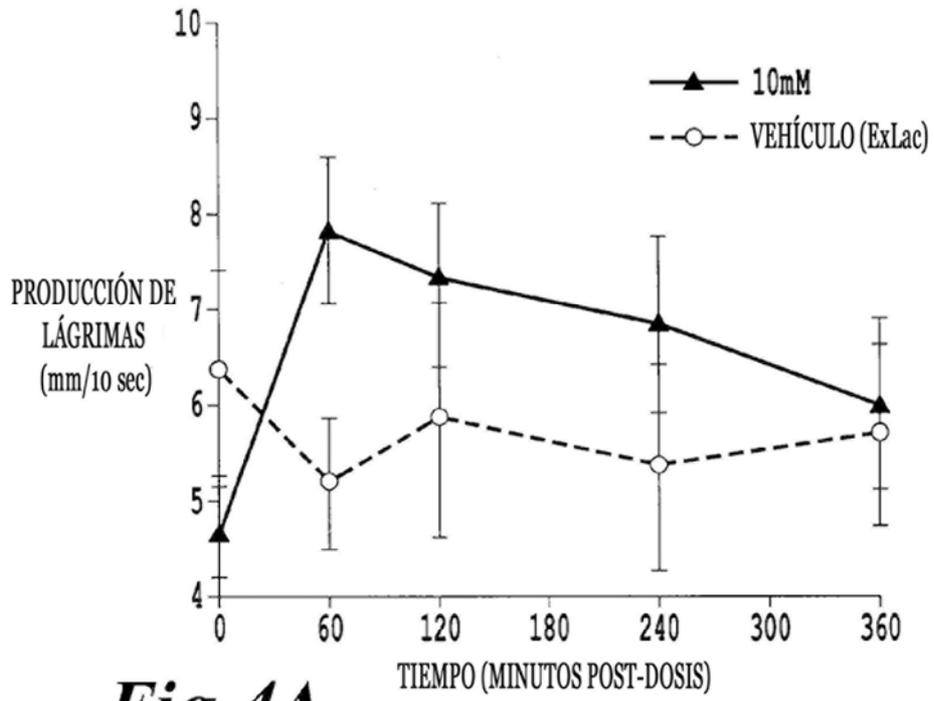


Fig. 4A

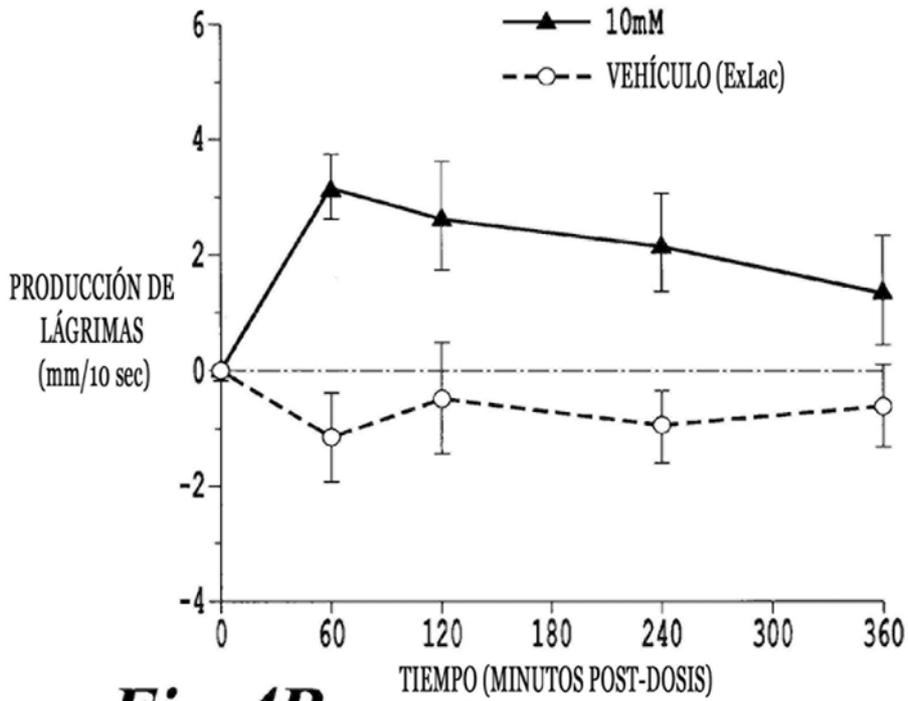


Fig. 4B

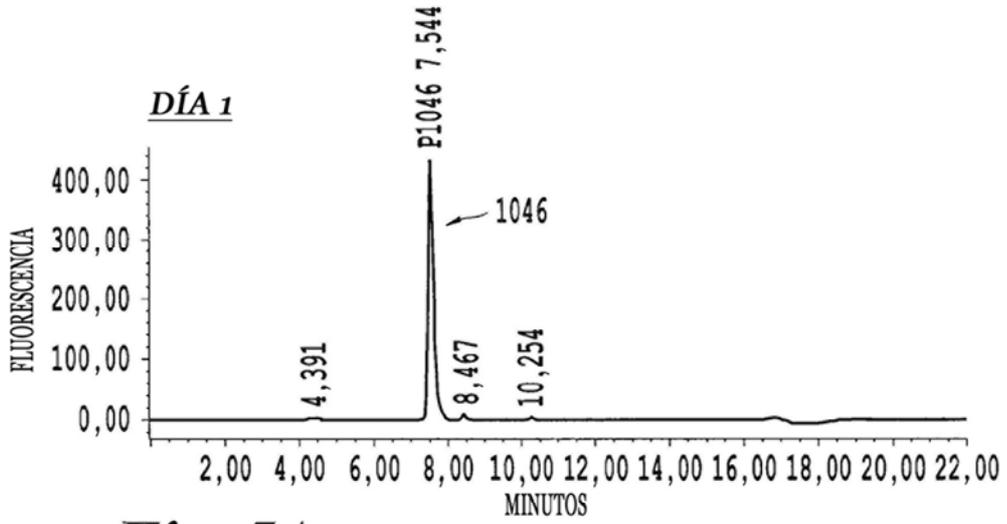


Fig.5A

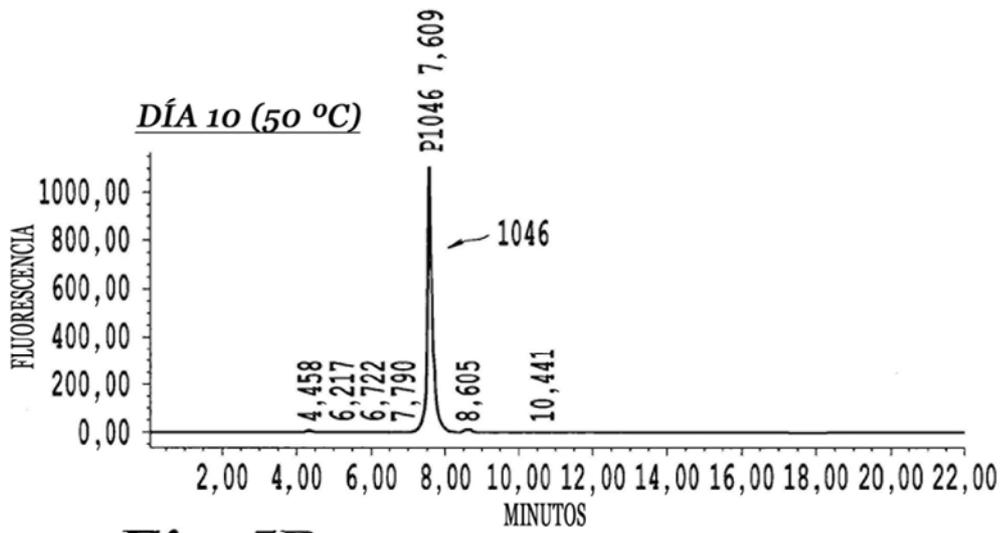


Fig.5B

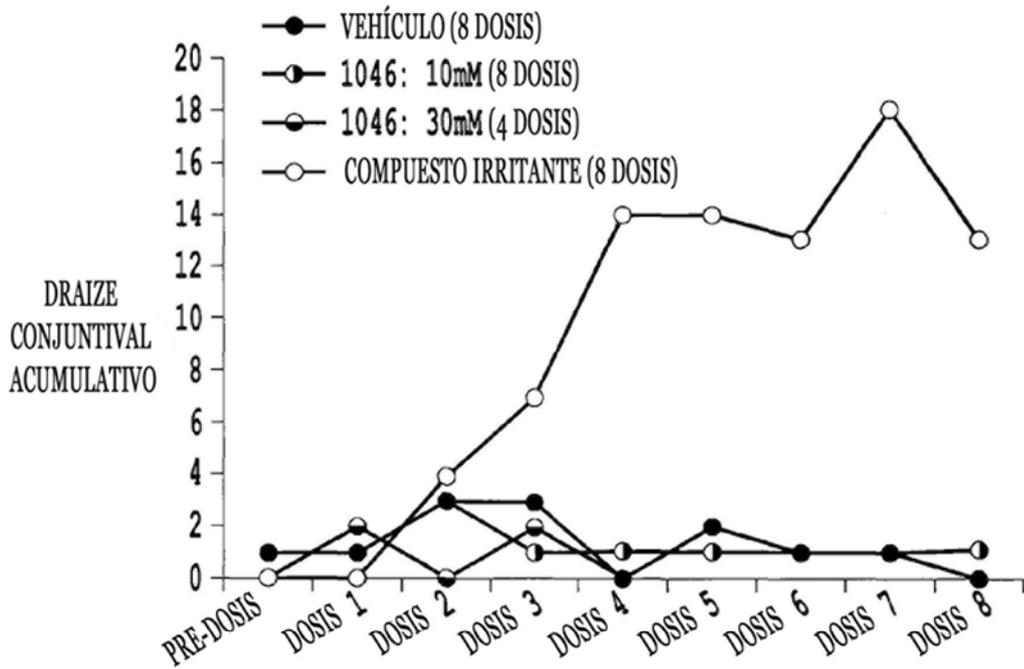


Fig. 6A

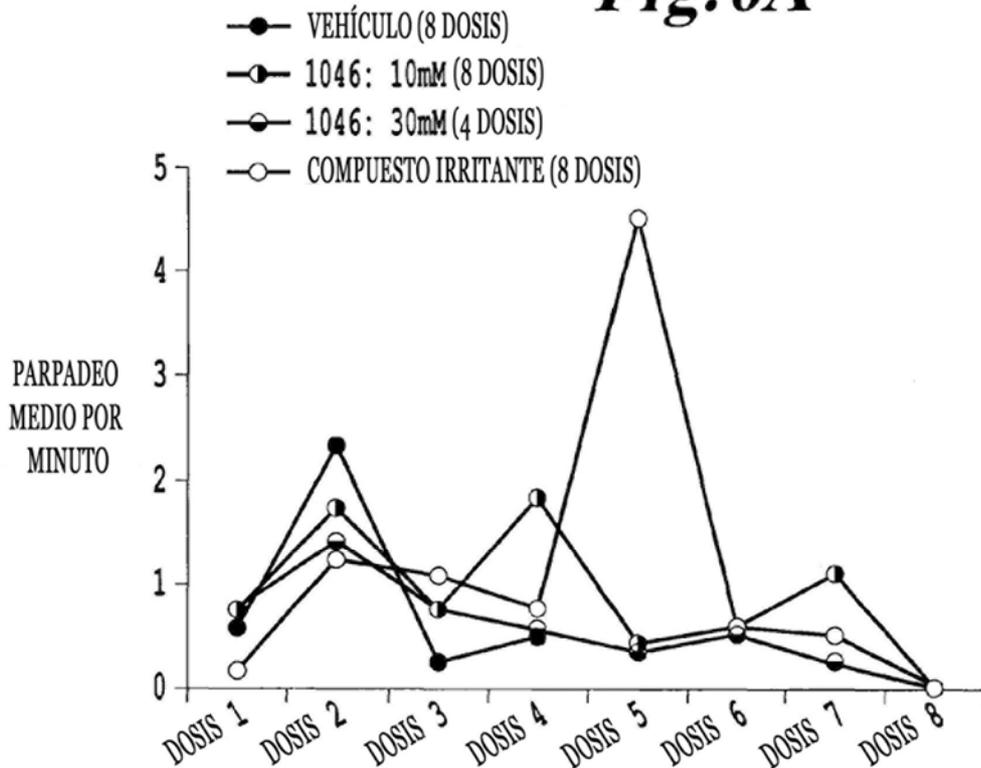


Fig. 6B

