

DESCRIPCIÓN

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

Campo de la Invención

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas y se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden 3, 5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil) amino) etoxi) fenil) butil) carbamimidoil) pirazino-2-carboxamida y formas de sales farmacéuticamente aceptables de la misma, útiles como bloqueadores de canales de sodio. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas para su uso en métodos terapéuticos. La invención también se refiere a kits que comprenden las composiciones farmacéuticas.

Antecedentes de la Invención

Las superficies mucosas en el área de contacto entre el medio ambiente y el cuerpo han desarrollado una serie de "defensas innatas", es decir, mecanismos de protección. Una forma principal de defensa innata consiste en limpiar estas superficies con líquido. Típicamente, la cantidad de capa de líquido sobre una superficie de la mucosa refleja el equilibrio entre la secreción de líquido epitelial, que a menudo refleja la secreción de aniones (Cl^- y/o HCO_3^-) acompañada de agua (y un contraión catiónico), y la absorción de líquido epitelial, que a menudo refleja la absorción de Na^+ , acompañada de agua y el contraanión (Cl^- y/o HCO_3^-). Muchas enfermedades de las mucosas son causadas por la falta de suficiente líquido protector en las superficies mucosas generada por un desequilibrio entre la secreción (demasiado escasa) y la absorción (relativamente excesiva). Los procesos defectuosos de transporte de sales que caracterizan estas disfunciones de las mucosas residen en la capa epitelial de la superficie de la mucosa.

Un enfoque para reponer la capa líquida protectora en las superficies mucosas consiste en "reequilibrar" el sistema mediante el bloqueo del canal de Na^+ y la absorción de líquido. La proteína epitelial que interviene en la etapa de limitación de la tasa de absorción de Na^+ y líquido es el canal epitelial de Na^+ ("ENaC"). El ENaC está ubicado sobre la superficie apical del epitelio, es decir, en el área de contacto entre la superficie de la mucosa y el medio ambiente. Para inhibir la absorción de Na^+ y líquido regulada por ENaC, lo ideal es administrar un bloqueador de ENaC de la clase amilorida a la superficie de la mucosa y mantenerlo en este sitio para lograr el máximo beneficio terapéutico.

Se ha informado del uso de bloqueadores de ENaC para diversas enfermedades cuyo estado mejora gracias al aumento de la hidratación de la mucosa. En particular, se ha informado del uso de bloqueadores de ENaC en el tratamiento de enfermedades respiratorias tales como la bronquitis crónica (BC), la fibrosis quística (FQ), y la EPOC, que reflejan la incapacidad del cuerpo para eliminar normalmente la mucosidad de los pulmones y, finalmente, dan como resultado una infección crónica de las vías respiratorias. Véase "Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in CF airway disease", R. C. Boucher, *Journal of Internal Medicine*, vol. 261, número 1, enero de 2007, páginas 5-16; y "Cystic fibrosis: a disease of vulnerability to airway surface dehydration", R. C. Boucher, *Trends in Molecular Medicine*, vol. 13, número 6, junio de 2007, páginas 231-240.

Los datos indican que el problema desencadenante, tanto en la bronquitis crónica como en la fibrosis quística, es la incapacidad de eliminar la mucosidad de las superficies de las vías respiratorias. La incapacidad para eliminar la mucosidad refleja un desequilibrio en las cantidades de mucosidad en forma de líquido superficial de las vías respiratorias (ASL, según sus siglas en inglés) en las superficies de las vías respiratorias. Este desequilibrio produce una reducción relativa del ASL, que conduce a la concentración de mucosidad, la reducción en la actividad lubricante del líquido periciliar (PCL, según sus siglas en inglés), la adherencia de mucosidad en la superficie de las vías respiratorias, y la incapacidad de eliminar la mucosidad a través de la actividad ciliar, dirigiéndola hacia la boca. La reducción en la eliminación de la mucosidad produce una colonización bacteriana crónica de la mucosidad adherida a las superficies de las vías respiratorias. La retención crónica de bacterias, la incapacidad de las sustancias locales antimicrobianas para destruir las bacterias atrapadas en la mucosidad de manera crónica, y la consiguiente respuesta inflamatoria crónica a este tipo de infección superficial, se manifiestan en la bronquitis crónica y la fibrosis quística.

En la actualidad existe una gran necesidad médica no satisfecha de productos que traten específicamente las diversas enfermedades cuyo estado mejora gracias al aumento de la hidratación de la mucosa, y que incluyen la bronquitis crónica, la EPOC y la fibrosis quística, entre otras. Los tratamientos actuales para la bronquitis crónica, la EPOC y la fibrosis quística se concentran en el tratamiento de los síntomas y/o los efectos tardíos de estas enfermedades. Sin embargo, ninguno de estos tratamientos trata con eficacia el problema fundamental de la incapacidad de eliminar la mucosidad del pulmón.

R. C. Boucher, en el documento de patente US 6.264.975, describe el uso de bloqueadores pirazinoilguanidínicos de los canales de sodio para la hidratación de las superficies mucosas tipificados por los diuréticos bien conocidos: amilorida, benzamilo, y fenamilo. Sin embargo, estos compuestos son relativamente impotentes, teniendo en cuenta la masa limitada de fármaco que puede ser inhalada por los pulmones; (2) se absorben rápidamente y por tanto

presentan, indeseablemente, una corta vida media en la superficie de la mucosa; y (3) se pueden disociar libremente del ENaC. Se necesitan fármacos más potentes con vidas medias más prolongadas en la superficie de la mucosa.

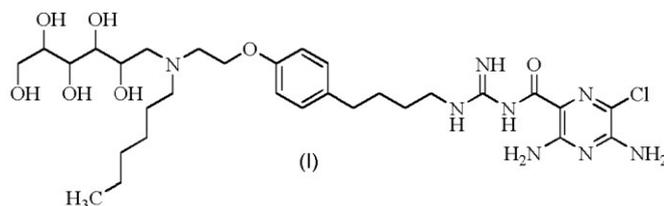
Una cantidad insuficiente de líquido protector superficial en otras superficies de la mucosa constituye una fisiopatología común a una serie de enfermedades. Por ejemplo, en la xerostomía (boca seca), la cavidad oral se queda sin líquido debido a la incapacidad de las glándulas parótidas sublinguales y submaxilares de secretar líquido a pesar de la continua absorción de líquido regulada por el transporte de Na⁺ (ENaC) desde la cavidad oral. La queratoconjuntivitis seca (ojo seco) es causada por la incapacidad de las glándulas lagrimales de secretar líquido ante la absorción continua de líquido dependiente del Na⁺ en las superficies conjuntivales. En la rinosinusitis existe un desequilibrio entre la secreción de mucina y el agotamiento relativo del ASL. La incapacidad de secretar Cl⁻ (y líquido) en el intestino delgado proximal, combinada con un aumento de la absorción de Na⁺ (y líquido) en el íleon terminal da lugar al síndrome de obstrucción intestinal distal (DIOS, según sus siglas en inglés). En pacientes de mayor edad, la excesiva absorción de Na⁺ (y volumen) en el colon descendente produce estreñimiento y diverticulitis.

La bibliografía publicada incluye una serie de solicitudes de patentes y patentes concedidas a Parion Sciences Inc., dirigidas a los análogos de pirazinoilguanidina como bloqueadores de los canales de sodio. Los ejemplos de dichas publicaciones incluyen la publicación PCT n.º 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 de EE. UU. n.º 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.

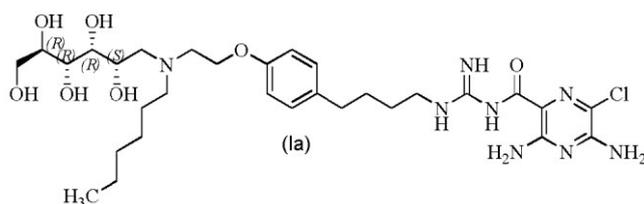
Sigue habiendo una necesidad de nuevos compuestos bloqueadores de los canales de sodio con mayor potencia y eficacia en los tejidos mucosos. También sigue habiendo la necesidad de nuevos compuestos bloqueadores de los canales de sodio que proporcionen un efecto terapéutico, pero reduzcan al mínimo o eliminen la aparición o progresión de la hiperpotasemia en receptores los destinatarios.

Resumen de la Invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)-carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y un osmolito. En la invención la 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)-carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede existir como un solvato o como un hidrato, como estereoisómeros individuales, incluyendo isómeros ópticos (enantiómeros y diastereómeros) y como isómeros geométricos (isomería cis-trans), mezclas de estereoisómeros y como tautómeros. La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (Ia):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y solución salina hipertónica.

La composición farmacéutica de la invención puede usarse en métodos para promover la hidratación de las superficies mucosas y/o mejorar la depuración mucociliar en un humano. La invención también se refiere a una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente para su uso como medicamento. La composición

farmacéutica de la invención también puede usarse para tratar la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), el asma, la bronquiectasia, la bronquitis aguda, la bronquitis crónica, la tos post-viral, la fibrosis quística, el enfisema, la neumonía, la panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplante, o traqueobronquitis asociada a ventilador, o para prevenir la neumonía asociada a ventilador en un humano con necesidad de ello. La composición farmacéutica de la invención también puede usarse para tratar la boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, ojo seco, enfermedad de Sjogren, promoción de la hidratación ocular o corneal, tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, otitis media, discinesia ciliar primaria, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en un humano con necesidad de ello. La invención también se refiere a un kit que comprende la composición farmacéutica de la invención; un dispositivo de aerosolización seleccionado de un nebulizador, un inhalador de polvo seco, y un inhalador de dosis medidas; instrucciones para administrar la composición farmacéutica; y un recipiente.

Breve Descripción de los Dibujos

Se puede obtener fácilmente una apreciación más completa de la invención y muchas de sus ventajas por referencia a la información contenida en la presente memoria, junto con las figuras siguientes:

La Fig. 1 es un gráfico representativo de la relación concentración–efecto del Compuesto (Ia) en la corriente de cortocircuito en células epiteliales bronquiales caninas (CBE, según sus siglas en inglés).

La Fig. 2 es un gráfico de la relación dosis–respuesta del Compuesto (Ia) en la depuración mucociliar ovina (MCC, según sus siglas en inglés) 4 h después de la dosis.

La Fig. 3 es un gráfico del efecto del Compuesto (Ia) y solución salina hipertónica (HS, según sus siglas en inglés) sobre la depuración mucociliar (MCC) ovina 4 h después de la dosis.

La Fig. 4 es un gráfico del efecto del Compuesto (Ia) y HS sobre la MCC ovina 8 h después de la dosis.

La Fig. 5 es un gráfico del efecto de bloqueo de los canales de sodio del Compuesto (Ia) sobre la retención de líquido en la superficie de 0 a 8 h en el modelo de células epiteliales bronquiales caninas (CBE) *in vitro*.

La Fig. 6 es un gráfico de barras del efecto del Compuesto (Ia) sobre la retención de líquido en la superficie a las 24 h en el modelo de CBE *in vitro*.

La Fig. 7 es un gráfico del efecto de los bloqueadores de ENaC del Compuesto Ia y el Ejemplo Comparativo I sobre la MCC ovina a las 8 horas.

La Fig. 8 es un gráfico del efecto de los bloqueadores de ENaC del Compuesto Ia y el Ejemplo Comparativo 1 sobre los niveles de potasio en el plasma ovino.

La Fig. 9 es un gráfico que compara la actividad del Ejemplo Comparativo 4 y el Compuesto 1a en la MCC ovina 4 h después de la dosis.

La Fig. 10 es un gráfico que compara el efecto del Ejemplo Comparativo 4 y el Compuesto 1a sobre los niveles de K⁺ en el plasma ovino.

Descripción Detallada de la Invención

Según se utiliza en la presente memoria, los términos siguientes se definen como se indica.

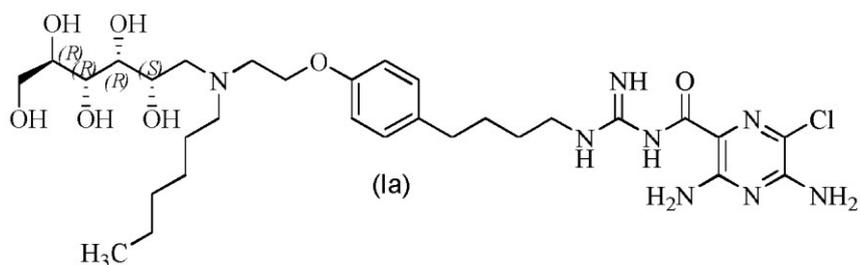
"Un compuesto de la invención" significa un compuesto de la Fórmula I o una sal, en particular una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

"Un compuesto de la Fórmula I" significa un compuesto que tiene la fórmula estructural designada en la presente memoria como Fórmula I. Los compuestos de la Fórmula I incluyen solvatos e hidratos (es decir, aductos de un compuesto de la Fórmula I con un disolvente). En las formas de realización en las que un compuesto de la Fórmula I incluye uno o más centros quirales, la frase está destinada a abarcar cada estereoisómero individual, incluidos los isómeros ópticos (enantiómeros y diastereómeros) e isómeros geométricos (isomería cis–trans) y las mezclas de estereoisómeros. Además, los compuestos de la Fórmula I también incluyen los tautómeros de la(s) fórmula(s) representada(s).

A lo largo de la descripción y en los ejemplos, los compuestos se denominan utilizando los principios de la nomenclatura estándar de la IUPAC, cuando sea posible, incluido el uso del programa informático ChemDraw Ultra 11.0 para denominar compuestos, comercializado por CambridgeSoft Corp./PerkinElmer.

En algunas representaciones de estructuras químicas en las que los átomos de carbono se ilustran con un número insuficiente de variables adjuntas para producir una valencia de cuatro, se debe suponer que el resto de sustituyentes de carbono necesarios para proporcionar una valencia de cuatro son hidrógeno. Del mismo modo, en algunas estructuras químicas en las que se dibuja un enlace sin especificar el grupo terminal, dicho enlace es indicativo de un grupo metilo (Me, -CH₃), como es convencional en la técnica.

En una forma de realización preferida, el compuesto de la fórmula (I) es 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoyl)pirazino-2-carboxamida, que tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos de la Fórmula I, pueden estar en forma de una base libre o una sal, en particular una sal farmacéuticamente aceptable. Para una revisión de sales farmacéuticamente aceptables, véase Berge y col., *J. Pharma Sci.* (1977) 66:1-19.

Las sales farmacéuticamente aceptables formadas a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos incluyen, por ejemplo: clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, nitrato, sulfamato, fosfato, hidrógeno fosfato, acetato, trifluoroacetato, maleato, malato, fumarato, lactato, tartrato, citrato, formiato, gluconato, succinato, piruvato, tanato, ascorbato, palmitato, salicilato, estearato, ftalato, alginato, poliglutamato, oxalato, oxaloacetato, sacarato, benzoato, sulfonatos de alquilo o arilo (por ejemplo, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato o naftalenosulfonato) e isotionato; complejos formados con aminoácidos tales como lisina, arginina, ácido glutámico, glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina, leucina y similares. Los compuestos de la invención también pueden presentarse en forma de sales formadas a partir de aniones elementales, tales como cloro, bromo o yodo.

Para uso terapéutico, las sales de los ingredientes activos de los compuestos de la Fórmula I serán farmacéuticamente aceptables, es decir, serán sales derivadas de un ácido farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, las sales de ácidos que no son farmacéuticamente aceptables también pueden ser útiles, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Las sales de trifluoroacetato, por ejemplo, pueden tener dicha utilidad. Todas las sales, ya sean o no derivadas de un ácido farmacéuticamente aceptable, están comprendidas dentro del alcance de la presente invención.

El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no poderse superponer con su imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que se pueden superponer con su imagen especular.

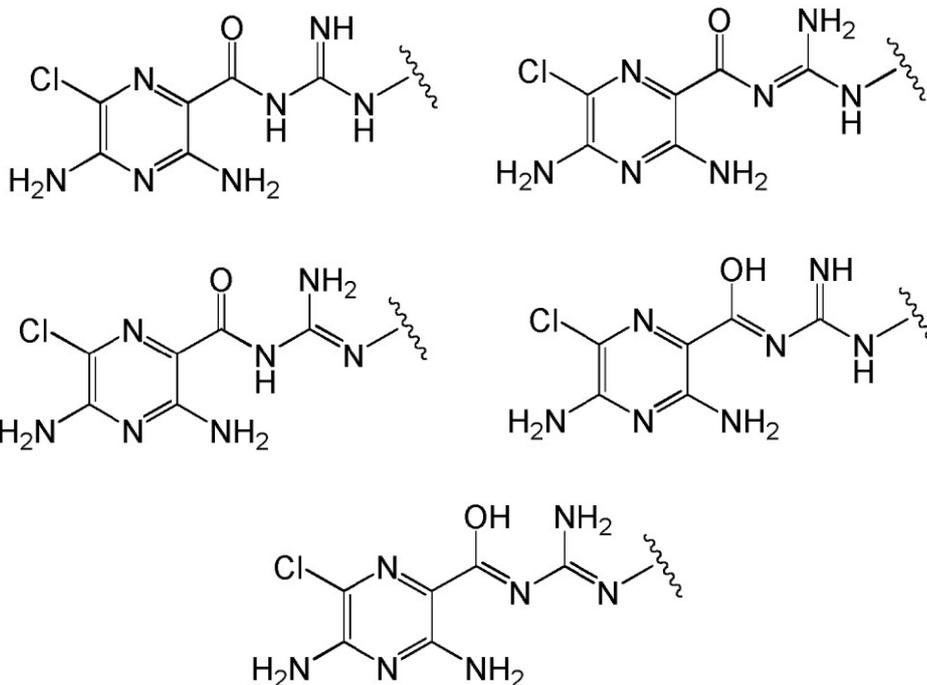
El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen idéntica constitución química, pero difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio. "Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares unas de otras. Los diastereómeros tienen propiedades físicas diferentes, por ejemplo: puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse mediante procedimientos analíticos de alta resolución tales como electroforesis y cromatografía. El término "enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que, el uno con respecto al otro, son imágenes especulares no superponibles.

Las definiciones y convenciones estereoquímicas utilizadas en la presente memoria siguen en líneas generales lo expuesto por S. P. Parker, Ed., MCGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York.

Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada plana. Al describir un compuesto ópticamente activo, se utilizan los prefijos D y L o R y S para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Un estereoisómero específico también se puede denominar enantiómero y, a menudo, una mezcla de dichos isómeros se denomina mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se conoce como una mezcla racémica o un racemato, que puede

ocurrir cuando no ha habido estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas.

El término "tautómeros" se refiere a un tipo de estereoisómero en el cual la migración de un átomo de hidrógeno da como resultado dos o más estructuras. Los compuestos de la Fórmula I pueden existir en distintas formas tautoméricas. Un experto en la técnica reconocerá que las amidinas, amidas, guanidinas, ureas, tioureas, heterociclos y similares pueden existir en formas tautoméricas. A modo de ejemplo y de manera no excluyente, los compuestos de la Fórmula I pueden existir en diversas formas tautoméricas, como se muestra a continuación:



Todas las formas tautoméricas posibles de las amidinas, amidas, guanidinas, ureas, tioureas, heterociclos y similares, de todas las formas de realización de la Fórmula I están comprendidas dentro del alcance de la presente invención. Los tautómeros existen en equilibrio y, por lo tanto, los expertos en la técnica entenderán que la descripción de un solo tautómero en las fórmulas proporcionadas hace referencia igualmente a todos los tautómeros posibles.

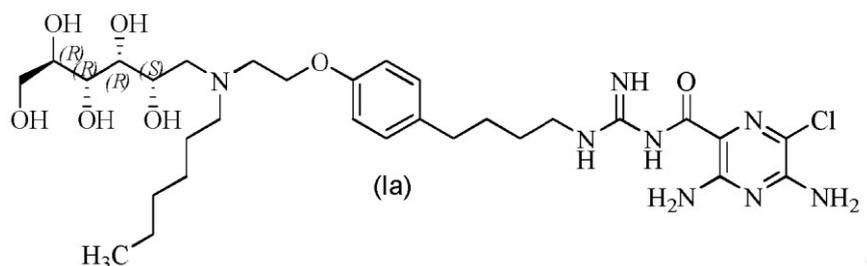
Cabe señalar que todos los enantiómeros, diastereómeros y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos de compuestos comprendidos dentro del alcance de la Fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos están incluidos en la presente invención. Todas las mezclas de dichos enantiómeros y diastereómeros, que incluyen mezclas enantioméricamente enriquecidas y mezclas diastereoméricamente enriquecidas, están comprendidas dentro del alcance de la presente invención. Las mezclas enantioméricamente enriquecidas son mezclas de enantiómeros en las que la relación del enantiómero especificado con el enantiómero alternativo es mayor que 50:50. Más particularmente, una mezcla enantioméricamente enriquecida comprende por lo menos el 75% aproximadamente del enantiómero especificado, y preferentemente por lo menos el 85% aproximadamente del enantiómero especificado. En una forma de realización, la mezcla enantioméricamente enriquecida está sustancialmente desprovista del otro enantiómero. De manera similar, las mezclas diastereoméricamente enriquecidas son mezclas de diastereómeros en las que la cantidad del diastereómero especificado es mayor que la cantidad de cada diastereómero alternativo. Más particularmente, una mezcla diastereoméricamente enriquecida comprende por lo menos el 75% aproximadamente del diastereómero especificado, y preferentemente por lo menos el 85% aproximadamente del diastereómero especificado. En una forma de realización, la mezcla diastereoméricamente enriquecida está sustancialmente desprovista de todos los demás diastereómeros. Los expertos en la técnica entenderán que la expresión "sustancialmente desprovisto de" indica la presencia de menos de un 5% de otros diastereómeros, preferentemente menos de 1%, más preferentemente menos de 0,1%. En otras formas de realización, no habrá presencia de ningún otro diastereómero, o la cantidad de cualesquiera otros diastereómeros presentes estará por debajo del nivel de detección. Los estereoisómeros pueden separarse mediante procedimientos conocidos en la técnica, incluida la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, según sus siglas en inglés) y la cristalización de sales quirales.

Un solo estereoisómero, por ejemplo, un enantiómero, sustancialmente desprovisto de su estereoisómero se puede obtener por resolución de la mezcla racémica utilizando un procedimiento tal como la formación de diastereómeros

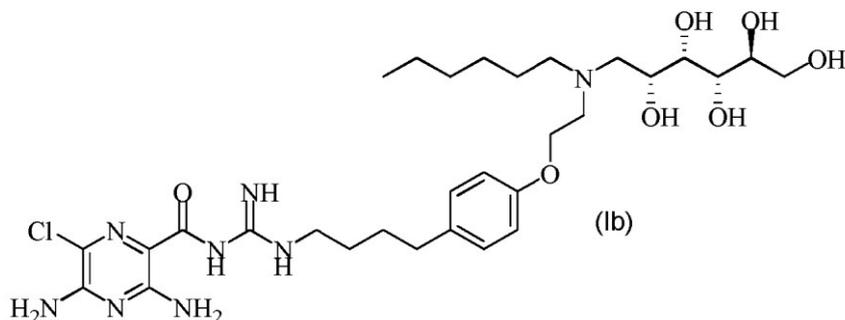
mediante el uso de agentes de resolución ópticamente activos ("Stereochemistry of Carbon Compounds," (1962) por E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C. H., (1975) *J. Chromatogr.*, 113:(3) 283-302). Las mezclas racémicas de los compuestos quirales de la invención pueden separarse y aislarse por cualquier procedimiento adecuado, incluidas: (1) formación de sales iónicas y diastereoméricas con compuestos quirales y separación por cristalización fraccionada u otros procedimientos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos quirales de derivación, separación de los diastereómeros y conversión en los estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente bajo condiciones quirales.

Con fines ilustrativos, los ejemplos específicos de enantiómeros del compuesto de la fórmula (I) dentro del alcance de la presente invención incluyen, no exclusivamente:

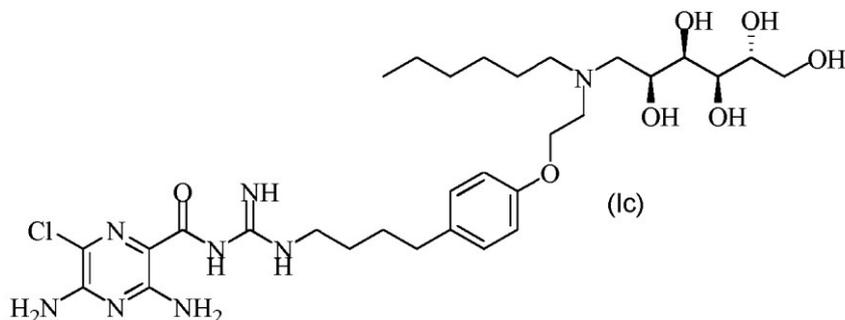
3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida



3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

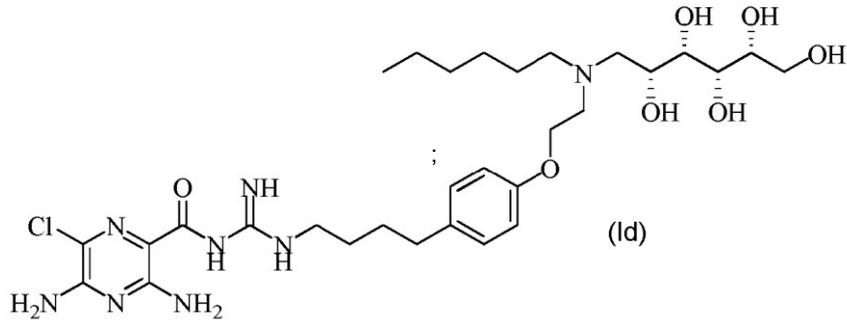


3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida



3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2R,3S,4S,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

5

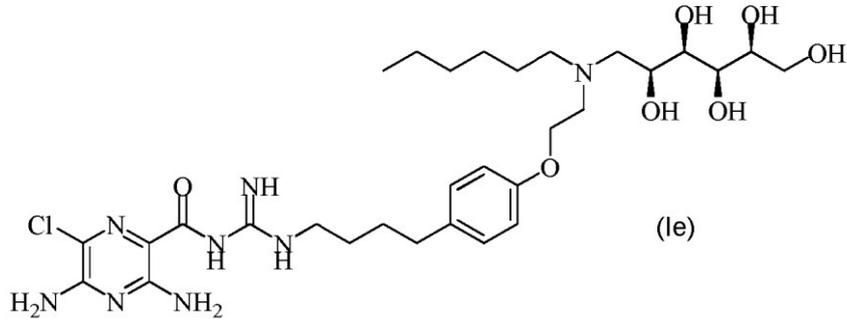


10

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

15

20

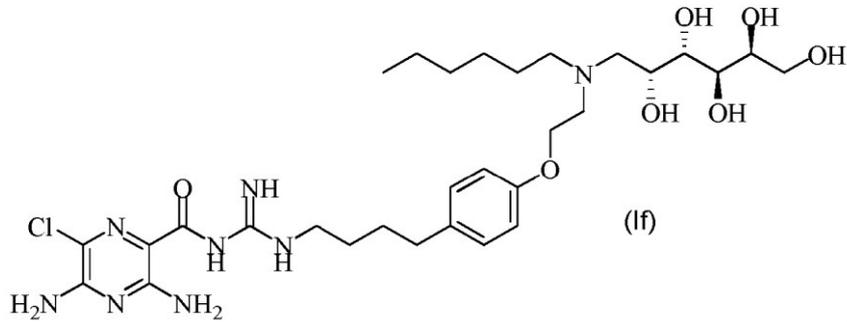


25

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2R,3S,4R,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

30

35

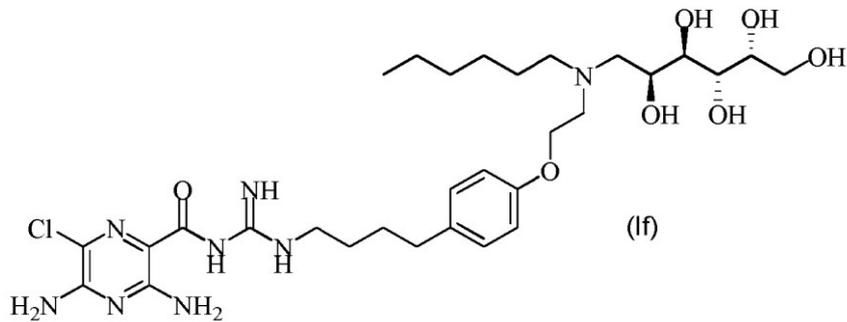


40

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4S,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

45

50



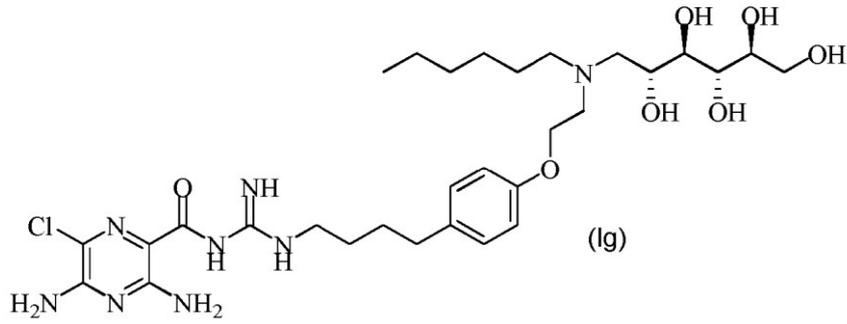
55

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2R,3R,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

60

65

5

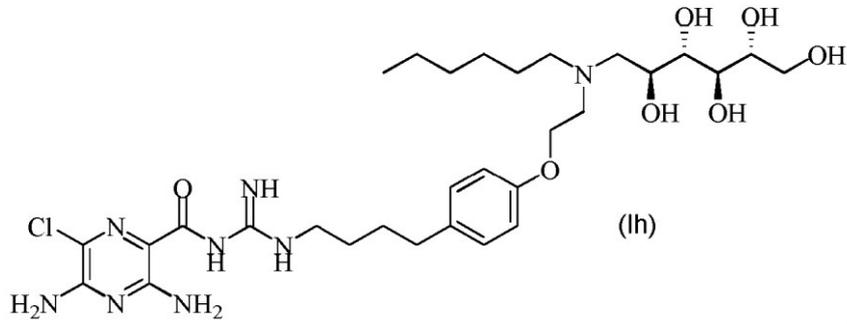


10

15

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoksi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

20

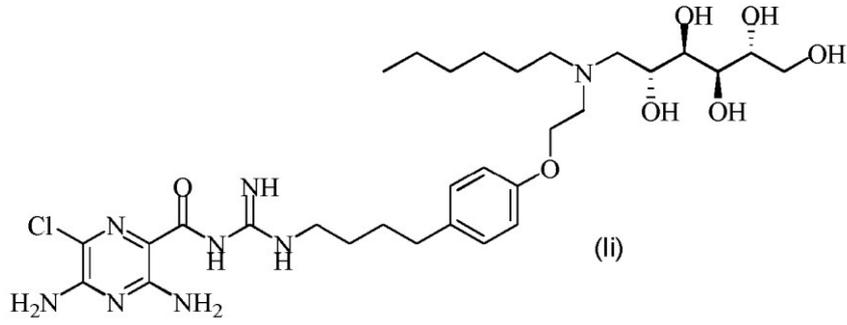


25

30

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2R,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoksi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

35



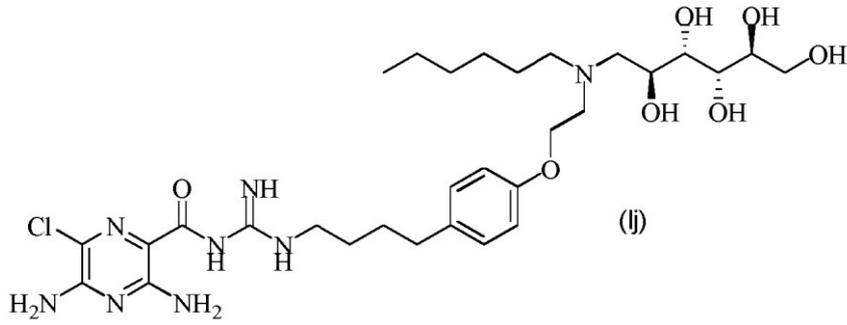
40

45

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoksi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

50

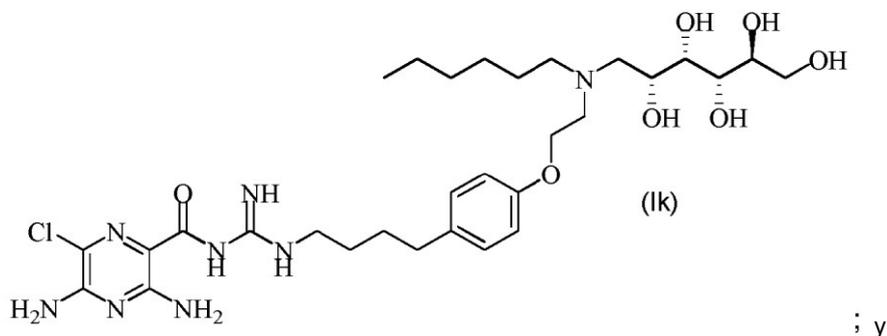
55



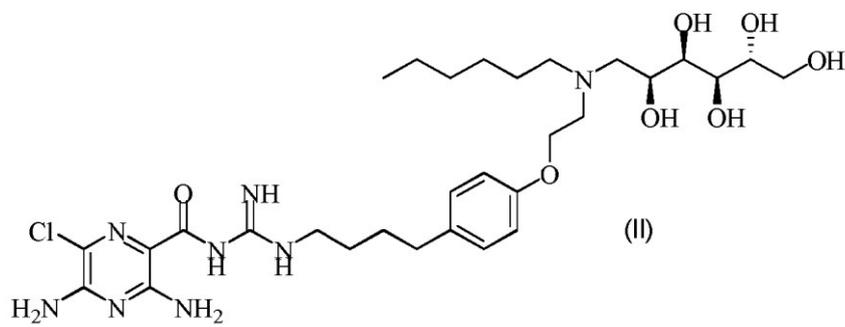
60

65

3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida



3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida



35

40

En una forma de realización, la presente invención proporciona una mezcla o composición enantioméricamente enriquecida que comprende 5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como isómero predominante.

45

Otras formas de realización comprenden las mezclas o composiciones enantioméricamente enriquecidas que comprenden, respectivamente, los compuestos de las fórmulas (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (II), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, como isómero predominante en cada una de sus mezclas respectivas.

50

En otra forma de realización, la presente invención proporciona una mezcla o composición enantioméricamente enriquecida que comprende 5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, sustancialmente desprovista de otros isómeros.

55

Otras cuatro formas de realización comprenden las mezclas o composiciones enantioméricamente enriquecidas que comprenden, respectivamente, los compuestos de las fórmulas (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik), y (II), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, sustancialmente desprovistos de otros isómeros en cada una de sus mezclas respectivas.

60

65

Un compuesto de la Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir como polimorfos o pseudopolimorfos diferentes. Según se utiliza en la presente invención, por "polimorfismo cristalino" se entiende la capacidad de un compuesto cristalino de existir en distintas estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino puede provenir de diferencias en el empaquetamiento de cristales (polimorfismo de empaquetamiento) o de diferencias de empaquetamiento entre conformeros diferentes de la misma molécula (polimorfismo conformacional). Según se utiliza en la presente invención, el pseudopolimorfismo cristalino también incluye la capacidad de un hidrato o solvato de un compuesto de existir en distintas estructuras cristalinas. Los pseudopolimorfos de la presente invención pueden existir debido a diferencias en el empaquetamiento de los cristales (pseudopolimorfismo de empaquetamiento) o debido a diferencias de empaquetamiento entre conformeros diferentes de la misma molécula (pseudopolimorfismo conformacional). La presente invención comprende todos los polimorfos y pseudopolimorfos de

los compuestos de la Fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Un compuesto de la Fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo pueden existir también como sólido amorfo. Según se utiliza en la presente invención, un sólido amorfo es un sólido en el que no hay orden de largo alcance en las posiciones de los átomos del sólido. Esta definición se aplica también cuando el tamaño de los cristales es de dos nanómetros o menos. Se pueden utilizar aditivos, incluidos disolventes, para crear las formas amorfas de la presente invención. La presente invención, incluidas todas las composiciones farmacéuticas, procedimientos de tratamiento, productos de combinación y usos de los mismos descritos en la presente memoria, comprende todas las formas amorfas de los compuestos de la Fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Usos

Los compuestos de la invención presentan actividad como bloqueadores de los canales de sodio. Sin depender de ninguna teoría en particular, se cree que los compuestos de la invención pueden funcionar *in vivo* bloqueando los canales epiteliales de sodio presentes en las superficies mucosas y que, por lo tanto, reducen la absorción de agua por las superficies mucosas. Este efecto aumenta el volumen de líquidos protectores en las superficies mucosas y reequilibra el sistema.

En consecuencia, los compuestos de la invención son útiles como medicamentos, particularmente para el tratamiento de cuadros clínicos para los que puede resultar indicado un bloqueador de los canales de sodio. Dichas afecciones incluyen afecciones pulmonares, tales como enfermedades asociadas con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), incluidos los agravamientos agudos de la EPOC, asma, bronquiectasia (incluida la bronquiectasia debida a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis y bronquiolitis asociada a trasplante, incluida la bronquiolitis asociada al trasplante de pulmón y de médula ósea, en un ser humano que lo necesite. Los composiciones farmacéuticas de la invención también pueden ser útiles para tratar la traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica y/o para la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica en pacientes sometidos a ventilación mecánica. La presente invención comprende composiciones farmacéuticas para su uso en procedimientos para tratar cada una de estas afecciones en un mamífero que lo necesite, preferentemente en un ser humano que lo necesite, que comprenden la administración a dicho mamífero de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. También se proporcionan composiciones farmacéuticas para su uso en (a) un procedimiento para reducir los agravamientos de la EPOC en un mamífero que lo necesite, (b) compuestos para su uso en un procedimiento para reducir los agravamientos de la FQ en un mamífero que lo necesite, (c) compuestos para su uso en un procedimiento para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero que lo necesite, (d) compuestos para su uso en un procedimiento para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero aquejado de EPOC, (e) compuestos para su uso en un procedimiento para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero aquejado de FQ, (f) compuestos para su uso en un procedimiento para reducir las infecciones de las vías respiratorias en un mamífero que lo necesite.

También se proporcionan compuestos para su uso en un procedimiento para estimular, potenciar o mejorar la depuración mucociliar en un mamífero, y dicho procedimiento comprende la administración a un mamífero que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Se entenderá que la depuración mucociliar incluye las acciones mucociliares naturales involucradas en el transporte o depuración de la mucosidad en las vías respiratorias, incluidos los mecanismos de autodepuración de los bronquios. Por lo tanto, también se proporciona un procedimiento para mejorar la depuración de la mucosidad en las vías respiratorias de un mamífero que lo necesite.

Además, los bloqueadores de los canales de sodio pueden estar indicados para el tratamiento de afecciones cuyo estado mejora por el aumento de la hidratación de la mucosa en superficies mucosas que no son superficies mucosas pulmonares. Los ejemplos de dichas afecciones incluyen boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, ojo seco, enfermedad de Sjögren, otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento y diverticulitis crónica. Los compuestos de la invención también se pueden utilizar para favorecer la hidratación ocular o corneal.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden ser útiles en procedimientos para obtener una muestra de esputo de un ser humano. El método puede llevarse a cabo mediante la administración de una composición farmacéutica de la invención a por lo menos un pulmón del paciente y luego induciendo y recogiendo una muestra de esputo de dicho ser humano.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden usarse en un procedimiento para el tratamiento de una afección en un mamífero, como un ser humano, para el cual resulta indicado un bloqueador de los canales de sodio.

En otras formas de realización, la presente invención proporciona cada uno de los compuestos para su uso en los procedimientos descritos en la presente memoria con el beneficio adicional de reducir al mínimo o eliminar la hiperpotasemia en el destinatario del procedimiento. También se proporcionan formas de realización que comprenden cada uno de los compuestos para su uso en un procedimiento descrito en la presente memoria, en el que se logra un índice terapéutico mejorado.

Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", según se utilizan en la presente memoria, se refieren a revertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir el trastorno o afección o uno o más síntomas de dicho trastorno o afección.

Todos los procedimientos terapéuticos descritos en la presente memoria se llevan a cabo administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención, un compuesto de la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto (normalmente un mamífero y preferentemente un ser humano) que necesite el tratamiento.

En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una afección cuyo estado mejora gracias al aumento de la hidratación de la mucosa en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad asociada con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización particular, la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización particular, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para reducir la frecuencia, gravedad o duración del agravamiento agudo de la EPOC o para el tratamiento de uno o más síntomas de agravamiento agudo de la EPOC en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento del asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la bronquiectasia (incluida la bronquiectasia debida a otras afecciones distintas de la fibrosis quística) en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la bronquitis, incluidas las bronquitis aguda y crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la tos posviral en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la fibrosis quística en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento del enfisema en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la neumonía en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la panbronquiolitis en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la bronquiolitis asociada al trasplante, incluidas las bronquiolitis asociadas al trasplante de pulmón y de médula ósea en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica y/o la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica en un ser humano sometido a ventilación mecánica que lo necesite.

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en procedimientos para el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre el grupo formado por: obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, bronquiectasia (incluida la bronquiectasia debida a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada al trasplante, y traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica o la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica en un ser humano que lo necesite, en donde cada compuesto para su uso en un procedimiento comprende la administración a dicho ser humano de una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula 1(a), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otras formas de realización, para cada compuesto para su uso en un procedimiento de tratamiento, la forma de sal farmacéuticamente aceptable es una sal clorhidrato o una sal hidroxinaftoato del compuesto de la fórmula (1a). En otra forma de realización, dentro de cada compuesto para su uso en un procedimiento de tratamiento, se utiliza la base libre del compuesto de la fórmula (1a).

En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la boca seca (xerostomía) en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una

forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la piel seca en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la sequedad vaginal en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la sinusitis, rinosinusitis, o deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento del ojo seco, o la enfermedad de Sjögren, o para promover la hidratación ocular o corneal en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la otitis media en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento de la discinesia ciliar primaria en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización, la invención proporciona compuestos para su uso en un procedimiento para el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite.

También se proporciona un compuesto de la invención para su uso en terapia médica, en particular para su uso en el tratamiento de una afección en un mamífero, tal como un ser humano, para la que está indicado un bloqueador de los canales de sodio. Todos los procedimientos terapéuticos descritos en la presente memoria se llevan a cabo administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención al sujeto que necesita tratamiento. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de una afección pulmonar, tal como una enfermedad asociada con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización particular se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en la reducción de la frecuencia, gravedad o duración del agravamiento agudo de la EPOC o para el tratamiento de uno o más síntomas de agravamiento agudo de la EPOC en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto para utilizar en el tratamiento de la bronquiectasia, incluida la bronquiectasia debida a otras afecciones distintas de la fibrosis quística, o bronquitis, incluidas la bronquitis aguda y la bronquitis crónica, en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de la tos posviral en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de la fibrosis quística en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del enfisema en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la neumonía en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la panbronquiolitis o la bronquiolitis asociada al trasplante, incluida la bronquiolitis asociada al trasplante de pulmón y de médula ósea en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica o la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica en un ser humano sometido a ventilación mecánica que lo necesite.

En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de una afección cuyo estado mejora gracias al aumento en la hidratación de la mucosa en superficies mucosas de un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de la boca seca (xerostomía) en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de la piel seca en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto para su uso en el tratamiento de la sequedad vaginal en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la sinusitis, rinosinusitis, o deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del ojo seco, o la enfermedad de Sjögren, o para promover la hidratación ocular o corneal en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la otitis media en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de la discinesia ciliar primaria en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una forma de realización se proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite.

En la presente se divulga el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el

tratamiento de una afección en un mamífero, tal como un ser humano, para la que está indicado un bloqueador de los canales de sodio. En una forma de realización se proporciona el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades asociadas con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), agravamientos agudos de la EPOC, asma, bronquiectasia (incluida la bronquiectasia que se debe a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis (incluidas la bronquitis aguda y la bronquitis crónica), tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada al trasplante, (incluidas las bronquiolitis asociadas al trasplante de pulmón y de médula ósea), traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica o la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica.

En una forma de realización particular se proporciona el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección cuyo estado mejora por el aumento en la hidratación de las mucosas en las superficies de las mucosas, tratamiento de la boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, tratamiento del ojo seco, enfermedad de Sjögren, promoción de la hidratación ocular o corneal, tratamiento de la otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica.

Las expresiones "cantidad eficaz", "cantidad farmacéuticamente eficaz", "dosis eficaz" y "dosis farmacéuticamente eficaz", según se utilizan en la presente invención, se refieren a una cantidad de compuesto de la invención que es suficiente, en el sujeto al que se administra, para producir la respuesta biológica o médica de un cultivo de células, tejido, sistema o mamífero (incluido un ser humano) pretendida, por ejemplo, por un investigador o médico clínico. El término también incluye dentro de su alcance las cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal. En una forma de realización, la cantidad eficaz es la cantidad necesaria para proporcionar un nivel deseado de fármaco en las secreciones y tejidos de las vías respiratorias y los pulmones o, alternativamente, en el torrente sanguíneo de un sujeto a tratar para presentar una respuesta fisiológica esperada o un efecto biológico deseado, cuando dicha composición se administra por inhalación. Por ejemplo, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para el tratamiento de una afección para la cual resulta indicado un bloqueador de los canales de sodio es suficiente en el sujeto al que se administra para tratar la afección particular. En una forma de realización, una cantidad eficaz es una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para el tratamiento de la EPOC o fibrosis quística en un ser humano.

La cantidad precisa eficaz de los compuestos de la invención dependerá de varios factores que incluyen, no exclusivamente: la especie, edad y peso del sujeto a tratar; la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad; la biodisponibilidad, potencia y otras propiedades del compuesto específico que se administra; la naturaleza de la formulación, la vía de administración y el dispositivo de administración, y en última instancia, será a discreción del médico o veterinario interviniente. Se puede encontrar más orientación con respecto a la dosis apropiada si se considera la dosificación convencional de otros bloqueadores de los canales de sodio, tales como la amilorida, teniendo también en la debida consideración cualquier diferencia en la potencia entre la amilorida y los compuestos de la presente invención.

Una dosis farmacéuticamente eficaz administrada tópicamente a las superficies de las vías respiratorias de un sujeto (por ejemplo, por inhalación) de un compuesto de la invención para el tratamiento de un ser humano de 70 kg puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg. En otra forma de realización, la dosis farmacéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 µg. Típicamente, la dosis diaria administrada tópicamente a las superficies de las vías respiratorias será una cantidad suficiente para lograr una concentración disuelta de agente activo en las superficies de las vías respiratorias de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} o 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} o 10^{-1} moles/litro, más preferentemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro. La selección de la dosis específica para un paciente será determinada por el médico, profesional de la salud o veterinario interviniente de experiencia ordinaria en la técnica, basándose en varios factores que incluyen los mencionados anteriormente. En una forma de realización particular, la dosis de un compuesto de la invención para el tratamiento de un ser humano de 70 kg estará en el intervalo de aproximadamente 10 nanogramos (ng) a aproximadamente 10 mg. En otra forma de realización, la dosis eficaz sería de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1.000 µg. En una forma de realización, la dosis de un compuesto de la invención para el tratamiento de un ser humano de 70 kg estará en el intervalo de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 0,5 mg. En una forma de realización adicional, la dosis será de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 60 µg. En otra forma de realización, la dosis farmacéuticamente eficaz será de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 µg. En otra forma de realización, la dosis farmacéuticamente eficaz será de aproximadamente 5 µg a aproximadamente 50 µg. Otra forma de realización tendrá una dosis eficaz de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 40 µg. En otras dos formas de realización, la dosis farmacéuticamente eficaz será de aproximadamente 15 µg a aproximadamente 50 µg, y de aproximadamente 15 µg a aproximadamente 30 µg, respectivamente. Se entenderá que en cada uno de estos intervalos de dosis, están incluidas todas las dosis incrementales del intervalo. Por ejemplo, el intervalo 0,5–50 µg incluye dosis individuales de: 0,5 µg, 0,6 µg, 0,7 µg, 0,8 µg, 0,9 µg, 1,0 µg, 1,1 µg, 1,2 µg, 1,3 µg, 1,4 µg, 1,5 µg, 1,6 µg, 1,7 µg, 1,8 µg, 1,9 µg, 2,0 µg, 2,1 µg, 2,2 µg, 2,3 µg, 2,4 µg, 2,5 µg, 2,6 µg, 2,7 µg, 2,8 µg, 2,9 µg, 3,0 µg, 3,1 µg, 3,2 µg, 3,3 µg, 3,4 µg, 3,5 µg, 3,6 µg, 3,7 µg, 3,8 µg,

3,9 µg, 4,0 µg, 4,1 µg, 4,2 µg, 4,3 µg, 4,4 µg, 4,5 µg, 4,6 µg, 4,7 µg, 4,8 µg, 4,9 µg, 5,0 µg, 5,1 µg, 5,2 µg, 5,3 µg, 5,4 µg, 5,5 µg, 5,6 µg, 5,7 µg, 5,8 µg, 5,9 µg, 6,0 µg, 6,1 µg, 6,2 µg, 6,3 µg, 6,4 µg, 6,5 µg, 6,6 µg, 6,7 µg, 6,8 µg, 6,9 µg, 7,0 µg, 7,1 µg, 7,2 µg, 7,3 µg, 7,4 µg, 7,5 µg, 7,6 µg, 7,7 µg, 7,8 µg, 7,9 µg, 8,0 µg, 8,1 µg, 8,2 µg, 8,3 µg, 8,4 µg, 8,5 µg, 8,6 µg, 8,7 µg, 8,8 µg, 8,9 µg, 9,0 µg, 9,1 µg, 9,2 µg, 9,3 µg, 9,4 µg, 9,5 µg, 9,6 µg, 9,7 µg, 9,8 µg, 9,9 µg, 10,0 µg, 10,1 µg, 10,2 µg, 10,3 µg, 10,4 µg, 10,5 µg, 10,6 µg, 10,7 µg, 10,8 µg, 10,9 µg, 11,0 µg, 11,1 µg, 11,2 µg, 11,3 µg, 11,4 µg, 11,5 µg, 11,6 µg, 11,7 µg, 11,8 µg, 11,9 µg, 12,0 µg, 12,1 µg, 12,2 µg, 12,3 µg, 12,4 µg, 12,5 µg, 12,6 µg, 12,7 µg, 12,8 µg, 12,9 µg, 13,0 µg, 13,1 µg, 13,2 µg, 13,3 µg, 13,4 µg, 13,5 µg, 13,6 µg, 13,7 µg, 13,8 µg, 13,9 µg, 14,0 µg, 14,1 µg, 14,2 µg, 14,3 µg, 14,4 µg, 14,5 µg, 14,6 µg, 14,7 µg, 14,8 µg, 14,9 µg, 15,0 µg, 15,1 µg, 15,2 µg, 15,3 µg, 15,4 µg, 15,5 µg, 15,6 µg, 15,7 µg, 15,8 µg, 15,9 µg, 16,0 µg, 16,1 µg, 16,2 µg, 16,3 µg, 16,4 µg, 16,5 µg, 16,6 µg, 16,7 µg, 16,8 µg, 16,9 µg, 17,0 µg, 17,1 µg, 17,2 µg, 17,3 µg, 17,4 µg, 17,5 µg, 17,6 µg, 17,7 µg, 17,8 µg, 17,9 µg, 18,0 µg, 18,1 µg, 18,2 µg, 18,3 µg, 18,4 µg, 18,5 µg, 18,6 µg, 18,7 µg, 18,8 µg, 18,9 µg, 19,0 µg, 19,1 µg, 19,2 µg, 19,3 µg, 19,4 µg, 19,5 µg, 19,6 µg, 19,7 µg, 19,8 µg, 19,9 µg, 20,0 µg, 20,1 µg, 20,2 µg, 20,3 µg, 20,4 µg, 20,5 µg, 20,6 µg, 20,7 µg, 20,8 µg, 20,9 µg, 21,0 µg, 21,1 µg, 21,2 µg, 21,3 µg, 21,4 µg, 21,5 µg, 21,6 µg, 21,7 µg, 21,8 µg, 21,9 µg, 22,0 µg, 22,1 µg, 22,2 µg, 22,3 µg, 22,4 µg, 22,5 µg, 22,6 µg, 22,7 µg, 22,8 µg, 22,9 µg, 23,0 µg, 23,1 µg, 23,2 µg, 23,3 µg, 23,4 µg, 23,5 µg, 23,6 µg, 23,7 µg, 23,8 µg, 23,9 µg, 24,0 µg, 24,1 µg, 24,2 µg, 24,3 µg, 24,4 µg, 24,5 µg, 24,6 µg, 24,7 µg, 24,8 µg, 24,9 µg, 25,0 µg, 25,1 µg, 25,2 µg, 25,3 µg, 25,4 µg, 25,5 µg, 25,6 µg, 25,7 µg, 25,8 µg, 25,9 µg, 26,0 µg, 26,1 µg, 26,2 µg, 26,3 µg, 26,4 µg, 26,5 µg, 26,6 µg, 26,7 µg, 26,8 µg, 26,9 µg, 27,0 µg, 27,1 µg, 27,2 µg, 27,3 µg, 27,4 µg, 27,5 µg, 27,6 µg, 27,7 µg, 27,8 µg, 27,9 µg, 28,0 µg, 28,1 µg, 28,2 µg, 28,3 µg, 28,4 µg, 28,5 µg, 28,6 µg, 28,7 µg, 28,8 µg, 28,9 µg, 29,0 µg, 29,1 µg, 29,2 µg, 29,3 µg, 29,4 µg, 29,5 µg, 29,6 µg, 29,7 µg, 29,8 µg, 29,9 µg, 30,0 µg, 30,1 µg, 30,2 µg, 30,3 µg, 30,4 µg, 30,5 µg, 30,6 µg, 30,7 µg, 30,8 µg, 30,9 µg, 31,0 µg, 31,1 µg, 31,2 µg, 31,3 µg, 31,4 µg, 31,5 µg, 31,6 µg, 31,7 µg, 31,8 µg, 31,9 µg, 32,0 µg, 32,1 µg, 32,2 µg, 32,3 µg, 32,4 µg, 32,5 µg, 32,6 µg, 32,7 µg, 32,8 µg, 32,9 µg, 33,0 µg, 33,1 µg, 33,2 µg, 33,3 µg, 33,4 µg, 33,5 µg, 33,6 µg, 33,7 µg, 33,8 µg, 33,9 µg, 34,0 µg, 34,1 µg, 34,2 µg, 34,3 µg, 34,4 µg, 34,5 µg, 34,6 µg, 34,7 µg, 34,8 µg, 34,9 µg, 35,0 µg, 35,1 µg, 35,2 µg, 35,3 µg, 35,4 µg, 35,5 µg, 35,6 µg, 35,7 µg, 35,8 µg, 35,9 µg, 36,0 µg, 36,1 µg, 36,2 µg, 36,3 µg, 36,4 µg, 36,5 µg, 36,6 µg, 36,7 µg, 36,8 µg, 36,9 µg, 37,0 µg, 37,1 µg, 37,2 µg, 37,3 µg, 37,4 µg, 37,5 µg, 37,6 µg, 37,7 µg, 37,8 µg, 37,9 µg, 38,0 µg, 38,1 µg, 38,2 µg, 38,3 µg, 38,4 µg, 38,5 µg, 38,6 µg, 38,7 µg, 38,8 µg, 38,9 µg, 39,0 µg, 39,1 µg, 39,2 µg, 39,3 µg, 39,4 µg, 39,5 µg, 39,6 µg, 39,7 µg, 39,8 µg, 39,9 µg, 40,0 µg, 40,1 µg, 40,2 µg, 40,3 µg, 40,4 µg, 40,5 µg, 40,6 µg, 40,7 µg, 40,8 µg, 40,9 µg, 41,0 µg, 41,1 µg, 41,2 µg, 41,3 µg, 41,4 µg, 41,5 µg, 41,6 µg, 41,7 µg, 41,8 µg, 41,9 µg, 42,0 µg, 42,1 µg, 42,2 µg, 42,3 µg, 42,4 µg, 42,5 µg, 42,6 µg, 42,7 µg, 42,8 µg, 42,9 µg, 43,0 µg, 43,1 µg, 43,2 µg, 43,3 µg, 43,4 µg, 43,5 µg, 43,6 µg, 43,7 µg, 43,8 µg, 43,9 µg, 44,0 µg, 44,1 µg, 44,2 µg, 44,3 µg, 44,4 µg, 44,5 µg, 44,6 µg, 44,7 µg, 44,8 µg, 44,9 µg, 45,0 µg, 45,1 µg, 45,2 µg, 45,3 µg, 45,4 µg, 45,5 µg, 45,6 µg, 45,7 µg, 45,8 µg, 45,9 µg, 46,0 µg, 46,1 µg, 46,2 µg, 46,3 µg, 46,4 µg, 46,5 µg, 46,6 µg, 46,7 µg, 46,8 µg, 46,9 µg, 47,0 µg, 47,1 µg, 47,2 µg, 47,3 µg, 47,4 µg, 47,5 µg, 47,6 µg, 47,7 µg, 47,8 µg, 47,9 µg, 48,0 µg, 48,1 µg, 48,2 µg, 48,3 µg, 48,4 µg, 48,5 µg, 48,6 µg, 48,7 µg, 48,8 µg, 48,9 µg, 49,0 µg, 49,1 µg, 49,2 µg, 49,3 µg, 49,4 µg, 49,5 µg, 49,6 µg, 49,7 µg, 49,8 µg, 49,9 µg y 50 µg.

Las dosis sugeridas anteriormente se pueden ajustar utilizando cálculos convencionales de dosis si el compuesto se administra a través de una vía diferente. La determinación de una dosis adecuada para la administración por otras vías está al alcance de las capacidades de los expertos en la técnica, en vista de la descripción anterior y el conocimiento general en la técnica.

La administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención puede implicar la administración de una forma de dosificación única o varias dosis unitarias que se pueden administrar simultáneamente o por separado en el tiempo durante un periodo designado, tal como 24 horas. Una dosis de un compuesto de la invención (solo o en forma de una composición en la que está comprendido) se puede administrar de una a diez veces por día. Generalmente, un compuesto de la invención (solo o en forma de una composición en la que está comprendido) se administrará cuatro, tres, dos o una vez por día (24 horas).

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también son útiles para el tratamiento de infecciones de transmisión aérea. Los ejemplos de infecciones de transmisión aérea incluyen, por ejemplo, las ocasionadas por el VSR. Los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención también son útiles para tratar una infección carbuncosa. La presente invención se refiere al uso de los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención para el tratamiento profiláctico, tratamiento profiláctico postexposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o afecciones causadas por agentes patógenos. En una forma de realización preferida, la presente invención se refiere al uso de los compuestos de la fórmula (I) para el tratamiento profiláctico, profiláctico postexposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o afecciones causadas por agentes patógenos que se pueden utilizar en bioterrorismo.

En los últimos años, se han puesto en marcha diversos programas de investigación y medidas de biodefensa para hacer frente a las preocupaciones sobre el uso de agentes biológicos en actos de terrorismo. Estas medidas están destinadas a abordar las preocupaciones relacionadas con el bioterrorismo o el uso de microorganismos o toxinas biológicas para matar gente, infundir miedo, y conmocionar a la sociedad. Por ejemplo, el Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID, según sus siglas en inglés) ha desarrollado un Plan Estratégico para la investigación de Defensa Biológica que describe planes para hacer frente a las necesidades de investigación en el amplio ámbito del bioterrorismo y enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. De acuerdo con el plan, la

exposición deliberada de la población civil de los Estados Unidos a esporas de *Bacillus anthracis* reveló una brecha en la preparación general de la nación contra el bioterrorismo. Asimismo, el informe detalla que estos ataques dejaron al descubierto una necesidad insatisfecha de pruebas para el diagnóstico precoz, vacunas e inmunoterapias para prevenir, y fármacos y productos biológicos para curar enfermedades causadas por agentes de bioterrorismo.

5 Gran parte del foco de los diversos esfuerzos de investigación se ha dirigido al estudio de la biología de agentes patógenos identificados como agentes de bioterrorismo potencialmente peligrosos, el estudio de la respuesta del huésped contra dichos agentes, el desarrollo de vacunas contra enfermedades infecciosas, la evaluación de las
10 terapias actualmente disponibles y en fase de investigación contra dichos agentes, y el desarrollo de diagnósticos para identificar los signos y síntomas de los agentes que suponen una amenaza. Dichos esfuerzos son loables, pero dado el gran número de agentes patógenos que han sido identificados como potencialmente disponibles para el bioterrorismo, estos esfuerzos aún no han sido capaces de proporcionar respuestas satisfactorias para todas las posibles amenazas de bioterrorismo. Además, muchos de los agentes patógenos identificados como potencialmente
15 peligrosos como agentes de bioterrorismo no proporcionan incentivos económicos adecuados para el desarrollo de medidas terapéuticas o preventivas por parte de la industria. Asimismo, aunque hubiera medidas preventivas, tales como vacunas, disponibles para cada agente patógeno que puede utilizarse en bioterrorismo, el costo de administrar todas estas vacunas a la población en general sería prohibitivo.

20 Hasta que surjan tratamientos convenientes y eficaces contra cualquier amenaza de bioterrorismo, existe una fuerte necesidad de tratamientos preventivos, profilácticos o terapéuticos que puedan prevenir o reducir el riesgo de infección causada por agentes patógenos.

La presente divulgación proporciona dichos procedimientos de tratamiento profiláctico. En un aspecto se proporciona un procedimiento de tratamiento profiláctico que comprende la administración de una cantidad profilácticamente
25 eficaz de los compuestos de la fórmula (I) a un individuo que necesita el tratamiento profiláctico contra la infección por uno o más agentes patógenos de transmisión aérea. Un ejemplo particular de un agente patógeno de transmisión aérea es el carbunco.

30 En otro aspecto se proporciona un procedimiento de tratamiento profiláctico para reducir el riesgo de infección por un agente patógeno de transmisión aérea que puede causar una enfermedad en un ser humano, y dicho procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la fórmula (I) a los pulmones del ser humano que puede estar en riesgo de infección por el agente patógeno de transmisión aérea, pero que no presenta síntomas de la enfermedad, en el que la cantidad eficaz de un bloqueador de los canales de sodio y de un osmolito son suficientes para reducir el riesgo de infección en el ser humano. Un ejemplo particular de un
35 agente patógeno de transmisión aérea es el carbunco.

En otro aspecto se proporciona un tratamiento profiláctico postexposición o procedimiento de tratamiento terapéutico para tratar la infección por un agente patógeno de transmisión aérea, que comprende la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de la fórmula (I) a los pulmones de un individuo que necesita dicho tratamiento
40 contra la infección por un agente patógeno de transmisión aérea. Los agentes patógenos contra los que se puede estar protegido por los procedimientos de postexposición profiláctica, rescate y tratamiento terapéutico de la invención incluyen cualquier agente patógeno que pueda ingresar al cuerpo a través de la boca, la nariz o las vías respiratorias nasales, accediendo así a los pulmones. En general, los agentes patógenos serán patógenos de transmisión aérea, presentes en el aire de manera natural o por aerosolización. Los agentes patógenos pueden ser
45 de origen natural o pueden haber sido introducidos en el medio ambiente intencionalmente por aerosolización u otro procedimiento de introducción de agentes patógenos en el medio ambiente. Muchos agentes patógenos que no se transmiten en el aire de manera natural, han sido o pueden ser aerosolizados para su uso en bioterrorismo. Los agentes patógenos para los que el tratamiento de la invención puede ser útil incluyen, no exclusivamente, la categoría A, B y C de agentes patógenos prioritarios según lo establecido por el NIAID. Estas categorías corresponden en general a las listas elaboradas por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, según sus siglas en inglés). Según lo establecido por los CDC, los agentes de la Categoría A son aquellos que se pueden diseminar o transmitir fácilmente de persona a persona, causan una alta mortalidad, con potencial para causar un enorme impacto en la salud pública. Los agentes de la Categoría B son los siguientes en prioridad e incluyen aquellos que son moderadamente fáciles de diseminar y causar morbilidad moderada y baja mortalidad. La
50 Categoría C consiste en agentes patógenos emergentes que pueden ser manipulados genéticamente para su diseminación masiva en el futuro debido a su disponibilidad, facilidad de producción y diseminación y potencial de causar una elevada morbilidad y mortalidad. Entre los ejemplos particulares de estos agentes patógenos se encuentran el carbunco y la peste. Los agentes patógenos adicionales contra los que se puede estar protegido o de los se puede reducir el riesgo de infección incluyen virus de la gripe, rinovirus, adenovirus y virus sincitiales respiratorios, y similares. Un agente patógeno adicional contra el que se puede estar protegido es el coronavirus que se cree que causa el síndrome respiratorio agudo severo (SRAS, según sus siglas en inglés).

La presente divulgación se refiere también al uso de bloqueadores de los canales de sodio de la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para prevenir, mitigar y/o tratar los efectos deterministas sobre la salud
65 en el tracto respiratorio causados por la exposición a materiales radiológicos, particularmente aerosoles respirables

que contienen radionúclidos procedentes de ataques nucleares, tales como la detonación de artefactos de dispersión radiológica (RDD, según sus siglas en inglés), o accidentes, tales como desastres en plantas nucleares. Por lo tanto, en la presente invención se proporciona un procedimiento para prevenir, mitigar y/o tratar los efectos deterministas sobre la salud en el tracto respiratorio y/u otros órganos del cuerpo causados por aerosoles respirables que contienen radionúclidos en un destinatario que lo necesite, incluso en un ser humano que lo necesite, y dicho procedimiento comprende la administración a dicho ser humano de una cantidad eficaz de un compuesto de la Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una de las principales preocupaciones asociadas con la planificación de gestión de las consecuencias para las exposiciones de los miembros del público a los aerosoles respirables que contienen radionúclidos procedentes de ataques nucleares, tales como la detonación de artefactos de dispersión radiológica (RDD), o accidentes, tales como desastres en plantas nucleares es la manera de prevenir, mitigar o tratar los posibles efectos deterministas sobre la salud en el tracto respiratorio, principalmente el pulmón. Es necesario contar con fármacos, técnicas y procedimientos, y personal capacitado y preparado para manejar y tratar a dichos individuos altamente e internamente contaminados.

Se han llevado a cabo investigaciones para determinar las formas para prevenir, mitigar o tratar el daño potencial del tracto respiratorio y diversos órganos del cuerpo que es causado por radionúclidos depositados internamente. Hasta la fecha, la mayor parte de la atención de la investigación se ha centrado en estrategias destinadas a mitigar los efectos sobre la salud de los radionúclidos depositados internamente, acelerando su excreción o eliminación. Estas estrategias se han centrado en formas químicas solubles que son capaces de alcanzar el torrente sanguíneo y se depositan en lugares remotos, sistémicos y específicos para un radioelemento determinado. Dichos enfoques no funcionarán en los casos en que el radionúclido depositado se encuentre en una forma relativamente insoluble. Existen estudios que han demostrado que muchas, si no la mayoría de las formas fisicoquímicas de los radionúclidos dispersos de RDD, serán formas relativamente insolubles.

El único procedimiento conocido para reducir eficazmente la dosis de radiación a los pulmones proveniente de la inhalación de aerosoles radiactivos insolubles es el lavado broncoalveolar o BAL (según sus siglas en inglés). Esta técnica, que fue adaptada a partir de las que ya estaban en uso para el tratamiento de pacientes con proteinosis alveolar, ha demostrado ser un procedimiento seguro y repetible, incluso cuando se realiza durante un período de tiempo prolongado. Aunque hay variantes en el procedimiento, el procedimiento básico para el BAL consiste en anestesiarse al sujeto y a continuación introducir lentamente solución salina isotónica en un único lóbulo del pulmón hasta alcanzar la capacidad residual de la función. Luego se agregan volúmenes adicionales y se escurren por gravedad.

Los resultados de estudios que utilizan el BAL en animales indican que aproximadamente el 40% del contenido profundo del pulmón puede ser eliminado por una secuencia razonable de lavados BAL. En algunos estudios, existía una considerable variabilidad entre animales en la cantidad de radionúclido recuperado. Las razones de la variabilidad no se entienden actualmente.

Asimismo, basándose en un estudio en animales, se cree que una reducción significativa de la dosis de la terapia de BAL produce la mitigación de los efectos sobre la salud causados por la inhalación de radionúclidos insolubles. En el estudio, unos perros adultos inhalaban partículas insolubles de ^{144}Ce -FAP. A dos grupos de perros se les administraron contenidos pulmonares de ^{144}Ce que se sabe que causan neumonitis por radiación y fibrosis pulmonar (aproximadamente 2 MBq/kg de masa corporal), y un grupo se trató con 10 lavados unilaterales entre 2 y 56 días después de la exposición, mientras que el otro grupo no recibió tratamiento. Un tercer grupo se expuso a un nivel de ^{144}Ce comparable con el nivel observado en el grupo tratado con BAL, después del tratamiento (aproximadamente 1 MBq/kg), pero estos animales no recibieron tratamiento. A todos los animales se les permitió vivir su período de vida natural, la cual se extendió a 16 años. Debido a que existe variabilidad en el contenido pulmonar inicial de ^{144}Ce entre los perros de cada grupo, las tasas de dosis y las dosis acumuladas para cada grupo se superponen. No obstante, el efecto del BAL para reducir el riesgo de neumonitis/fibrosis fue evidente a juzgar por las curvas de supervivencia. En los perros no tratados con contenidos pulmonares de 1,5–2,5 MBq/kg, el tiempo medio de supervivencia fue de 370 ± 65 d. En los perros tratados, la supervivencia media fue de 1270 ± 240 d, lo cual representaba una diferencia estadística significativa. El tercer grupo que recibió contenidos pulmonares de ^{144}Ce de 0,6–1,4 MBq tuvo una supervivencia media de 1800 ± 230 , que no resultó estadísticamente diferente del grupo tratado. Igualmente importante para el aumento de la supervivencia fue el hecho de que los perros en el grupo sin tratamiento de alta dosis murieron a causa de efectos deterministas sobre los pulmones (neumonitis/fibrosis), mientras que los perros tratados no murieron. En cambio, los perros tratados, al igual que los perros en el grupo sin tratamiento de dosis baja, en su mayoría desarrollaron tumores de pulmón (hemangiosarcoma o carcinoma). Por lo tanto, la reducción de la dosis que resulta del tratamiento con BAL parece haber producido efectos biológicos sobre el pulmón que eran predecibles sobre la base de las dosis de radiación que recibieron los pulmones.

En función de estos resultados, se cree que al disminuir aún más la dosis radiológica residual por cualquier procedimiento o combinación de procedimientos para mejorar la depuración de partículas del pulmón, disminuiría aún más la probabilidad de aparición de efectos sobre la salud del pulmón. Sin embargo, el BAL es un procedimiento

que tiene muchos inconvenientes. El BAL es un procedimiento muy invasivo que debe realizarse en centros médicos especializados por neumólogos capacitados. Como tal, un procedimiento de BAL es costoso. Teniendo en cuenta los inconvenientes del BAL, no es una opción de tratamiento que fácil e inmediatamente pueda ponerse de manera sencilla e inmediata a disposición de las personas que necesitan una eliminación acelerada de partículas radioactivas, por ejemplo, en el caso de un ataque nuclear. En el caso de un ataque nuclear o un accidente nuclear, se requiere un tratamiento inmediato y relativamente fácil de administrar a personas que han estado expuestas o que corren riesgo de exposición. Los bloqueadores de los canales de sodio administrados como un aerosol para inhalación han demostrado que restablecen la hidratación de las superficies de las vías respiratorias. Dicha hidratación de las superficies de las vías respiratorias ayuda a eliminar de los pulmones las secreciones de mucosidad acumuladas y las partículas asociadas. En efecto, sin depender de ninguna teoría en particular, se cree que los bloqueadores de los canales de sodio pueden utilizarse para acelerar la eliminación de partículas radioactivas de los conductos de las vías respiratorias.

Como se describió anteriormente, el mayor riesgo para los pulmones después de un ataque radiológico, tal como una bomba sucia, proviene de la inhalación y retención de partículas radioactivas insolubles. Como resultado de la retención de partículas radioactivas, la exposición acumulada en el pulmón aumenta considerablemente, provocando finalmente una fibrosis pulmonar/neumonitis y, potencialmente, la muerte. Las partículas insolubles no pueden eliminarse sistémicamente por agentes quelantes debido a que estas partículas no están en solución. Hasta la fecha, la eliminación física de partículas a través del BAL es el único régimen terapéutico que demostró ser eficaz para mitigar la enfermedad pulmonar inducida por la radiación. Como se describió anteriormente, el BAL no es una solución de tratamiento realista para reducir los efectos de las partículas radioactivas que han sido introducidas en el cuerpo por inhalación. Por lo tanto, es deseable proporcionar un régimen terapéutico que ayude eficazmente en la eliminación de partículas radioactivas de los conductos de las vías respiratorias y que, a diferencia del BAL, sea relativamente fácil de administrar y ampliable para un escenario de exposición a la radiación a gran escala. Además, también es deseable que el régimen terapéutico sea de fácil acceso para un número de personas en un período de tiempo relativamente corto.

En un aspecto de la presente invención, un procedimiento para prevenir, mitigar y/o tratar los efectos deterministas sobre la salud en el tracto respiratorio y/u otros órganos del cuerpo causados por aerosoles respirables que contienen radionúclidos, comprende la administración de una cantidad eficaz de un bloqueador de los canales de sodio de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un individuo que lo necesite. En una característica de este aspecto, el bloqueador de los canales de sodio se administra conjuntamente con un osmolito. Incluso, en lo que respecta a esta característica, el osmolito es solución salina hipertónica (HS, según sus siglas en inglés). En una característica adicional, el bloqueador de los canales de sodio y el osmolito se administran conjuntamente con un modulador de transporte de iones. Asimismo, con respecto a esta característica, el modulador de transporte de iones puede seleccionarse entre el grupo integrado por: β -agonistas, potenciadores del CFTR, agonistas de receptores purinérgicos, lubiprostonas e inhibidores de proteasa. En otra característica de este aspecto, los radionúclidos se seleccionan entre el grupo integrado por: cobalto-60, cesio-137, iridio-192, radio-226, fósforo-32, estroncio-89 y 90, yodo-125, talio-201, plomo-210, torio-234, uranio-238, plutonio, cobalto-58, cromo-51, americio y curio. En una característica adicional, los radionúclidos provienen de un dispositivo de eliminación de materiales radiactivos. Incluso, en otra característica, el bloqueador de los canales de sodio o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administran en una suspensión de aerosol de partículas respirables que el individuo inhala. En una característica adicional, el bloqueador de los canales de sodio o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administran después de la exposición a los radionúclidos.

Composiciones

La invención proporciona composiciones farmacéuticas (tal como una composición farmacéutica inhalable) que comprenden una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la invención como ingrediente activo y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El término "ingrediente activo", según se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier compuesto de la invención o combinación de dos o más compuestos de la invención en una composición farmacéutica. También se proporcionan formas de realización específicas en las cuales una composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de las Fórmulas (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, independientemente o en combinación, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de las Fórmulas (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, independientemente o en combinación, en un diluyente. En unas formas de realización distintas, la composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de las Fórmulas (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en solución salina hipertónica, agua estéril y solución salina hipertónica, respectivamente, en las que la concentración salina puede ser la descrita en la presente memoria. En una forma de realización, la concentración salina es de 0,17% p/v, y en otra forma de realización es des 2,8% p/v.

También se proporciona un kit que comprende i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik), y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; ii) uno o más excipientes, vehículos, o diluyentes farmacéuticamente aceptables; iii) instrucciones para la administración del compuesto del grupo i) y los excipientes, vehículos, o diluyentes del grupo ii) a un sujeto que lo necesite, y, iv) un envase. La expresión "un sujeto que lo necesite" incluye cualquier sujeto que necesite los procedimientos de tratamiento descritos en la presente memoria, particularmente un sujeto humano que lo necesite. Otras formas de realización comprenden también un dispositivo de aerosolización seleccionado entre el grupo integrado por: un nebulizador, incluidos nebulizadores de malla vibratoria y nebulizadores de chorro, un inhalador de polvo seco, incluidos inhaladores activos y pasivos de polvo seco, y un inhalador de dosis controlada, incluidos inhaladores presurizados, de polvo seco y de vapor suave de dosis controlada.

En una forma de realización, un kit comprende i) desde aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg de un compuesto de la Fórmula (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por dosis; ii) de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de diluyente por dosis; iii) instrucciones para la administración del compuesto del grupo i) y el diluyente del grupo ii) a un sujeto que lo necesite; y, iv) un envase. En una forma de realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina, como se describe en la presente memoria, por dosis. En una forma de realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina hipotónica, por dosis. En otra forma de realización, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina hipertónica, por dosis. En otra forma de realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de agua estéril, por dosis.

También se proporciona un kit que comprende i) una solución que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; disuelta en un diluyente farmacéuticamente aceptable; ii) instrucciones para la administración de la solución del grupo i) a un sujeto que lo necesite; y, iii) un envase.

También se proporciona un kit que comprende i) una solución que comprende de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg de un compuesto de la Fórmula (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; disuelta en un diluyente farmacéuticamente aceptable; ii) instrucciones para la administración de la solución del grupo i) a un sujeto que lo necesite; y, iii) un envase. En una forma de realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina, como se describe en la presente memoria, por dosis.

Otra forma de realización comprende un kit que incluye i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la Fórmula (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en una formulación de polvo seco adecuada para la inhalación; ii) opcionalmente, uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, adecuados para la inhalación; iii) instrucciones para la administración del compuesto del grupo i) y los excipientes o vehículos del grupo ii) a un sujeto que lo necesite; y, iv) un envase. En una forma de realización adicional, el kit comprende también un inhalador de polvo seco adecuado para administrar la formulación de polvo seco a un destinatario. El inhalador de polvo seco puede ser, en formas de realización adicionales, un inhalador de dosis única o un inhalador multidosis.

Otras formas de realización de cada uno de los kits descritos en la presente memoria incluyen aquellos en los que la concentración del compuesto de la Fórmula (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) y (Il), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por dosis, es una concentración comprendida en uno de los intervalos de dosis eficaces descritos en la presente memoria, incluidos: a) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1.000 µg; b) de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 0,5 mg; y c) de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 50 µg.

Para cada uno de los kits descritos anteriormente, hay una forma de realización adicional en la que el diluyente es una solución salina hipertónica con las concentraciones descritas en la presente memoria. En otra forma de realización, para cada kit, el diluyente es una solución salina hipotónica con las concentraciones descritas en la presente memoria. En una forma de realización adicional, para cada kit, el diluyente es agua estéril adecuada para la inhalación.

El/los excipiente(s), diluyente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el destinatario de la misma. En general, el/los excipiente(s), diluyente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s) empleados en la formulación farmacéutica son "no tóxicos", es decir que se considera que son seguros para el consumo en la cantidad administrada en la formulación, e "inertes" significa que no reaccionan con los ingrediente(s) activo(s) o no producen un efecto indeseado apreciable sobre su actividad terapéutica. Los excipientes, diluyentes y vehículos farmacéuticamente aceptables son convencionales en la técnica y pueden seleccionarse mediante técnicas convencionales, en función de la vía de administración deseada. Véase REMINGTON'S, PHARMACEUTICAL SCIENCES, Lippincott Williams & Wilkins; 21ª Ed (1 de mayo de 2005). Preferentemente, el/los excipiente(s), diluyente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s) se consideran generalmente seguros (GRAS, según sus siglas en

inglés) de acuerdo con la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (FDA, según sus siglas en inglés).

5 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención incluyen aquellas adecuadas para la administración oral; administración parenteral, incluidas la subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa e intraarticular; administración tópica, incluida la administración tópica en la piel, ojos, oídos, etc.; administración vaginal o rectal; y administración en el tracto respiratorio, incluidas las cavidades y los senos nasales, vías respiratorias orales y extratorácicas, y los pulmones, incluido el uso de aerosoles que pueden administrarse por medio de varios tipos de inhaladores de polvo seco, inhaladores presurizados de dosis controlada, inhaladores de vapor suave, nebulizadores o insufladores. La vía de administración más adecuada puede depender de varios factores, incluido el paciente y la afección o trastorno que se trata.

15 Las formulaciones pueden presentarse en forma de dosis unitaria o a granel como por ejemplo en el caso de formulaciones para ser medidas por un inhalador, y pueden prepararse por cualquiera de los procedimientos bien conocidos en el área farmacéutica. Generalmente, los procedimientos incluyen una etapa de asociación del ingrediente activo con el vehículo, diluyente o excipiente y opcionalmente uno o más ingredientes adicionales. En general, las formulaciones se preparan poniendo en asociación íntima y uniforme el ingrediente activo con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes líquidos o vehículos, diluyentes o excipientes sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto para obtener la formulación deseada.

20 En una forma de realización preferida, la composición es una composición farmacéutica inhalable que es adecuada para la inhalación y administración al espacio endobronquial. Típicamente, dicha composición está en forma de un aerosol que comprende partículas para su administración utilizando un nebulizador, inhalador presurizado de dosis controlada (MDI, según sus siglas en inglés), inhalador de vapor suave o inhalador de polvo seco (DPI, según sus siglas en inglés). La formulación de aerosol utilizada en los procedimientos de la presente invención puede ser un líquido (por ejemplo, solución) adecuado para la administración mediante un nebulizador, inhalador de vapor suave, o inhalador presurizado de dosis controlada (MDI), o un inhalador de polvo seco (DPI).

30 Los aerosoles utilizados para administrar medicamentos al tracto respiratorio son típicamente polidispersos, es decir, que se componen de partículas de muchos tamaños diferentes. La distribución de tamaño de partícula está definida generalmente por el diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD, según sus siglas en inglés) y la desviación geométrica estándar (GSD, según sus siglas en inglés). Para la administración óptima de fármacos al espacio endobronquial, el diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) está en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 μm y preferentemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 μm , y la desviación geométrica estándar (GSD) es menor que 3, y preferentemente menor que aproximadamente 2. Los aerosoles que tienen un diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) mayor que 10 μm son generalmente demasiado grandes para llegar a los pulmones cuando se inhalan. Los aerosoles con una desviación geométrica estándar (GSD) mayor que aproximadamente 3 no se prefieren para la administración al pulmón ya que administran un alto porcentaje del medicamento a la cavidad oral. Para lograr estos tamaños de partícula en la formulación en polvo, las partículas del ingrediente activo pueden reducirse de tamaño utilizando técnicas convencionales tales como la micronización o el secado por aspersión. Los ejemplos no excluyentes de otros procesos o técnicas que se pueden utilizar para producir partículas respirables incluyen: secado por aspersión, precipitación, fluido supercrítico y liofilización. La fracción deseada se puede separar por clasificación o tamizado por aire. En una forma de realización, las partículas serán cristalinas. Para las formulaciones líquidas, el tamaño de partícula viene determinado por la selección de un modelo particular de nebulizador, inhalador de vapor suave o inhalador de dosis controlada (MDI).

45 Las distribuciones de tamaño de partícula para aerosol se determinan utilizando dispositivos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, un impactador en cascada Anderson de múltiples etapas u otro procedimiento adecuado tal como aquellos citados específicamente dentro del capítulo 601 de la Farmacopea de Estados Unidos como dispositivos caracterizadores para aerosoles emitidos desde inhaladores de dosis controlada y de polvo seco.

50 Las composiciones de polvo seco para administración tópica al pulmón por inhalación pueden formularse sin excipiente o vehículo, incluyendo en su lugar sólo los ingredientes activos en forma de polvo seco que tienen un tamaño de partícula adecuado para inhalación. Las composiciones de polvo seco pueden contener también una mezcla del ingrediente activo y una base en polvo adecuada (sustancia de vehículo/diluyente/excipiente) tales como mono-, di- o polisacáridos (por ejemplo, lactosa o almidón). La lactosa es típicamente el excipiente preferido para las formulaciones de polvo seco. Cuando se emplea un excipiente sólido, tal como lactosa, generalmente el tamaño de partícula del excipiente será mucho mayor que el ingrediente activo para facilitar la dispersión de la formulación en el inhalador.

60 Los ejemplos no excluyentes de inhaladores de polvo seco incluyen: inhaladores con depósito multidosis, inhaladores de multidosis predosificadas, inhaladores a base de cápsulas e inhaladores desechables de dosis única. Un inhalador con depósito contiene un gran número de dosis (por ejemplo, 60) en un envase. Antes de la inhalación, el paciente acciona el inhalador, lo que hace que el inhalador mida una dosis de medicamento del depósito y la prepare para su inhalación. Los ejemplos de inhaladores de polvo seco (DPI) con depósito incluyen, no

exclusivamente, Turbuhaler® de AstraZeneca y Clickhaler® de Vectura.

En un inhalador de multidosis predosificadas, cada dosis individual se ha fabricado en un contenedor separado, y el accionamiento del inhalador antes de la inhalación hace que se libere una nueva dosis de fármaco desde su contenedor y se prepare para la inhalación. Los ejemplos de inhaladores multidosis de polvo seco (DPI) incluyen, no exclusivamente: Diskus® de GSK, Gyrohaler® de Vectura, y Prohaler® de Valois. Durante la inhalación, el flujo inspiratorio del paciente acelera el polvo hacia fuera del dispositivo y hacia el interior de la cavidad oral. Para un inhalador de cápsula, la formulación está en una cápsula y se almacena fuera del inhalador. El paciente coloca una cápsula en el inhalador, acciona el inhalador (pincha la cápsula) y luego inhala. Los ejemplos incluyen: Rotahaler™ (GlaxoSmithKline), Spinhaler™ (Novartis), HandiHaler™ (IB), TurboSpin™ (PH&T). En los inhaladores desechables de una sola dosis, el paciente acciona el inhalador para prepararlo para la inhalación, inhala y luego desecha el inhalador y el envase. Los ejemplos incluyen: Twincer™ (U Groningen), OneDose™ (GFE) y el inhalador Manta™ (Manta Devices).

Generalmente, los inhaladores de polvo seco utilizan características de flujo turbulento del trayecto del polvo para hacer que los agregados de excipiente-fármaco se dispersen, y las partículas de ingrediente activo se depositen en los pulmones. Sin embargo, ciertos inhaladores de polvo seco utilizan una cámara de dispersión tipo ciclón para producir partículas del tamaño respirable deseado. En una cámara de dispersión tipo ciclón, el fármaco se introduce tangencialmente en una cámara de dispersión en forma de moneda, de modo que el trayecto de aire y el fármaco se mueven a lo largo de la pared circular externa. A medida que la formulación del fármaco se mueve a lo largo de dicha pared circular, rebota y los aglomerados se separan por las fuerzas de impacto. El trayecto de aire se mueve en forma de espiral hacia el centro de la cámara y se expulsa verticalmente. Las partículas que tienen tamaños aerodinámicos suficientemente pequeños pueden seguir el trayecto de aire y salir de la cámara. De hecho, la cámara de dispersión funciona como un pequeño molino de chorro. Dependiendo de las características específicas de la formulación, pueden agregarse partículas grandes de lactosa a la formulación para facilitar la dispersión a través del impacto con las partículas de API.

El inhalador desechable Twincer™ de una sola dosis parece funcionar utilizando una cámara de dispersión tipo ciclón en forma de moneda conocida como "clasificador de aire". Véase la solicitud de patente publicada de EE. UU. n.º 2006/0237010 a nombre de Rijksuniversiteit Groningen. Los documentos publicados por la Universidad de Groninga han establecido que una dosis de 60 mg de sulfometato de colistina puro y micronizado puede ser administrada eficazmente como un polvo seco inhalable, utilizando esta tecnología.

En formas de realización preferidas, la formulación de aerosol se administra como un polvo seco utilizando un inhalador de polvo seco en el que las partículas emitidas desde el inhalador tienen un diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) en el intervalo de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 µm y una desviación geométrica estándar (GSD) de aproximadamente menos de 2.

Los ejemplos de inhaladores de polvo seco y dispositivos de dispersión de polvo seco adecuados para utilizar en la administración de los compuestos y las composiciones de acuerdo con la presente invención incluyen, no exclusivamente, aquellos descritos en los documentos US7520278; US7322354; US7246617; US7231920; US7219665; US7207330; US6880555; US5.522.385; US6845772, US6637431, US6329034, US5.458.135; US4.805.811; y en la solicitud de patente publicada de EE. UU. n.º 2006/0237010.

En una forma de realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para la administración mediante un dispositivo tipo Diskus®. El dispositivo Diskus® comprende una tira alargada formada a partir de una lámina de base que tiene una pluralidad de rebajes espaciados a lo largo de su longitud y una lámina de tapa herméticamente sellada pero desprendible, unida a la misma, para definir una pluralidad de contenedores, en los que cada contenedor alberga en su interior una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo, ya sea solo o en mezcla con uno o más vehículos o excipientes (por ejemplo, lactosa) y/u otros agentes terapéuticamente activos. Preferentemente, la tira es suficientemente flexible para ser enrollada en un rollo. La lámina de tapa y la lámina de base tendrán preferentemente unas partes de extremo delantero no selladas entre sí y por lo menos una de las porciones conductoras finales está construida para acoplarse a unos medios de bobinado. Además, preferentemente, el cierre hermético entre las láminas de base y de tapa se extiende a lo largo de todo su ancho. Para preparar la dosis para inhalación, la lámina de tapa puede desprenderse preferentemente desde la lámina de base en dirección longitudinal desde un primer extremo de la lámina de base.

En una forma de realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para su administración mediante un inhalador desechable de una sola dosis, y particularmente el inhalador Twincer™. El inhalador Twincer™ comprende un blíster de aluminio laminado con una o más cavidades y una lámina de tapa herméticamente sellada, pero desprendible, adherida al mismo para definir una pluralidad de contenedores. Cada contenedor alberga en su interior una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente(s) activo(s) ya sea solo(s) o en mezcla con uno o más vehículos o excipientes (por ejemplo, lactosa). La lámina de tapa tendrá preferentemente una parte de extremo delantero

construida para sobresalir del cuerpo del inhalador. El paciente accionaría el dispositivo y, por lo tanto, administraría la formulación de aerosol 1) retirando la envoltura exterior del envase, 2) tirando de la lengüeta de aluminio para descubrir el fármaco contenido en el blíster y 3) inhalar el fármaco desde el blíster.

5 En otra forma de realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación en el que el polvo seco se formula en micropartículas como se describe en la publicación PCT n.º WO2009/015286 o WO2007/114881, ambos de NexBio. Dichas micropartículas se forman generalmente mediante la adición de un contraíón a una solución que contiene un compuesto de la invención en un disolvente, agregando un antidisolvente a la solución, y enfriando gradualmente la solución hasta una temperatura por debajo de
10 aproximadamente 25°C, para formar una composición que contiene micropartículas que comprenden el compuesto. Las micropartículas que comprenden el compuesto pueden separarse de la solución después por cualquier medio adecuado, tal como sedimentación, filtración o liofilización. En el documento WO2009/015286 se describen contraiones, disolventes y antidisolventes adecuados para preparar micropartículas de los compuestos de la invención.

15 En otra forma de realización, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención se administra como un polvo seco utilizando un inhalador de dosis controlada. Los ejemplos no excluyentes de inhaladores y dispositivos de dosis controlada incluyen aquellos descritos en los documentos US5.261.538; US5.544.647; US5.622.163; US4.955.371; US3.566.070; US3.361.306 y US6.116.234 y US7.108.159. En una forma de realización preferida, un compuesto de la invención se suministra como un polvo seco utilizando un inhalador de dosis controlada en el que las partículas emitidas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) que está en el intervalo de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 µm y una desviación geométrica estándar (GSD) que es menor que aproximadamente 2.

25 Las formulaciones líquidas de aerosol para la administración al espacio endobronquial o al pulmón por inhalación pueden formularse, por ejemplo, como soluciones o suspensiones acuosas o como aerosoles administrados desde envases presurizados, tales como los inhaladores de dosis controlada, con el uso de propelentes licuados adecuados, inhaladores de vapor suave o nebulizadores. Dichas composiciones en aerosol adecuadas para su inhalación pueden ser, o bien una suspensión o una solución y contienen generalmente el/los ingrediente(s) activo(s)
30 junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua (destilada o estéril), solución salina, solución salina hipertónica o etanol) y opcionalmente uno o más de otros agentes terapéuticamente activos.

Las composiciones de aerosol para administración por inhaladores presurizados de dosis controlada también comprenden generalmente un propelente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de dichos propelentes
35 incluyen fluorocarbono, o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno o mezclas de los mismos, particularmente hidrofluoroalcanos, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, especialmente 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano o una mezcla de los mismos. La composición de aerosol puede carecer de excipientes o puede contener opcionalmente excipientes adicionales de formulación bien conocidos en la técnica, tales como agentes tensioactivos, por ejemplo, ácido oleico o lecitina, y codisolventes, por
40 ejemplo etanol. Las formulaciones presurizadas generalmente se mantendrán en un recipiente (por ejemplo, un recipiente de aluminio) cerrado con una válvula (por ejemplo, una válvula dosificadora) e instalado en un accionador provisto de una boquilla.

45 En otra forma de realización, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención se administra como un líquido utilizando un inhalador de dosis controlada. Los ejemplos no excluyentes de inhaladores y dispositivos de dosis controlada incluyen aquellos descritos en la patente de EE. UU. n.º 6.253.762, 6.413.497, 7.601.336, 7.481.995, 6.743.413, y 7.105.152. En una forma de realización preferida, un compuesto de la invención se administra como un polvo seco utilizando un inhalador de dosis controlada en el que las partículas emitidas tienen un diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) que está en el intervalo de aproximadamente 1 µm a
50 aproximadamente 5 µm y una desviación geométrica estándar (GSD) que es menor que aproximadamente 2.

En una forma de realización, la formulación de aerosol es adecuada para la aerosolización mediante un nebulizador de chorro o nebulizador ultrasónico, incluidos los nebulizadores estáticos y vibratorios de placa porosa. Las formulaciones líquidas de aerosol para nebulización pueden generarse mediante la solubilización o reconstitución de
55 una formulación de partículas sólidas o pueden formularse con un vehículo acuoso con la adición de agentes tales como ácido o álcali, sales tampón y agentes de ajuste de isotonicidad. Se pueden esterilizar por medio de técnicas durante el proceso tales como filtración o procesos terminales tales como el calentamiento en una autoclave o la irradiación gamma. También se pueden presentar en forma no estéril.

60 Los pacientes pueden ser sensibles al pH, la osmolalidad y el contenido iónico de una solución nebulizada. Por lo tanto, estos parámetros deberían ajustarse para que sean compatibles con el ingrediente activo y tolerables para los pacientes. La solución o suspensión más preferida de ingrediente activo tendrá una concentración de cloruro >30 mM a pH 4,5–7,4, preferentemente 5,0–5,5, y una osmolalidad de aproximadamente 800–1600 mOsm/kg. El pH de la solución puede controlarse por titulación con ácidos comunes (por ejemplo, ácido clorhídrico o ácido sulfúrico) o bases (por ejemplo, hidróxido de sodio) o mediante el uso de soluciones tamponadas. Las soluciones tamponadas
65

comúnmente utilizadas incluyen soluciones tamponadas de citrato, tales como soluciones tamponadas de ácido cítrico/citrato de sodio, soluciones tamponadas de acetato, tales como soluciones tamponadas de ácido acético/acetato de sodio, y soluciones tamponadas de fosfato. La fuerza de las soluciones tamponadas puede estar en un rango de 2 mM a 50 mM.

5 Las soluciones tamponadas útiles de acetato, fosfato y citrato incluyen: acetato de sodio, acetato de sodio trihidratado, acetato de amonio, acetato de potasio, fosfato sódico, fosfato sódico dibásico, hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de potasio, fosfato de potasio, citrato de sodio y citrato de potasio. Otras soluciones tamponadas que se pueden utilizar incluyen: hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, aminometilpropanol, trometamina, tetrahidroxipropil etilendiamina, ácido cítrico, ácido acético, ácido hidroxitricarboxílico o una sal de los mismos, tal como una sal de citrato o sal de citrato de sodio de los mismos, ácido láctico, y sales del ácido láctico, incluidos lactato de sodio, lactato de potasio, lactato de litio, lactato de calcio, lactato de magnesio, lactato de bario, lactato de aluminio, lactato de zinc, lactato de plata, lactato de cobre, lactato de hierro, lactato de manganeso, lactato de amonio, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, diisopropanolamina, así como también combinaciones de los mismos, y similares.

Dichas formulaciones se pueden administrar mediante nebulizadores disponibles en el comercio u otro atomizador que pueda descomponer la formulación en partículas o gotitas adecuadas para la deposición en el tracto respiratorio. Los ejemplos no excluyentes de nebulizadores que pueden ser empleados para la administración en aerosol de una composición de la invención incluyen nebulizadores neumáticos de chorro, nebulizadores de chorro de ventilación o respiración mejorada, o nebulizadores ultrasónicos que incluyen nebulizadores estáticos o vibratorios de placa porosa. Los nebulizadores disponibles en el comercio incluyen el nebulizador Aeroneb® Go (Aerogen) y el nebulizador eFlow (Pari Pharma).

25 Un nebulizador de chorro utiliza una corriente de alta velocidad de aire que se lanza a través de una columna de agua para generar gotitas. Las partículas no aptas para la inhalación chocan contra las paredes o deflectores aerodinámicos. Un nebulizador de ventilación o respiración mejorada funciona básicamente del mismo modo que un nebulizador de chorro, excepto que el aire inhalado pasa a través del área principal de generación de gotitas para aumentar el flujo de salida del nebulizador mientras el paciente inhala.

30 En un nebulizador ultrasónico, la vibración de un cristal piezoeléctrico crea inestabilidades superficiales en el depósito del fármaco que hacen que se formen gotitas. En los nebulizadores de placa porosa, los campos de presión generados por la energía sónica impulsan el líquido a través de los poros de la malla, donde se descompone en gotas por la desintegración de Rayleigh. La energía sónica puede suministrarse mediante una trompa o placa vibratoria impulsada por un cristal piezoeléctrico, o por la vibración de la propia malla. Los ejemplos no excluyentes de atomizadores incluyen cualquier atomizador de fluido simple o doble o boquilla que produce gotitas de un tamaño apropiado. Un atomizador de fluido simple funciona impulsando un líquido a través de uno o más orificios, en los que el chorro de líquido se descompone en gotitas. Los atomizadores de fluido doble funcionan impulsando tanto un gas como un líquido a través de uno o más orificios, o haciendo chocar un chorro de líquido contra otro chorro de líquido o gas.

45 La elección del nebulizador que aerosoliza la formulación de aerosol es importante en la administración del/de los ingrediente(s) activo(s). Los distintos tipos de nebulizadores ofrecen una eficiencia distinta en función de su diseño y principio de funcionamiento y son sensibles a las propiedades físicas y químicas de la formulación. Por ejemplo, dos formulaciones con distintas tensiones superficiales pueden tener distintas distribuciones de tamaño de partícula. Además, las propiedades de la formulación tales como el pH, la osmolalidad y el contenido de iones permeables pueden afectar a la tolerabilidad de la medicación, por lo que las formas de realización preferidas se ajustan a ciertos intervalos de estas propiedades.

50 En una forma de realización preferida, la formulación para nebulización se administra al espacio endobronquial como un aerosol que tiene un diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) entre aproximadamente 1 μm y aproximadamente 5 μm y una desviación geométrica estándar (GSD) menor que 2 utilizando un nebulizador apropiado. Para ser óptimamente eficaz y evitar los efectos secundarios sistémicos y de las vías respiratorias superiores, el aerosol no debería tener un diámetro aerodinámico medio de masa (MMAD) mayor que aproximadamente 5 μm y no debería tener una desviación geométrica estándar (GSD) mayor que aproximadamente 2. Si un aerosol tiene un diámetro aerodinámico de masa (MMAD) mayor que aproximadamente 5 μm o una desviación geométrica estándar (GSD) mayor que aproximadamente 2, se puede depositar un gran porcentaje de la dosis en las vías respiratorias superiores disminuyendo la cantidad de fármaco administrada al sitio deseado en el tracto respiratorio inferior. Si el diámetro aerodinámico de masa (MMAD) del aerosol es menor que aproximadamente 1 μm , entonces un gran porcentaje de partículas puede permanecer suspendido en el aire inhalado y puede ser exhalado durante la espiración.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar también por lavado transbroncoscópico.

65 Las formulaciones adecuadas para su administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como

cápsulas, sellos o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o en un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite-en-agua o una emulsión líquida de agua-en-aceite. El ingrediente activo también puede presentarse como una bolsita, bolo, electuario o pasta.

5 Un comprimido puede prepararse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes adicionales. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en una forma de flujo libre tal como polvo o gránulos, mezclando opcionalmente con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando, en una
10 máquina adecuada, una mezcla del compuesto en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo que contienen.

15 Las formulaciones para administración tópica en la boca, por ejemplo oral o sublingual, incluyen grageas, que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada tal como sacarosa y acacia o tragacanto, y pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

20 Las formulaciones para administración parenteral incluyen soluciones estériles acuosas y no acuosas inyectables que pueden contener antioxidantes, soluciones tamponadas, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en envases de dosis unitarias o múltiples dosis, por ejemplo ampollas y viales herméticos, y pueden almacenarse en un estado
25 secado por congelación (liofilizado) requiriendo solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo una solución salina o agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Se pueden preparar soluciones y suspensiones extemporáneas para inyección a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente.

30 Se pueden preparar fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires en forma de dosis unitaria de manera que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el ingrediente activo en una solución acuosa saborizada adecuadamente, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico farmacéuticamente aceptable. Las suspensiones se pueden formular dispersando el ingrediente activo en un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se pueden incorporar en composiciones líquidas orales solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos de sabor tales como aceite de menta o
35 edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales o de otro tipo, y similares.

También pueden emplearse sistemas de administración de liposomas tales como las vesículas unilamelares pequeñas, las vesículas unilamelares grandes y las vesículas multilamelares como medio de administración de los compuestos de la invención. Los liposomas pueden formarse a partir de diversos fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina y fosfatidilcolinas.

40 Las composiciones farmacéuticas para administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, atomizadores, aerosoles o aceites. Las composiciones diseñadas para el tratamiento de los ojos u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, se pueden aplicar como un ungüento o crema tópica. Cuando se formula como un ungüento, el ingrediente activo se puede emplear con cualquiera de entre una base parafínica o una base de ungüento miscible en agua. Alternativamente, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite-en-agua o una base de agua-en-aceite.

50 Otras composiciones diseñadas para administración tópica a los ojos o los oídos incluyen gotas oculares y gotas óticas en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, tal como por ejemplo un disolvente acuoso, incluida una solución salina.

55 Las composiciones diseñadas para la administración nasal incluyen aerosoles, soluciones, suspensiones, atomizadores, vapores y gotas. Se pueden formular formulaciones dispersables en forma de aerosol para administración nasal mayormente del mismo modo que las formulaciones dispersables en forma de aerosol para inhalación, con la condición de que se preferirán las partículas de tamaño no respirable en las formulaciones para administración nasal. Normalmente, pueden emplearse partículas que tienen un tamaño de aproximadamente 5 micrómetros, hasta el tamaño de gotitas visibles. Por lo tanto, para la administración nasal se puede utilizar un
60 tamaño de partícula en el intervalo de 10–500 µm para asegurar la retención en la cavidad nasal.

También se pueden emplear parches transdérmicos que están diseñados para permanecer en contacto con la epidermis del paciente durante un período de tiempo prolongado y que promueven la absorción del ingrediente activo a través de la misma.

65

Las composiciones para administración vaginal o rectal incluyen ungüentos, cremas, supositorios y enemas, todos los cuales pueden formularse utilizando técnicas convencionales.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para promover la hidratación de las superficies mucosas o para restablecer las defensas de la mucosa en un ser humano que lo necesite, que comprende la administración al ser humano de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, en la que dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz. En una forma de realización preferida, el procedimiento comprende la administración de la composición farmacéutica como una composición para inhalación que comprende una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para alcanzar una concentración disuelta del compuesto en las superficies de las vías respiratorias de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} o 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} o 10^{-1} moles/litro, más preferentemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad cualquiera de entre las siguientes: obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, bronquiectasia (incluida la bronquiectasia que se debe a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada al trasplante y traqueobronquitis asociada a la ventilación mecánica, o la prevención de la neumonía asociada a la ventilación mecánica en un ser humano que lo necesite, que comprende la administración al ser humano de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, en la que dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz. En una forma de realización preferida, el procedimiento comprende la administración de la composición farmacéutica como una composición para inhalación que comprende una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para alcanzar la concentración disuelta del compuesto en las superficies de las vías respiratorias de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} , o 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , o 10^{-1} moles/litro, más preferentemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar una cualquiera de las siguientes afecciones: boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis o deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco y ojo seco o enfermedad de Sjögren; promover la hidratación ocular o corneal, tratar el síndrome de obstrucción intestinal distal y tratar la otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en un ser humano que lo necesite, que comprende la administración al ser humano de una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, en la que dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz.

Las formulaciones preferidas de dosis unitaria para los compuestos de la invención son aquellas que contienen una cantidad eficaz del ingrediente activo o una fracción apropiada.

Se debe entender que además de los ingredientes mencionados anteriormente en particular, las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo las formulaciones adecuadas para su administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

Las composiciones de la presente invención pueden formularse para su liberación inmediata, controlada o prolongada, según convenga para la afección particular a tratar y la vía de administración deseada. Por ejemplo, una formulación de liberación controlada para administración oral puede ser conveniente para el tratamiento del estreñimiento con el fin de aumentar al máximo la administración del agente activo en el colon. Dichas formulaciones y excipientes adecuados para las mismas son bien conocidos en la técnica farmacéutica. Debido a que la base libre del compuesto es generalmente menos soluble en soluciones acuosas que la sal, las composiciones que comprenden una base libre de un compuesto de la Fórmula I se pueden emplear para proporcionar una liberación más prolongada del agente activo administrado por inhalación a los pulmones. Un agente activo presente en los pulmones en forma de partículas que no se ha disuelto en solución no está disponible para inducir una respuesta fisiológica, pero sirve como depósito del fármaco biodisponible que se disuelve gradualmente en solución. Como otro ejemplo, una formulación puede emplear tanto una base libre como una forma de sal de un compuesto de la invención para proporcionar tanto una liberación inmediata como prolongada del ingrediente activo para la disolución en las secreciones de mucosa de, por ejemplo, la nariz.

Combinaciones

Los compuestos de la invención se pueden formular y/o utilizar en combinación con otros agentes terapéuticamente activos. Los ejemplos de otros agentes terapéuticamente activos que se pueden formular o utilizar en combinación con los compuestos de la invención incluyen, no exclusivamente: osmolitos, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas (incluyendo β_2 -agonistas selectivos), agonistas de los receptores P2Y2, delta agonistas de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR, según sus siglas en inglés), otros bloqueadores de los canales epiteliales de sodio (bloqueadores de los receptores ENaC), moduladores del regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR, según sus siglas en inglés), inhibidores de la cinasa, agentes antiinfecciosos, antihistaminas, macrólidos antiinflamatorios no antibióticos, inhibidores de la elastasa y la

proteasa y agentes modificadores de moco o mucina, tales como los agentes tensioactivos. Además, para indicaciones cardiovasculares, los compuestos de la invención se pueden utilizar en combinación con betabloqueantes, inhibidores de la ECA, inhibidores de la HMGCoA reductasa, bloqueadores de los canales de calcio y otros agentes cardiovasculares.

Por lo tanto, la presente invención proporciona, como otro aspecto, una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticamente activos seleccionados entre osmolitos, agentes anti-inflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas (incluyendo β_2 -agonistas selectivos), agonistas de los receptores P2Y2, delta agonistas de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), bloqueadores de los receptores ENaC, moduladores del regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), inhibidores de la cinasa, agentes antiinfecciosos, antihistaminas, macrólidos antiinflamatorios no antibióticos, inhibidores de la elastasa y la proteasa, y agentes modificadores de moco o mucina, tales como los agentes tensioactivos. Por lo tanto, la presente invención proporciona, como otro aspecto, una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticamente activos seleccionados entre: los betabloqueantes, inhibidores de la ECA, inhibidores de la HMGCoA reductasa y bloqueadores de los canales de calcio. El uso de los compuestos de la invención en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos (en particular, osmolitos) puede disminuir la dosis del compuesto de la invención necesaria para hidratar suficientemente las superficies mucosas, reduciendo así el potencial de efectos secundarios indeseables atribuibles al bloqueo sistémico de los canales de sodio, por ejemplo, en los riñones.

"Osmolitos", de acuerdo con la presente invención, son moléculas o compuestos que son osmóticamente activos. Las moléculas y compuestos "osmóticamente activos" son impermeables a la membrana (*es decir*, básicamente no absorbibles) en las vías respiratorias o en la superficie epitelial pulmonar. Los términos "superficie de las vías respiratorias" y "superficie pulmonar", según se emplean en la presente invención, incluyen las superficies de las vías respiratorias pulmonares, tales como los bronquios y los bronquiolos, las superficies alveolares y las superficies nasales y sinusales. Los osmolitos adecuados incluyen osmolitos iónicos (*es decir*, sales), y osmolitos no iónicos (*es decir*, azúcares, alcoholes de azúcar y osmolitos orgánicos). En general, los osmolitos (tanto iónicos como no iónicos) utilizados en combinación con los compuestos de la invención son preferentemente osmolitos que no promueven, o de hecho disuaden o retardan el crecimiento bacteriano. Los osmolitos adecuados para su uso en la presente invención pueden estar en forma racémica o en forma de un enantiómero, diastereómero, tautómero, polimorfo o pseudopolimorfo.

Los ejemplos de osmolitos iónicos útiles en la presente invención incluyen cualquier sal de un anión farmacéuticamente aceptable y un catión farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, cualquiera (o ambos) de entre el anión y el catión son osmóticamente activos y no están sujetos a un rápido transporte activo en relación con las superficies de las vías respiratorias a las que se administran. Dichos compuestos incluyen, no exclusivamente, aniones y cationes que están contenidos en las sales comerciales aprobadas por la FDA, véase, por ejemplo, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II*, página 1457 (19ª Ed. 1995), y se pueden utilizar en cualquier combinación conocida en la técnica.

Los ejemplos específicos de aniones osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, no exclusivamente: acetato, benenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio, camsilato (alcanforsulfonato), carbonato, cloruro, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato (1,2-etanodisulfonato), estolato (sulfato de laurilo), esilato (1,2-etanodisulfonato), fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato (*p*-glicolamidofenilarsonato), hexilresorcinato, hidrabamina (*N, N'*-Di(deshidroabietil)etilendiamina), bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, malato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, nitrito, pamoato (embonato), pantotenato, fosfato o difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato (8-cloroteofilinato), trietilyoduro, bicarbonato, etc. Los aniones preferidos incluyen: cloruro, sulfato, nitrato, gluconato, yoduro, bicarbonato, bromuro y fosfato.

Los ejemplos específicos de cationes osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, no exclusivamente, cationes orgánicos tales como: benzatina (*N, N'*-dibenciletilendiamina), clorprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (*N*-metil-D-glucamina), procaína, D-lisina, L-lisina, D-arginina, L-arginina, trietilamonio, *N*-metil D-glicerol, y similares; y cationes metálicos tales como: aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, zinc, hierro, amonio y similares. Los cationes orgánicos preferidos incluyen cationes orgánicos de 3 carbonos, 4 carbonos, 5 carbonos y 6 carbonos. Los cationes preferidos incluyen: sodio, potasio, colina, litio, meglumina, D-lisina, amonio, magnesio y calcio.

Los ejemplos específicos de osmolitos iónicos que se pueden utilizar en combinación con un compuesto de la invención incluyen, no exclusivamente: cloruro de sodio (en particular la solución salina hipertónica), cloruro de potasio, cloruro de colina, yoduro de colina, cloruro de litio, cloruro de meglumina, cloruro de L-lisina, cloruro de D-lisina, cloruro de amonio, sulfato de potasio, nitrato de potasio, gluconato de potasio, yoduro de potasio, cloruro férrico, cloruro ferroso, bromuro de potasio y combinaciones de dos o más cualesquiera de los anteriores. En una

forma de realización, la presente invención proporciona una combinación de un compuesto de la invención y dos sales osmóticamente activas diferentes. Cuando se utilizan sales diferentes, uno de los dos, anión o catión, puede ser el mismo entre las sales diferentes. Una solución salina hipertónica es un osmolito iónico preferido para su uso en combinación con los compuestos de la invención.

Los osmolitos no iónicos incluyen azúcares, alcoholes de azúcar, y osmolitos orgánicos. Los azúcares y alcoholes de azúcares útiles como osmolitos en la presente invención incluyen, no exclusivamente, azúcares de 3 carbonos (por ejemplo, glicerol, dihidroxiacetona); azúcares de 4 carbonos (por ejemplo, tanto las formas D como L de eritrosa, treosa, y eritrolosa); azúcares de 5 carbonos (por ejemplo, tanto las formas D como L de ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, psicosa, fructosa, sorbosa y tagatosa); y azúcares de 6 carbonos (por ejemplo, tanto las formas D como L de altosa, alosa, glucosa, manosa, gulosa, idosa, galactosa y talosa, y las formas D y L de alo-heptulosa, gluco-heptulosa, mano-heptulosa, gulo-heptulosa, ido-heptulosa, galacto-heptulosa, talo-heptulosa). Los azúcares adicionales útiles en la práctica de la presente invención incluyen rafinosa, los oligosacáridos de la serie rafinosa, y estaquiosa. Tanto las formas D como L de la forma reducida de cada azúcar/alcohol de azúcar también son adecuadas para la presente invención. Por ejemplo, la glucosa, cuando se reduce, se convierte en sorbitol; un osmolito comprendido dentro del alcance de la invención. Por consiguiente, el sorbitol y otras formas reducidas de azúcar/alcoholes de azúcar (por ejemplo, manitol, dulcitol o arabitol) son osmolitos adecuados para su uso en la presente invención. El manitol es un osmolito no iónico preferido para su uso en combinación con los compuestos de la invención.

La expresión "osmolitos orgánicos" se utiliza generalmente para referirse a moléculas que controlan la osmolalidad intracelular en el riñón. Véase, por ejemplo, J. S. Handlery col., *Comp. Biochem. Physiol.*, 117, 301-306 (1997); M. Burg, *Am. J. Physiol.* 268, F983-F996 (1995). Los osmolitos orgánicos incluyen, no exclusivamente, tres clases principales de compuestos: polioles (alcoholes polihídricos), metilaminas y aminoácidos. Los osmolitos orgánicos de polioles adecuados incluyen, no exclusivamente: inositol, mioinositol y sorbitol. Los osmolitos orgánicos de metilamina adecuados incluyen, no exclusivamente: colina, betaina, carnitina (formas L-, D- y DL), fosforilcolina, lisofosforilcolina, glicerofosforilcolina, creatina y fosfato de creatina. Los osmolitos orgánicos de aminoácidos adecuados incluyen, no exclusivamente: las formas D- y L- de glicina, alanina, glutamina, glutamato, aspartato, prolina y taurina. Otros osmolitos orgánicos adecuados para uso en la presente invención incluyen tihulosa y sarcosina. Se prefieren los osmolitos orgánicos de mamíferos, y los osmolitos orgánicos humanos son los más preferidos. Sin embargo, ciertos osmolitos orgánicos son de origen bacteriano, de levadura y de animal marino, y estos compuestos también se pueden emplear en la presente invención.

Se pueden usar precursores de osmolitos en combinación con los compuestos de la invención. Un "precursor de osmolito", según se emplea en la presente memoria, se refiere a un compuesto que se convierte en un osmolito por una etapa metabólica, ya sea catabólica o anabólica. Los ejemplos de precursores de osmolitos incluyen, no exclusivamente: glucosa, polímeros de glucosa, glicerol, colina, fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina y fosfatos inorgánicos, que son precursores de polioles y metilaminas. Los precursores de aminoácidos osmolíticos incluyen proteínas, péptidos y poliaminoácidos, que son hidrolizados para producir aminoácidos osmolíticos, y precursores metabólicos que se pueden convertir en aminoácidos osmolíticos mediante una etapa, tal como la transaminación. Por ejemplo, un precursor del aminoácido glutamina es la poli-L-glutamina, y un precursor del glutamato es el ácido poli-L-glutámico.

También se pueden emplear osmolitos químicamente modificados o precursores de osmolitos. Dichas modificaciones químicas implican unir el osmolito (o precursor) a un grupo químico adicional que altera o aumenta el efecto del osmolito o precursor de osmolito (por ejemplo, inhibe la degradación de la molécula de osmolito). Dichas modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y son conocidas en la técnica. (Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. y col., *J. Med. Chem.* 19:113-117 (1976); Bodor, N. y col., *J. Pharm. Sci.* 67:1045-1050 (1978); Bodor, N. y col., *J. Med. Chem.* 26:313-318 (1983); Bodor, N. y col., *J. Pharm. Sci.* 75:29-35 (1986).

Los osmolitos preferidos para su uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen cloruro de sodio, solución salina hipertónica en particular, y manitol.

Para la formulación de solución salina hipertónica al 7% y >7%, las formulaciones que contienen aniones de bicarbonato pueden ser particularmente útiles, especialmente para trastornos respiratorios con disfunción del regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), tales como la FQ o la EPOC. Los resultados recientes indican que, aunque la relación relativa de la conductancia HCO_3^- /conductancia Cl^- es de entre 0,1 y 0,2 para los canales individuales de CFTR activados con AMPc y ATP, la relación en el conducto sudoríparo puede variar desde virtualmente 0 a casi 1,0, dependiendo de las condiciones de estimulación. Es decir, la combinación de AMPc + GMPc + α -cetoglutarato puede producir una conductancia del HCO_3^- del CFTR casi igual a la conductancia del Cl^- (Quitón y col., *Physiology*, vol. 22, n.º 3, 212-225, junio de 2007). Asimismo, las formulaciones de solución salina hipertónica al 7% y >7% que contiene aniones de bicarbonato pueden ser particularmente útiles debido a un mejor control del pH en el líquido de la superficie de las vías respiratorias. En primer lugar, se ha demostrado que en la FQ se produce una acidificación de las vías respiratorias (Tate y col.,

2002) y que la ausencia de secreción de bicarbonato dependiente de CFTR puede conducir a un deterioro de la capacidad para responder a trastornos de las vías respiratorias asociados con la acidificación de la capa líquida de la superficie de las vías respiratorias (Coakley y col., 2003). En segundo lugar, la adición de solución hipertónica sin bicarbonato a la superficie del pulmón puede diluir aún más las concentraciones de bicarbonato y, potencialmente, reducir el pH o la capacidad de responder a la acidificación de las vías respiratorias dentro de la capa líquida de la superficie de las vías respiratorias. Por lo tanto, la adición de aniones de bicarbonato a la solución hipertónica puede ayudar a mantener o mejorar el pH de la capa líquida de la superficie de las vías respiratorias en pacientes con FQ. Debido a esta evidencia, la inclusión de anión de bicarbonato en la formulación de solución salina hipertónica al 7% o >7% administrada por el procedimiento de la presente invención sería particularmente útil. Las formulaciones que contienen concentraciones de aniones de bicarbonato de hasta entre 30 y 200 mM son de particular interés para las soluciones hipertónicas al 7% o >7%.

Se entiende que la solución salina hipertónica tiene una concentración de sal mayor que la concentración de la solución salina normal (SN), es decir, mayor que 9 g/L o 0,9% p/v, y la solución salina hipotónica tiene una concentración de sal inferior a la concentración de la solución salina normal, como por ejemplo de aproximadamente 1 g/l o 0,1% p/v a aproximadamente 8 g/l o 0,8% p/v. Las soluciones salinas hipertónicas útiles en las formulaciones y los procedimientos de tratamiento de la presente invención pueden tener una concentración de sal de aproximadamente 1% a aproximadamente 23,4% (p/v). En una forma de realización, la solución salina hipertónica tiene una concentración de sal de aproximadamente 60 g/l (6% p/v) a aproximadamente 100 g/l (10% p/v). En otra forma de realización, la solución salina tiene una concentración de sal de aproximadamente 70 g/l (7% p/v) a aproximadamente 100 g/l (10% p/v). En otras formas de realización, la solución salina tiene concentraciones de sal de a) de aproximadamente 0,5 g/l (0,05% p/v) a aproximadamente 70 g/l (7% p/v); b) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 60 g/l (6% p/v); c) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 50 g/l (5% p/v); d) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 40 g/l (4% p/v); e) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 30 g/l (3% p/v); y f) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 20 g/l (2% p/v).

Las concentraciones específicas de soluciones salinas útiles en las formulaciones y en los procedimientos de tratamiento de la presente invención incluyen, independientemente, aquellas que tienen concentraciones de sal de 1 g/l (0,1% p/v), 2 g/l (0,2% p/v), 3 g/l (0,3% p/v), 4 g/l (0,4% p/v), 5 g/l (0,5% p/v), 6 g/l (0,6% p/v), 7 g/l (0,7% p/v), 8 g/l (0,8% p/v), 9 g/l (0,9% p/v), 10 g/l (1% p/v), 20 g/l (2% p/v), 30 g/l (3% p/v), 40 g/l (4% p/v), 50 g/l (5% p/v), 60 g/l (6% p/v), 70 g/l (7% p/v), 80 g/l (8% p/v), 90 g/l (9% p/v), 100 g/l (10% p/v), 110 g/l (11% p/v), 120 g/l (12% p/v), 130 g/l (13% p/v), 140 g/l (14% p/v), 150 g/l (15% p/v), 160 g/l (16% p/v), 170 g/l (17% p/v), 180 g/l (18% p/v), 190 g/l (19% p/v), 200 g/l (20% p/v), 210 g/l (21% p/v), 220 g/l (22% p/v) y 230 g/l (23% p/v). También se pueden utilizar las concentraciones de soluciones salinas entre cada una de estas concentraciones/porcentajes indicados, tales como la solución salina de 1,7 g/l (0,17% p/v), 1,25 g/l (1,25% p/v), 1,5 g/l (1,5% p/v), 2,5 g/l (2,5% p/v), 2,8 g/l (2,8% p/v), 3,5 g/l (3,5% p/v), 4,5 g/l (4,5% p/v), y 7,5 g/l (7,5% p/v).

La concentración útil específica de soluciones salinas hipotónicas incluye aquellas de aproximadamente 0,12 g/l (0,012% p/v) a aproximadamente 8,5 g/l (0,85% p/v). Se puede utilizar cualquier concentración dentro de este intervalo, tal como, en p/v, 0,05%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,225% (1/4 SN), 0,25%, 0,3% (1/3 SN), 0,35%, 0,4%, 0,45% (1/2 SN), 0,5%, 0,55%, 0,6% (2/3 SN), 0,65%, 0,675% (3/4 SN), 0,7%, 0,75% y 0,8%.

Cada uno de los intervalos y concentraciones específicas de soluciones salinas descritos en la presente memoria se puede utilizar con las formulaciones, procedimientos de tratamiento, regímenes y kits descritos en la presente memoria.

También están previstos dentro del alcance de la presente invención los osmolitos o precursores de osmolitos químicamente modificados. Dichas modificaciones químicas implican unir el osmolito (o precursor) a un grupo químico adicional que altera o aumenta el efecto del osmolito o precursor de osmolito (por ejemplo, inhibe la degradación de la molécula de osmolito). Dichas modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y son conocidas en la técnica. (Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. y col., *J. Med. Chem.* 19:113–117 (1976); Bodor, N. y col., *J. Pharm. Sci.* 67:1045–1050 (1978); Bodor, N. y col., *J. Med. Chem.* 26:313–318 (1983); Bodor, N. y col., *J. Pharm. Sci.* 75:29–35 (1986), cada una de ellas incorporada a la presente a modo de referencia.

Los agentes antiinflamatorios adecuados para el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen corticosteroides y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), particularmente los inhibidores de fosfodiesterasa (PDE). Los ejemplos de corticosteroides para uso en la presente invención incluyen corticosteroides orales o inhalados o profármacos de los mismos. Los ejemplos específicos incluyen, no exclusivamente: ciclesonida, desisobutiril-ciclesonida, budesonida, flunisolida, mometasona y sus ésteres (por ejemplo, furoato de mometasona), propionato de fluticasona, furoato de fluticasona, beclometasona, metilprednisolona, prednisolona, dexametasona, S-fluorometil éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonyl)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotioico, S-(2-oxo-tetrahidro-furan-3S-il) éster del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotioico, ésteres de beclometasona (por ejemplo, el

éster 17-propionato o el éster 17,21-dipropionato, éster de fluorometilo, triamcinolona acetona, rofleponida o cualquier combinación o subconjunto de los mismos. Los corticosteroides preferidos para la formulación o el uso en combinación con los compuestos de la invención se seleccionan entre: ciclesonida, desisobutiril-ciclesonida, budesonida, mometasona, propionato de fluticasona, y furoato de fluticasona, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

Los AINE para el uso en la presente invención incluyen, no exclusivamente: cromoglicato de sodio, nedocromilo de sodio, inhibidores de la fosfodiesterasa (PDE) (por ejemplo, teofilina, aminofilina, inhibidores de la PDE4, inhibidores mixtos de la PDE3/PDE4 o inhibidores mixtos de la PDE4/PDE7), antagonistas de leucotrienos, inhibidores de la síntesis de leucotrienos (por ejemplo, inhibidores de la 5-LO y la FLAP), inhibidores de la óxido nítrico sintasa (iNOS), inhibidores de la proteasa (por ejemplo, inhibidores de la triptasa, inhibidores de la elastasa de neutrófilos, e inhibidores de la metaloproteasa), antagonistas de β 2-integrina y agonistas o antagonistas de receptores de adenosina (por ejemplo, 2a agonistas de adenosina), antagonistas de citocina (por ejemplo, antagonistas de quimiocina) o inhibidores de la síntesis de citocinas (por ejemplo, antagonistas del receptor D2 (CRTh2) de prostaglandina). Los ejemplos de modificadores de leucotrienos adecuados para la administración por el procedimiento de la presente invención incluyen: montelukast, zileuton y zafirlukast.

El inhibidor de la PDE4, el inhibidor mixto de la PDE3/PDE4 o el inhibidor mixto de la PDE4/PDE7 puede ser cualquier compuesto del que se sabe que inhibe la enzima PDE4 o que se descubre que actúa como un inhibidor de la PDE4, y que son inhibidores selectivos de la PDE4 (es decir, compuestos que no inhiben apreciablemente a otros miembros de la familia de la PDE). Los ejemplos específicos de inhibidores específicos de la PDE4 para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen, no exclusivamente: roflumilast, pumafentrina, arofilina, cilomilast, tofomilast, oglemilast, tolafentrina, piclamilast, ibudilast, apremilast, 2-[4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetil)-1-naftalenil]-2-piridinil]-4-(3-piridinil)-1(2H)-ftalazinona (T2585), N-(3,5-dicloro-4-piridinil)-1-[(4-fluorofenil)metil]-5-hidroxi-oxo-1H-indol-3-acetamida (AWD-12-281, 4-[(2R)-2-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-2-feniletíl]-piridina (CDP-840), ácido 2-[4-[[[2-(1,3-benzodioxol-5-iloxi)-3-piridinil]carbonil]amino]metil]-3-fluorofenoxi]-(2R)-propanoico (CP-671305), N-(4,6-dimetil-2-pirimidinil)-4-[4,5,6,7-tetrahidro-2-(4-metoxi-3-metilfenil)-5-(4-metil-1-piperazinil)-1H-indol-1-il]-bencenosulfonamida, (2E)-2-butenodioato (YM-393059), 9-[(2-fluorofenil)metil]-N-metil-2-(trifluorometil)-9H-purin-6-amina (NCS-613), N-(2,5-dicloro-3-piridinil)-8-metoxi-5-quinolinacarboxamida (D-4418), N-[(3R)-9-amino-3,4,6,7-tetrahidro-4-oxo-1-fenilpirrolo[3,2,1-[1,4]benzodiazepin-3-il]-3H-purin-6-amina (PD-168787), clorhidrato de 3-[[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]metil]-N-etil-8-(1-metiletíl)-3H-purin-6-amina (V-11294A), N-(3,5-dicloro-1-óxido-4-piridinil)-8-metoxi-2-(trifluorometil)-5-quinolinacarboxamida (Sch351591), 5-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-3-[(3-metilfenil)metil]-(3S,5S)-2-piperidinone (HT-0712), 5-(2-((1R,4R)-4-amino-1-(3-(ciclopentiloxi)-4-metiloxifenil)ciclohexil)etil)pirimidin-2-amina, cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ol], y 4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetil)-1-naftalenil]-1-(2-metoxietil)-2(1H)-piridinona (T-440), y cualquier combinación y subconjunto de los mismos,

Los antagonistas de leucotrienos e inhibidores de la síntesis de leucotrienos incluyen: zafirlukast, montelukast de sodio, zileuton y pranlukast.

Los agentes anticolinérgicos para formulación o uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, no exclusivamente, antagonistas de los receptores muscarínicos, incluidos particularmente pan-antagonistas y antagonistas de los receptores M₃. Los compuestos ejemplares incluyen los alcaloides de las plantas de belladona, tales como atropina, escopolamina, homatropina, hiosciamina, y las diversas formas que incluyen sus sales (por ejemplo: atropina anhidra, sulfato de atropina, óxido o clorhidrato de atropina, nitrato de metilatropina, bromhidrato de homatropina, metilbromuro de homatropina, bromhidrato de hiosciamina, sulfato de hiosciamina, bromhidrato de escopolamina, metilbromuro de escopolamina), o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

Los anticolinérgicos adicionales para la formulación y el uso en combinación con metantelina, bromuro de propantelina, metilbromuro de anisotropina o Valpin 50, bromuro de aclidinio, glicopirrolato (Robinul), yoduro de isopropamida, bromuro de mepenzolato, cloruro de tridihexetilo, metilsulfato de hexociclo, clorhidrato de ciclopentolato, tropicamida, clorhidrato de trihexifenidilo, pirenzepina, telenzepina, y metoctramina, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

Los anticolinérgicos preferidos para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen ipratropio (bromuro), oxitropio (bromuro) y tiotropio (bromuro), o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

Los ejemplos de β -agonistas para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, no exclusivamente: salmeterol, R-salmeterol, y sales de xinafoato de los mismos, albuterol o R-albuterol (base libre o sulfato), levalbuterol, salbutamol, formoterol (fumarato), fenoterol, procaterol, pirbuterol, metaproterenol, terbutalina y sales de los mismos, y cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

Los agonistas de los receptores P2Y₂ para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la

invención se pueden emplear en una cantidad eficaz para estimular la secreción de cloruro y agua por parte de las superficies de las vías respiratorias, particularmente las superficies de las vías respiratorias nasales. Los agonistas de los receptores P2Y₂ adecuados son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en las columnas 9–10 de la patente de EE. UU. n.º 6.264.975, y también en las patentes de EE. UU. n.º 5.656.256 y 5.292.498.

Los agonistas P2Y₂ que pueden ser administrados por los procedimientos de la presente invención incluyen agonistas de los receptores P2Y₂ tales como los agonistas de los receptores de ATP, UTP, UTP- γ -S y el dinucleótido P2Y₂ (por ejemplo, denufosol o diquafosol) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. El agonista de los receptores P2Y₂ está típicamente incluido en una cantidad eficaz para estimular la secreción de cloruro y agua por parte de las superficies de las vías respiratorias, particularmente las superficies de las vías respiratorias nasales. Los agonistas de los receptores P2Y₂ adecuados se describen, no exclusivamente, en la patente de EE. UU. n.º 6.264.975, la patente de EE. UU. n.º 5.656.256, la patente de EE. UU. n.º 5.292.498, la patente de EE. UU. n.º 6.348.589, la patente de EE. UU. n.º 6.818.629, la patente de EE. UU. n.º 6.977.246, la patente de EE. UU. n.º 7.223.744, la patente de EE. UU. n.º 7.531.525 y la solicitud de patente de EE. UU. 2009/0306009, cada una de las cuales se incorpora a la presente a modo de referencia.

Las terapias combinadas y las formulaciones de la presente invención pueden incluir agonistas de la adenosina 2b (A2B), incluidos también BAY 60–6583, NECA (N-etilcarboxamidoadenosina), (S) PHPNECA, LUF–5835 y LUF–5845. Los agonistas de A2b que se pueden utilizar son descritos por Volpini y col. *Journal of Medicinal Chemistry* 45 (15): 3271–9 (2002); Volpini y col., *Current Pharmaceutical Design* 8 (26): 2285–98 (2002); Baraldi y col., *Journal of Medicinal Chemistry* 47 (6): Cacciari y col., 1434–47 (2004); *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 5 (12): 1053–60 (diciembre 2005); Baraldi y col., *Current Medicinal Chemistry* 13 (28): 3467–82 (2006); Beukers y col., *Medicinal Research Reviews* 26 (5): 667–98 (septiembre 2006); Elzein y col., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 16 (2): 302–6 (enero 2006); Carotti, y col., *Journal of Medicinal Chemistry* 49 (1): 282–99 (enero 2006); Tabrizi y col., *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16 (5): 2419–30 (marzo 2008); y Stefanachi, y col., *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16 (6): 2852–69 (marzo de 2008).

Los ejemplos de otros bloqueadores de los receptores del ENaC para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, no exclusivamente, amilorida y sus derivados, tales como aquellos compuestos descritos en la patente de EE. UU. n.º 6858615, y la publicación PCT n.º WO2003/070182, WO2004/073629, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2007/018640, y WO2007/146889, todas de Parion Sciences, Inc.

Los bloqueadores del ENaC de moléculas pequeñas son capaces de impedir directamente el transporte de sodio a través del poro del canal ENaC. El bloqueador del ENaC que puede administrarse en las combinaciones de la presente invención incluye, no exclusivamente, amilorida, benzamilo, fenamilo, y análogos de amilorida, como se ejemplifica en la patente de EE. UU. n.º 6.858.614, la patente de EE. UU. n.º 6.858.615, la patente de EE. UU. n.º 6.903.105, la patente de EE. UU. n.º 6.995.160, la patente de EE. UU. n.º 7.026.325, la patente de EE. UU. n.º 7.030.117, la patente de EE. UU. n.º 7.064.129, la patente de EE. UU. n.º 7.186.833, la patente de EE. UU. n.º 7.189.719, la patente de EE. UU. n.º 7.192.958, la patente de EE. UU. n.º 7.192.959, la patente de EE. UU. n.º 7.241.766, la patente de EE. UU. n.º 7.247.636, la patente de EE. UU. n.º 7.247.637, la patente de EE. UU. n.º 7.317.013, la patente de EE. UU. n.º 7.332.496, la patente de EE. UU. n.º 7.345.044, la patente de EE. UU. n.º 7.368.447, la patente de EE. UU. n.º 7.368.450, la patente de EE. UU. n.º 7.388.451, la patente de EE. UU. n.º 7.375.107, la patente de EE. UU. n.º 7.399.766, la patente de EE. UU. n.º 7.410.968, la patente de EE. UU. n.º 7.820.678, la patente de EE. UU. n.º 7.842.697, la patente de EE. UU. n.º 7.868.010, la patente de EE. UU. n.º 7.875.619.

Está bien descrito el hecho de que la proteólisis del ENaC aumenta el transporte de sodio a través del ENaC. El inhibidor de la proteasa bloquea la actividad de las proteasas endógenas de las vías respiratorias, lo que impide la escisión y la activación del ENaC. La proteasas que escinden el ENaC incluyen: furina, meprina, matriptasa, tripsina, proteasas asociadas a los canales (CAPS), y elastasas de neutrófilos. Los inhibidores de la proteasa que pueden inhibir la actividad proteolítica de estas proteasas que pueden administrarse en las combinaciones de la presente invención incluyen, no exclusivamente: camostat, prostaticina, furina, aprotinina, leupeptina, e inhibidores de la tripsina.

Las combinaciones de la presente memoria pueden incluir uno o más ácidos nucleicos adecuados (o ácidos polinucleicos) incluidos, no exclusivamente: oligonucleótido antisentido, siRNA, miRNA, MiRNA similar, antagomiR, ribozima, aptámero, y los ácidos nucleicos de oligonucleótidos señuelo. Véase, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente de EE. UU. n.º 20100316628. En general, dichos ácidos nucleicos pueden tener una longitud de 17 o 19 nucleótidos, hasta una longitud de 23, 25 o 27 nucleótidos, o más. Los ejemplos incluyen, no exclusivamente, aquellos descritos en la Patente de EE. UU. n.º 7.517.865 y la solicitud de patente de EE. UU. n.º 20100215588; 20100316628; 20110008366; y 20110104255. En general, los siRNA pueden tener una longitud de 17 o 19 nucleótidos, hasta una longitud de 23, 25 o 27 nucleótidos, o más.

Los compuestos que modulan la actividad del CFTR que pueden administrarse en las combinaciones de la presente

invención incluyen, no exclusivamente, los compuestos descritos en los documentos US 2009/0246137 A1, US 2009/A1 0253736, US 2010/0227888 A1, patente n.º 7.645.789, US 2009/0246820 A1, US 2009/0221597 A1, US 2010/0184739 A1, US 2010/0130547 A1, US 2010/0168094 A1 y en la patente emitida: 7.553.855; US 7.772.259 B2, US 7.405.233 B2, US 2009/0203752 y US 7.499.570.

5 Los agentes modificadores de moco o mucina que son útiles en las combinaciones y en los procedimientos de la presente invención incluyen agentes reductores, agentes tensioactivos y detergentes, expectorantes, y agentes de desoxirribonucleasa.

10 Las proteínas de mucina están organizadas en polímeros de alto peso molecular a través de la formación de enlaces covalentes (disulfuro) y no covalentes. La ruptura de los enlaces covalentes con agentes reductores es un procedimiento bien establecido para reducir las propiedades viscoelásticas del moco *in vitro* y se prevé que reduce al mínimo la adherencia del moco y mejora la eliminación *in vivo*. Es bien sabido que los agentes reductores disminuyen la viscosidad del moco *in vitro* y se utilizan comúnmente para facilitar el procesamiento de muestras de esputo ⁸. Los ejemplos de agentes reductores incluyen moléculas que contienen sulfuro o fosfinas capaces de reducir enlaces disulfuro de proteína, incluidos, no exclusivamente: N-acetil cisteína, N-acistelina, carbocisteína, glutatona, ditiotreitól, proteínas que contienen tioredoxina, y tris-(2-carboxietil)fosfina.

20 La N-acetil cisteína (NAC) está autorizada para su uso en combinación con la fisioterapia torácica para aflojar la mucosidad viscosa o espesa de las vías respiratorias ¹². Unos estudios clínicos que evalúan los efectos de NAC oral o por inhalación en pacientes con FQ y EPOC han informado de mejoras en las propiedades reológicas del moco y tendencias de mejora de la función pulmonar y disminución de agravamientos pulmonares⁹. Sin embargo, la preponderancia de los datos clínicos sugiere que la NAC es a lo sumo un agente terapéutico mínimamente eficaz para tratar la obstrucción del moco en las vías respiratorias cuando se administra por vía oral o inhalación. Una revisión reciente de Cochrane de la bibliografía clínica existente sobre el uso de NAC no encontró evidencia que apoye la eficacia de la NAC para la FQ¹⁰. El beneficio clínico marginal de la NAC refleja que:

25 La NAC es un agente reductor relativamente ineficaz que está sólo parcialmente activo en la superficie de las vías respiratorias. Se necesitan concentraciones muy altas de NAC (200 mM o 3,26%) para reducir totalmente la Muc5B, una de las principales mucinas de las vías respiratorias que forman un gel, *in vitro*. Asimismo, en el entorno de pH de la superficie de las vías respiratorias (medido en el intervalo de pH de 6,0 a 7,2 en vías respiratorias con FQ y EPOC)¹¹, la NAC existe sólo parcialmente en su estado reactivo como un tiolato de carga negativa. Por lo tanto, en la clínica, la NAC se administra en concentraciones muy altas. Sin embargo, se prevé que los dispositivos actuales de aerosol no serán capaces de alcanzar concentraciones terapéuticas de incluso una solución de Mucomyst al 20% en las superficies de las vías respiratorias distales dentro de los dominios de tiempo relativamente cortos (7,5 – 15 minutos) utilizados normalmente.

30 En estudios no clínicos, la NAC marcada con ¹⁴C, administrada por inhalación, presenta una rápida eliminación de los pulmones con una vida media cuyo intervalo es de 6 a 36 minutos¹²

40 La NAC se administra como una solución hipertónica de inhalación, altamente concentrada (20% o 1,22 molar) y se ha informado de que causa broncoconstricción y tos. En muchos casos, se recomienda administrar la NAC con un broncodilatador para mejorar la tolerabilidad de este agente.

45 Por lo tanto, los agentes reductores tales como la NAC no son muy adecuados para la administración en bolo de aerosol. Sin embargo, se prevé que la administración de agentes reductores por infusión pulmonar de aerosol aumentaría la eficacia, permitiendo al mismo tiempo una disminución en la concentración de agente reductor en la solución de inhalación (que se prevé que aumenta la tolerabilidad).

50 Los agentes tensioactivos y detergentes son agentes de dispersión que demostraron reducir la viscoelasticidad del moco, mejorando la depuración del moco. Los ejemplos de agentes tensioactivos incluyen: dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), PF, ácido palmítico, palmitoil-oleoilfosfatidilglicerol, proteínas asociadas a agentes tensioactivos (por ejemplo, SP-A, B o C), o pueden ser de origen animal (por ejemplo, de lavado pulmonar de vaca o ternero o extraídos de pulmón picado de cerdo) o combinaciones de los mismos. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 7.897.577; 5.876.970; 5.614.216; 5.100.806; y 4.312.860. Los ejemplos de productos de agentes tensioactivos incluyen: Exosurf[®] Neonatal (palmitato de colfoscerilo), Pumactant[®] (DPPC y fosfatidilglicerol de huevo), agente tensioactivo KL-4, Venticute[®] (lusulptida, agente tensioactivo rSP-C), Alveofact[®] (bovactant), Curosurf[®] (poractante alfa), Infasurf[®] (calfactante), Newfacten[®] (agente tensioactivo bovino modificado), Surface[®], Natsurf[™] (agente tensioactivo no iónico de etoxilato de alcohol) y Survanta[®] (beractante). Los ejemplos de detergentes incluyen, no exclusivamente, Tween-80 y Triton X-100.

55 Se puede utilizar cualquier expectorante adecuado incluido, no exclusivamente, guaifenesina (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 7.345.051). Se puede utilizar cualquier desoxirribonucleasa adecuada incluida, no exclusivamente, Dornasa Alpha. (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 7.482.024). Los ejemplos de inhibidores de cinasa incluyen inhibidores de NFκB, PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa), p38 MAP cinasa, y Ro cinasa.

60

Los agentes antiinfecciosos para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen antiviricos y antibióticos. Los ejemplos de antiviricos adecuados incluyen Tamiflu® (oseltamivir) y Relenza® (zanamivir). Los ejemplos de antibióticos adecuados incluyen, no exclusivamente, aztreonam (arginina o lisina), fosfomicina y aminoglucósidos tales como tobramicina, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos. Los agentes antiinfecciosos adicionales que se pueden utilizar en la presente invención incluyen: aminoglucósidos, daptomicina, fluoroquinolonas, cetóolidos, carbapenemos, cefalosporinas, eritromicina, linezolid, penicilinas, azitromicina, clindamicina, oxazolidinonas, tetraciclinas y vancomicina.

Los ejemplos de antibióticos carbapenémicos útiles son: imipenemo, panipenemo, meropenemo, biapenemo, MK-826 (L-749, 345), DA 1131, RE 35786, lenapenemo, S 4661, CS 834 (profármaco de R-95867), KR-21056 (profármaco de KR-21012), L-084 (profármaco de LJC 11036) y ceftolozano (CXA-101).

Los antihistamínicos (es decir, antagonistas de los receptores H1) para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, no exclusivamente: etanolaminas tales como clorhidrato de difenhidramina, maleato de carbinoxamina, doxilamina, fumarato de clemastina, clorhidrato de difenilhidramina y dimenhidrinato; etilendiaminas tales como maleato de pirlamina (metpiramina), clorhidrato de tripelenamina, citrato de tripelenamina, y antazolina; alquilaminas tales como feniramina, clorfeniramina, bromofeniramina, dexclorfeniramina, triprolidina y acrivastina; piridinas tales como metapirileno, piperazinas, tales como clorhidrato de hidroxicina, pamoato de hidroxicina, clorhidrato de ciclicina, lactato de ciclicina, clorhidrato de meclicina y clorhidrato de cetiricina; piperidinas tales como astemisol, clorhidrato de levocabastina, loratadina, descarboetoxiloratadina, terfenadina, y clorhidrato de fexofenadina; tri- y tetracíclicas tales como prometazina, trimeprazina de clorprometazina y azatadina, y clorhidrato de azelastina, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

Los ejemplos de otras clases de agentes terapéuticos adecuados para su uso en las combinaciones y los procedimientos de la presente invención incluyen antiviricos tales como ribavirina, agentes antifúngicos tales como anfotericina, intraconazol y voriconazol, fármacos antirrechazo tales como ciclosporina, tacrolimus y sirolimus, broncodilatadores que incluyen, no exclusivamente, agentes anticolinérgicos tales como Atrovent, siRNA, vectores de terapia génica, aptámeros, antagonistas de los receptores de endotelina, alfa-1-antitripsina y prostacilinas.

En los procedimientos de tratamiento y usos descritos anteriormente, un compuesto de la invención puede emplearse solo, o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos. Generalmente, cualquier agente terapéuticamente activo que tiene un efecto terapéutico sobre la enfermedad o afección a tratar con el compuesto de la invención puede ser utilizado en combinación con los compuestos de la invención, siempre que el agente particular terapéuticamente activo sea compatible con la terapia que emplea un compuesto de la invención. Los agentes terapéuticamente activos típicos que son adecuados para su uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen los agentes descritos anteriormente.

En una forma de realización preferida, los compuestos de la invención se utilizan en combinación con uno o más osmolitos, particularmente solución salina hipertónica o manitol.

En otro aspecto, la invención proporciona procedimientos para el tratamiento y uso descritos anteriormente, que comprenden la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y por lo menos otro agente terapéuticamente activo. Los compuestos de la invención y por lo menos un agente terapéuticamente activo adicional se pueden emplear en combinación concomitante o secuencial en cualquier combinación terapéuticamente apropiada. La administración de un compuesto de la invención con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos puede producirse por administración concomitante en 1) una composición farmacéutica unitaria, tal como las composiciones descritas anteriormente, o 2) composiciones farmacéuticas distintas que incluyen, cada una, uno o más de los ingredientes activos de los componentes. Los componentes de la combinación se pueden administrar por separado de una manera secuencial en la que el compuesto de la invención se administra primero y el otro agente terapéuticamente activo se administra en segundo lugar o viceversa.

En las formas de realización en las que el compuesto de la invención se administra en combinación con uno o más osmolitos, la administración de cada componente es preferentemente concomitante, y puede estar en una composición unitaria o en distintas composiciones. En una forma de realización, el compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran de forma concomitante por lavado transbroncoscópico. En otra forma de realización, el compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran de forma concomitante por inhalación.

Cuando un compuesto de la invención se utiliza en combinación con otro agente terapéuticamente activo, la dosis de cada compuesto puede diferir de la dosis cuando el compuesto de la invención se utiliza solo. Las dosis apropiadas las podrán determinar fácilmente quienes tienen una experiencia ordinaria en la técnica. La dosis adecuada del compuesto de la invención, el/los otro(s) agente(s) terapéuticamente activo(s) y los tiempos relativos de administración serán seleccionados con el fin de alcanzar el efecto terapéutico combinado deseado, y están dentro de la capacidad y discreción del médico, profesional de la salud o veterinario interviniente.

65

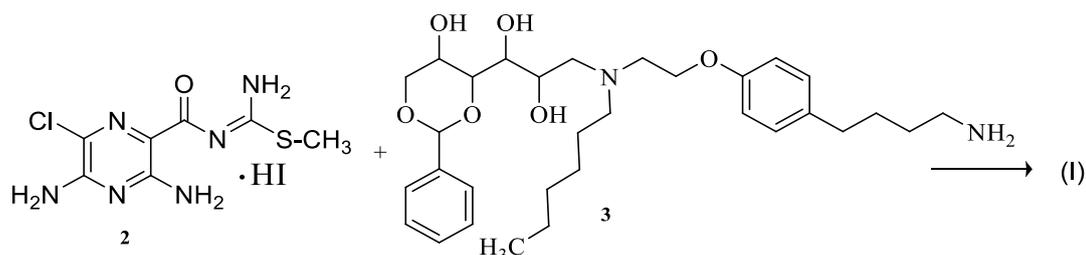
Procedimientos Experimentales

La presente invención también proporciona procedimientos para preparar los compuestos de la invención y los compuestos intermedios sintéticos útiles en dichos procesos, tal como se describe en detalle a continuación.

Se utilizan ciertas abreviaturas y acrónimos para describir los procesos de síntesis y los detalles experimentales. Aunque la mayor parte de los mismos serán comprendidos por el experto en la técnica, la tabla siguiente contiene una lista de varias de estas abreviaturas y acrónimos.

Abreviatura	Significado
AcOH	Ácido Acético
AIBN	Azobisisobutironitrilo
DIAD	Azidocarboxilato de diisopropilo
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DCE	Dicloroetano
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
Et	Etilo
EtOAc o EA	acetato de etilo
EtOH	Etanol
ESI	ionización por electroaspersión
HATU	Hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
iPrOH	Alcohol isopropílico
i.t. o IT	Intratraqueal
Me	Metilo
Me	Metanol
m/z o m/e	relación entre masa y carga
MH ⁺	masa más 1
MH ⁻	masa menos 1
MIC	concentración inhibidora mínima
MS o ms	espectro de masas
ta o t.a.	temperatura ambiente
R _f	Factor de retardo
t-Bu	terc-butilo
THF	Tetrahidrofurano
TLC o tlc	cromatografía de capa fina
δ	partes por millón campo abajo de tetrametilsilano
Cbz	Benciloxicarbonilo, es decir, -(CO)O-bencilo
AUC	Área bajo la curva o pico
MTBE	Éter butílico terciario de metilo
t _R	Tiempo de retención
GC-MS	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
% en peso	Por ciento en peso
h	Horas
min	Minutos
MHz	Megahercio
TFA	Ácido trifluoroacético
UV	Ultravioleta
Boc	terc-butiloxicarbonilo
DIAD	Azodicarboxilato de diisopropilo
AcOH	Ácido Acético
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina o base de Hünig
Ph ₃ P	Trifenilfosfina

Los compuestos de la Fórmula I se pueden sintetizar utilizando procedimientos conocidos en la técnica. En el Esquema 1, a continuación, se ilustra un procedimiento representativo de síntesis.

Esquema 1

Estos procedimientos se describen, por ejemplo, en E. J. Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and Its Analogs" (capítulo 3) en *Amiloride and Its Analogs*, páginas 25–36. Otros procesos para preparar análogos de amilorida se describen, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 3,318,813, de Cragoe, particularmente en los procedimientos A, B, C, y D de la patente '813. Incluso, otros procesos que pueden adaptarse para la preparación de los compuestos de la invención se describen en las publicaciones PCT n.º WO2003/07182, WO2005/108644, WO2005/022935, US 7.064.129, US 6.858.615, US 6.903.105, WO 2004/073629, WO 2007/146869, y WO 2007/018640, todas concedidas a Parion Sciences, Inc.

La preparación de N'-3,5-diamino-6-cloropirazino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (**2**) se puede observar en el documento WO 2009/074575.

Generalmente, los compuestos de la invención se pueden preparar convenientemente tratando un compuesto de la Fórmula 2 con una amina de la Fórmula 3. Más específicamente, los compuestos de la Fórmula 2 se tratan con la amina de la Fórmula 3 en un disolvente adecuado tal como metanol, etanol, o tetrahidrofurano, y una base tal como trietilamina (TEA), o diisopropiletilamina (DIPEA), con calentamiento hasta una temperatura elevada, por ejemplo, 70°C. Los posteriores procedimientos de purificación, resolución de estereoisómeros, cristalización y/o preparación de formas de sales pueden llevarse a cabo utilizando técnicas convencionales.

Como será evidente para los expertos en la técnica, en ciertas circunstancias, los compuestos de partida o intermedios en la síntesis pueden poseer otros grupos funcionales que proporcionan sitios reactivos alternativos. La interferencia con dichos grupos funcionales puede evitarse mediante la utilización de grupos protectores adecuados, tales como los grupos protectores amino o alcohol, y cuando corresponde, priorizando adecuadamente las etapas de síntesis. Los grupos protectores serán evidentes para los expertos en la técnica. Los procedimientos para introducir y eliminar dichos grupos protectores son muy conocidos en la técnica y dichas técnicas convencionales también pueden emplearse en los procedimientos de la presente invención.

A continuación, en la presente memoria se proporcionan ejemplos específicos con fines meramente ilustrativos y que no limitan el alcance de la invención, el cual está definido por las reivindicaciones.

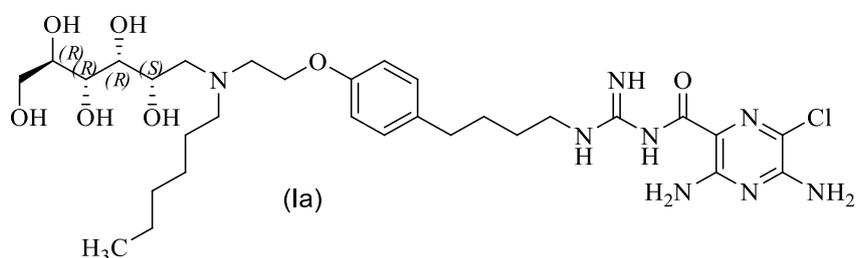
Material y procedimientos. Todos los reactivos y disolventes se adquirieron a Aldrich Chemical Corp. Chem-Impex International Inc. y TCI Chemical Industry Co. Ltd. Se obtuvieron espectros de RMN en un equipo Bruker AC 400 (¹H RMN a 400 MHz y ¹³C RMN a 100 MHz) o en un equipo Bruker AC 300 (¹H RMN a 300 MHz y ¹³C RMN a 75 MHz). Los espectros de protones están referidos a tetrametilsilano como estándar interno y los espectros de carbono están referidos a CDCl₃, CD₃OD, o DMSO-d₆ (adquiridos a Aldrich o Cambridge Isotope Laboratories, a menos que se especifique lo contrario). Se llevó a cabo cromatografía instantánea en un sistema Combiflash (Combiflash Rf, Teledyne Isco) cargado con columna de gel de sílice (Redi Sep. Rf, Teledyne Isco) o columna de fase reversa (Columna Gold de Alto Rendimiento C18). Se obtuvieron espectros de masa ESI en un espectrómetro de masas Shimadzu LCMS-2010 EV. Se obtuvieron análisis de HPLC utilizando una columna analítica C18 5µm 4.6x150mm de Waters XTerra MS, detectada a 220 nm (a menos que se especifique lo contrario) en un sistema de HPLC Shimadzu Prominence. Se utilizó el programa de tiempo siguiente con un caudal de 1,0 mL por minuto:

Tiempo (min)	Porcentaje A (H ₂ O con 0,05% TFA)	Porcentaje B (CH ₃ CN con 0,05% TFA)
2,50	90	10
20,00	10	90
30,00	10	90
32,50	90	10

Se obtuvieron análisis de UPLC utilizando una columna analítica Waters ACQUITY UPLC HSS T3 de 1,8µm 2,1x100mm, detectada a 220 nm (a menos que se especifique lo contrario) en un sistema de UPLC Shimadzu Prominence. Se utilizó el programa de tiempo siguiente con un caudal de 0,3 mL por minuto:

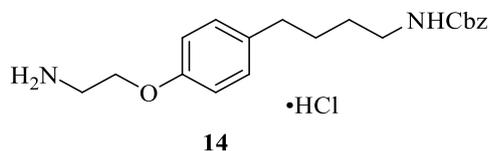
Tiempo (min)	Porcentaje A (H ₂ O con 0,05% NH ₄ COOH y 0,1% HCOOH)	Porcentaje B (CH ₃ CN/Agua 80:20% con 0,05% NH ₄ COOH y 0,1% HCOOH)
1,00	90	10
4,00	30	70
5,00	30	70
5,50	90	10
6,50	90	10

En la presente memoria también se proporciona (Esquema 2) un procedimiento para la preparación del compuesto (Ia), 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamidoyl)pirazino-2-carboxamida, según se definió anteriormente en la presente memoria,

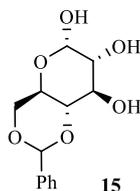


que comprende las etapas de:

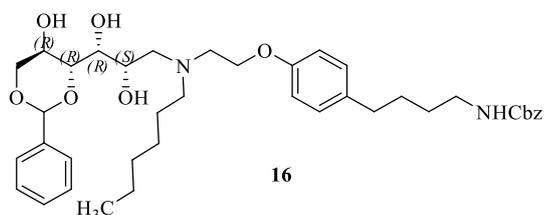
(i) tratamiento de un compuesto de la Fórmula 14:



con un azúcar protegido, (4aR,6S,7R,8R,8aS)-2-fenilhexahidropirano[3,2-d][1,3]dioxina-6,7,8-triol, de la fórmula 15:



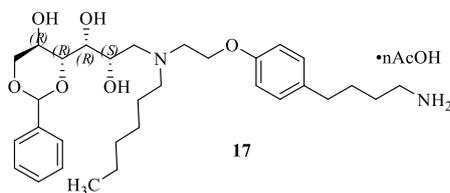
en presencia de un agente reductor, seguido por un tratamiento de hexanal para formar el compuesto 16, 4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenil-1,3-dioxan-4-il)propil)(hexil)amino)etoxi)fenil)butilcarbato de bencilo;



(ii) sometimiento del compuesto 16 a hidrogenación catalítica para formar el compuesto 17, (1R,2S)-3-((2-(4-

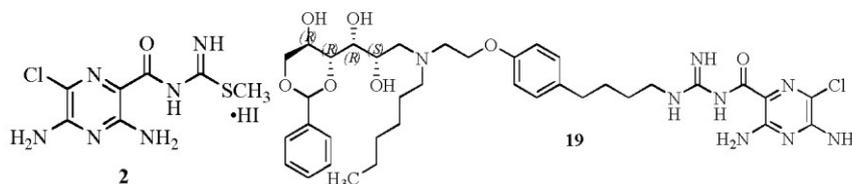
(4-aminobutil)fenoxi)etil)(hexil)amino)-1-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenil-1,3-dioxan-4-il)propano-1,2-diol; y

5



10 (iii) condensación del compuesto 17 con el compuesto 2,3,5-diamino-6-cloropirazino-2-carbonilcarbamidato de metilo, en presencia de una base para formar 19, 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenil-1,3-dioxan-4-il)propil)(hexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida; y

15



20

(iv) hidrolización del compuesto 19 en presencia de ácido para formar (Ia).

25 Un proceso alternativo comprende la sustitución del compuesto de la fórmula 16, anterior, por el compuesto 27, seguida por las etapas de hidrogenación, condensación e hidrólisis recién descritas para formar el compuesto (Ia).

En la presente memoria también se proporciona (Esquema 3) un procedimiento alternativo para la preparación del compuesto (Ia), 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahydroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, según se definió anteriormente en la presente memoria.

30

Esquema 2. Preparación de 3,5-Diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahydroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

35

40

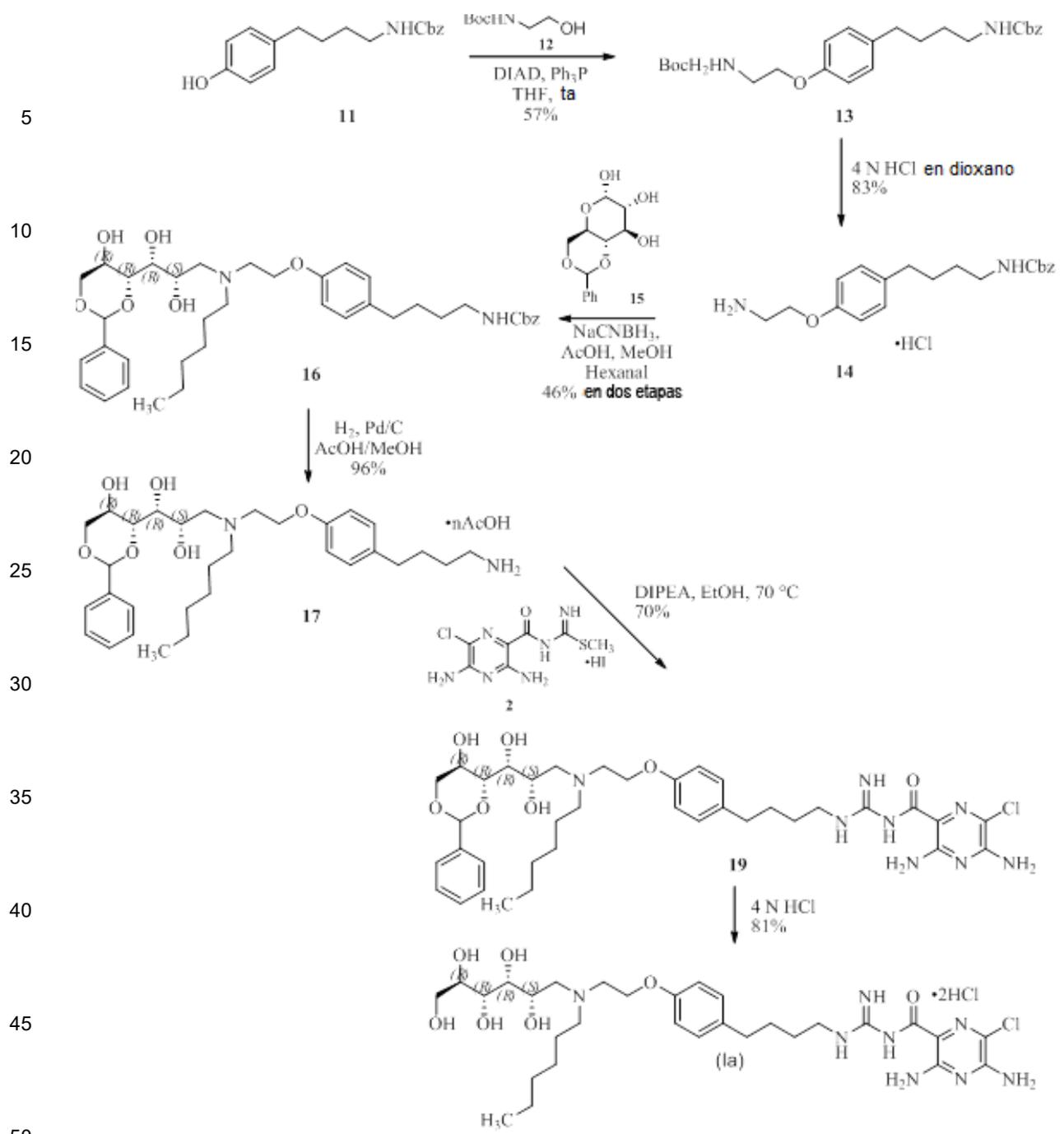
45

50

55

60

65

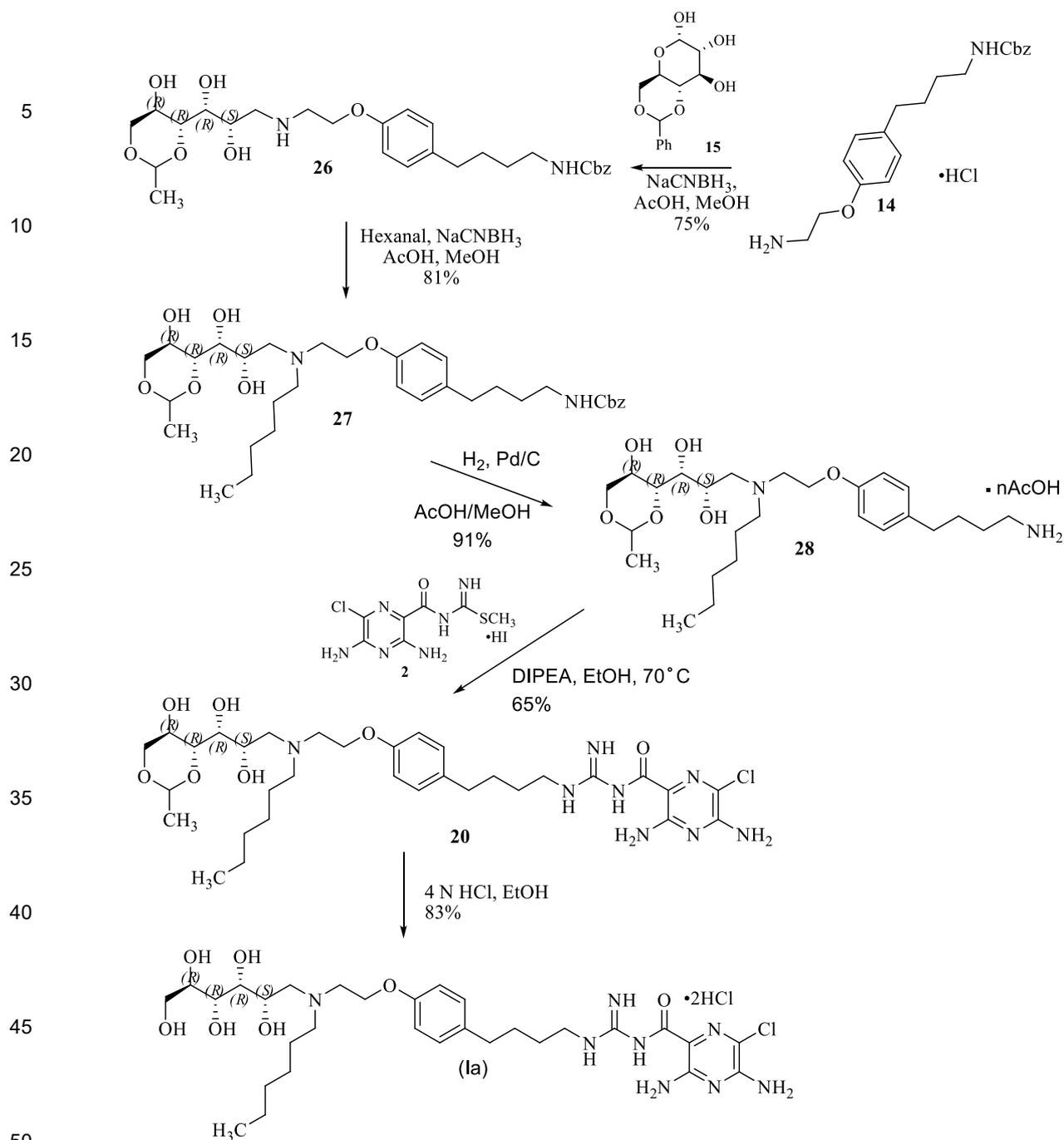


Esquema 3. Preparación alternativa de 3,5-Diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

55

60

65



Ejemplos

La divulgación también comprende un compuesto preparado por los procedimientos de la presente memoria, o una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto.

Síntesis de Ia. 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamidiloil)pirazino-2-carboxamida

Etapa 1

Preparación de 4-(4-(3-(terc-butiloxicarbonilamino)propoxi)fenil)butilcarbamato de bencilo (Compuesto 13):
A una solución 4-(4-hidroxifenil)butil carbamato de bencilo (**11**, 60,0 g, 300 mmol) en THF seco (600 mL) se agregó N-Boc etanolamina (**12**, 38,7 g, 300 mmol), Ph₃P (62,9 g, 300 mmol) y DIAD (48,6 g, 300 mmol) a 0°C, luego la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó hasta la mañana siguiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 15:85

EA/hexanos) para proporcionar el compuesto deseado **13** (50,0 g, 57%) en forma de un sólido de color amarillo: ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,35 (m, 5H), 7,10 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 6,80 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 5,10 (s, $J = 4,0$ Hz, 2H), 4,0 (m, 2H), 3,5 (q, 2H), 3,2 (q, 2H), 2,55 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,55 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

5 Etapa 2

Preparación de sal de ácido clorhídrico de 4-(4-(2-aminoetoxi)fenil)butilcarbamato de bencilo (14): El Compuesto **13** (50,0 g, 112 mmol) se disolvió en HCl 4N en dioxano (250 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 1 hora. Luego de concentrarse, el residuo se suspendió en MTBE (500 mL) y se agitó durante 0,5 h. El sólido se separó por filtración para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **14** (40,0 g, 83%) en forma de sólido de color blanco: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,33 (m, 5H), 7,10 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 6,88 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,18 (t, 2H), 3,39 (m, 2H), 3,14 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,56 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,57 (m, 4H).

15 Etapa 3

Preparación de 4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenil-1,3-dioxan-4-il)propil)(hexil)amino)etoxi)fenil)butilcarbamato de bencilo (16): Una solución de sal de ácido clorhídrico **14** (13,5 g, 39,35 mmol) y triol **15** (10,5 g, 39,35 mmol) en MeOH (150 mL) y AcOH (18,8 g, 314,8 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, se agregó cianoborohidruro de sodio (6,1 g, 98,37 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta la mañana siguiente. Se agregó una cantidad adicional de triol **15** (5,2 g, 19,67 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Luego de que el material de partida **14** se consumió completamente, se agregó hexanal (5,9 g, 59,03 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó al vacío. El residuo se lavó con Na_2CO_3 sat. (5,0 mL), se formó un azeótropo con MeOH y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para proporcionar el compuesto **16** (12,2 g, 46% en dos etapas) en forma de sólido de color blancuzco: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,45–7,44 (m, 3H), 7,31–7,29 (m, 9H), 7,05 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,79 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 5,50 (s, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,25–4,18 (m, 2H), 4,03–3,87 (m, 6H), 3,78–3,55 (m, 3H), 3,13–2,96 (m, 6H), 2,85–2,69 (m, 3H), 2,53 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,58–1,48 (m, 6H), 1,23 (s ancho, 6H), 0,86 (t, $J = 6,1$ Hz, 3H).

30 Etapa 4

Preparación de sal de ácido acético de (1R,2S)-3-((2-(4-(4-aminobutil)fenoxi)etil)(hexil)amino)-1-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenil-1,3-dioxan-4-il)propano-1,2-diol (17):

Una suspensión de carbamato **16** (12,2 g, 17,99 mmol) y Pd/C al 10% (3,66 g) en EtOH/AcOH (5:1, 120 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) hasta la mañana siguiente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar la sal acética **17** (9,40 g, 96%) en forma de aceite incoloro: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,48–7,44 (m, 2H), 7,32–7,30 (m, 3H), 7,11 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,84 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 5,51 (s, 1H), 4,26–4,10 (m, 3H), 3,95–3,91 (m, 2H), 3,78 (dd, $J = 1,8, 9,3$ Hz, 1H), 3,60 (t, $J = 10,4$, 1H), 3,23–3,03 (m, 2H), 2,96–2,87 (m, 3H), 2,61–2,59 (m, 2H), 1,67–1,57 (m, 6H), 1,31–1,25 (s ancho, 6H), 0,89 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H).

45 Etapa 5

Preparación de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenil-1,3-dioxan-4-il)propil)(hexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida (19)

A una solución de sal de ácido acético **7** (9,40 g, 17,27 mmol) y sal de ácido yodhídrico 3,5-diamino-6-cloropirazino-2-carbonilcarbamimidato de metilo (**18**, 7,20 g, 27,64 mmol) en EtOH (75 mL) se agregó DIPEA (17,8 g, 138,16 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para proporcionar carboxamida **19** (9,20 g, 70%) en forma de sólido de color amarillo: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,46–7,43 (m, 2H), 7,30–7,28 (m, 3H), 7,07 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,79 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 5,48 (s, 1H), 4,22 (dd, $J = 3,9, 7,8$ Hz, 1H), 4,06–3,88 (m, 5H), 3,75 (dd, $J = 1,5, 6,9$ Hz, 1H), 3,57 (t, $J = 10,5$ Hz, 1H), 3,25 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 2,93–2,83 (m, 3H), 2,68–2,56 (m, 5H), 1,70–1,64 (m, 4H), 1,44–1,43 (m, 2H), 1,22 (m, 6H), 0,85 (t, $J = 8,1$ Hz, 3H).

60 Etapa 6

Preparación de sal de ácido clorhídrico de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida (1a): A una solución de carboxamida **19** (9,20 g, 12,16 mmol) en EtOH (30 mL) se agregó HCl ac. 4N (95 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase reversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **1a** (6,60 g, 81%) en forma de sólido higroscópico de color amarillo: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,17 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,94 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,36 (s ancho, 2H), 4,21–4,19 (m, 1H), 3,84–3,61 (m, 7H), 3,46–3,30 (m, 5H), 2,64 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 1,80–1,69 (m, 6H), 1,36 (s ancho, 6H), 0,91 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H); ESI-MS m/z 669

[C₃₀H₄₉ClN₈O₇ + H]⁺; Anal., (C₃₀H₄₉ClN₈O₇•2HCl•H₂O). Calcinado C 47,40, H 7,03, N 14,74; Encontrado, C 47,11, H 7,06, N 14,54.

Síntesis Alternativa de I, 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

Etapa 1

Preparación de 4-(4-(3-((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-metil-1,3-dioxan-4-il)propilamino)propoxi)fenil)butilcarbamato de bencilo (26):

Una solución de sal de ácido clorhídrico **14** (155 mg, 0,41 mmol) y triol **15** (84 mg, 0,41 mmol) en MeOH (5,0 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h, luego se agregaron AcOH (0,036 mL, 0,6 mmol) y cianoborohidruro de sodio (43 mg, 0,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó al vacío. El residuo se lavó con Na₂CO₃ sat. (5,0 mL), se formó un azeótropo con MeOH y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 10:1:0.1) para proporcionar carbamato **26** (163 mg, 75%) en forma de sólido gomoso de color blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,34–7,30 (m, 5H), 7,08–7,05 (m, 2H), 6,85–6,82 (m, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,70–4,67 (m, 1H), 4,08–3,96 (m, 4H), 3,82–3,76 (m, 2H), 3,49–3,46 (m, 1H), 3,14–3,10 (m, 2H), 3,01–2,79 (m, 4H), 2,65–2,45 (m, 2H), 2,05–2,01 (m, 2H), 1,59–1,49 (m, 4H), 1,27 (d, J = 4,8 Hz, 3H).

Etapa 2

Preparación de 4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-metil-1,3-dioxan-4-il)propil)(hexil)amino)etoxi)fenil)butilcarbamato de bencilo (27):

Una solución de carbamato **26** (1,02 g, 1,90 mmol), hexanal (380 mg, 3,80 mmol), AcOH (0,33 mL, 5,70 mmol) y cianoborohidruro de sodio (410 mg, 5,70 mmol) en MeOH (30 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó al vacío. El residuo se lavó con Na₂CO₃ sat. (30 mL), se formó un azeótropo con MeOH y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar carbamato **27** (990 mg, 84%) en forma de sólido gomoso de color blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,35–7,31 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,80 (s ancho, 1H), 4,69–4,66 (m, 1H), 4,12 (dd, J = 9,3, 2,4 Hz, 1H), 4,05–3,98 (m, 3H), 3,84–3,76 (m, 2H), 3,54–3,48 (m, 1H), 3,38 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 3,20–2,96 (m, 4H), 2,83 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,73–2,64 (m, 2H), 2,56 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,63–1,50 (m, 6H), 1,32 (d, J = 5,1 Hz, 3H), 1,27–1,24 (m, 6H), 0,87 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

Etapa 3

Preparación de sal de ácido acético de (1R,2S)-3-((2-(4-(4-aminobutil)fenoxi)etil)(hexil)amino)-1-((4R,5R)-5-hidroxi-2-metil-1,3-dioxan-4-il)propano-1,2-diol (28):

Una suspensión de carbamato **27** (890 mg, 1,44 mmol) y Pd/C al 10% (400 mg) en MeOH/AcOH (5:1, 60 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 6 h 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 trituró a partir de éter para proporcionar la sal acética **28** (782 mg, 90%) en forma de sólido gomoso de color blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,86 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,69–4,67 (m, 1H), 4,00–3,85 (m, 1H), 3,84–3,76 (m, 2H), 3,53–3,51 (m, 1H), 3,38 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 2,98–2,59 (m, 10H), 1,96 (s, 13H), 1,67–1,47 (m, 6H), 1,40–1,27 (m, 6H), 1,26 (d, J = 5,1 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,3 Hz, 3H).

Etapa 4

Preparación de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-metil-1,3-dioxan-4-il)propil)(hexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida (20):

A una solución de sal de ácido acético **28** (189 mg, 0,313 mmol) y sal de ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (**18**, 192 mg, 0,502 mmol) en EtOH (8 mL) se agregó DIPEA (0,42 mL, 2,50 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70 °C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para proporcionar carboxamida **20** (142 mg, 65%) en forma de sólido de color amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,10 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 4,66 (q, J = 5,1 Hz, 1H), 4,06–4,01 (m, 3H), 3,94–3,89 (m, 1H), 3,82–3,74 (m, 2H), 3,49 (dd, J = 9,3, 2,4 Hz, 1H), 2,96–2,78 (m, 3H), 2,67–2,61 (m, 5H), 1,68–1,67 (m, 4H), 1,50–1,48 (m, 2H), 1,29 (s ancho, 6H), 1,25 (d, J = 5,1 Hz, 3H), 0,87 (t, J = 6,9 Hz, 3H).

Etapa 5

Preparación de sal de ácido clorhídrico de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida (Ia)

A una solución de carboxamida **20** (400 mg, 0,57 mmol) en EtOH (5 mL) se agregó HCl ac. 4N (15 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a 55 °C durante 24 h. Luego de concentrarse, el residuo se disolvió en HCl ac. 4N (15 mL) y se calentó a 65 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró, se trituró a

partir de EtOH/Et₂O, se purificó otra vez por TLC preparativa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico (**1a**) (354 mg, 83%) en forma de sólido higroscópico de color amarillo: ¹H RMN (300 MHz, D₂O) δ 7,18 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,87 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,30 (s ancho, 2 H), 4,19–4,16 (m, 1H), 3,76–3,55 (m, 7H), 3,39–3,24 (m, 6H), 3,57 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H), 1,65–1,64 (m, 6H), 1,30–1,19 (m, 6H), 0,78–0,75 (m, 3H); ESI-MS *m/z* 669 [C₃₀H₄₉ClN₈O₇ + H]⁺.

Preparación de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida (base libre de 1a)

La sal de ácido clorhídrico de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida (12,51 g) se disolvió en 150 mL H₂O y se trató, agitando, con NaOH (acuoso 0,1M, 435 mL) para proporcionar un precipitado gomoso. El líquido (pH ~11) se decantó a través de un filtro de embudo (la mayor parte del material se adhirió a los costados del matraz). El residuo se trató con H₂O (2 x 300 mL), agitando y decantando/filtrando en forma similar. El residuo restante se suspendió en CH₃CN/H₂O/MeOH, y se concentró para proporcionar un sólido de color amarillo-ámbar, 9,55 g. ESI-MS *m/z* 669 [C₃₀H₄₉ClN₈O₇ + H]⁺, 89% de pureza a 224 nm, 90% a 272 nm, 82% a 304 nm, 63% por traza de MS. El producto en bruto se calentó con isopropanol (100 – 150 mL) a 70°C durante 15 min, luego se filtró en caliente. Los sólidos se trataron en forma similar con isopropanol dos veces más, calentando durante 30 minutos cada vez y permitiendo que la mezcla se enfriara (2 horas – O/N) antes de la filtración. Los sólidos resultantes se secaron para proporcionar 7,365 g de un sólido amorfo de color amarillo-ámbar, p. f. 133,1 – 135,6°C (11,0 mmol de rendimiento como base libre). ¹H RMN (400 MHz, dmsO) δ 9,31 – 7,34 (m, 4H), 7,10 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,83 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,61 (s ancho, 3H), 4,76 – 4,09 (m, 5H), 3,98 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H), 3,71 – 3,62 (m, 2H), 3,59 (dd, *J* = 10,8, 3,4 Hz, 1H), 3,54 – 3,46 (m, 1H), 3,43 (dd, *J* = 7,9, 1,3 Hz, 1H), 3,38 (dd, *J* = 10,8, 5,9 Hz, 1H), 3,15 (s ancho, 2H), 2,92 – 2,76 (m, 2H), 2,66 (dd, *J* = 13,1, 5,2 Hz, 1H), 2,58 – 2,51 (m, 4H), 2,46 (dd, *J* = 13,1, 6,5 Hz, 1H), 1,66 – 1,45 (m, 4H), 1,46 – 1,31 (m, 2H), 1,31 – 1,09 (m, 6H), 0,90 – 0,76 (m, 3H), ¹³C RMN (101 MHz, dmsO) δ 173,27, 160,96, 156,48, 154,68, 151,14, 133,70, 129,05, 119,12, 117,53, 114,14, 72,23, 71,37, 70,60, 70,04, 65,74, 63,34, 57,39, 54,72, 52,86, 40,10, 33,72, 31,15, 28,37, 28,09, 26,38, 26,36, 22,02, 13,84. ESI-MS *m/z* 669 [C₃₀H₄₉ClN₈O₇ + H]⁺.

Preparación de la sal 1-hidroxi-2-naftoato de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

Una mezcla de 32,8 mg (0,049 mmol) de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, 164 µL de una solución 0,3 M de ácido 1-hidroxi-2-naftoico en metanol (0,049 mmol de ácido 1-hidroxi-2-naftoico) y aproximadamente 0,33 mL de metanol se calentó en una placa caliente a 85°C hasta que se disolvió todo el sólido. La solución se permitió enfriar hasta temperatura ambiente. La solución se colocó en un refrigerador (a aproximadamente 5°C) y se permitió reposar hasta la mañana siguiente, y la cristalización ocurrió en dicho período. El líquido se decantó y el sólido se secó en una corriente de aire seco para proporcionar 29,5 mg (62% de rendimiento) de la sal 1-hidroxi-2-naftoato de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida. ¹H RMN (500 MHz, DMSO) 8,2 (m, 1H), 7,7 (m, 2H), 7,4 (d, 1H), 7,3 (d, 1H), 7,1 (m, 2H), 6,95 (m, 1H), 6,85 (m, 2H), 4,6 – 4,2 (m, 2H), 4,0 (m, 2H), 3,8 – 3,6 (m, 2H), 3,6–3,2 (m, 6H), 2,9 – 2,5 (m, 6H), 1,6 (m, 4H), 1,4 (m, 2H), 1,2 (m, 6H), 0,83 (m, 3H) ppm.

Preparación de la sal 1-hidroxi-2-naftoato de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

Una mezcla de 105,3 mg (0,157 mmol) de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida, 525 µL de una solución 0,3 M de ácido 1-hidroxi-2-naftoico en metanol (0,158 mmol de ácido 1-hidroxi-2-naftoico) y aproximadamente 1 mL de metanol se calentó en una placa caliente a 85°C hasta que se disolvió todo el sólido. La solución se permitió enfriar hasta temperatura ambiente y se colocó en un refrigerador (a aproximadamente 5°C). Luego de aproximadamente 20 min se volvió turbia y se sembró. Luego de aproximadamente 2 horas, apareció un sólido. Se agregó una barra de agitación a la mezcla y se agitó en el refrigerador hasta la mañana siguiente, en cuyo período se volvió muy espesa. Se agregó otra cantidad adicional de 1,5 mL de metanol y la suspensión se agitó en el refrigerador hasta la mañana siguiente. La mezcla se centrifugó, el líquido se decantó y el sólido se secó en una corriente de aire seco para proporcionar 74 mg (55% de rendimiento) de la sal 1-hidroxi-2-naftoato de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida.

Farmacología del Compuesto (1a) 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida

Ensayo 1. Medición *in vitro* de la actividad bloqueante del canal de sodio y reversibilidad

Un ensayo utilizado para evaluar el mecanismo de acción y/o potencia de los compuestos de la presente invención implica la determinación de la inhibición del fármaco luminal de las corrientes de sodio epiteliales de las vías respiratorias, medidas bajo corriente de corto circuito (*I*_{sc}) utilizando monocapas epiteliales de las vías respiratorias montadas en cámaras de Ussing. Las células se obtuvieron de vías respiratorias humanas, caninas, ovinas o de roedores con escisión reciente. El presente ensayo se describe en detalle en Hirsh, A.J., Zhang, J., Zamurs, A., y col. "Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropirazine-2-carbonyl)-N'-4-[4-(2,3-

dihydroxypropoxy)phenyl]butyl-guanidine methanesulfonate (552-02), a novel epithelial sodium channel blocker with potential clinical efficacy for CF lung disease". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2008; 325(1): 77-88.

La inhibición del movimiento transcelular de sodio a través del ENaC se midió utilizando monocapas de células epiteliales bronquiales polarizadas montadas en una cámara modificada de Ussing. Se evaluaron en condiciones de fijación de voltaje los cultivos primarios de células epiteliales bronquiales humanas y caninas que se cultivaron utilizando una interfase de aire-líquido. La corriente de corto circuito (I_{sc}) se midió como un índice de transporte de sodio transepitelial para evaluar la potencia.

El **Compuesto (Ia)** 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil) carbamimidoil)pirazino-2-carboxamida resultó ser un inhibidor potente del transporte de sodio transcelular y se mostró aproximadamente 60 veces más activo que la amilorida en células epiteliales bronquiales caninas (CBE, según sus siglas en inglés), y aproximadamente 160 veces en células epiteliales bronquiales humanas (HBE) (Figura 1). En las CBE, el **Compuesto (Ia)** tuvo una IC_{50} de $13,2 \pm 8,0$ nM y en HBE el **Compuesto (Ia)** tuvo una IC_{50} de $2,4 \pm 1,8$ nM (Tabla 1).

Tabla 1. Inhibición de la corriente de cortocircuito por el compuesto (Ia) en células epiteliales bronquiales caninas y células epiteliales bronquiales humanas (IC_{50} nM)

Especie	Amilorida	Compuesto I (de Origen)
Canina	$781,5 \pm 331$ (40)	$13,2 \pm 8,0$ (7)*
Humana	389 ± 188 (22)	$2,4 \pm 1,2$ (4)*

Los valores representan la media \pm DE (desviación estándar) (n). * Indica la relevancia ($p < 0,05$) con respecto a la amilorida

Se utilizó la recuperación de la corriente de cortocircuito (I_{sc}) a partir del bloque máximo como una medición indirecta de la disociación del fármaco. El porcentaje de recuperación de I_{sc} luego del bloque completo, determinado luego de tres lavados de la superficie apical y calculado por la fórmula $(I_{sc} \text{ recuperado} / (I_{sc} \text{ pretratamiento}) \times 100$, fue considerablemente (22 veces) menos reversible que la amilorida en células epiteliales bronquiales caninas (CBE) y 9,5 veces menos en células epiteliales bronquiales humanas (HBE) (Tabla 2), lo que indica que el **Compuesto (Ia)** produce un bloque más largo y duradero en el ENaC.

Tabla 2. Reversibilidad del compuesto (Ia) en la corriente de cortocircuito en células epiteliales bronquiales caninas y en células epiteliales bronquiales humanas (% de recuperación)

Especie	Amilorida	Compuesto (Ia)
Canina	$90,1 \pm 27,6$ (39)	$4,1 \pm 11,6$ (7)*
Humana	$89,5 \pm 10,7$ (4)	$9,4 \pm 17$ (3)*

Los valores representan la media \pm DE (n). * Indica la relevancia ($p < 0,05$) con respecto a la amilorida

Ensayo 2. Estudios de depuración mucociliar (MCC) en ovejas

El modelo animal que se ha utilizado más frecuentemente para medir cambios en la depuración mucociliar (MCC) es el modelo ovino. El efecto de los compuestos para aumentar la depuración mucociliar (MCC) se puede medir utilizando un modelo *in vivo* descrito por Sabater y col., *Journal of Applied Physiology*, 1999, páginas 2191-2196, incorporado a la presente memoria a modo de referencia.

En estos estudios unas ovejas adultas fueron inmovilizadas e intubadas nasalmente con un tubo endotraqueal. Se administraron elementos de prueba aerosolizados a las ovejas durante 10-15 minutos. Luego se administró coloide de ^{99m}Tc -azufre radiomarcado (TSC, 3,1 mg/mL; que contenía aproximadamente 20 mCi) en un horario especificado durante cuatro u ocho horas luego del elemento de prueba. El aerosol radiomarcado se administró a través del tubo endotraqueal durante aproximadamente 5 minutos. Las ovejas luego fueron extubadas y se midieron los recuentos radioactivos totales en el pulmón cada 5 minutos durante un período de observación de 1 hora. La tasa de eliminación de material radiomarcado de los pulmones es representativa de la tasa de depuración mucociliar (MCC)

en el animal. La ventaja de este sistema es que simula muy bien el entorno del pulmón humano. El modelo también permite la recolección de información simultánea de PK/PD a través del muestreo de plasma y orina durante el período de prueba. También existen varias técnicas para medir las concentraciones del fármaco en la superficie de las vías respiratorias durante las mediciones de depuración mucociliar (MCC). Dichas técnicas incluyen la recolección de condensados de aliento exhalado o un procedimiento de papel de filtro para obtener ASL mediante broncoscopia.

El modelo ovino descrito anteriormente se utilizó para evaluar los efectos *in vivo* (eficacia/durabilidad) del **Compuesto (Ia)** administrado en aerosol sobre la depuración mucociliar (MCC). Se evaluaron los tratamientos consistentes en 4 mL del **Compuesto (Ia)**, Ejemplo Comparativo 1, Ejemplo Comparativo 4, vehículo (H₂O estéril destilada) o bien un agente de prueba en combinación con solución hipertónica (HS). Con el fin de determinar si se combina la MCC de la HS con el **Compuesto (Ia)**, se administró HS inmediatamente después de la administración del **Compuesto (Ia)**. Las soluciones de prueba se aerosolizaron utilizando un nebulizador Raindrop a un caudal de ocho litros por minuto y se conectaron a un sistema dosimétrico integrado por una válvula solenoide y una fuente de aire comprimido (20 psi). Se estima que la dosis de fármaco depositada en los pulmones ovinos luego de una administración de aerosol, utilizando un nebulizador Raindrop, es del 8–15 % de la dosis. Mediante el uso de un nebulizador Raindrop se administró TSC radiomarcado durante aproximadamente 3 minutos, a las 4 o a las 8 horas del tratamiento para evaluar la eficacia/durabilidad. Los recuentos de radiación se midieron en una región central en el pulmón derecho a intervalos de 5 min durante una hora con una cámara gamma. Se utilizaron tres procedimientos de análisis: 1) tasa inicial de eliminación (pendiente) durante los primeros 30 min utilizando una regresión lineal 2) área bajo la curva del % de depuración a lo largo del tiempo durante una hora, y 3) la depuración máxima obtenida en una hora.

El efecto del **Compuesto (Ia)** a 16 µg/kg, 0,16 µg/kg y 0,016 µg/kg se evaluó y se comparó con el vehículo (4 mL de H₂O estéril) en cuanto a la depuración mucociliar (MCC) en ovejas cuatro horas después de la administración de la dosis (Figura 2). Los análisis de los efectos se muestran en la Tabla 3. En todas las dosis evaluadas, el **Compuesto (Ia)** mejoró la depuración mucociliar (MCC) en comparación con el vehículo de control. Se consideró que la dosis de 16 µg/kg produjo un efecto máximo de depuración mucociliar (MCC).

Tabla 3. MCC en ovejas 4 h después de la dosis del compuesto (Ia) o del vehículo

Dosis del Compuesto I	Pendiente Inicial (4,0–4,5h)	Área bajo la Curva (AUC) (% CI – h)	Depuración Máxima
16 µg/kg	39,0+3,9* (4)	18,6+2,2*† (4)	33,8+3,7*† (4)
0,16 µg/kg	39,1 (2)	19 (2)	33,1 (2)
0,016 µg/kg	33,3+4,4* (4)	14,4+1,3* (4)	25,5+1,3* (4)
Vehículo (H ₂ O) 4 mL	17,2+6,8 (8)	7,3+1,5 (8)	12,2+2,9 (8)

Los datos aportados representan la media ±DE (n). Estudio con n=2 no incluido en el análisis estadístico. * Indica la relevancia (p<0,05) con respecto al vehículo. † Indica la relevancia (p<0,05) con respecto a la dosis de 0,016 µg/kg.

Con el fin de determinar si la solución hipertónica (HS) aumenta el efecto de depuración mucociliar (MCC) del **Compuesto (Ia)**, se administró una dosis de HS (6,25 mL de HS al 10%; 62,5 mg depositados, suponiendo una deposición del 10%) inmediatamente después de la dosis de 0,016 µg/kg del **Compuesto (Ia)** y se evaluó la depuración mucociliar (MCC) cuatro horas después de la administración combinada (Figura 12). La solución hipertónica (HS) aumentó el efecto de una dosis de 0,016 µg/kg del **Compuesto (Ia)** hasta un efecto máximo, como se observa con ambas dosis de 0,16 and 16 µg/kg del **Compuesto (Ia)** solo (Figura 2). Por consiguiente, puede lograrse un efecto máximo de depuración mucociliar (MCC) cuando se agrega solución hipertónica (HS) a una dosis (0,016 µg/kg) del **Compuesto (Ia)**, lo que produce una respuesta inferior a la máxima cuando se administra la dosis sin solución hipertónica (HS).

Tabla 4. MCC en ovejas 4 h después de la dosis del vehículo, Compuesto (Ia) y HS

Dosis	Pendiente Inicial (4,0–4,5h)	Área bajo la Curva (AUC) (% CI h)	Eliminación Máxima
Compuesto (Ia) (0,016 µg/kg; 4 mL + HS)	44,9 (2)	20,7 (2)	37,0 (2)
Compuesto (Ia) (0,016 µg/kg; 4 mL)	33,3±4,4 (4)	14,4±1,3 (4)	25,5±1,3 (4)
Vehículo H ₂ O (4 mL)	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±3 (8)

Los datos representan la media \pm DE (n). Estudio con n=2, no incluido en el análisis estadístico.

Con el fin de evaluar la durabilidad del **Compuesto (Ia)** y el efecto de la adición de HS al **Compuesto (Ia)**, se midió la MCC ocho horas después de la administración con vehículo (H₂O), HS al 7% sola, 0,16, 1,6 y 16 µg/kg del **Compuesto (Ia)** solo o una combinación de 0,16 µg/kg del **Compuesto (Ia)** y HS al 7% (4 ml de volumen total para cada tratamiento) (Figura 4). Luego de la administración con el vehículo, la MCC a las 4 y 8 horas fue la misma, lo que indica que la tasa de MCC en las ovejas en un período de 4–8 horas se encuentra en un estado estable (Figuras 12 y 13). Ocho horas después de la administración de 4 mL de HS al 7% no se observaron cambios en la MCC en comparación con el vehículo, lo que indica que el efecto de la solución hipertónica (HS) había desaparecido. Todos los grupos de tres dosis (0,16, 1,6, y 16 µg/kg) del **Compuesto (Ia)** aumentaron la depuración mucociliar (MCC) de un modo relacionado con la dosis en comparación con el vehículo y con la solución hipertónica (HS), lo que indica que el **Compuesto (Ia)** tiene una duración de acción más prolongada que la solución hipertónica (HS) sola (Figura 4). La dosis combinada de HS y **Compuesto (Ia)** aumentó el efecto de la dosis de 0,16 µg/kg del **Compuesto (Ia)** hasta obtener un efecto mayor que el observado para la dosis de 16 µg/kg, lo que indica un aumento de actividad de 100 veces cuando se agregó solución hipertónica (HS) al **Compuesto (Ia)** (Figura 4). La mejora en la actividad del **Compuesto (Ia)** causada por la HS, en un período en el cual la solución hipertónica (HS) no tiene actividad inherente, indica claramente la sinergia entre la HS y el **Compuesto (Ia)**.

Tabla 5. MCC en ovejas 8 h después de la dosis del vehículo, HS, Compuesto (Ia) o una combinación de HS y el Compuesto (Ia)

Dosis	Pendiente Inicial (8,0–8,5h)	Área bajo la Curva (AUC) (% CI h)	Eliminación Máxima
Vehículo – H ₂ O (4 mL)	17,8±5,7 (4)	7,8±1 (4)	14,2±0,7 (4)
HS al 7% (4 mL)	17,8 (2)	7,6 (2)	14,6 (2)
Compuesto (Ia) (0,16 µg/kg ; 4 mL)	24,0 (2)	10,7 (2)	19,7 (2)
Compuesto (Ia) (1,6 µg/kg; 4 mL)	24,4 (2)	11,1 (2)	21,2 (2)
Compuesto (Ia) (16 µg/kg; 4 mL)	28,0 (2)	13,9 (2)	26,7 (2)
Compuesto (Ia) (0,16 µg/kg +HS al 7%;4 mL)	30,9±2,5 (4)	15,3±2,2 (4)	27,5±1,6 (4)

Los datos representan la media \pm DE (n). Estudio con n=2, no incluido en el análisis estadístico

Ensayo 3. d. Eliminación del fármaco líquido de la superficie de las vías respiratorias (ASL) y metabolismo epitelial de las vías respiratorias de seres humanos

Se evaluaron en células epiteliales bronquiales humanas la desaparición del **Compuesto (Ia)** de la superficie apical y el metabolismo epitelial de las vías respiratorias (HBE) (Tabla 6). En estos experimentos, se agregaron 25 µL de una solución 25 µM del bloqueador de ENaC a la superficie apical de células HBE cultivadas en una interfase aire/líquido, y se midió la concentración del fármaco en el compartimiento apical y basolateral durante 2 h por UPLC. Luego de 2 h de incubación del **Compuesto (Ia)** en la superficie apical (37°C), no se detectaron metabolitos en los lados apical o basolateral y no se detectó el **Compuesto (Ia)** en el lado basolateral.

Tabla 9. Desaparición apical y metabolismo del Compuesto (1a) por HBE

Compuesto	% de masa de fármaco inicial en el lado apical (de origen y metabolito, 2h)	% de masa apical en forma de metabolitos (2h)	% de masa apical inicial en el lado basolateral (2h)	% en el lado basolateral en forma de metabolitos (2h)
Compuesto (1a)	80,7*±6,2%	ninguno	ninguno	ninguno

Ensayo 4. e. Hidratación de las vías respiratorias y bloqueo de los canales de sodio (modelo *in vitro*)

Parion Sciences ha desarrollado modelos experimentales para evaluar la hidratación de las vías respiratorias en cultivos de células (Hirsh, A.J., Sabater, J.R., Zamurs, A., y col. "Evaluation of second generation amiloride analogs as therapy for CF lung disease". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004; 311(3): 929–38. Hirsh, A.J., Zhang, J., Zamurs, A., y col. "Pharmacological properties of N-(3,5-diamine-6-chloropirazine-2-carbonil)-N'-4-[4-(2,3-dihydroxy propoxy)phenyl]butyl-guanidine methanesulfonate (552-02), a novel epithelial sodium channel blocker with potential clinical efficacy for CF lung disease". *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2008; 325(1): 77–88).

Se colocaron células epiteliales bronquiales caninas (CBE) primarias en placas sobre membranas porosas recubiertas con colágeno mantenidas en una interfase aire-líquido para evaluar el mantenimiento del volumen líquido de la superficie a través del tiempo. Al comienzo del experimento, cada inserto *snapwell* de 12 mm se retiró de la placa que contenía un medio de cultivo de interfase aire-líquido, se secó con papel de filtro, se pesó y se aplicaron 50 µL de vehículo (DMSO al 0,1%), o bloqueador del ENaC (10 µM en DMSO 0,1%) a la superficie apical y se registró la masa. Los insertos se devolvieron inmediatamente a una placa *transwell* (500 µL, Krebs-Ringer bicarbonato (KRB), pH 7,4 en la cámara inferior) y se colocaron en una incubadora a 37°C, CO₂ al 5%. Con el fin de reducir artefactos debido a un gradiente osmótico de carbohidratos en la superficie apical sobre pérdida de agua, no se incluyó glucosa en la solución tamponada apical. El Compuesto (1a) se evaluó y comparó con el vehículo, y la masa de fármaco líquido de la superficie de las vías respiratorias (ASL) se monitoreó en series de 0–8 o 24 h. La masa de líquido superficial se pasó a volumen en µL. Los datos representan el % del volumen inicial (100% = 50 µL). La duración de la inhibición del transporte de sodio se determinó indirectamente midiendo la solución tamponada retenida luego de haber agregado un volumen de 50 µl de solución tamponada experimental a la superficie apical de células epiteliales bronquiales caninas (CBE). Sólo el 12,5±12,1% del vehículo (solución tamponada) permaneció en la superficie luego de 8 horas y se observó un pequeño aumento en la retención de líquido en la superficie con 10 µM de amilorida en el vehículo (25±19,2% luego de 8 horas). En comparación, el **Compuesto (1a)** aumentó considerablemente la retención de líquido en la superficie apical, manteniendo 88,3±13% del líquido superficial durante 8 horas (Figura 5).

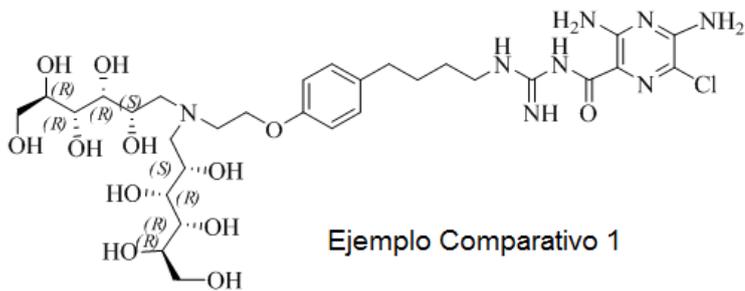
Para evaluar de manera más completa el **Compuesto (1a)**, la duración de la incubación se aumentó de ocho a 24 horas. La amilorida no se evaluó durante 24 horas ya que la mayor parte del efecto desapareció luego de ocho horas. Luego de 24 horas, sólo permaneció 11% de la solución tamponada del vehículo, por cuanto el **Compuesto (1a)** mantuvo el 72,3±7,3% del líquido superficial durante 24 horas, una pérdida de sólo el 16% relativa la medición de 8 horas, lo que indica que el **Compuesto (1a)** presenta un efecto duradero sobre la retención de líquido (Figura 6).

Ejemplos Comparativos

El presente compuesto de la fórmula (I) es más potente y/o se absorbe menos rápidamente de las superficies de las mucosas, especialmente las superficies de las vías respiratorias, en comparación con los bloqueadores de los canales de sodio conocidos, tales como los Ejemplos Comparativos 1 a 5, que se describen a continuación. Por consiguiente, el compuesto de la fórmula (I) tiene una vida media más prolongada en las superficies de las mucosas en comparación con estos compuestos.

Los Ejemplos Comparativos 1 a 4 se reivindican, describen o están incluidos en las divulgaciones de los documentos WO 2003/070182 (patentes de EE. UU. n.º 6.858.615; 7.186.833; 7.189.719; 7.192.960; y 7.332.496), WO 2005/044180 (solicitud de patente de EE. UU. n.º 2005/0080093 y patente de EE. UU. n.º 7.745.442), WO 2004/073629 (patentes de EE. UU. n.º 6.903.105; 6.995.160; 7.026.325; 7.030.117; 7.345.044; 7.820.678; y 7.875.619), WO 2005/016879 (patente de EE. UU. n.º 7.064.129; 7.247.637; 7.317.013; 7.368.447; 7.368.451; 7.375.107; 7.388.013; 7.410.968; y 7.868.010), o WO 2008/031028 (publicaciones de solicitudes de patente de EE. UU. n.º 2008/0090841 y 2009/0082287) como bloqueadores de los canales de sodio que tienen propiedades medicinales útiles y que pueden prepararse por los procedimientos descritos en dichos documentos y por otros procedimientos conocidos en la técnica.

5



Ejemplo Comparativo 1

10

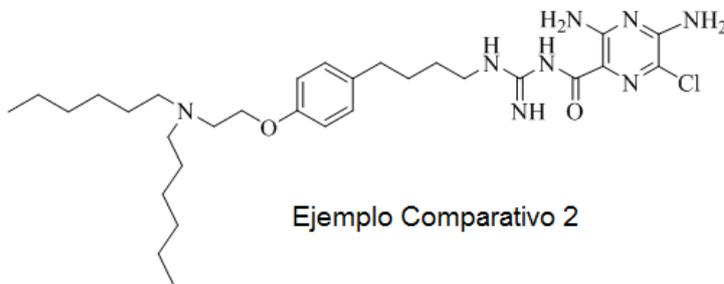
15

El compuesto del Ejemplo Comparativo 1 está incluido en los compuestos bloqueadores de los canales de sodio del documento WO 2008/031028, en el que se puede observar su estructura en la página 14.

20

El Ejemplo Comparativo 2 es 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(dihexilamino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoyl)pirazino-2-carboxamida, la cual está incluida dentro de la divulgación genérica del documento WO 2004/073629.

25



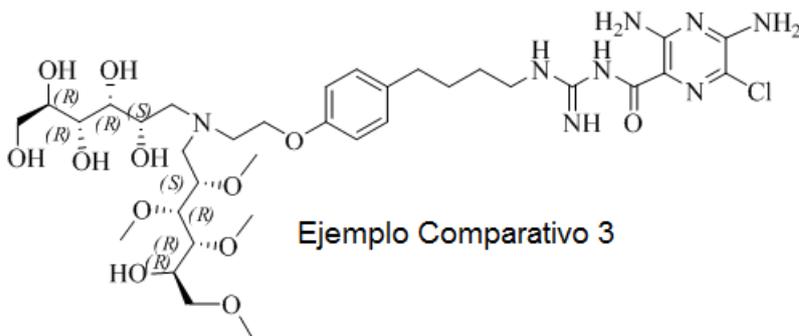
Ejemplo Comparativo 2

30

35

El Ejemplo Comparativo 3 es 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R,4R,5R)-5-hidroxi-2,3,4,6-tetrametoxihexil)((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoyl)pirazino-2-carboxamida, la cual está incluida dentro de la divulgación genérica del documento WO 2008/031028.

40



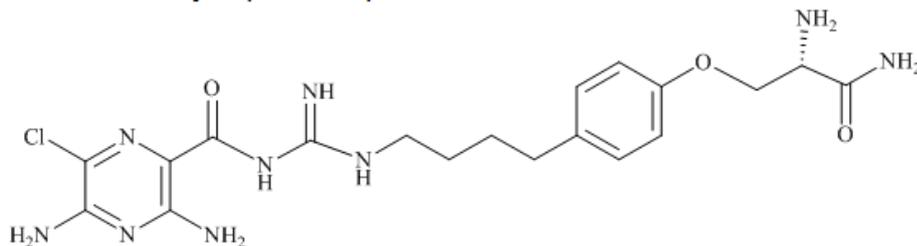
Ejemplo Comparativo 3

45

50

Ejemplo Comparativo 4

55



60

65

(S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2,3-diamino-3-oxopropoxi)fenil)butil)carbamimidoyl)pirazino-2-

carboxamida

El compuesto del Ejemplo Comparativo 4 se puede observar en la página 15 del documento de EE. UU. N° 2005/0080093 y como el Compuesto 2 en la página 90 del documento WO 2008/031048, y como el Compuesto 2 en las páginas 42–43 del documento WO 2008/031028. Con el fin de lograr una actividad útil en el tratamiento de la fibrosis quística y en la EPOC, un compuesto debe tener propiedades que causen una mejora en la depuración mucociliar (MCC), a dosis que no elevan el potasio en el plasma, lo que acabaría causando hiperpotasemia, una afección grave y peligrosa, por dosis múltiples. Por lo tanto, debe evitarse en esta clase de compuestos, que se sabe que elevan el potasio en el plasma, si son excretados considerablemente por el riñón. Con el fin de evaluar este potencial, resulta ventajoso tener una actividad de depuración mucociliar (MCC) *in vivo* que no cause una elevación de potasio en el plasma a la dosis útil. Un modelo para evaluarlo es el modelo de depuración mucociliar (MCC) ovino que se describe a continuación. Según puede observarse a continuación en la Tabla 7, la ED₅₀ (dosis eficaz) (área bajo la curva (AUC)=47%) para el Ejemplo Comparativo 1 en el modelo de depuración mucociliar (MCC) ovina es de aproximadamente 3000 µM.

Tabla 7. Cambio con respecto al vehículo en el efecto de depuración mucociliar (MCC) a las 8 horas en ovejas utilizando 3 mediciones diferentes

Tabla 1.	Pendiente (8–8,5h)	AUC (%CI*h)	Eliminación máxima (%)	ED ₅₀ aproximada
300 µM (Ia)	10,2 (100%)	6,2 (100%)	12,8 (100%)	
30 µM (Ia)	6,6 (65%)	3,3 (53%)	7,0 (55%)	2,4 nmol/kg
3000 µM (Comp. Ej. 1)	6,1 (60%)	2,9 (47%)	4 (31%)	240 nmol/kg
Efecto máximo	10,2 (100%)	6,2 (100%)	12,8 (100%)	

Según puede observarse en la Tabla 7 y en la Figura 7, la ED₅₀ (dosis eficaz) para el Ejemplo Comparativo 1 en el modelo de depuración mucociliar (MCC) ovino es de aproximadamente 240 nmol/kg (3 mM) utilizando tres medidas diferentes (pendiente, AUC y eliminación máxima). A esta dosis, la cual sería una dosis clínicamente activa, el Ejemplo Comparativo 1 causa una elevación en el nivel de potasio en el plasma, lo cual produciría hiperpotasemia con la repetición de la dosis (Figura 8). Por lo tanto, el Ejemplo Comparativo 1 es inaceptable para uso humano mientras que el **Compuesto (Ia)** produce una depuración mucociliar segura y eficaz con una relación de riesgo–beneficio mayor a 1000 en este modelo.

Se examinaron compuestos más lipófilos con el fin de disminuir el efecto renal potencial de la molécula. El Ejemplo Comparativo 2 que reemplaza los dos grupos hidrófilos del Ejemplo Comparativo 1 con dos cadenas lipófilas de igual longitud da como resultado el compuesto del Ejemplo Comparativo 2, el cual es un orden de magnitud menos potente que el Ejemplo Comparativo 1 *in vitro* (Tabla 8) y, por lo tanto, resulta inadecuado para producir una depuración mucociliar (MCC) continua *in vivo*. El Ejemplo Comparativo 3, en el cual se retuvo todo el oxígeno del Ejemplo Comparativo 1 y se agregaron 5 de los grupos metilo del hidroxilo a 5 de los del hidroxilo mostró una disminución similar en la actividad *in vitro*. Por lo tanto, no resultó posible producir una molécula activa y segura desde el punto de vista renal a partir de este marco estructural. Por consiguiente, el descubrimiento de que el **Compuesto (Ia)** retuviera *in vitro* una actividad igual al Ejemplo Comparativo 1 fue inesperado. Aún más sorprendente e inesperado fue el hecho de que el **Compuesto (Ia)** fuera 100 veces más potente *in vivo* que el Ejemplo Comparativo 1 y que no causara una elevación en el nivel de potasio en el plasma a dosis eficaces de MCC.

Tabla 8. Medición *in vitro* de la actividad bloqueadora de los canales de sodio

Compuesto	IC ₅₀ (nM)
Ia	13,2
Ejemplo Comparativo 1	11,8
Ejemplo Comparativo 2	124,5
Ejemplo Comparativo 3	144,1
Ejemplo Comparativo 4	6,6

Otro compuesto que se ha estudiado exhaustivamente es el compuesto del Ejemplo Comparativo 4, (S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2,3-diamino-3-oxopropoxi)fenil)butil)carbamidol)pirazino-2-carboxamida.

La desaparición del **Compuesto (Ia)** de la superficie apical y el metabolismo epitelial de las vías respiratorias se evaluaron en células epiteliales bronquiales humanas (HBE) y se compararon con el Ejemplo Comparativo 4 (Tabla 9). En estos experimentos, se agregaron 25 µL de una solución 25 µM de bloqueador del ENaC a la superficie

apical de las células HBE cultivadas en una interfase aire/líquido, y la concentración del fármaco en el compartimiento apical y basolateral se midió durante 2 h por UPLC. Luego de 2 h de incubación del Compuesto (1a) en la superficie apical (37°C), no se detectaron metabolitos en el lado apical o basolateral y no se detectó el Compuesto (1a) en el lado basolateral. En comparación, la mayor parte del Ejemplo Comparativo 4 se eliminó del lado apical con un 83% metabolizado hasta obtener el ácido carboxílico menos activo, ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazino-2-carbonil)guanidino)butil)fenoxi)propanoico, cuya estructura se muestra a continuación.

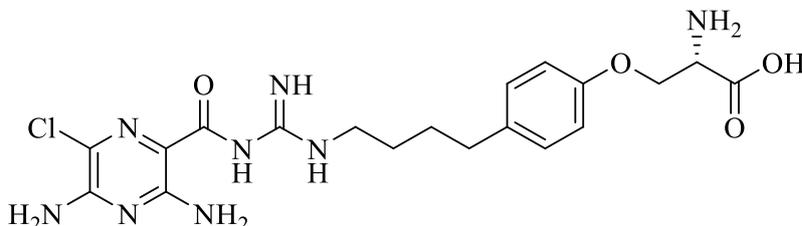


Tabla 9. Desaparición Apical y Metabolismo del Compuesto (1a) por HBE

Compuesto	% de masa de fármaco inicial en el lado apical (de origen y metabolito, 2h)	% de masa apical en forma de metabolitos (2h)	% de masa apical inicial en el lado basolateral (2h)	% en el lado basolateral en forma de metabolitos (2h)
Compuesto (1a)	80,7*±6,2%	ninguno	ninguno	Ninguno
Ejemplo Comparativo 4	41,6±7,6%	83,0±3,5%	8,3±0,2	94,7 ± 1,0%

Los valores representan la media ± DE. * Indica que es considerablemente diferente (p<0,05) del Ejemplo Comparativo 4.

El **Compuesto (1a)** es 10.000 veces más potente en la depuración mucociliar (MCC) ovina que el Ejemplo Comparativo 4 sin elevación del nivel de K en el plasma, por cuanto el Ejemplo Comparativo 4 tiene elevaciones del nivel de K en plasma a la ED50 (dosis eficaz) aproximada de 3mM (Figuras 9 y 10). Esto demuestra nuevamente las características únicas e inesperadas de potencia y la ventaja en materia de seguridad del compuesto 1a.

Tabla 10. MCC en ovejas 4h después de la dosis de vehículo, Ejemplo Comparativo 4 o Compuesto (1a)

Dosis	Pendiente inicial (4,0-4,5h)	Área bajo la curva (AUC) (% CI x h)	Eliminación máxima
Ejemplo Comparativo 4 (112 µg/kg; 4 mL)	32,2±7,3* (6)	14,1±2,2* (6)	22,9±2,1* (6)
Ejemplo Comparativo 4 (11,2 µg/kg; 4 mL)	14,5±1,3 (3)	6,9±1,0 (3)	14,6±0,9 (3)
Compuesto (1a) (0,016 µg/kg; 4 mL)	33,3±4,4* (4)	14,4±1,3* (4)	25,5±1,3* (4)
Vehículo H ₂ O (4 mL)	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Ahora se ha demostrado que la seguridad renal mejorada del **Compuesto (1a)** puede explicarse por la marcada reducción en la eliminación del fármaco por el riñón. Si el compuesto puede mantenerse alejado de los canales de sodio del riñón, la hiperpotasemia debería reducirse considerablemente. Luego de la administración intravenosa a ovejas, se recuperó el 43% del Ejemplo Comparativo 1 en la orina, por cuanto sólo se recuperó el 5% del compuesto 1 en la orina. Aún más espectacular es la sorprendente reducción en la recuperación urinaria del fármaco cuando se administró en forma de aerosol, directamente al pulmón. Cuando el Ejemplo Comparativo 4 se administra a ovejas como un aerosol para inhalación, se recupera el 7% de la dosis en la orina, por cuanto sólo el 0,07% de una dosis aerosolizada del Compuesto (1a) se recupera en la orina. La reducción en el transporte del compuesto a la orina (10-100 veces), combinada con la reducción significativa de la dosis descrita anteriormente produjo una diferencia

inesperada de 100.000 a 1.000.000 de veces en la relación de riesgo–beneficio.

5

Tabla 11. Excreción urinaria del Compuesto (Ia) y Ejemplo Comparativo 4 en ovejas.

10

15

20

25

Ensayo	Ej. Comp. 4	Compuesto (Ia)
Log D	0,64	2,2
IC50	6,6±3,7 nM	13±8 nM
Metabolismo en plasma humano	t _{1/2} = 37 min	Ninguno
Unión a proteína en el plasma humano	76±2%	97±2%
Excreción urinaria de la dosis administrada (ovejas)	7%	0,07%

30

La Figura 9 representa el porcentaje de eliminación de moco a través del tiempo por parte del Compuesto (Ia), sal de ácido clorhídrico de 3,5–diamino–6–cloro–N–(N–(4–(4–(2–(hexil((2S,3R,4R,5R)–2,3,4,5,6–pentahidroxihexil)amino)etoxi)fenil)butil)carbamimidoyl)pirazino–2–carboxamida, y el Ejemplo Comparativo 4, descrito en el modelo de MCC anterior. El **Compuesto (Ia)** proporcionó un porcentaje similar de depuración de moco a una dosis 7.000 veces inferior que la observada con el Ejemplo Comparativo 4. El **Compuesto (Ia)** proporcionó un efecto máximo en un intervalo de dosis clínicamente relevante.

35

La Figura 10 ilustra el aumento significativo en los niveles de potasio en plasma a una dosis eficaz observada en la orina de ovejas que recibieron el Ejemplo Comparativo 4 en el anterior estudio de depuración mucociliar (MCC) a través del tiempo. No se observaron efectos sobre los niveles de potasio en plasma en ninguna dosis evaluada en ovejas que recibieron el Compuesto (Ia).

40

45

50

55

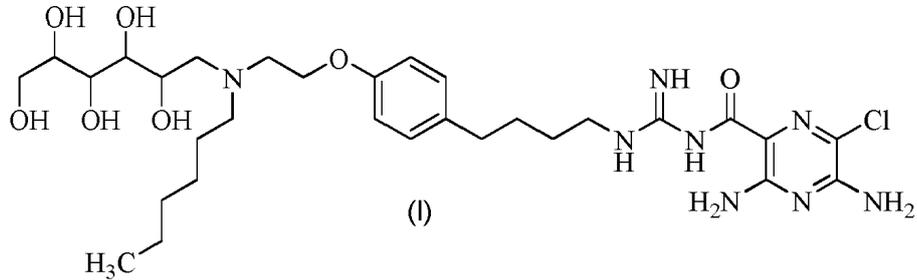
60

65

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I):

5



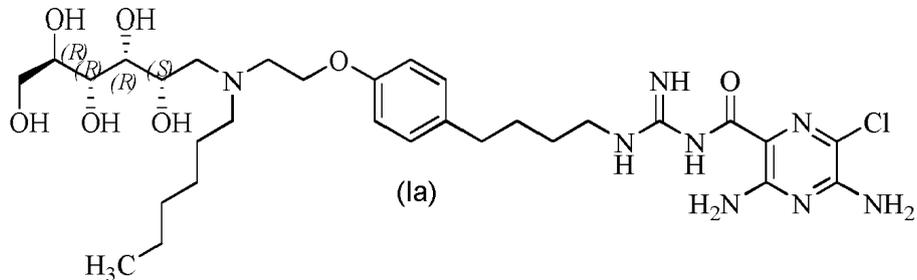
10

15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un osmolito.

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde el compuesto de Fórmula (I) es de Fórmula (Ia):

20



25

30

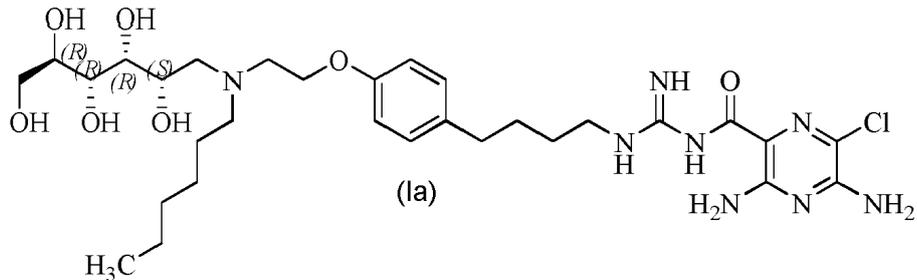
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 o 2, en donde el osmolito es solución salina hipertónica.

35

4. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 que comprende un compuesto de Fórmula (Ia):

40



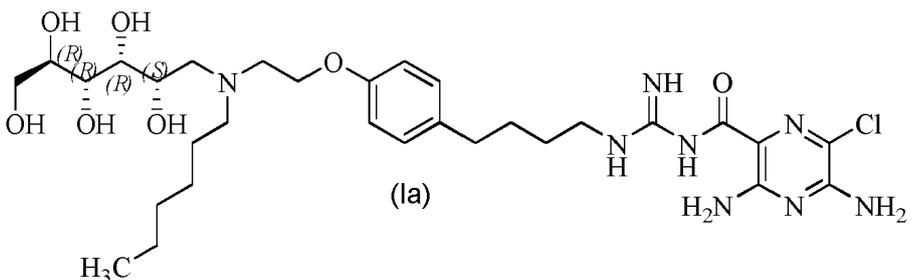
45

50

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y solución salina hipertónica.

5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, que comprende un compuesto de Fórmula (Ia):

55



60

65

y solución salina hipertónica.

6. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, 4 o 5, en donde la solución salina hipertónica tiene una concentración del 4% -5% p/v.
- 5 7. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, 4 o 5, en donde la solución salina hipertónica tiene una concentración de aproximadamente el 4%.
8. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende además un modulador de CFTR.
- 10 9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en donde el modulador de CFTR es N- [2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida.
- 15 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en donde el modulador de CFTR es ácido (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico.
11. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en donde el modulador de CFTR es N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida y ácido (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico.
- 20 12. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde la composición es adecuada para inhalación.
13. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde la composición es una solución para aerosolización y administración mediante nebulizador.
- 25 14. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde la composición es una solución para administración mediante inhalador de dosis medida.
15. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la composición es un polvo seco adecuado para la administración mediante inhalador de polvo seco.
- 30 16. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para su uso en un método para promover la hidratación de las superficies mucosales y/o mejorar la depuración mucociliar en un ser humano.
- 35 17. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para su uso como medicamento.
18. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para su uso en un método para tratar la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, bronquiectasia, bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos post-vírica, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplantes, o traqueobronquitis asociada a ventilador o para prevenir la neumonía asociada a ventilador en un humano que lo necesite.
- 40 19. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para su uso en un método para tratar la boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, ojo seco, enfermedad de Sjogren, promover la hidratación ocular o corneal, tratar el síndrome de obstrucción intestinal distal, otitis media, discinesia ciliar primaria, esofagitis, estreñimiento, o diverticulitis crónica en un humano que lo necesite.
- 45 20. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el uso es el tratamiento de la fibrosis quística.
21. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el uso es el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).
- 50 22. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el uso es el tratamiento de la discinesia ciliar primaria.
- 55 23. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 19, en donde el uso es el tratamiento de bronquiectasias.
- 60 24. La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16, o 18-23, en donde el método comprende administrar una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, y un modulador de CFTR.
- 65

- 5 **25.** La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el modulador de CFTR es N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxamida.
- 26.** La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el modulador de CFTR es ácido (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridina-2-il)benzoico.
- 10 **27.** La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el modulador de CFTR es N-[2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxamida y ácido (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico.
- 28.** La composición farmacéutica para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24-27, en donde la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-15 y el modulador de CFTR se administran concomitantemente o secuencialmente en cualquier combinación terapéuticamente apropiada.
- 15 **29.** Un kit que comprende la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-15; un dispositivo de aerosolización seleccionado de un nebulizador, un inhalador de polvo seco, y un inhalador de dosis medida; instrucciones para administrar la composición farmacéutica; y un recipiente.
- 20 **30.** El kit de la reivindicación 29, que comprende además una composición farmacéutica que comprende N- [2,4-bis(1,1-dimetiletil)-5-hidroxifenil]-1,4-dihidro-4-oxoquinolina-3-carboxamida, ácido (3-(6-(1-(2,2-difluorobenzo[d][1,3]dioxol-5-il)ciclopropanocarboxamido)-3-metilpiridin-2-il)benzoico, o una combinación de ambos.
- 31.** El kit de la reivindicación 30, en donde las composiciones farmacéuticas están en recipientes separados.
- 25 **32.** El kit de la reivindicación 31, en donde el recipiente es una botella, vial, blister o una combinación de los mismos, con por lo menos un contenedor adecuado para su uso en un dispositivo de aerosolización.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

Gráfico Representativo de la Relación entre Concentración-Efecto del Compuesto (Ia) en la Corriente de Corto Circuito por Células Epiteliales Bronquiales Caninas

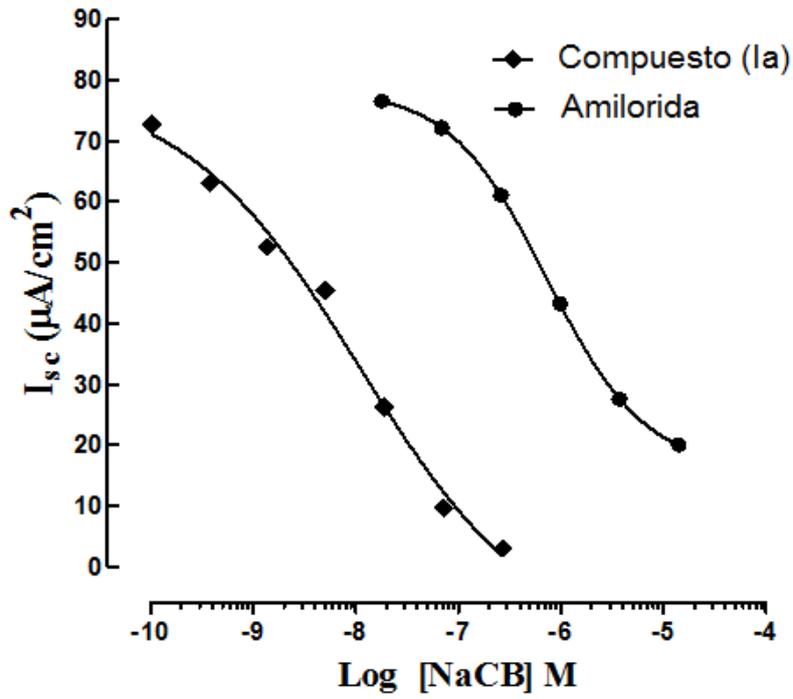


FIG. 1

Dosis-Respuesta del Compuesto (Ia) en la Depuración Mucociliar (MCC) de Ovejas 4 h después de la Dosis

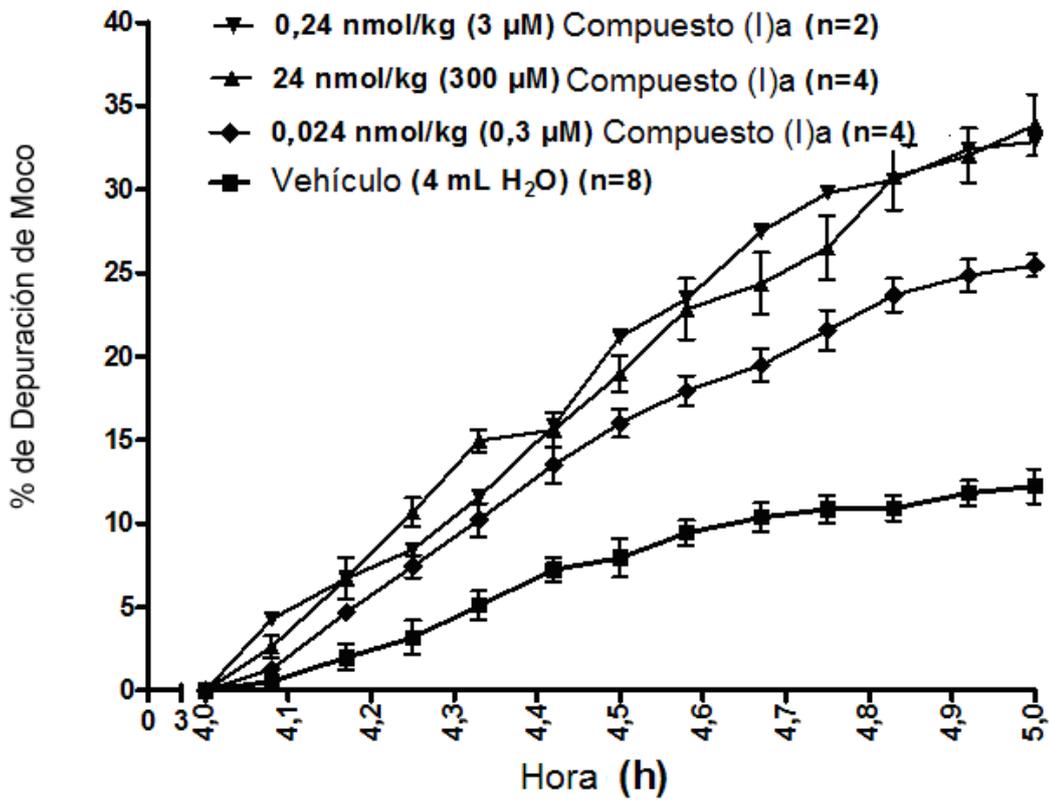


FIG. 2

Efecto del Compuesto (Ia) y de la Solución Hipertónica (HS) sobre la Depuración Mucociliar (MCC) de Ovejas 4 h Después de la Dosis

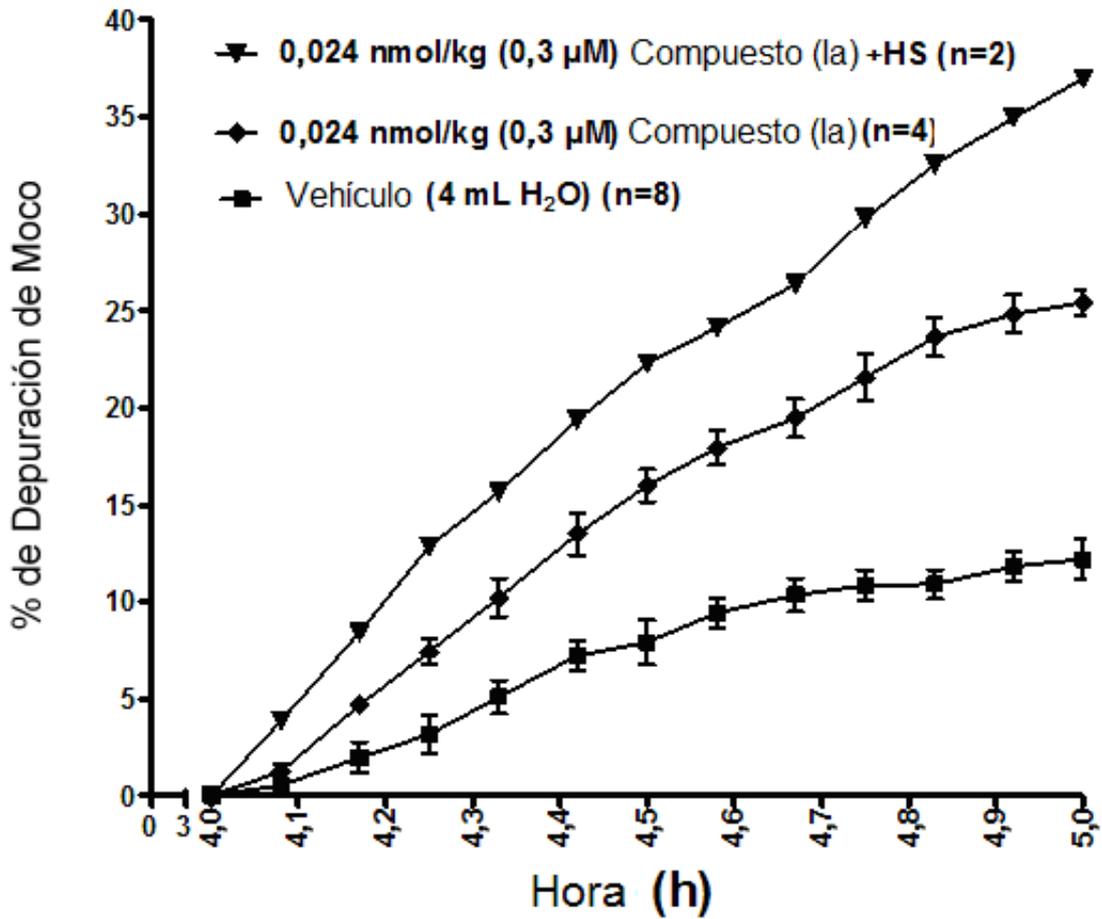


FIG. 3

Efecto del Compuesto (Ia) y la solución hipertónica (HS) sobre la Depuración Mucociliar (MCC) de Ovejas 8 h después de la Dosis

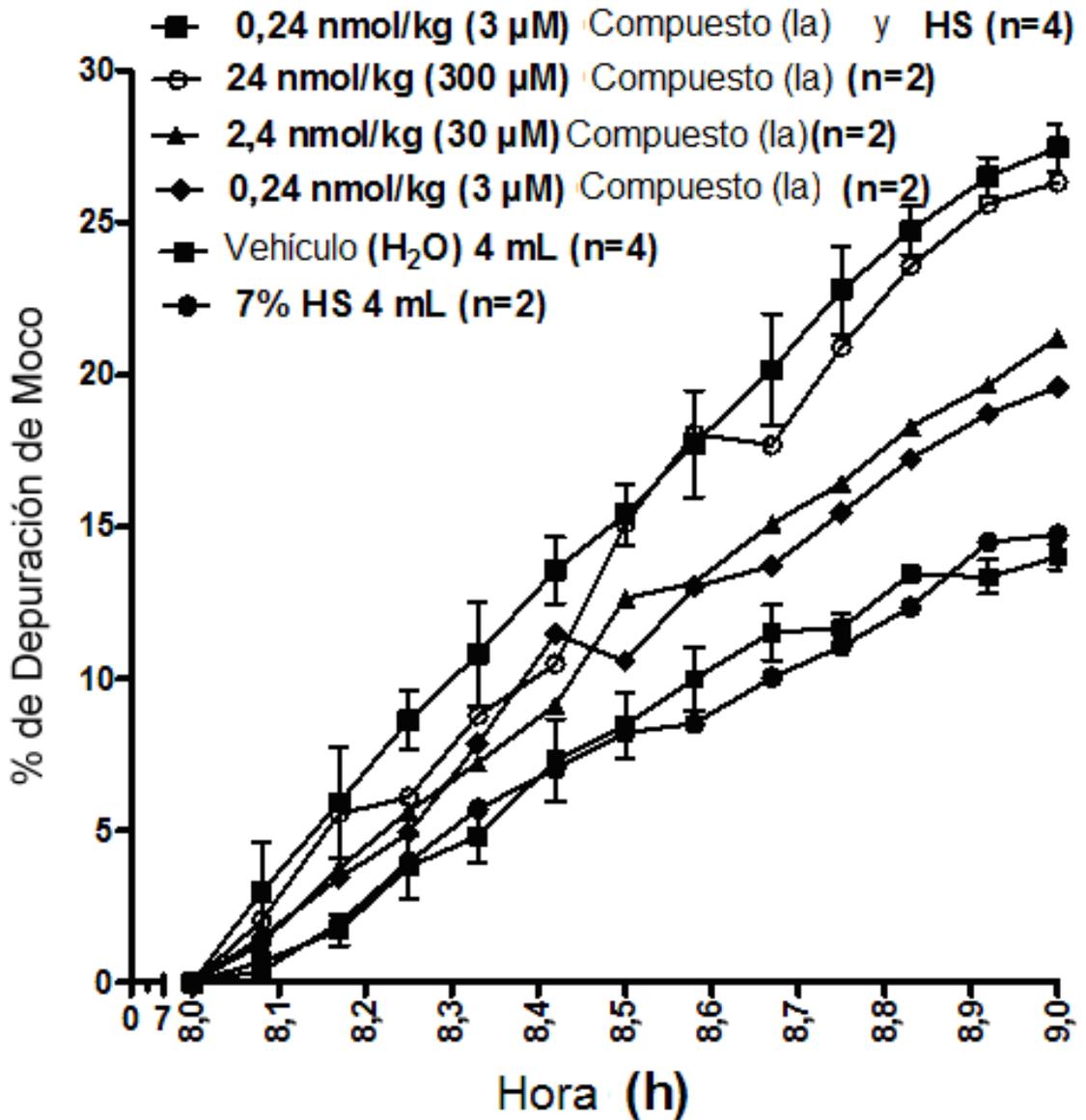
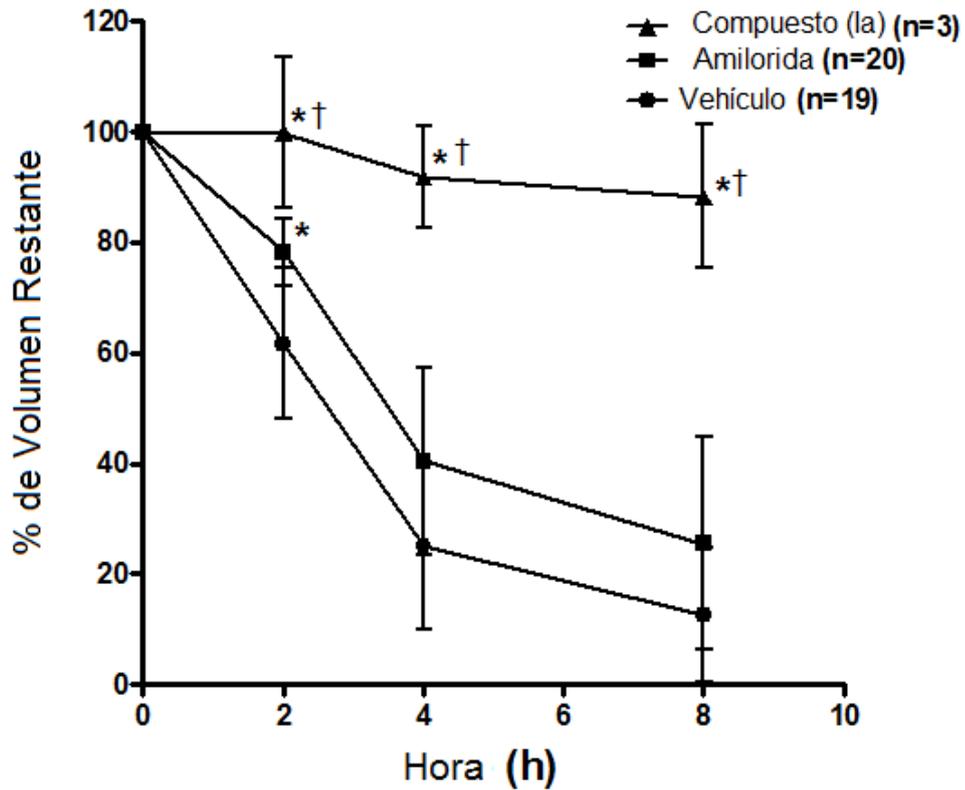


FIG. 4

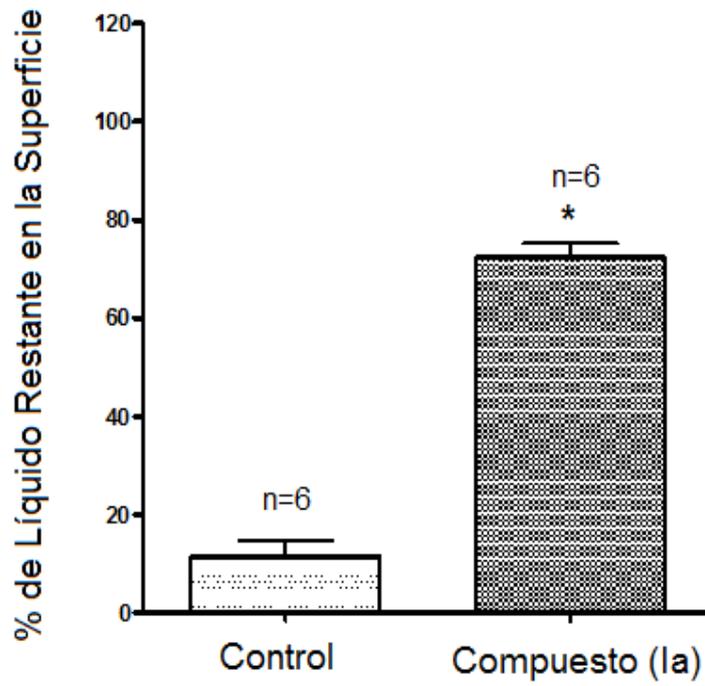
Efecto de Bloqueo de los Canales de Sodio del Compuesto (Ia) sobre la Retención de Líquido en la Superficie tras 0-8 h en el modelo *in vitro* de Células Epiteliales Bronquiales Caninas (CBE)



Los resultados representan la media \pm DE (desviación estándar); * indica la relevancia ($p < 0,05$) con respecto al vehículo. † Indica la relevancia ($p < 0,05$) con respecto a la amilorida

FIG. 5

Efecto del Compuesto (Ia) sobre la Retención de Líquido en la Superficie a las 24 horas en el modelo *in vitro* de Células Epiteliales Bronquiales Caninas (CBE)



Los resultados representan la media \pm DE; * indica la relevancia ($p < 0,05$) con respecto al control

FIG. 6

Efecto de los Bloqueadores del ENaC I y el Ejemplo Comparativo I sobre la Depuración Mucociliar (MCC) en Ovejas a las 8 horas

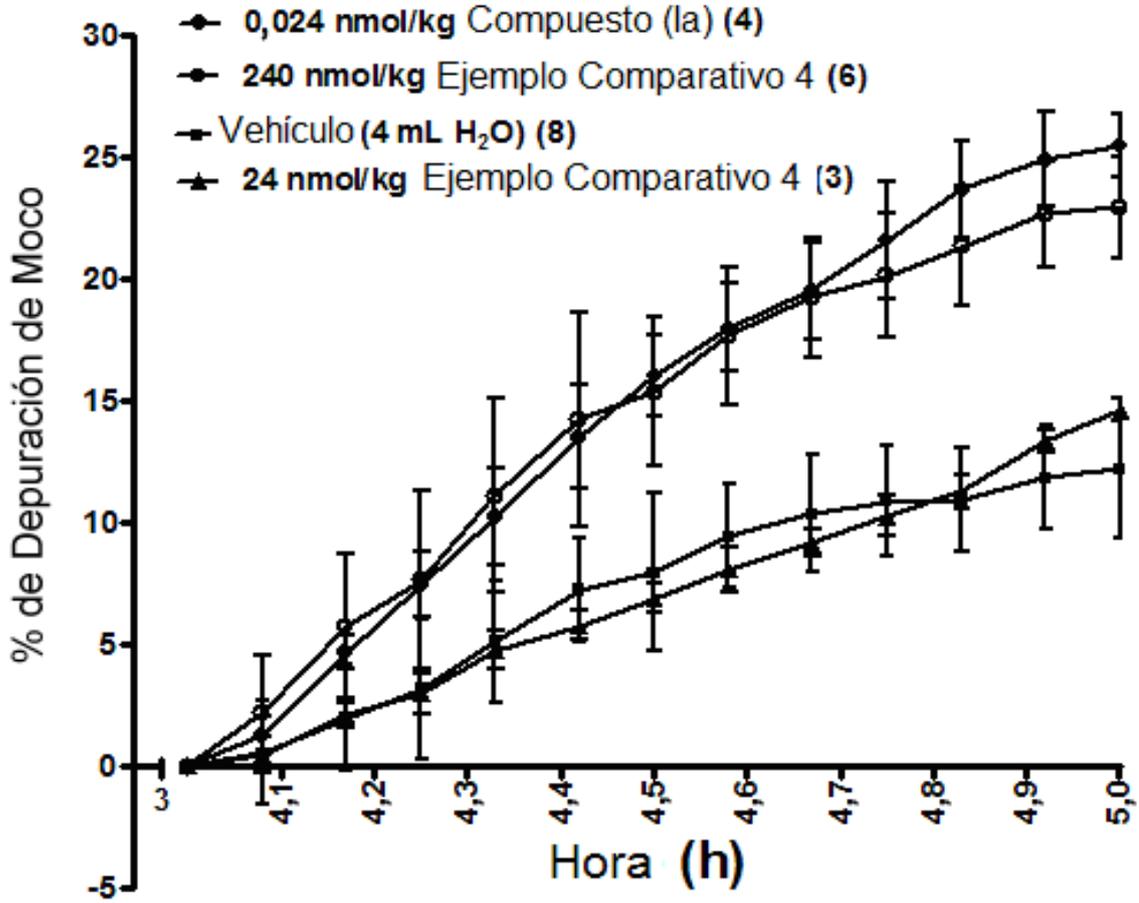


FIG. 7

Efecto de los Bloqueadores del ENaC I y el Ejemplo Comparativo 1 sobre los Niveles de Potasio en Plasma en Ovejas

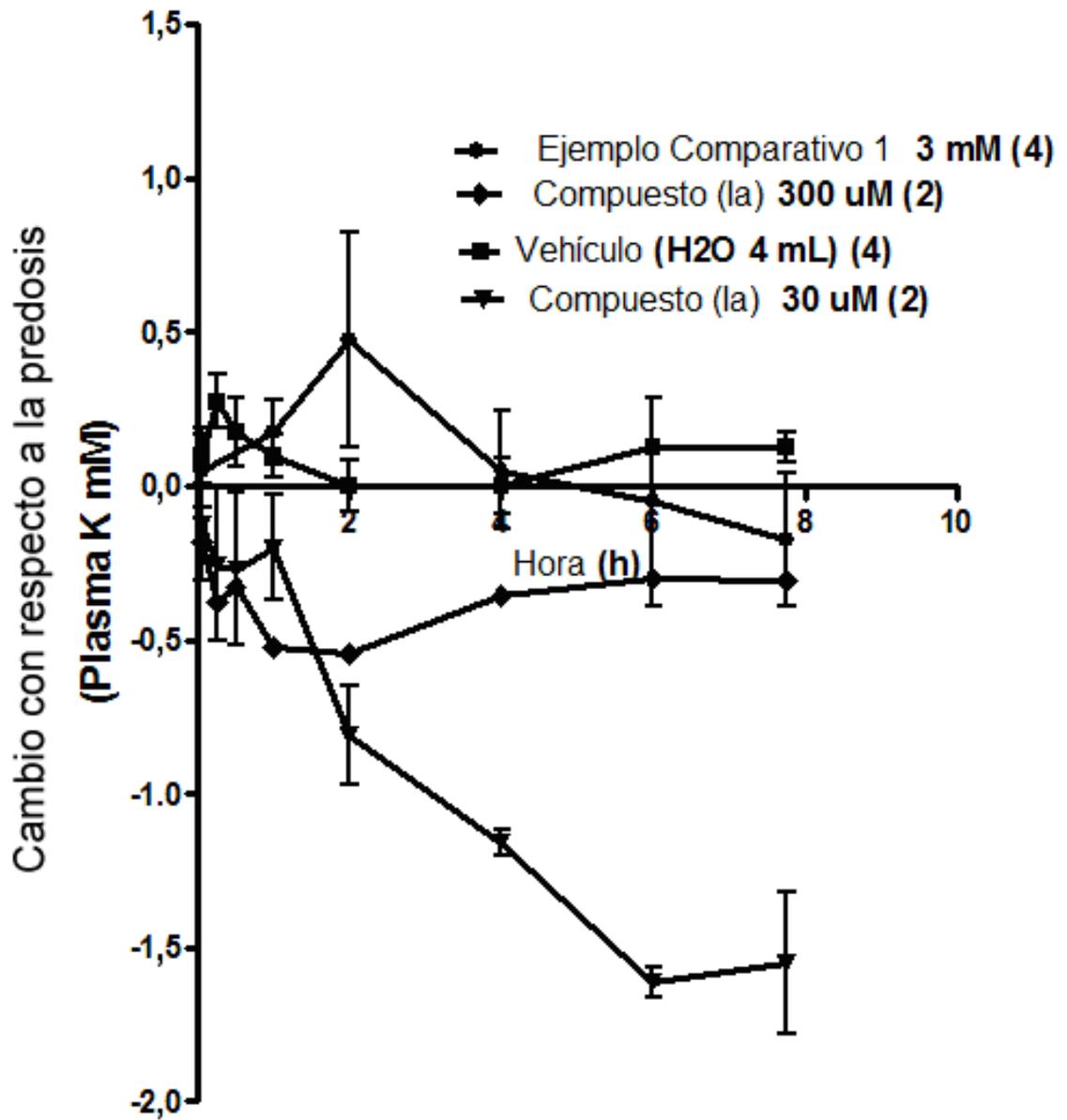


FIG. 8

Comparación del Ejemplo Comparativo 4 y el Compuesto 1 sobre la Depuración Mucociliar (MCC) en Ovejas 4h Después de la Dosis

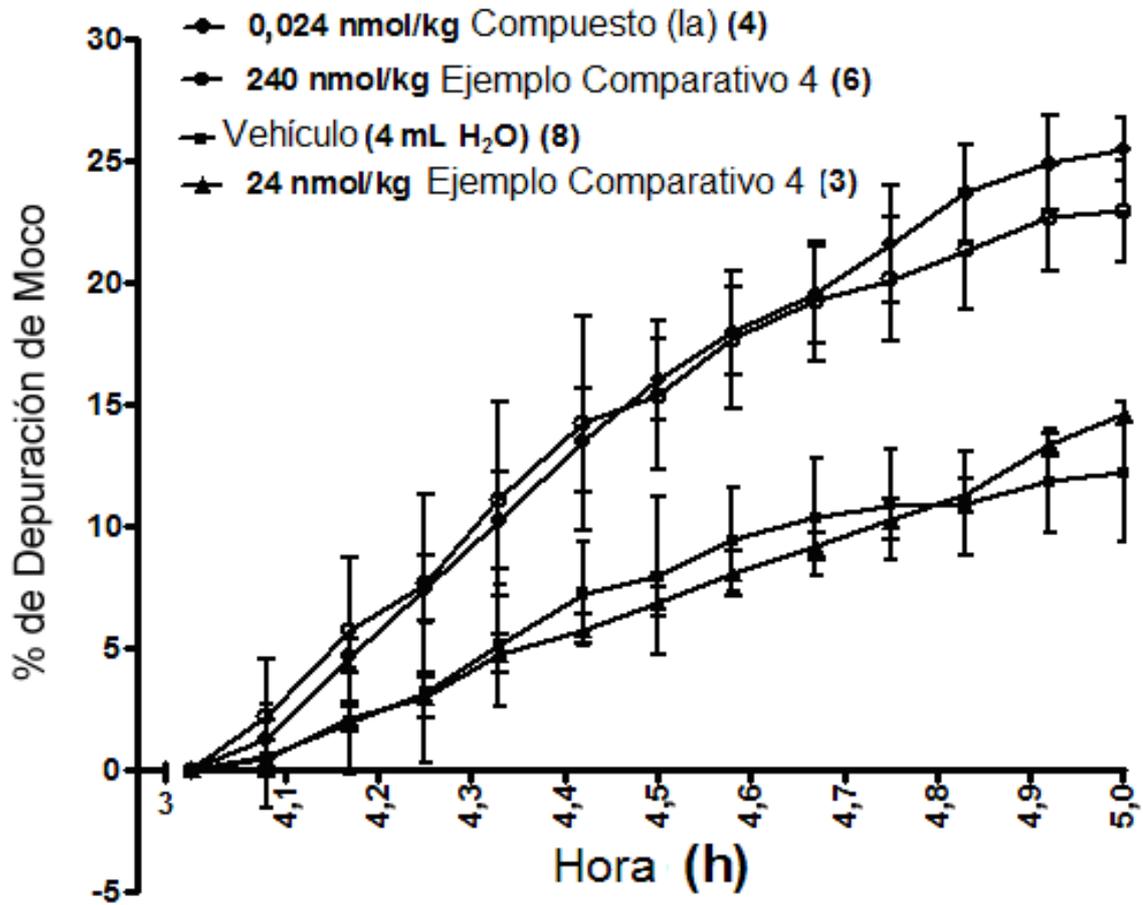


FIG. 9

El Ejemplo Comparativo 4 Eleva el K⁺ en el Plasma a una Dosis Eficaz. El Compuesto 1 No tiene Efecto sobre el K⁺ en Plasma a una Dosis Eficaz 1000x en Ovejas

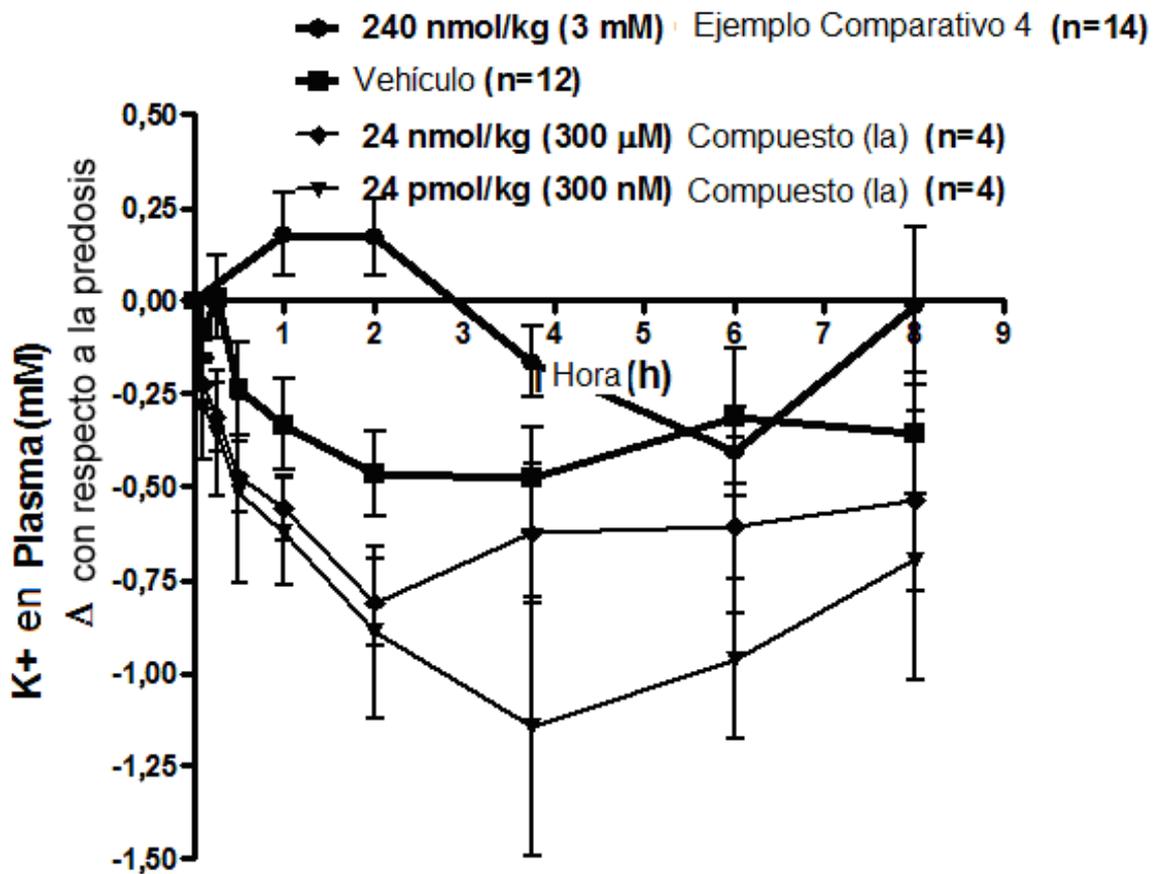


FIG. 10