

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037741**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.05.17

(21) Номер заявки
201591978

(22) Дата подачи заявки
2012.06.26

(51) Int. Cl. **C07D 239/48** (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ 3,5-ДИАМИНО-6-ХЛОР-N-(N-(4-(4-(2-(ГЕКСИЛ(2,3,4,5,6-ПЕНТАГИДРОКСИГЕКСИЛ)АМИНО)ЭТОКСИ)ФЕНИЛ)БУТИЛ)КАРБАМИДОИЛ)ПИРАЗИН-2-КАРБОКСАМИДА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ К БЛОКАТОРАМ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ

(31) 61/501,687; 61/635,745

(32) 2011.06.27; 2012.04.19

(33) US

(43) 2016.05.31

(62) 201391730; 2012.06.26

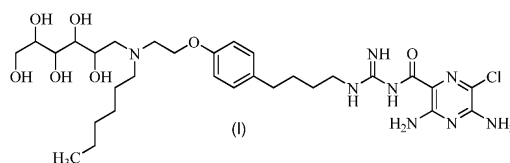
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ПАРИОН САЙЭНС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Джонсон Майкл Р. (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A2-2008031028
WO-A2-03070182
WO-A2-2005044180
WO-A1-2007146869

(57) Изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, а также терапевтическим способам их применения для стимулирования гидратации поверхностей слизистой оболочки, блокирования натриевых каналов у человека и лечения заболеваний, включая хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), астму, бронхоэктаз, острый бронхит и хронический бронхит, кистозный фиброз, эмфизему и пневмонию.

B1**037741****037741****B1**

Область техники

Изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил(2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этоксифенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемые солевые формы, подходящим для применения в качестве блокаторов натриевых каналов, и терапевтическим способам и применениям указанных композиций.

Уровень техники

Поверхности слизистых оболочек на границе между окружающей средой и телом в результате эволюции выработали ряд видов "врожденной защиты", то есть защитных механизмов. Основной формой такой врожденной защиты является очистка указанных поверхностей жидкостью. Обычно количество слоя жидкости на поверхности слизистых оболочек отражает баланс между эпителиальной секрецией жидкости, часто отражающей анионную (Cl^- и/или HCO_3^-) секрецию, в сочетании с водой (и катионным противоионом), и эпителиальным поглощением жидкости, часто отражающим поглощение Na^+ в сочетании с водой и анионным противоионом (Cl^- и/или HCO_3^-). Многие заболевания поверхностей слизистой оболочки вызваны слишком малым количеством защитной жидкости на указанных поверхностях слизистых оболочек, вызванным дисбалансом между секрецией (слишком низкая) и поглощением (относительно слишком большое). Нарушение процессов переноса солей, характеризующее указанные дисфункции слизистой оболочки, происходит в эпителиальном слое поверхности слизистых оболочек.

Одним из подходов к восстановлению защитного слоя жидкости на поверхности слизистых оболочек является "перебалансировка" системы путем блокирования Na^+ канала и поглощения жидкости. Эпителиальный белок, опосредующий лимитирующую скорость стадию поглощения Na^+ и жидкости, представляет собой эпителиальный Na^+ канал ("ENaC"). ENaC расположен на апикальной поверхности эпителия, т.е. на границе между поверхностью слизистой оболочки и окружающей средой. В идеале для ингибирования поглощения Na^+ , опосредованного ENaC, и жидкости, блокатор ENaC амилоидного класса должен быть доставлен к поверхности слизистой оболочки и пребывать в указанной области для достижения максимального терапевтического эффекта.

Сообщалось об использовании блокаторов ENaC при различных заболеваниях, которые поддаются облегчению за счет повышенной гидратации слизистой оболочки. В частности, сообщалось о применении блокаторов ENaC для лечения респираторных заболеваний, таких как хронический бронхит (англ. chronic bronchitis, CB), кистозный фиброз (англ. cystic fibrosis, CF) и ХОБЛ, которые отражают неспособность организма в нормальном режиме выводить слизь из легких и в конечном итоге приводят к хронической инфекции дыхательных путей. См. Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in CF airway disease, R. C. Boucher, Journal of Internal Medicine, Vol. 261, Issue 1, January 2007, pages 5-16; и Cystic fibrosis: a disease of vulnerability to airway surface dehydration, R.C. Boucher, Trends in Molecular Medicine, Vol. 13, Issue 6, June 2007, pages 231-240.

Данные показывают, что иницирующей проблемой, как при хроническом бронхите, так и при кистозном фиброзе, является неспособность очистки поверхности дыхательных путей от слизи. Неспособность очистки слизи отражает дисбаланс количества слизи, являющейся жидкостью поверхности дыхательных путей (англ. airway surface liquid, ASL) на поверхностях дыхательных путей. Указанный дисбаланс приводит к относительному снижению ASL, что приводит к концентрированию слизи, уменьшению смазочной активности околересничной жидкости (англ. periciliary liquid, PCL), прилипанию слизи к поверхности дыхательных путей и неспособности очистки слизи посредством активности ресничного эпителия во рту. Снижение очистки слизи приводит к хронической бактериальной колонизации слизи, прилипающей к поверхности дыхательных путей. Хронический удержание бактерий, неспособность местных антибактериальных веществ на постоянной основе уничтожать бактерии, удерживаемые в слизи, и, как следствие, хронический воспалительный ответ на этот тип поверхностной инфекции приводят к хроническому бронхиту и кистозному фиброзу.

В настоящее время существует значительная неудовлетворенная медицинская потребность в продуктах, которые лечили бы различные заболевания, которые ослабляются при повышенной гидратации слизистой оболочки, в том числе, среди прочего, хронический бронхит, ХОБЛ и кистозный фиброз. Современные способы лечения хронического бронхита, ХОБЛ и кистозного фиброза направлены на лечение симптомов и/или отдаленных последствий указанных заболеваний. Однако ни одна из указанных терапий не устраняет эффективно фундаментальную проблему неспособности очистки легких от слизи.

R.C. Boucher в патенте США № 6264975 описывает применение пиразиноилгуанидиновых блокаторов натриевых каналов для гидратации поверхности слизистых оболочек, типичными примерами которых служат хорошо известные диуретики амилорид, бензамил и фенамил. Тем не менее, указанные соединения являются относительно слабыми, учитывая ограниченную массу лекарственного средства, которое можно вдохнуть в легкие; (2) быстро всасываются и, таким образом, имеют нежелательно короткий период полувыведения на поверхности слизистых оболочек; и (3) свободно диссоциируют из ENaC. Необходимы более активные лекарственные средства с более длинными периодами полувыведения на поверхности слизистых оболочек.

Слишком малое количество защитной поверхностной жидкости на других поверхностях слизистых

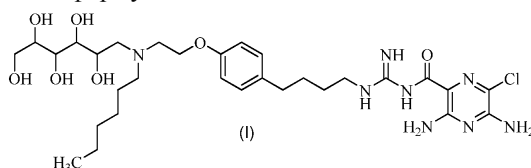
оболочек является общей патофизиологией для ряда заболеваний. Например, при ксеростомии (сухости во рту) полость рта теряет жидкость из-за неспособности околоушной подязычной и подчелюстной желез секретировать жидкость, несмотря на продолжающееся поглощение жидкости, опосредованное транспортом Na^+ (ENaC), из ротовой полости. Сухой кератоконъюнктивит (синдром сухого глаза) возникает при неспособности слезных желез секретировать жидкость, несмотря на продолжающееся Na^+ -зависимое поглощение жидкости на смежных поверхностях. При риносинусите существует дисбаланс между секрецией муцина и относительным истощением ASL. Неспособность секретирования Cl^- (и жидкости) в среднем отделе тонкой кишки в сочетании с повышенным поглощением Na^+ (и жидкости) в терминальном отделе подвздошной кишки приводит к синдрому дистальной интестинальной обструкции (DIOS). У пожилых пациентов чрезмерное поглощение Na^+ (и объемная абсорбция) в нисходящей ободочной кишке приводит к запору и дивертикулиту.

Опубликованная литература включает ряд патентных заявок и выданных патентов на имя Paragon Sciences Inc, описывающих аналоги пиазиноилгуанидина в качестве блокаторов натриевых каналов. Примеры таких публикаций включают международные публикации №№ 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 и патенты США №№ 6858614, 6858615, 6903105, 7064129, 7186833, 7189719, 7192958, 7192959, 7192960, 7241766, 7247636, 7247637, 7317013, 7332496, 7368447, 7368450, 7368451, 7375102, 7388013, 7399766, 7410968, 7807834, 7842697 и 7868010.

Сохраняется потребность в новых соединениях, блокирующих натриевые каналы, с повышенной активностью и эффективностью воздействия на ткани слизистой оболочки. Также сохраняется потребность в новых соединениях, блокирующих натриевые каналы, обеспечивающих терапевтический эффект, но минимизирующих или предотвращающих возникновение или прогрессирование гиперкалиемии у реципиентов.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил(2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамидоил)пиазин-2-карбоксамида формулы:



или его фармацевтически приемлемую соль, и осмолит. В настоящем изобретении также предложено применение указанной композиции в способах лечения заболеваний, блокирования натриевых каналов, стимулирования гидратации поверхностей слизистой оболочки, улучшения мукоцилиарного клиренса и восстановления защитного барьера слизистой оболочки.

Краткое описание графических материалов

Более полная оценка настоящего изобретения и многих из его преимуществ может быть легко получена при обращении к информации, приведенной в данном документе, совместно со следующими фигурами:

Фиг. 1 представляет собой репрезентативный график зависимости концентрационного эффекта соединения (Ia) от тока короткого замыкания с помощью бронхиальных эпителиальных клеток собаки (англ. canine bronchial epithelial, CBE).

Фиг. 2 представляет собой график эффекта дозы соединения (Ia) на мукоцилиарный клиренс (англ. sheep mucociliary clearance, MCC) у овцы через 4 ч после дозирования.

Фиг. 3 представляет собой график эффекта соединения (Ia) и гипертонического солевого раствора (англ. hypertonic saline, HS) на MCC у овцы через 4 ч после дозирования.

Фиг. 4 представляет собой график эффекта соединения (Ia) и HS на MCC у овцы через 8 ч после дозирования.

Фиг. 5 представляет собой график эффекта блокирования натриевого канала соединением (Ia) на удержание поверхностной жидкости в течение 0-8 ч на in vitro CBE клеточной модели.

Фиг. 6 представляет собой гистограмму эффекта соединения (Ia) на удержание поверхностной жидкости через 24 ч на in vitro CBE модели.

Фиг. 7 представляет собой график эффекта блокаторов ENaC соединения Ia и примера сравнения I на MCC овцы через 8 ч.

Фиг. 8 представляет собой график эффекта блокаторов ENaC соединения Ia и сравнительного примера 1 на содержания калия в плазме овцы.

Фиг. 9 представляет собой график сравнения активности сравнительного примера 4 и соединения Ia на MCC у овцы через 4 ч после дозирования.

Фиг. 10 представляет собой график сравнения эффекта на содержание K^+ в плазме овцы сравни-

тельного примера 4 и соединения Ia.

Подробное описание изобретения

В настоящем описании следующие термины определены следующим образом.

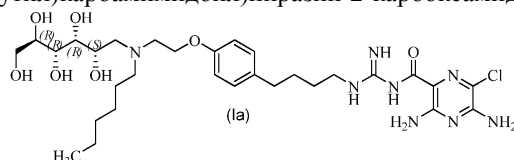
"Соединение согласно изобретению" означает соединение формулы I или соль, в частности его фармацевтически приемлемую соль.

"Соединение формулы I" означает соединение, имеющее структурную формулу, обозначенную в настоящем документе как формула I. Соединения формулы I включают сольваты и гидраты (т.е. аддукты соединения формулы I с растворителем). В тех вариантах реализации, когда соединение формулы I содержит один или более хиральных центров, указанное выражение охватывает каждый индивидуальный стереоизомер, включая оптические изомеры (энантиомеры и диастереомеры) и геометрические изомеры (цис-/транс- изомеризм) и смеси стереоизомеров. Кроме того, соединения формулы I также включают таутомеры изображенной формулы (формул).

В описании и примерах соединения названы с использованием стандартных принципов наименования ИЮПАК, где это возможно, включая использование программного обеспечения ChemDraw Ultra 11,0 для наименования соединений, продаваемого CambridgeSoft Corp./PerkinElmer.

На некоторых изображениях химических структур, когда атомы углерода не имеют достаточного количества присоединенных переменных, показанных для достижения валентности четыре, оставшимися заместителями атома углерода, необходимыми для обеспечения валентности четыре, следует считать водород. Аналогично, в некоторых химических структурах, когда связь нарисована без указания концевой группы, такая связь указывает на метильную (Me, -CH₃) группу, что является традиционным в данной области техники.

Согласно одному из предпочтительных вариантов реализации указанное соединение формулы (I) представляет собой 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрокси-гексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидаил)пирозин-2-карбоксамид, имеющее формулу



или его фармацевтически приемлемую соль.

Указанные соединения формулы I могут быть в форме свободного основания или соли, в частности фармацевтически приемлемой соли. Для обзора фармацевтически приемлемых солей см. Berge с соавт., J. Pharma Sci. (1977) 66:1-19.

Фармацевтически приемлемые соли, образованные из неорганических или органических кислот включают, например, гидрохлорид, гидробромид, гидроидрид, сульфат, бисульфат, нитрат, сульфамат, фосфат, кислый фосфат, ацетат, трифторацетат, малеат, малат, фумарат, лактат, тартрат, цитрат, формиат, глюконат, сукцинат, пируват, таннат, аскорбат, пальмитат, салицилат, стеарат, фталат, альгинат, полиглутамат, оксалат, оксалоацетат, сахарат, бензоат, алкил или арилсульфонаты (например, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат или нафталинсульфонат) и изотионат; комплексы, образованные с аминокислотами, такими как лизин, аргинин, глутаминовая кислота, глицин, серин, треонин, аланин, изолейцин, лейцин и тому подобное. Соединения согласно изобретению могут также быть в форме соли, образованной из элементарных анионов, таких как хлор, бром или йод.

Для терапевтического применения соли активных ингредиентов соединений формулы I будут фармацевтически приемлемыми, т.е. они будут представлять собой соли, полученные из фармацевтически приемлемой кислоты. Однако могут также найти применение соли кислот, которые не являются фармацевтически приемлемыми, например, при получении или очистке фармацевтически приемлемого соединения. Например, могут использоваться трифторацетатные соли. Все соли, независимо от того получены ли они из фармацевтически приемлемой кислоты или нет, подпадают под объем настоящего изобретения.

Термин "хиральный" относится к молекулам, которые обладают свойством неналожимости на зеркального партнера, тогда как термин "ахиральный" относится к молекулам, которые совмещаются с их зеркальным партнером.

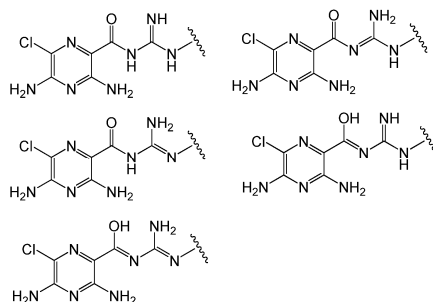
Термин "стереоизомеры" относится к соединениям, которые имеют одинаковый химический состав, но отличаются в отношении расположения атомов или групп в пространстве. "Диастереомер" относится к стереоизомеру с двумя или более центрами хиральности, и чьи молекулы не являются зеркальными отражениями друг друга. Диастереомеры обладают различными физическими свойствами, например, температурами плавления, кипения, спектральными свойствами и реакционной способностью. Смеси диастереомеров можно разделить с помощью аналитических процедур с высокой чувствительностью, таких как электрофорез и хроматография. "Энантиомеры" относятся к двум стереоизомерам соединения, которые не являются зеркальными отражениями друг друга.

Стереохимические определения и условные обозначения, используемые в данном документе, в це-

лом, следуют S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; и Eliel, E. и Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York.

Многие органические соединения существуют в оптически активных формах, т.е. они обладают способностью вращать плоскость плоскополяризованного света. При описании оптически активного соединения префиксы D и L или R и S используются для обозначения абсолютной конфигурации молекулы относительно ее хирального центра (ов). Конкретный стереоизомер может также упоминаться как энантиомер, и смесь таких изомеров часто называют энантиомерной смесью. Смесь энантиомеров 50:50 называют рацемической смесью или рацематом, которое может получиться, когда не было никакой стереоселекции или стереоспецифичности в химической реакции или процессе. Термины "рацемическая смесь" и "рацемат" относятся к эквимольной смеси двух энантиомерных видов.

Термин "таутомеры" относится к типу стереоизомера, в котором миграция атома водорода приводит к получению двух или более структур. Соединения формулы I могут существовать в различных таутомерных формах. Специалисту в данной области техники будет понятно, что амидины, амиды, гуанидины, мочевины, тиомочевины, гетероциклы и т.п. могут существовать в таутомерных формах. В качестве примера, но не ограничения, соединения формулы I могут существовать в различных таутомерных формах, как показано ниже:



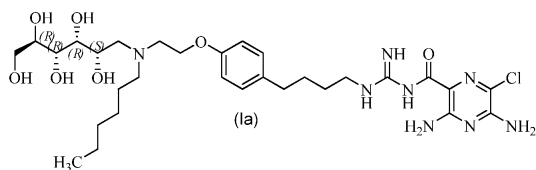
Все возможные таутомерные формы амидинов, амидов, гуанидинов, мочевины, тиомочевины, гетероциклов и т.п. во всех вариантах реализации формулы I находятся в пределах объема настоящего изобретения. Таутомеры существуют в равновесии и, таким образом, специалистам в данной области техники будет понятно, что изображение одного таутомера в предложенных формулах также относится ко всем возможным таутомерам.

Следует отметить, что все энантиомеры, диастереомеры и рацемические смеси, таутомеры, полиморфы, псевдополиморфы соединений в пределах объема формулы I и их фармацевтически приемлемые соли входят в объем настоящего изобретения. Все смеси таких энантиомеров и диастереомеров, в том числе энантиомерно обогащенные смеси и диастереомерно обогащенные смеси находятся в пределах объема настоящего изобретения. Энантиомерно обогащенной смесью являются смеси энантиомеров, в которых отношение указанного энантиомера с альтернативным энантиомером составляет более 50:50. В частности, энантиомерно обогащенная смесь содержит по меньшей мере примерно 75% указанного энантиомера, предпочтительно по меньшей мере примерно 85% указанного энантиомера. Согласно одному из вариантов реализации энантиомерно обогащенная смесь по существу не содержит другой энантиомер. Аналогично, диастереомерно обогащенные смеси представляют собой смеси диастереомеров, в которых количество указанного диастереомера больше, чем количество каждого альтернативного диастереомера. В частности, диастереомерно обогащенная смесь содержит по меньшей мере примерно 75% указанного диастереомера, и предпочтительно по меньшей мере примерно 85% указанного диастереомера. Согласно одному из вариантов реализации диастереомерно обогащенная смесь по существу не содержит любые другие диастереомеры. Термин "по существу не содержит" будет понятен специалистам в данной области, как указывающий на менее 5% присутствие других диастереомеров, предпочтительно менее 1%, более предпочтительно менее 0,1%. Согласно другим вариантам реализации никакие другие диастереомеры не будут присутствовать или количество любых других присутствующих диастереомеров будет ниже уровня обнаружения. Стереоизомеры могут быть разделены методами, известными в данной области, в том числе с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и кристаллизации хиральных солей.

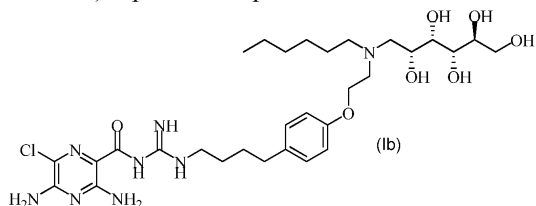
Отдельный стереоизомер, например, энантиомер, по существу не содержащий его стереоизомер, может быть получен разделением рацемической смеси с использованием такого способа, как получение диастереомеров с использованием оптически активных разделяющих агентов ("Stereochemistry of Carbon Compounds," (1962) by E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C H., (1975) J. Chromatogr., 113:(3) 283-302). Рацемические смеси хиральных соединений согласно изобретению можно разделять и выделять с помощью любого подходящего способа, включая: (1) получение ионных, диастереомерных солей с хиральными соединениями и разделение путем фракционной кристаллизации или других способов, (2) получение диастереомерных соединений с хиральными дериватизирующими реагентами, разделение диастереомеров и превращение в чистые стереоизомеры, и (3) разделение по существу чистых или обогащенных

стереоизомеров непосредственно в хиральных условиях.

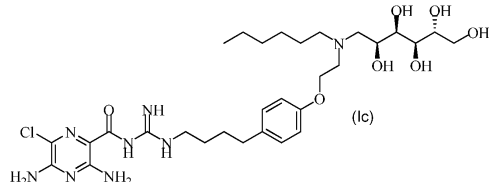
Для целей иллюстрации конкретные примеры энантиомеров соединения формулы (I), в пределах объема настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими: 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



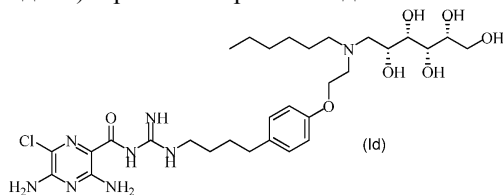
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



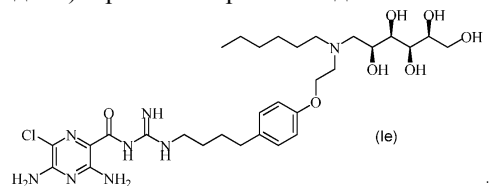
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



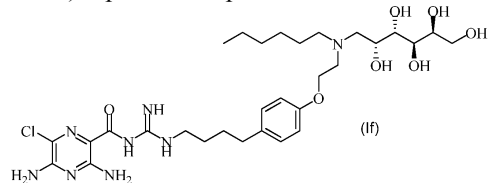
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2R,3S,4S,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



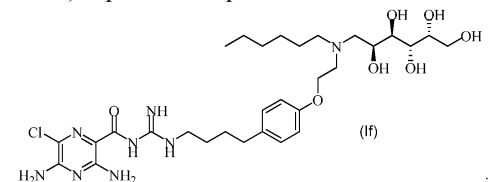
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5S)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



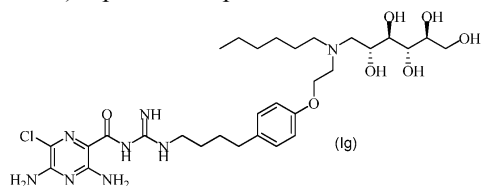
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2R,3S,4R,5S)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



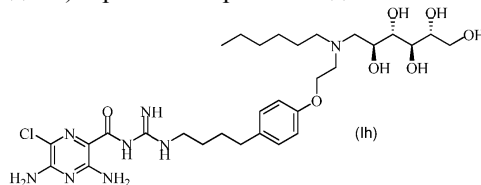
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4S,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



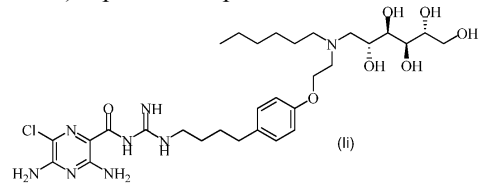
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2R,3R,4S,5S)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



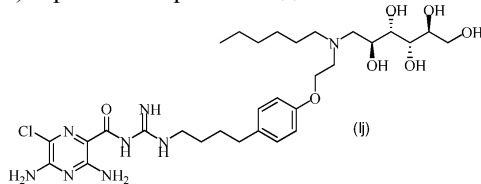
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



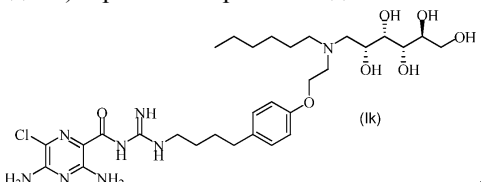
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2R,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



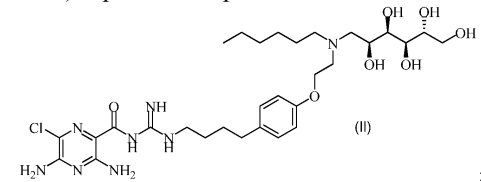
3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамид



Соединение формулы I и его фармацевтически приемлемые соли могут существовать в виде различных полиморфов или псевдополиморфов. В настоящем документе кристаллический полиморфизм означает способность кристаллического соединения существовать в различных кристаллических структурах. Кристаллический полиморфизм может быть результатом различий в кристаллической упаковке (упаковочный полиморфизм) или различия в упаковке между различными конформерами той же молекулы (конформационный полиморфизм). В настоящем документе кристаллический псевдополиморфизм также включает способность гидрата или сольвата соединения существовать в различных кристаллических структурах. Псевдополиморфы согласно настоящему изобретению могут существовать вследствие различий в кристаллической упаковке (упаковочный псевдополиморфизм) или вследствие различий в упаковке между различными конформерами той же молекулы (конформационные псевдополиморфизм). Настоящее изобретение включает все полиморфы и псевдополиморфы соединений формулы I и их фармацевтически приемлемых солей.

Соединение формулы I и его фармацевтически приемлемые соли могут также существовать в виде аморфного твердого вещества. В настоящем документе аморфное твердое вещество представляет собой твердое вещество, в котором нет дальнего порядка положений атомов в указанном твердом веществе. Это определение применимо также, когда размер кристалла составляет два нанометра или менее. Добавки, включая растворители, можно использовать для создания аморфных форм согласно настоящему изобретению. Настоящее изобретение, включая все фармацевтические композиции, способы лечения, комбинированные продукты и их применения, описанные в настоящем документе, включает все аморфные формы соединений Формулы I и их фармацевтически приемлемые соли.

Применения

Соединения согласно изобретению проявляют активность в качестве блокаторов натриевых каналов. Не будучи связанными какой-либо конкретной теорией, полагают, что соединения согласно изобретению могут действовать *in vivo*, блокируя эпителиальные натриевые каналы, присутствующие на поверхности слизистых оболочек, и тем самым снижают поглощение воды поверхностью слизистой оболочки. Этот эффект увеличивает объем защитных жидкостей на поверхности слизистых оболочек и перестраивает систему.

Как следствие, соединения согласно изобретению подходят для применения в качестве лекарственных средств, особенно для лечения клинических состояний, для которых может быть показан блокатор натриевых каналов. Такие условия включают легочные состояния, такие как заболевания, связанные с обратимой или необратимой обструкцией дыхательных путей, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), в том числе острые приступы ХОБЛ, астму, бронхоэктаз (включая бронхоэктаз, вызванный состояниями, отличными от кистозного фиброза), острый бронхит, хронический бронхит, пост-вирусный кашель, кистозный фиброз, эмфизему, пневмонию, панбронхиолит и трансплантат-связанный бронхиолит, в том числе бронхиолит, связанный с трансплантатом легкого и костного мозга, у человека, нуждающегося в этом. Соединения согласно изобретению также могут подходить для лечения трахеобронхита, связанного с аппаратом искусственной вентиляции легких (ИВЛ-связанного трахеобронхита) и/или предотвращения пневмонии, связанной с аппаратом искусственной вентиляции легких (ИВЛ-связанной пневмонии) у вентилируемых пациентов. Настоящее изобретение включает способы лечения каждого из указанных состояний у млекопитающего, нуждающегося в этом, предпочтительно у человека, нуждающегося в этом, каждый способ включает введение указанному млекопитающему фармацевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли. Также предложены (a) способ уменьшения острых приступов ХОБЛ у млекопитающего, нуждающегося в этом, (b) способ снижения острых приступов CF у млекопитающего, нуждающегося в этом; (c) способ улучшения функции легких (FEV1) у млекопитающего, нуждающегося в этом, (d) способ улучшения функции легких (FEV1) у млекопитающих с ХОБЛ, (e) способ улучшения функции легких (FEV1) у млекопитающих с CF, (f) способ уменьшения инфекций дыхательных путей у млекопитающего, нуждающегося в этом.

Также предложен способ стимуляции, усиления или улучшения мукоцилиарного клиренса у млекопитающего, включающий введение млекопитающему, нуждающемуся в этом, фармацевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли. Следует понимать, что мукоцилиарный клиренс включает естественные мукоцилиарные действия, связанные с переносом или клиренсом слизи в дыхательных путях, в том числе самоочищающих механизмов бронхов. Таким образом, также предложен способ улучшения клиренса слизи в дыхательных путях млекопитающих, которые в этом нуждаются.

Кроме того, блокаторы натриевых каналов могут быть показаны для лечения состояний, которые облегчаются путем повышенной гидратации поверхностей слизистых оболочек, отличных от легочных поверхностей слизистых оболочек. Примеры таких состояний включают сухость во рту (ксеростомия), сухость кожи, вагинальную сухость, синусит, риносинусит, носовое обезвоживание, в том числе носовое обезвоживание, вызванное введением сухого кислорода, сухость глаз, болезнь Шегрена, средний отит, первичную цилиарную дискинезию, синдром дистальной интестинальной обструкции, эзофагит, запор или хронический дивертикулит. Соединения согласно изобретению также можно использовать для стимулирования гидратации глаз или роговицы.

Соединения согласно настоящему изобретению также могут подходить для способов получения образца мокроты у человека. Способ может быть осуществлен путем введения соединения согласно настоящему изобретению в по меньшей мере одно легкое пациента, а затем индицирования и сбора образцов мокроты указанного человека.

Соответственно, в одном аспекте в настоящем изобретении предложен способ лечения состояния у млекопитающего, такого как человек, для которого показан блокатор натриевых каналов.

Согласно другим вариантам реализации в настоящем изобретении предложен каждый из описанных в настоящем документе способов с дополнительным преимуществом минимизации или исключения гиперкалиемии у реципиента способа. Также предложены варианты реализации, включающие каждый из описанных в настоящем документе способов, в которых достигается улучшенный терапевтический индекс.

В настоящем описании термины "лечить", "лечащий" и "лечение" относятся к обращению, облегчению, ингибированию развития или предотвращению нарушения или состояния, или один или более симптомов такого нарушения или состояния.

Все терапевтические способы, описанные в настоящем документе, осуществляют путем введения эффективного количества фармацевтической композиции на основе соединения согласно изобретению - соединения формулы I - или его фармацевтически приемлемой соли пациенту (обычно млекопитающему и предпочтительно человеку), нуждающемуся в лечении.

Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения состояния, облегчаемого путем повышенной гидратации слизистой у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения заболевания, связанного с обратимой или необратимой обструкцией дыхательных путей, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из конкретных вариантов реализации в настоящем изобретении предложен способ лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из конкретных вариантов реализации в настоящем изобретении предложен способ снижения частоты, тяжести или длительности острого приступа ХОБЛ или лечения одного или более симптомов острого приступа ХОБЛ у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения астмы у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения бронхоэктаза (включая бронхоэктазы, вызванные состояниями, отличными от кистозного фиброза) у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения бронхита, включая острый и хронический бронхит, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения пост-вирусного кашля у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения кистозного фиброза у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения эмфиземы у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения пневмонии у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения панбронхиолита у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения бронхиолита, связанного с трансплантатом, включая бронхиолит, связанный с трансплантатом легкого и костного мозга, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения ИВЛ-связанного трахеобронхита и/или предотвращения ИВЛ-связанной пневмонии у вентилируемого у человека, нуждающегося в этом.

В настоящем изобретении предложены конкретные способы лечения заболевания, выбранного из группы обратимой или необратимой обструкции дыхательных путей, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), астмы, бронхоэктаза (в том числе бронхоэктаза, вызванного состояниями, отличными от кистозного фиброза), острого бронхита, хронического бронхита, поствирусного кашля, кистозного фиброза, эмфиземы, пневмонии, панбронхиолита, трансплантат-связанного бронхиолита и ИВЛ-связанного трахеобронхита, или предотвращения ИВЛ-связанной пневмонии у человека, нуждающегося в этом, включающие введение указанному человеку эффективного количества фармацевтической композиции на основе соединения формулы I(a) или его фармацевтически приемлемой соли. Согласно другим вариантам реализации каждого способа лечения, форма фармацевтически приемлемой соли представляет собой гидрохлоридную соль или гидроксиацетатную соль соединения формулы (1a). Согласно другим вариантам реализации каждого способа лечения используют свободное основание соединения формулы (1a).

Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения сухости во рту (ксеростомии) у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения сухости кожи у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения вагинальной сухости, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения синусита, риносинусита или носового обезвоживания, в том числе носового обезвоживания, вызванного введением сухого кислорода, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения сухости глаз или болезни Шегрена, или стимулирования гидратации глаз или роговицы у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения среднего отита у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобретении предложен способ лечения первичной цилиарной дискинезии у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации в изобре-

тении предложен способ лечения синдрома дистальной интестинальной обструкции, эзофагита, запора или хронического дивертикулита у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом.

Также предложено применение композиции согласно изобретению в лекарственной терапии, в частности для применения для лечения состояния у млекопитающего, такого как человек, для которого показан блокатор натриевых каналов. Все терапевтические применения, описанные в настоящем документе, осуществляют путем введения эффективного количества композиции согласно изобретению субъекту, нуждающемуся в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения легочного состояния, такого как заболевание, связанное с обратимой или необратимой обструкцией дыхательных путей, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из конкретных вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для снижения частоты, тяжести или продолжительности острого приступа ХОБЛ или для лечения одного или более симптомов острого приступа ХОБЛ у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения астмы у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция для применения для лечения бронхоэктаза, включая бронхоэктазы, вызванные состояниями, отличными от кистозного фиброза, или бронхита, включая острый бронхит и хронический бронхит, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция для применения для лечения пост-вирусного кашля, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция для применения для лечения кистозного фиброза у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения эмфиземы у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения пневмонии у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения панбронхиолита или трансплантат-связанного бронхиолита, включая бронхиолит, связанный с трансплантатом легкого и костного мозга у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения ИВЛ-связанного трахеобронхита или предотвращения ИВЛ-связанной пневмонии у вентилируемого человека, нуждающегося в этом.

Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения состояния, облегчаемого путем повышенной гидратации слизистой оболочки на поверхностях слизистых оболочек у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция для применения для лечения сухости во рту (ксеростомии) у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция для применения для лечения сухости кожи у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция для применения для лечения вагинальной сухости у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения синусита, риносинусита или носового обезвоживания, в том числе носового обезвоживания, вызванного введением сухого кислорода, у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения сухости глаз или болезни Шегрена или стимулирования гидратации глаз или роговицы у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения среднего отита у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения первичной цилиарной дискинезии у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом. Согласно одному из вариантов реализации предложена фармацевтическая композиция согласно изобретению для применения для лечения синдрома дистальной интестинальной обструкции, эзофагита, запора или хронического дивертикулита у млекопитающего, в частности человека, нуждающегося в этом.

В настоящем изобретении также предложено применение композиции согласно изобретению для лечения состояния у млекопитающего, такого как человек, для которого показан блокатор натриевых каналов. Согласно одному из вариантов реализации предложено применение композиции согласно изобретению для лечения заболеваний, связанных с обратимой или необратимой обструкцией дыхательных

путей, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), острых приступов ХОБЛ, астмы, бронхоэктаза (включая бронхоэктаз, вызванный состояниями, отличными от кистозного фиброза), бронхита (включая острый бронхит и хронический бронхит), поствирусный кашель, кистозного фиброза, эмфиземы, пневмонии, панбронхиолита, бронхиолита, связанного с трансплантатом, и ИВЛ-связанного трахеобронхита, или предотвращения ИВЛ-связанной пневмонии.

Согласно одному из конкретных вариантов реализации предложено применение композиции согласно изобретению для лечения состояния, облегчаемого путем повышенной гидратации слизистой оболочки на поверхностях слизистой, лечения сухости во рту (ксеростомии), сухости кожи, вагинальной сухости, синусита, риносинусита или носового обезвоживания, в том числе носового обезвоживания, вызванного введением сухого кислорода, лечения сухости глаз, болезни Шегрена, стимулирования гидратации глаз или роговицы, лечения среднего отита, первичной цилиарной дискинезии, синдрома дистальной интестинальной обструкции, эзофагита, запора или хронического дивертикулита.

В настоящем описании термины "эффективное количество", "фармацевтически эффективное количество", "эффективная доза" и "фармацевтически эффективная доза" относятся к количеству композиции на основе соединения согласно изобретению, достаточному, чтобы вызывать биологический или клинический ответ для культур клеток, тканей, системы или млекопитающего (включая человека), у субъекта, которому ее вводят, которые определяются, например исследователем или практикующим врачом. Указанный термин также включает в объем количества, эффективные для повышения нормальной физиологической функции. Согласно одному из вариантов реализации эффективное количество представляет собой количество, необходимое для обеспечения требуемого уровня лекарственного средства в секретах и тканях дыхательных путей и легких, или альтернативно, в кровотоке субъекта, подлежащего лечению, с получением ожидаемого физиологического ответа или требуемого биологического эффекта, когда такую композицию вводят путем ингаляции. Например, эффективное количество соединения согласно изобретению для лечения состояния, для которого показан блокатор натриевых каналов, достаточно лечения конкретного состояния у субъекта, которому ее вводят. Согласно одному из вариантов реализации эффективное количество представляет собой количество соединения согласно изобретению, достаточное для лечения ХОБЛ или кистозного фиброза у человека.

Точное эффективное количество композиций согласно изобретению будет зависеть от ряда факторов, включая, но не ограничиваясь ими, вида, возраста и веса субъекта, подлежащего лечению, точного состояния, требующего лечения, и его тяжести, биодоступности, эффективности и других свойств конкретного вводимого соединения, природы состава, способа введения и устройства для доставки, и в конечном итоге будет определяться по усмотрению лечащего врача или ветеринара. Дополнительное руководство по отношению к подходящей дозе может быть найдено при рассмотрении традиционной дозировки других блокаторов натриевых каналов, таких как амилорид, с учетом также любых различий в активности между амилоридом и соединением согласно настоящему изобретению.

Фармацевтически эффективная доза, вводимая местно на поверхности дыхательных путей субъекта (например, путем ингаляции) соединения согласно изобретению для лечения человека весом 70 кг может составлять от примерно 10 нг до примерно 10 мг. Согласно другому варианту реализации фармацевтически эффективная доза может составлять от примерно 0,1 до примерно 1000 мкг. Как правило, суточная доза, вводимая местно на поверхности дыхательных путей, будет представлять собой количество, достаточное для достижения растворенной концентрации активного агента на поверхностях дыхательных путей, составляющей от примерно 10^{-9} , 10^{-8} , или 10^{-7} до примерно 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} или 10^{-1} моль/л, более предпочтительно от примерно 10^{-9} до примерно 10^{-4} моль/л. Выбор конкретной дозы для пациента будет осуществляться лечащим врачом, врачом или ветеринаром средней квалификации в данной области техники на основании ряда факторов, в том числе те, отмеченных выше. Согласно одному из конкретных вариантов реализации доза соединения согласно изобретению для лечения человека весом 70 кг будет составлять от примерно 10 нанограмм (нг) до примерно 10 мг. Согласно другому варианту реализации эффективная доза будет составлять от примерно 0,1 мкг до примерно 1000 мкг. Согласно одному из вариантов реализации доза соединения согласно изобретению для лечения человека весом 70 кг будет составлять от примерно 0,5 мкг до примерно 0,5 мг. Согласно дополнительному варианту реализации доза будет составлять от примерно 0,5 мкг до примерно 60 мкг. Согласно другому варианту реализации фармацевтически эффективная доза будет составлять от примерно 1 до примерно 10 мкг. Согласно другому варианту реализации фармацевтически эффективная доза будет составлять от примерно 5 мкг до примерно 50 мкг. Согласно другому варианту реализации эффективная доза будет составлять от примерно 10 мкг до примерно 40 мкг. Согласно двум дополнительным вариантам реализации фармацевтически эффективная доза будет составлять от примерно 15 мкг до примерно 50 мкг, от примерно 15 мкг до примерно 30 мкг, соответственно. Следует понимать, что в каждом из указанных диапазонов доз, все возрастающие дозы включены в диапазон. Например, диапазон 0,5-50 мкг включает отдельные дозы: 0,5 мкг, 0,6 мкг, 0,7 мкг, 0,8 мкг, 0,9 мкг, 1,0 мкг, 1,1 мкг, 1,2 мкг, 1,3 мкг, 1,4 мкг, 1,5 мкг, 1,6 мкг, 1,7 мкг, 1,8 мкг, 1,9 мкг, 2,0 мкг, 2,1 мкг, 2,2 мкг, 2,3 мкг, 2,4 мкг, 2,5 мкг, 2,6 мкг, 2,7 мкг, 2,8 мкг, 2,9 мкг, 3,0 мкг, 3,1 мкг, 3,2 мкг, 3,3 мкг, 3,4 мкг, 3,5 мкг, 3,6 мкг, 3,7 мкг, 3,8 мкг, 3,9 мкг, 4,0 мкг, 4,1 мкг, 4,2 мкг, 4,3 мкг, 4,4 мкг, 4,5 мкг, 4,6 мкг, 4,7 мкг, 4,8 мкг, 4,9 мкг, 5,0 мкг, 5,1 мкг, 5,2 мкг, 5,3 мкг, 5,4 мкг, 5,5 мкг, 5,6 мкг, 5,7 мкг,

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

Указанные выше предложенные дозы могут быть скорректированы с использованием традиционных методик расчетов дозы, если соединение вводят другим способом. Определение соответствующей дозы для введения другими способами находится в пределах компетенции специалистов в данной области в свете приведенного выше описания и общих знаний в данной области техники.

Доставка эффективного количества соединения согласно изобретению может включать доставку единичной лекарственной формы или множественных единичных доз, которые могут быть доставлены одновременно или раздельно по времени в течение заданного периода времени, например 24 ч. Дозу соединения согласно настоящему изобретению (отдельно или в форме композиции, содержащей указанное соединение) можно вводить от одного до десяти раз в день. Как правило, соединение согласно настоящему изобретению (отдельно или в форме композиции, содержащей указанное соединение) можно вводить четыре, три, два или один раз в сутки (24 ч).

Композиции на основе соединений формулы (I) согласно настоящему изобретению также подходят для лечения воздушно-капельных инфекций. Примеры воздушно-капельных инфекций включают, например, респираторный синцитиальный вирус (англ. Human respiratory syncytial virus, RSV). Композиции на основе соединений формулы (I) согласно настоящему изобретению также подходят для лечения инфекции сибирской язвы. Настоящее изобретение относится к применению композиций на основе соединений формулы (I) согласно настоящему изобретению для профилактики, постэкспозиционной профилактики, профилактического или терапевтического лечения заболеваний или состояний, вызванных патогенными микроорганизмами. В предпочтительном варианте реализации настоящее изобретение относится к применению композиций на основе соединений формулы (I) для профилактики, постэкспозиционной профилактики, профилактического или терапевтического лечения заболеваний или состояний, вызванных патогенами, которые могут быть использованы в целях биотерроризма.

В последние годы было начато множество научно-исследовательских программ и принято множество мер биозащиты в отношении использования биологических агентов в террористических актах. Указанные меры предназначены для решения проблем, касающихся терроризма или использования микроорганизмов или биологических токсинов для убийства людей, распространения страха и подрыва общественного строя. Например, Национальный институт аллергии и инфекционных заболеваний (англ. National Institute of Allergy and Infectious Diseases, NIAID) разработал стратегический план исследований биозащиты, в котором излагаются планы для решения научно-исследовательских потребностей в широком спектре биотерроризма и новых и повторно возникающих инфекционных заболеваний. В соответствии с планом, преднамеренное воздействие на гражданское население Соединенных Штатов спорами *Bacillus anthracis* выявило пробелы в общей готовности страны к защите от биотерроризма. Кроме того, в докладе подробно описано, что указанные атаки позволили выявить неудовлетворенную потребность в тестах для быстрой диагностики, вакцинах и иммунотерапиях для предотвращения и лекарственных средствах и биопрепаратах для лечения заболевания, вызванного агентами биотерроризма.

Большая часть различных исследовательских программ была направлена на изучение биологии возбудителей, идентифицированных как потенциально опасные в качестве агентов биотерроризма, изучение реакции хозяина в отношении таких агентов, разработку вакцин против инфекционных заболеваний, оценку терапии, как доступной в настоящее время, так и исследуемой, в отношении таких агентов, а также разработку диагностики для выявления признаков и симптомов от потенциально опасных агентов. Такие программы заслуживают одобрения, но, учитывая большое количество патогенов, идентифицированных как потенциально доступные для биотерроризма, указанные программы пока не в состоянии обеспечить удовлетворительные ответы на все возможные угрозы биотерроризма. Кроме того, многие из патогенов, идентифицированных как потенциально опасные в качестве агентов биотерроризма, не обеспечивают надлежащих экономических стимулов для развития в промышленности терапевтических или профилактических мер. Более того, даже если бы профилактические меры, такие как вакцины, были доступны для каждого патогена, который может использоваться в целях биотерроризма, стоимость введения всех таких вакцин общей численности населения в целом является чрезмерной.

До того, как будут доступны удобные и эффективные способы лечения в отношении каждой угрозы биотерроризма, будет существовать острая необходимость в предотвращающих, профилактических или терапевтических процедурах, позволяющих предотвратить или снизить риск заражения от патогенных агентов.

В настоящем изобретении предложены такие способы профилактического лечения. В одном аспекте предложен способ профилактического лечения, включающий введение профилактически эффективного количества композиций на основе соединений формулы (I) индивидууму, нуждающемуся в профилактическом лечении против инфекции от одного или более воздушно-капельных патогенов. Конкретным примером воздушно-капельного патогена является сибирская язва.

В другом аспекте предложен способ профилактического лечения для снижения риска инфекции от воздушно-капельного патогена, который может вызвать заболевание у человека, где указанный способ включает введение эффективного количества композиций на основе соединений формулы (I) в легкие человека, который может подвергаться риску заражения от воздушно-капельного патогена, вызывающего бессимптомное заболевание, причем указанное эффективное количество блокатора натриевых каналов и осмолита достаточно, чтобы снизить риск инфекции в организме человека. Конкретным примером воздушно-капельного патогена является сибирская язва.

В другом аспекте предложен способ постконтактного профилактического или терапевтического лечения для лечения инфекции воздушно-капельного патогена, включающий введение эффективного количества композиций на основе соединений формулы (I), в легкие индивидууму, нуждающемуся в таком лечении в отношении инфекции воздушно-капельного патогена. Патогены, от которых может быть обеспечена защита с помощью профилактического постконтактного, экстренного и терапевтического способов лечения согласно изобретению включают любые патогены, которые могут попасть в организм через рот, нос или назальные дыхательные пути, таким образом переходя в легкие. Как правило, патогены будут представлять собой воздушно-капельные патогены, как находящиеся в природе, так и после распыления. Патогены могут быть природного происхождения или могут быть введены в окружающую среду в результате намеренного распыления или посредством другого способа введения патогенов в окружающую среду. Множество патогенов, которые не переносятся в воздухе естественным образом, были или могут быть распылены для использования в целях биотерроризма. Патогены, для которых может подходить лечение согласно изобретению включают, но не ограничиваются ими, приоритетные патогены категорий А, В и С, приведенные NIAID. Указанные категории в целом соответствуют спискам, составленным по данным Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC). Как указано CDC, агенты категории А представляют собой агенты, которые могут быть легко распространены или перенесены от человека к человеку, вызывают высокую смертность, обладают потенциалом в отношении серьезных последствий для общественного здравоохранения. Следующие по приоритету агенты категории В включают агенты, которые умеренно легко распространяются и вызывают умеренную заболеваемость и низкую смертность. Категория С состоит из новых патогенов, которые могут быть разработаны для массово-

го распространения в будущем вследствие их доступности, простоты производства и распространения и потенциала в отношении высокой заболеваемости и смертности. Конкретными примерами указанных патогенов являются сибирская язва и чума. Дополнительные патогены, от которых может быть обеспечена защита или риск инфекции которых может быть снижен, включают вирусы гриппа, риновирусы, аденовирусы и респираторно-синцитиальные вирусы и тому подобное. Дополнительный патоген, от которого может быть обеспечена защита, представляет собой коронавирус, который, как полагают, является причиной тяжелого острого респираторного синдрома (англ. severe acute respiratory syndrome, SARS).

Настоящее изобретение также относится к применению композиций на основе блокаторов натриевых каналов формулы I или их фармацевтически приемлемой соли для предотвращения, облегчения и/или лечения детерминированных воздействий на дыхательные пути, вызванных воздействием радиоактивных материалов, в частности, вдыхаемых аэрозолей, содержащих радионуклиды в результате ядерных атак, таких как детонация радиологического рассеивающего устройства (RDD), или несчастных случаев, таких как авария на АЭС. Таким образом, в настоящем изобретении предложен способ предотвращения, облегчения и/или лечения детерминированных воздействий на дыхательные пути и/или другие органы тела, вызванных вдыхаемыми аэрозолями, содержащими радионуклиды, у реципиента, нуждающегося в этом, в том числе у человека, нуждающегося в этом, причем указанный способ включает введение указанному человеку эффективного количества композиций на основе соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

Одной из основных проблем, связанных с управлением последствиями при воздействии на представителей общественности вдыхаемых аэрозолей, содержащих радионуклиды в результате ядерных атак, таких как детонация радиологического рассеивающего устройства (RDD), или несчастных случаев, таких как авария АЭС, является предотвращение, облегчение или лечение потенциальных детерминированных воздействий на дыхательные пути, в первую очередь на легкие. Необходимо иметь лекарственные средства, методики и процедуры, и обученный персонал, подготовленный для управления и лечения таких высокопораженных лиц.

Было проведено исследование с целью определения способов предотвращения, облегчения или лечения потенциального повреждения дыхательных путей и различных органов в организме, вызванного внутренними осажденными радионуклидами. На сегодняшний день большая часть исследований была сосредоточена на стратегиях, направленных на облегчение медицинских последствий от внутренних осажденных радионуклидов за счет ускорения их выведения или удаления. Указанные стратегии были направлены на растворимые химические формы, способные поступать в кровоток, и которые осаждаются на удаленных системных сайтах, специфичных по отношению к заданному радиоэлементу. Такие подходы не будут работать в тех случаях, когда осажденные радионуклиды находятся в относительно нерастворимой форме. Исследования показали, что множество, если не большинство физико-химических форм радионуклидов, распыляемых из радиологических распыляющих устройств (англ. Radiological Dispersion Device, RDD), будет в относительно нерастворимой форме.

Единственным известным способом, эффективно уменьшающим дозу облучения легких от вдыхаемых нерастворимых радиоактивных аэрозолей, является бронхоальвеолярный лаваж или БАЛ. Было показано, что указанный способ, который был доработан из уже используемого способа для лечения пациентов с альвеолярным протеинозом, является безопасной, воспроизводимой процедурой, даже когда выполняется в течение длительного периода времени. Хотя существуют различия в процедуре, основной метод БАЛ включает введение обезболивающего субъекту, затем медленное введение изотонического солевого раствора в одну долю легкого, пока не будет достигнута функциональная остаточная ёмкость. Затем добавляют дополнительные объемы и выводят самотеком.

Результаты исследований с использованием БАЛ на животных показывают, что примерно 40% глубокого содержимого в легких может быть удалено посредством разумной последовательности БАЛ. В некоторых исследованиях встречались значительные различия в количестве извлеченных радионуклидов среди животных. Причины изменчивости в настоящее время не известны.

Кроме того, на основании исследования животных, полагают, что значительное снижение дозы в результате терапии БАЛ приводит к облегчению медицинских последствий при вдыхании нерастворимых радионуклидов. В указанном исследовании, взрослые собаки вдыхали нерастворимые частицы ^{144}Ce -FAP. Две группы собак получали содержание ^{144}Ce в легких, вызывающее радиационный пневмонит и фиброз легких (примерно 2 МБк/кг массы тела), одна группа проходила 10 односторонних лаважей между 2 и 56 сутками после воздействия, другая оставалась без лечения. Третья группа подвергалась воздействию на уровне ^{144}Ce , сравнимого с воздействием в группе, обработанной БАЛ, после лечения (примерно 1 МБк/кг), но указанные животные не подвергались лечению. Всем животным позволяли прожить в течение своей продолжительности жизни, которая составляла 16 лет. Поскольку существовали различия в исходном содержании ^{144}Ce в легких у собак в каждой группе, уровни дозы и суммарные дозы для каждой группы перекрывались. Тем не менее, эффект БАЛ в снижении риска пневмонита/фиброза был очевиден из кривых выживаемости. У необработанных собак содержание в легких составляло 1,5-2,5 МБк/кг, среднее время выживания составило 370 ± 65 суток. Для обработанных собак среднее время вы-

живания составило 1270 ± 240 суток, причем оно было статистически значительно различно. Третья группа, которая получила содержание ^{144}Ce в легких в количестве 0,6-1,4 МБк, имела среднее время выживания 1800 ± 230 , которое статистически не отличалось от обработанной группы. Не менее важно, что с увеличением выживаемости, собаки необработанной группы с высокой дозой умерли от детерминированных эффектов в легких (пневмония/фиброз), в то время как обработанные собаки не умерли. Вместо этого, обработанные собаки, такие как собаки необработанной группы с низкими дозами, в основном имели опухоли легких (гемангиосаркома или карцинома). Таким образом, по видимому, снижение дозы в результате лечения БАЛ приводило к биологическим эффектам в легких, которые были предсказуемы на основании доз облучения, получаемых легкими.

На основании этих результатов полагают, что дополнительное уменьшение остаточной радиологической дозы с помощью любого способа или комбинации способов повышения клиренса частиц из легких приведет к большему снижению вероятности возникновения воздействия на легкие. Тем не менее, БАЛ - это процедура, имеющая множество недостатков. БАЛ является высокоинвазивной процедурой, которая должна быть выполнена в специализированных медицинских центрах обученными пульмонологами. Таким образом, БАЛ является дорогой процедурой. Учитывая недостатки БАЛ, он не подходит в качестве варианта лечения, который будет легко и немедленно доступен лицам, нуждающимся в ускоренном удалении радиоактивных частиц, например, в случае ядерной атаки. В случае ядерной атаки или ядерной аварии, необходимо немедленное и относительно легко вводимое лечение для лиц, подвергнутых или имеющих риск подвергнуться воздействию. Было показано, что блокаторы натриевых каналов, вводимые в виде аэрозолей для ингаляции, восстанавливают гидратацию поверхностей дыхательных путей. Такая гидратация поверхностей дыхательных путей помогает в очистке накопившихся выделений слизи и связанных твердых частиц из легких. Таким образом, не будучи связанными какой-либо конкретной теорией, полагают, что блокаторы натриевых каналов можно использовать для ускорения удаления радиоактивных частиц из проходов дыхательных путей.

Как обсуждалось выше, наибольший риск для легких вследствие радиологической атаки, например, грязной бомбы, вытекает из ингаляции и удержания нерастворимых радиоактивных частиц. В результате удержания радиоактивных частиц, кумулятивное воздействие на легкие значительно увеличивается, что, в конечном счете, приводит к фиброзу легких/пневмониту и, потенциально, к смерти. Нерастворимые частицы не могут системно очищаться хелатирующими агентами, так как указанные частицы не находятся в растворе. На сегодняшний день, физическое удаление твердых частиц через БАЛ является единственным терапевтическим режимом, демонстрирующим эффективность облегчения радиационно-индуцированных заболеваний легких. Как обсуждалось выше, БАЛ не является реалистичным лечебным решением для снижения действия радиоактивных частиц, которые были ингаляционно введены в организм. Таким образом, необходимо обеспечить терапевтический режим, эффективно способствующий выведению радиоактивных частиц из проходов дыхательных путей, и который, в отличие от БАЛ, является относительно простым в применении и масштабируемым при крупномасштабном сценарии радиационного воздействия. Кроме того, также необходимо, чтобы указанный терапевтический режим был легко доступен для множества людей в течение относительно короткого периода времени.

В одном аспекте настоящего изобретения предложен способ предотвращения, облегчения и/или лечения детерминированных воздействий на дыхательные пути и/или другие органы тела, вызванных вдыхаемыми аэрозолями, содержащими радионуклиды, включающий введение эффективного количества композиций на основе блокатора натриевых каналов Формулы I или его фармацевтически приемлемой соли индивидууму, нуждающемуся в этом. Согласно одному из признаков указанного аспекта, блокатор натриевых каналов вводят в сочетании с осмолитом. Согласно дополнительному признаку осмолит представляет собой гипертонический солевой раствор (HS). Согласно еще одному признаку блокатор натриевых каналов и осмолит вводят в сочетании с модулятором ионного переноса. Согласно дополнительному признаку указанный модулятор ионного переноса может быть выбран из группы, состоящей из агонистов, CFTR потенцирующих средств, агонистов пуринаergic рецептора, лубипростона и ингибиторов протеазы. Согласно другому признаку указанного аспекта радионуклиды выбраны из группы, состоящей из кобальт-60, цезий-137, иридий-192, радий-226, фосфор-32, стронций-89 и 90, йод-125, таллий-201, свинец-210, торий-234, уран-238, плутоний, кобальт-58, хром-51, америций и кюрий. Согласно дополнительному признаку радионуклиды представляют собой радионуклиды из радиоактивного распыляющего устройства. Согласно еще одному признаку, блокатор натриевых каналов или его фармацевтически приемлемую соль вводят в аэрозольной суспензии вдыхаемых частиц, которые вдыхает индивидуум. Согласно дополнительному признаку, блокатор натриевых каналов или его фармацевтически приемлемую соль вводят после воздействия радионуклидами.

Композиции

В изобретении предложены композиции, в частности фармацевтические композиции (такие как ингалируемые фармацевтические композиции), содержащие фармацевтически эффективное количество соединения согласно изобретению в качестве активного ингредиента, и фармацевтически приемлемый наполнитель, разбавитель или носитель. В настоящем описании термин "активный ингредиент" относит-

ся к любому соединению согласно изобретению или комбинации двух или более соединений согласно изобретению в фармацевтической композиции. Также предложены конкретные варианты реализации, согласно которым фармацевтическая композиция содержит фармацевтически эффективное количество соединения формул (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II), или его фармацевтически приемлемую соль, независимо или в комбинации, и фармацевтически приемлемый наполнитель, разбавитель или носитель.

Согласно некоторым вариантам реализации указанная фармацевтическая композиция содержит фармацевтически эффективное количество соединения формул (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II), или его фармацевтически приемлемую соль, независимо или в комбинации, в разбавителе. Согласно отдельным вариантам реализации указанная фармацевтическая композиция содержит фармацевтически эффективное количество соединения формул (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II), или его фармацевтически приемлемую соль, в гипертоническом солевом растворе, стерильной воде и гипертоническом солевом растворе, соответственно, причем концентрация указанного солевого раствора может быть такой, как описано в настоящем документе. Согласно одному из вариантов реализации концентрация указанного солевого раствора составляет 0,17% мас./об. и согласно другому 2,8% мас./об.

Также предложен набор, содержащий i) фармацевтически эффективное количество соединения формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II) или его фармацевтически приемлемой соли; ii) один или более фармацевтически приемлемых наполнителей, носителей или разбавителей; iii) инструкции по введению соединения группы i) и наполнителей, носителей, или разбавителей группы ii) субъекту, нуждающемуся в этом; и iv) контейнер. Субъект, нуждающийся в этом, включает любой субъект, нуждающийся в способах лечения, описанных в настоящем документе, в частности, включая человека, нуждающегося в этом. Дополнительные варианты реализации также включают устройство для распыления аэрозоля, выбранное из группы небулайзера, включая вибрирующие ячеистые небулайзеры (vibrating mesh nebulizers) и струйные небулайзеры, ингалятора сухого порошка, включая активные и пассивные ингаляторы сухого порошка, и дозирующего ингалятора, включая дозирующие ингаляторы под давлением, дозирующие ингаляторы сухого порошка, а также жидкостные (soft mist) дозирующие ингаляторы.

Согласно одному из вариантов реализации набор содержит i) от примерно 10 нг до примерно 10 мг соединения формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II) или его фармацевтически приемлемой соли, на дозу; ii) от примерно 1 до примерно 5 мл разбавителя на дозу; iii) инструкции по введению соединения группы i) и разбавителя группы ii) субъекту, нуждающемуся в этом; и; iv) контейнер. Согласно дополнительному варианту реализации указанный разбавитель представляет собой от примерно 1 до примерно 5 мл солевого раствора, описанного в настоящем документе, на дозу. Согласно дополнительному варианту реализации указанный разбавитель представляет собой от примерно 1 до примерно 5 мл гипотонического солевого раствора на дозу. Согласно другому варианту реализации указанный разбавитель представляет собой от примерно 1 до примерно 5 мл гипертонического солевого раствора на дозу. Согласно дополнительному варианту реализации указанный разбавитель представляет собой от примерно 1 до примерно 5 мл стерильной воды на дозу.

Также предложен набор, содержащий i) раствор, содержащий фармацевтически эффективное количество соединения формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II) или его фармацевтически приемлемой соли; растворенного в фармацевтически приемлемом разбавителе; iii) инструкции по введению указанного раствора группы i) субъекту, нуждающемуся в этом; и iii) контейнер.

Также предложен набор, содержащий i) раствор, содержащий от примерно 10 нг до примерно 10 мг соединения формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II) или его фармацевтически приемлемой соли; растворенного в фармацевтически приемлемом разбавителе; iii) инструкции по введению указанного раствора группы i) субъекту, нуждающемуся в этом; и iii) контейнер. Согласно дополнительному варианту реализации указанный разбавитель представляет собой от примерно 1 до примерно 5 мл солевого раствора, описанного в настоящем документе, на дозу.

Другой вариант реализации включает набор, содержащий i) фармацевтически эффективное количество соединения формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II) или его фармацевтически приемлемой соли; в составе сухого порошка, подходящем для ингаляции ii) один или более фармацевтически приемлемых наполнителей или носителей, подходящих для ингаляции; iii) инструкции по введению указанного соединения группы i) и указанных наполнителей или носителей группы ii) субъекту, нуждающемуся в этом; и; iv) контейнер. Согласно дополнительному варианту реализации указанный набор также содержит ингалятор сухого порошка, подходящий для доставки состава сухого порошка реципиенту. Указанный ингалятор сухого порошка может представлять собой, согласно дополнительным вариантам реализации, однократный ингалятор или многократный ингалятор.

Дополнительные варианты реализации каждого из наборов, описанных в настоящем документе, включают наборы, в которых концентрация соединения формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), (Ih), (Ii), (Ij), (Ik) и (II) или его фармацевтически приемлемой соли на дозу представляет собой одну из эффективных диапазонов доз, описанных в настоящем документе, включая а) от примерно 0,1 мкг до примерно

1000 мкг; b) от примерно 0,5 мкг до примерно 0,5 мг; и c) от примерно 0,5 мкг до примерно 50 мкг.

Для каждого из наборов, описанных выше, существует дополнительный вариант реализации, в котором разбавитель представляет собой гипертонический солевой раствор с концентраций, описанной в настоящем документе. Согласно другому варианту реализации для каждого набора разбавитель представляет собой гипотонический солевой раствор с концентраций, описанной в настоящем документе. Согласно дополнительному варианту реализации для каждого набора, разбавитель представляет собой стерильную воду, подходящую для ингаляции.

Фармацевтически приемлемые наполнитель(и), разбавитель(и) или носитель(и) должны быть приемлемыми в смысле совместимости с другими ингредиентами состава и не вредным для реципиента. Как правило, фармацевтически приемлемые наполнитель(и), растворитель(и) или носитель(и), используемые в фармацевтическом составе, являются "нетоксичными", что означает, что он/они считаются безопасными для употребления в количестве, доставляемом в составе, и "инертными", что означает, что он/они не вступают в реакцию или приводят к нежелательному эффекту в отношении терапевтической активности активного ингредиента(ов). Фармацевтически приемлемые наполнители, разбавители и носители являются традиционными в данной области техники и могут быть выбраны с использованием обычных методов, основанных на желаемом способе введения. См. Remington's, Pharmaceutical Sciences, Lippincott Williams & Wilkins; 21st Ed (May 1, 2005). Предпочтительно, фармацевтически приемлемые наполнитель(и), разбавитель(и) или носитель(и) в целом признаны безопасными (англ. Generally Regarded As Safe, GRAS) согласно правилам Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (англ. Food and Drug Administration, FDA).

Фармацевтические композиции согласно изобретению включают составы, подходящие для перорального введения; парентерального введения, в том числе подкожного, внутривенного, внутримышечного, внутривенного и внутрисуставного введения; местного применения, в том числе местного нанесения на кожу, глаза, уши и т.д.; вагинального или ректального введения и введения в дыхательные пути, в том числе носовые полости и пазухи, полости рта и экстраторакальные дыхательные пути, и легкие, в том числе с использованием аэрозолей, которые могут быть доставлены с помощью различных видов ингаляторов сухого порошка, дозирующих ингаляторов под давлением, жидкостных (softmist) ингаляторов, небулайзеров или инсуффляторов. Наиболее подходящий путь введения может зависеть от нескольких факторов, включая пациента и состояния или нарушения, подлежащего лечению.

Составы могут быть представлены в единичной дозированной форме или в объемной форме, например, в случае составов, которые будут дозированы с помощью ингалятора, и могут быть получены любым из способов, хорошо известных в области фармации. Как правило, указанные способы включают стадию приведения активного ингредиента в ассоциацию с носителем, разбавителем или наполнителем и, возможно, одним или более вспомогательным ингредиентом. В целом, составы получают путем равномерного и тщательного смешивания активного ингредиента с одним или более жидким носителем, разбавителем или наполнителем или тонко измельченными твердыми носителями, разбавителями или наполнителями, или и тем и другим, и затем, если необходимо, формованием продукта в желательный состав.

Согласно одному из предпочтительных вариантов реализации указанная композиция представляет собой ингалируемую фармацевтическую композицию, подходящую для ингаляции и доставки в эндобронхиальное пространство. Как правило, такая композиция присутствует в форме аэрозоля, содержащего частицы для доставки с использованием небулайзера, дозирующего ингалятора под давлением (англ. metered dose inhaler, MDI), жидкостного (softmist) ингалятора или ингалятора сухого порошка (англ. dry powder inhaler, DPI). Аэрозольный состав, используемый в способах согласно настоящему изобретению, может представлять собой жидкость (например, раствор), подходящую для введения с помощью небулайзера, жидкостного (softmist) ингалятора или MDI, или сухого порошка, подходящего для введения с помощью MDI или DPI.

Аэрозоли, используемые для введения лекарственных средств в дыхательные пути, как правило, полидисперсны, то есть они состоят из частиц различных размеров. Распределение частиц по размерам, как правило, описывается масс-медианным аэродинамическим диаметром (англ. Mass Median Aerodynamic Diameter, MMAD) и геометрическим стандартным отклонением (англ. Geometric Standard Deviation, GSD). Для оптимальной доставки лекарственного средства в эндобронхиальное пространство MMAD составляет от примерно 1 до примерно 10 мкм и предпочтительно от примерно 1 до примерно 5 мкм, и GSD составляет менее 3, предпочтительно менее примерно 2. Аэрозоли, имеющие MMAD выше 10 мкм, как правило, слишком большие, чтобы достичь легких при ингаляции. Аэрозоли с GSD более примерно 3 не являются предпочтительными для доставки в легкие, поскольку они обеспечивают высокое содержание лекарственного средства в ротовой полости. Для достижения этих размеров частиц в составе в виде порошка, размер частиц активного ингредиента может быть уменьшен с использованием традиционных способов, таких как микронизация или сушка распылением. Неограничивающие примеры других процессов или методов, которые могут быть использованы для получения вдыхаемых частиц, включают сушку распылением, осаждение, сверхкритическую жидкость и лиофилизацию. Целевую фракцию можно отделить посредством воздушной сортировки или просеивания. В одном из вариантов

реализации частицы являются кристаллическими. Для жидких составов, размер частиц определяется выбором конкретной модели небулайзера, жидкостного (softmist) ингалятора или MDI.

Распределение частиц аэрозоля по размерам определяют с использованием устройств, хорошо известных в данной области техники. Например, многоступенчатый каскадный импактор Андерсона или другой подходящий способ, такой как способы, приведенные в Фармакопее США Глава 601 в качестве характеризующих устройств для аэрозолей, высвобождаемых из дозирующих ингаляторов и ингаляторов сухого порошка.

Сухие порошковые композиции для местной доставки в легкие путем ингаляции могут быть получены без наполнителя или носителя, и вместо этого включают только активные ингредиенты в форме сухого порошка, имеющего подходящий размер частиц для ингаляции. Сухие порошковые композиции могут также содержать смесь активного ингредиента и подходящей порошковой основы (вещества носителя/разбавителя/наполнителя), такие как моно-, ди- или полисахаридов (например, лактоза или крахмал). Лактоза, как правило, является предпочтительным наполнителем для сухих порошковых составов. Когда используют твердый наполнитель, такой как лактоза, в целом, размер частиц наполнителя будет гораздо больше, чем активного ингредиента, для облегчения дисперсии состава в ингаляторе.

Неограничивающие примеры ингаляторов сухого порошка включают резервуарные многодозовые ингаляторы, многодозовые ингаляторы с предварительно отмеренной дозой, капсульные ингаляторы и однодозовые одноразовые ингаляторы. Резервуарный ингалятор содержит большое количество доз (например, 60) в одном контейнере. До ингаляции, пациент приводит в действие ингалятор, что вызывает дозирование одной дозы лекарственного средства ингалятором из резервуара и подготовку ее для ингаляции. Примеры резервуарных DPI включают, но не ограничиваются ими Turbohaler® от AstraZeneca и ClickHaler® от Vectura.

В случае многодозового ингалятора с предварительно отмеренной дозой каждая индивидуальная доза была получена в отдельном контейнере, и приведение в действие ингалятора до ингаляции вызывает высвобождение новой дозы лекарственного средства из ее контейнера и подготовку ее для ингаляции.

Примеры многодозовых ингаляторов

DPI включают, но не ограничиваются ими, Diskus® от GSK, Gyrohaler® от Vectura и Prohaler® от Valois. Во время ингаляции, поток при вдохе пациента ускоряет выход порошка из устройства в полость рта. Для капсульного ингалятора, состав находится в капсуле и хранится вне ингалятора. Пациент помещает капсулу в ингалятор, приводит в действие ингалятор (прокалывает капсулу), а затем вдыхает. Примеры включают RotoHale™ (GlaxoSmithKline), Spinhaler™ (Novartis), HandiHaler™ (IB), TurboSpin™ (PH&T). В случае однодозового одноразового ингалятора пациент приводит в действие ингалятор, чтобы подготовить его для ингаляции, вдыхает, затем выбрасывает ингалятор и упаковку. Примеры включают Twincer™ (U Groningen), OneDose™ (GFE) и Manta Inhaler™ (Manta Devices).

Как правило, ингаляторы сухого порошка используют характеристики турбулентного потока пути порошка для диспергирования агрегатов наполнитель-лекарственное средство, и частицы активного ингредиента осаждаются в легких. Однако некоторые ингаляторы сухого порошка используют циклонную дисперсионную камеру для получения частиц требуемого дыхательного размера. В циклонной дисперсионной камере, лекарственное средство поступает дисперсионную камеру в форме монеты по касательной, так что воздушный поток и лекарственное средство двигаются вдоль наружной круговой стенки. Когда лекарственное средство движется вдоль наружной круговой стенки, оно отскакивает и агломераты распадаются вследствие воздействия ударных сил. Поток воздуха движется спирали по направлению к центру камеры, выходя по вертикали. Частицы, которые имеют достаточно небольшие аэродинамические размеры, могут следовать по потоку воздуха и покинуть камеру. В сущности, дисперсионная камера работает как небольшая струйная мельница. В зависимости от специфики состава, крупные частицы лактозы могут быть добавлены к составу для облегчения дисперсии посредством столкновения с частицами API.

Однодозовый одноразовый ингалятор Twincer™ использует для работы циклонную дисперсионную камеру в форме монеты, называемую "воздушным классификатором". См. публикацию заявки на патент США № 2006/0237010 на имя Rijksuniversiteit Groningen. В статьях, опубликованных в Университете Гронингена, сообщалось, что 60 мг доза чистого микронизированного сульфометата колистина может быть эффективно доставлена в качестве ингаляционного сухого порошка с использованием указанной технологии.

В предпочтительных вариантах реализации аэрозольный состав доставляют в виде сухого порошка с использованием ингалятора сухого порошка, где частицы, выпускаемые из ингалятора, имеют MMAD в диапазоне от примерно 1 мкм до приблизительно 5 мкм и GSD менее примерно 2.

Примеры подходящих ингаляторов сухих порошков и порошковых дисперсионных устройств для использования для доставки соединений и композиций в соответствии с настоящим изобретением, включают, но не ограничиваются ими, те, которые описаны в US7520278; US7322354; US7246617; US7231920; US7219665; US7207330; US6880555; US5,522,385; US6845772; US6637431; US6329034; US5458135; US4805811; и публикацию заявки на патент США 2006/0237010.

Согласно одному из вариантов реализации фармацевтический состав согласно изобретению представляет собой сухой порошок для ингаляции, полученный для доставки с помощью устройства типа Diskus®. Устройство Diskus® включает удлиненную полосу, образованную из подложки, имеющей множество выемок, расположенных вдоль ее длины, и покрывающий лист, присоединенный герметично, но с возможностью снятия, для разделения множества контейнеров, каждый контейнер содержит внутри ингаляционный состав, содержащий заданное количество активного ингредиента отдельно или в смеси с одним или более носителями или наполнителями (например, лактозой) и/или другими терапевтически активными агентами. Предпочтительно, полоска является достаточно гибкой, чтобы быть смотанной в рулон. Покрывающий лист и подложка предпочтительно имеют ведущие концевые части, которые не присоединены друг к другу, и по меньшей мере одна из ведущих концевых частей выполнена присоединенной к наматываемому средству. Кроме того, герметичное уплотнение между листом подложки и покрывающим листом предпочтительно проходит по всей их ширине. Для получения дозы для ингаляции покрывающий лист предпочтительно может быть очищен от подложки в продольном направлении от первого конца подложки.

Согласно одному из вариантов реализации фармацевтический состав согласно изобретению представляет собой сухой порошок для ингаляции, полученный для доставки с использованием однодозового одноразового ингалятора и, в частности, ингалятора Twincer™. Ингалятор Twincer™ содержит блистер из ламината фольги с одной или более выемками и покрывающий лист, присоединенный герметично, но с возможностью снятия, для разделения множества контейнеров. Каждый контейнер содержит ингаляционный состав, содержащий заданное количество активного ингредиента(ов) по отдельности или в смеси с одним или более носителями или наполнителями (например, лактозой). Покрывающий лист предпочтительно имеет ведущую концевую часть, выполненную выступающей из корпуса ингалятора. Пациент будет управлять устройством и тем самым вводить аэрозольный состав 1) удалив наружную упаковочную пленку, 2) потянув за вкладку фольги, чтобы раскрыть лекарственное средство в блистере и 3) вдохнув лекарственное средство из блистера.

Согласно одному из вариантов реализации фармацевтический состав согласно изобретению представляет собой сухой порошок для ингаляции, в котором сухой порошок получен в виде микрочастиц, как описано в публикациях PCT WO2009/015286 или WO2007/114881, обе на имя NexBio. Такие микрочастицы, как правило, получают путем добавления противоиона к раствору, содержащему соединение согласно изобретению в растворителе, добавления антирастворителя к указанному раствору, и постепенного охлаждения раствора до температуры ниже примерно 25°C с образованием композиции, содержащей микрочастицы, содержащие соединение. Микрочастицы, содержащие соединение, затем можно отделить от раствора с помощью любых подходящих средств, таких как осаждение, фильтрование или лиофилизация. Подходящие противоионы, растворители и антирастворители для получения микрочастиц соединений согласно изобретению описаны в WO2009/015286.

Согласно другому варианту реализации фармацевтическую композицию согласно изобретению доставляют в виде сухого порошка с использованием дозирующего ингалятора. Неограничивающие примеры дозирующих ингаляторов и устройств включают устройства, описанные в патентах США US5261538; US5544647; US5622163; US4955371; US3565070; US3361306 и US6116234 и US7108159. В предпочтительном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению доставляют в виде сухого порошка с использованием дозирующего ингалятора, в котором высвобождаемые частицы имеют MMAD, которое находится в диапазоне приблизительно от 1 мкм до примерно 5 мкм и GSD, составляющее меньше примерно 2.

Жидкие аэрозольные композиции для доставки в эндобронхиальное пространство или легкое посредством ингаляции можно, например, получить в виде водных растворов или суспензий или в виде аэрозолей, извлекаемых из упаковок под давлением, таких как дозирующие ингаляторы, с использованием подходящих сжиженных пропеллентов, жидкостных (softmist) ингаляторов или небулайзеров. Такие аэрозольные композиции, подходящие для ингаляции, могут представлять собой или суспензию, или раствор и, как правило, содержат активный ингредиент(ы) вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем (например, водой (стерильной или дистиллированной), физиологическим раствором, гипертоническим солевым раствором или этанолом) и необязательно один или более других терапевтически активных агентов.

Аэрозольные композиции для доставки с помощью дозирующих ингаляторов под давлением обычно дополнительно содержат фармацевтически приемлемый пропеллент. Примеры таких пропеллентов включают фторуглерод или водородсодержащий хлорфторуглерод или их смеси, в частности гидрофторалканы, например, дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, особенно 1,1,1,2-тетрафторэтан, 1,1,1,2,3,3,3-гептафтор-н-пропан или их смеси. В аэрозольные композиции могут не содержать наполнитель или могут необязательно содержать дополнительные наполнители, хорошо известные в данной области техники, такие как поверхностно-активные вещества, например, олеиновую кислоту или лецитин и сорастворители, например, этанол. Составы под давлением обычно будут храниться в баллоне (например, в алюминиевом баллоне), закрытом клапаном (например, дозирующим клапаном) и

встроенном в механизм, снабженным мундштуком.

Согласно другому варианту реализации фармацевтическую композицию согласно изобретению доставляют в виде жидкости с помощью дозирующего ингалятора. Неограничивающие примеры дозирующих ингаляторов и устройств включают устройства, описанные в патентах США №№ 6253762, 6413497, 7601336, 7481995, 6743413, и 7105152. В предпочтительном варианте реализации соединение согласно настоящему изобретению доставляют в виде сухого порошка с использованием дозирующего ингалятора, в котором высвобождаемые частицы имеют MMAD, которое находится в диапазоне примерно от 1 мкм до примерно 5 мкм и GSD, составляющее меньше примерно 2.

Согласно одному из вариантов реализации аэрозольный состав подходит для распыления с помощью струйного небулайзера или ультразвукового небулайзера, включая статические и вибрационные небулайзеры с пористыми пластинами. Жидкие аэрозольные составы для распыления могут быть получены путем солюбилизации или восстановления состава твердых частиц или могут быть получены с водным носителем с добавлением агентов, таких как кислота или щелочь, буферные соли и агенты, регулирующие изотоничность. Они могут быть стерилизованы в процессе производства методами, такими как фильтрование или термическими способами, такими как нагревание в автоклаве или гамма-облучение. Они также могут быть представлены в нестерильной форме.

Пациенты могут быть чувствительны к pH, осмоляльности и содержанию ионов распыленного раствора. Поэтому указанные параметры должны быть скорректированы в отношении совместимости с активным ингредиентом и переносимости пациентами. Наиболее предпочтительный раствор или суспензия активного ингредиента будет содержать концентрацию хлорида >30 mM при pH 4,5-7,4, предпочтительно 5,0-5,5, и осмоляльность от примерно 800-1600 мОсм/кг. pH раствора можно контролировать либо титрованием с обычными кислотами (например, соляной кислотой или серной кислотой) или основаниями (например, гидроксидом натрия) или с использованием буферов. Обычно используемые буферы включают цитратные буферы, такие как буфер лимонная кислота/цитрат натрия, ацетатные буферы, такие как буфер уксусная кислота/ацетат натрия и фосфатные буферы. Буферная сила может варьироваться от 2 до 50 mM.

Подходящие ацетатные, фосфатные, цитратные буферы включают ацетат натрия, тригидрат ацетата натрия, ацетат аммония, ацетат калия, фосфат натрия, двухосновный фосфат натрия, дигидрофосфат натрия, дигидрофосфат калия, гидрофосфат калия, фосфат калия, цитрат натрия и цитрат калия. Другие буферы, которые могут быть использованы, включают гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид аммония, аминотетрапропанол, триметамин, тетрагидроксипропилэтилендиамин, лимонную кислоту, уксусную кислоту, гидрокситрикарбоновую кислоту или ее соль, например, цитрат или соль цитрат натрия, молочную кислоту и соли молочной кислоты, включая лактат натрия, лактат калия, лактат лития, лактат кальция, лактат магния, бария, лактат алюминия, лактат цинка, лактат серебра, лактат меди, лактат железа, лактат марганца, лактат аммония, моноэтаноламин, диэтаноламин, триэтаноламин, диизопропаноламин, а также их комбинации, и тому подобное.

Такие составы можно вводить с использованием коммерчески доступных небулайзеров или других распылителей, которые могут разбить состав на частицы или капли, подходящие для осаждения в дыхательных путях. Неограничивающие примеры небулайзеров, которые могут быть использованы для аэрозольной доставки композиции согласно изобретению, включают пневматические струйные небулайзеры, вентилируемые или усиленные дыханием струйные небулайзеры, или ультразвуковые небулайзеры, включая статические или вибрирующие небулайзеры с пористыми пластинами. Коммерчески доступные небулайзеры включают небулайзер Aeroneb® Go (Aerogen) и небулайзер eFlow (Pari Pharma).

Струйный небулайзер использует высокоскоростной потока воздуха, высвобождающийся вверх через колонку с водой с получением капель. Частицы, неподходящие для ингаляции, оседают на стенках или аэродинамических перегородках. Вентилируемый или усиленный дыханием небулайзер работает по существу таким же образом, как струйный небулайзер, за исключением того, что вдыхаемый воздух проходит через область генерации основной капли для увеличения скорости выходного потока небулайзера во время вдоха пациента.

В ультразвуковом небулайзере вибрация пьезоэлектрического кристалла создает поверхностные возмущения в резервуаре лекарственного средства, которые вызывают образование капель. В небулайзерах с пористой пластиной поля давления, генерируемые звуковой энергией проталкивает жидкость через сетку пор, где она распадается на капли по распаду Рэлея. Звуковая энергия может обеспечиваться вибрирующим горном или пластиной, приводимой в действие пьезоэлектрическим кристаллом, или за счет вибрации самой сетки. Неограничивающие примеры распылителей включают любой единичный или двойной распылитель жидкости или сопло, которое производит капельки соответствующего размера. Единичный распылитель жидкости работает за счет проталкивания жидкости через одно или более отверстий, где струя жидкости распадается на капли. Двойной распылитель жидкости работает либо за счет проталкивания газа и жидкости через одно или более отверстий, либо столкновения струи жидкости и другой струи как жидкости, так и газа.

Выбор небулайзера, распыляющего аэрозольный состав, имеет большое значение для введения активного ингредиента(ов). Различные небулайзеры имеют различную эффективность в зависимости от

конструкции и принципа действия и чувствительны к физическим и химическим свойствам состава. Например, два состава с различными поверхностными напряжениями могут иметь различные распределения частиц по размерам. Кроме того, свойства состава, такие как pH, осмоляльность и количество проникающих ионов может повлиять на переносимость лекарственного средства, так что предпочтительные варианты реализации соответствуют определенным значениям указанных свойств.

В предпочтительном варианте реализации состав для распыления доставляют в эндобронхиальное пространство в виде аэрозоля, имеющего MMAD от примерно 1 мкм до примерно 5 мкм и GSD менее 2 с использованием соответствующего небулайзера. Чтобы обеспечить оптимальную эффективность и избежать побочных эффектов в верхних дыхательных путях и системных побочных эффектов, аэрозоль не должен иметь MMAD более примерно 5 мкм и не должен иметь GSD больше примерно 2. Если аэрозоль имеет MMAD более примерно 5 мкм или GSD более примерно 2, большая часть дозы может осадиться в верхних дыхательных путях, уменьшая количество лекарственного средства, поступившего в требуемое место в нижних дыхательных путях. Если MMAD аэрозоля меньше, чем примерно 1 мкм, то большое количество частиц может остаться в суспендированном состоянии во вдыхаемом воздухе и затем может быть выдохнуто при выдохе.

Соединения по изобретению также можно вводить путем трансбронхоскопического лаважа.

Составы, подходящие для перорального введения, могут быть в виде дискретных единиц, таких как капсулы, саше или таблетки, каждая из которых содержит заданное количество активного ингредиента; в виде порошка или гранул; в виде раствора или суспензии в водной жидкости или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или жидкой эмульсии вода-в-масле. Активный ингредиент может также быть в виде саше, болюса, лекарственной каши или пасты.

Таблетка может быть изготовлена прессованием или формованием, необязательно с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены прессованием в соответствующей машине активного ингредиента в свободно-текучей форме, такой как порошок или гранулы, необязательно смешанного со связующими, смазывающим веществом, инертным разбавителем, поверхностно-активным или диспергирующим агентом. Формованные таблетки могут быть изготовлены формованием в соответствующей машине смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем. Таблетки могут быть покрыты или на них могут быть нанесены бороздки, и могут быть получены с обеспечением замедленного или контролируемого высвобождения активного ингредиента.

Составы для местного применения на полости рта, например для трансбуккального или подъязычного введения, включают таблетки для рассасывания, содержащие активный ингредиент в ароматизированной основе, такой как сахароза и гуммиарабик или трагакант, и пастилки, содержащие активный ингредиент в основе, такой как желатин и глицерин или сахароза и акация.

Составы для парентерального введения включают водные и неводные стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые делают этот состав изотоническим с кровью предполагаемого реципиента, и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Составы могут быть в однодозовом или в многодозовых контейнерах, например в герметичных ампулах и виалах, и могут храниться в высушенном замораживанием (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, например физиологического раствора или воды для инъекций непосредственно перед использованием. Инъекционные растворы и суспензии, приготовленные для немедленного приёма, могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток описанного ранее вида.

Пероральные жидкости, такие как растворы, сиропы и эликсиры могут быть получены в форме единичной дозы, так чтобы заданное количество содержало заданное количество активного ингредиента. Сиропы могут быть получены растворением активного ингредиента в ароматизированном соответствующем водном растворе, тогда как эликсиры получают с использованием фармацевтически приемлемого спиртового носителя. Суспензии могут быть получены путем диспергирования активного ингредиента в фармацевтически приемлемом носителе. Солюбилизаторы и эмульгаторы, такие как этоксилированные изостеариловые спирты и эфиры полиоксиэтиленсорбита, консерванты, вкусовые добавки, такие как масло мяты перечной или натуральные подсластители или сахарин, или другие искусственные подсластители и т.п. также могут быть включены в пероральные жидкие композиции.

Системы доставки липосом, такие как небольшие однослойные везикулы, большие однослойные везикулы и многослойные везикулы могут быть также использованы в качестве средства доставки для соединений согласно изобретению. Липосомы могут быть образованы из различных фосфолипидов, таких как холестерин, стеариламин и фосфатидилхолины.

Фармацевтические композиции для местного применения могут быть получены в виде мазей, кремов, суспензий, лосьонов, порошков, растворов, паст, гелей, спреев, аэрозолей или масел. Композиции, предназначенные для лечения глаз или других внешних тканей, например рта и кожи, могут быть нанесены в виде местной мази или крема. При получении в виде мази, активный ингредиент может быть использован с парафиновой или смешивающейся с водой мазевой основой. Альтернативно, активный ин-

градиент может быть получен в виде крема с кремовой основой масло-в-воде или основой типа вода-в-масле.

Другие композиции, предназначенные для местного введения в глаза или уши, включают глазные капли и ушные капли, в которых активный ингредиент растворен или суспендирован в подходящем носителе, таком как, например водный растворитель, в том числе физиологический раствор.

Композиции, предназначенные для назального введения, включают аэрозоли, растворы, суспензии, спреи, аэрозоли и капли. Аэрозольные составы для назального введения могут быть получены во многом таким же образом, как и аэрозольные составы для ингаляции с условием, что частицы невдыхаемого размера будут предпочтительным в составах для назального введения. Как правило, можно использовать частицы размером от примерно 5 мкм вплоть до размера видимых капель. Таким образом, для назального введения можно использовать размер частиц в диапазоне 10-500 мкм с обеспечением удержания в носовой полости.

Также можно использовать трансдермальные пластыри, которые выполнены с возможностью поддержания в контакте с эпидермисом пациента в течение длительного периода времени и стимулирования через него поглощения активного ингредиента.

Композиции для вагинального или ректального введения включают мази, кремы, суппозитории и клизмы, все из которых могут быть получены с использованием традиционных методов.

В другом аспекте в изобретении предложен способ стимулирования гидратации поверхностей слизистых оболочек или восстановления защитного барьера слизистой оболочки у человека, нуждающегося в этом, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции, содержащий соединение согласно изобретению, где указанное соединение вводят в эффективном количестве. Согласно одному из предпочтительных вариантов реализации указанный способ включает введение фармацевтической композиции в виде ингалируемой композиции, содержащей количество соединения согласно изобретению, достаточное для достижения растворенной концентрации соединения на поверхностях дыхательных путей от примерно 10^{-9} , 10^{-8} или 10^{-7} до примерно 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} или 10^{-1} моль/л, более предпочтительно от примерно 10^{-9} до примерно 10^{-4} моль/л.

В другом аспекте в изобретении предложен способ лечения любого заболевания, связанного с обратимой или необратимой обструкцией дыхательных путей, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), астмы, бронхоэктаза (включая бронхоэктазы, вызванные состояниями, отличными от кистозного фиброза), острого бронхита, хронического бронхита, поствирусного кашля, кистозного фиброза, эмфиземы, пневмонии, панбронхиолита, бронхиолита, связанного с трансплантатом, и ИВЛ-связанного трахеобронхита, или предотвращения ИВЛ-связанной пневмонии у человека, нуждающегося в этом, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции, содержащий соединение согласно изобретению, где указанное соединение вводят в эффективном количестве. Согласно одному из предпочтительных вариантов реализации указанный способ включает введение фармацевтической композиции в виде ингалируемой композиции, содержащей количество соединения согласно изобретению, достаточное для достижения растворенной концентрации соединения на поверхностях дыхательных путей от примерно 10^{-9} , 10^{-8} или 10^{-7} до примерно 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} или 10^{-1} моль/л, более предпочтительно от примерно 10^{-9} до примерно 10^{-4} моль/л.

В другом аспекте, в изобретении предложен способ лечения любого из сухости во рту (ксеростомии), сухости кожи, вагинальной сухости, синусита, риносинусита или носового обезвоживания, в том числе носового обезвоживания, вызванного введением сухого кислорода, сухости глаз или болезни Шегрена, стимулирования гидратации глаз или роговицы, лечения синдрома дистальной интестинальной обструкции, лечения среднего отита, первичной цилиарной дискинезии, синдрома дистальной интестинальной обструкции, эзофагита, запора или хронического дивертикулита у человека, нуждающегося в этом, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции, содержащий соединение согласно изобретению, где указанное соединение вводят в эффективном количестве.

Предпочтительные единичные лекарственные формы для соединений согласно изобретению представляют собой формы, содержащие эффективное количество активного ингредиента или его соответствующую фракцию.

Следует понимать, что в дополнение к ингредиентам, в частности, упомянутым выше, композиции согласно настоящему изобретению могут включать другие агенты, традиционные в данной области техники, имеющие отношение к типу рассматриваемой композиции, например, композиции подходящие для перорального введения могут включать вкусовые агенты.

Композиции согласно настоящему изобретению могут быть получены для немедленного, контролируемого или замедленного высвобождения, как необходимо для конкретного состояния, подлежащего лечению, и требуемого способа введения. Например, состав с контролируемым высвобождением для перорального введения может быть желательным для лечения запора, чтобы максимизировать доставку активного агента к толстой кишке. Такие препараты и подходящие наполнители хорошо известны в области фармации. Поскольку свободное основание соединения, в целом, менее растворимо в водных растворах, чем соль, можно использовать композиции, содержащие свободное основание соединения формулы I, для обеспечения более длительного высвобождения активного агента путем ингаляции в легкие.

Активный агент, присутствующий в легких в виде частиц, не растворяющихся в растворе, не доступен для обеспечения физиологического ответа, но служит в качестве депо для биодоступного лекарственного средства, которое постепенно растворяется в растворе. В качестве другого примера, в составе можно использовать как свободное основание, так и солевую форму соединения согласно изобретению для обеспечения как немедленного высвобождения, так и замедленного высвобождения активного ингредиента для растворения в слизистых выделениях, например, в носу.

Комбинации

Соединения согласно изобретению могут быть объединены в процессе получения лекарственной формы и/или использоваться в комбинации с другими терапевтически активными агентами. Примеры других терапевтически активных агентов, которые могут быть объединены в процессе получения лекарственной формы или использованы в комбинации с соединениями настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, осмолиты, противовоспалительные агенты, антихолинергические агенты, β -агонисты (в том числе селективные β_2 -агонисты), агонисты рецепторов P2Y₂, дельта агонисты рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPAR), другие эпителиальные блокаторы натриевых каналов (блокаторы рецепторов ENaC), модуляторы муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (CFTR), ингибиторы киназы, противоинфекционные агенты, антигистаминные средства, неантибиотические противовоспалительные макролиды, эластазы и ингибиторы протеазы, и слизь или муцин модифицирующие агенты, такие как поверхностно-активные вещества. Кроме того, для сердечно-сосудистых показаний, соединения согласно изобретению могут быть использованы в комбинации с бета-блокаторами, ингибиторами ACE, ингибиторами HMGCoA-редуктазы, блокаторами кальциевых каналов и других сердечно-сосудистых агентов.

Таким образом, в другом аспекте, в настоящем изобретении предложены композиции, содержащие эффективное количество соединения согласно изобретению и один или более других терапевтически активных агентов, выбранных из осмолитов, противовоспалительных агентов, антихолинергических агентов, β -агонистов (в том числе селективных β_2 -агонистов), агонистов рецепторов P2Y₂, дельта агонистов PPAR, блокаторов рецепторов ENaC, модуляторов муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (CFTR), ингибиторов киназы, противоинфекционных агентов, антигистаминных средств, неантибиотических противовоспалительных макролидов, эластаз и ингибиторов протеазы, и слизь или муцин модифицирующих агентов, такие как поверхностно-активные вещества. Таким образом, в другом аспекте в настоящем изобретении предложены композиции, содержащие эффективное количество соединения согласно изобретению и один или более других терапевтически активных агентов, выбранных из бета-блокаторов, ингибиторов ACE, ингибиторов HMGCoA-редуктазы и блокаторов кальциевых каналов. Применение соединений согласно изобретению в комбинации с одним или более другими терапевтически активными агентами (в частности, осмолитами) может снизить дозу соединения согласно изобретению, необходимого для достаточной гидратации поверхности слизистых оболочек, тем самым уменьшая возможность появления нежелательных побочных эффектов, связанных с системным блокированием натриевых каналов, таких как, например, в почках.

"Осмолиты", в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой молекулы или соединения, которые являются осмотически активными. "Осмотически активные" молекулы и соединения являются мембрано непроницаемыми (то есть, по существу, не абсорбируемыми) на дыхательных путях или поверхности эпителия легкого. В настоящем описании термины "поверхность дыхательных путей" и "поверхность легкого" включают легочные поверхности дыхательных путей, таких как бронхи и бронхиолы, альвеолярные поверхности и назальные поверхности и поверхностей пазухи. Подходящие осмолиты включают ионные осмолиты (т.е. соли), и неионные осмолиты (т.е. сахара, сахарные спирты и органические осмолиты). В целом, осмолиты (как ионные и неионные), используемые в комбинации с соединениями согласно изобретению представляют собой предпочтительно осмолиты, которые не способствуют, или по существу сдерживают или замедляют рост бактерий. Осмолиты, подходящие для использования в настоящем изобретении, могут быть в рацемической форме или в форме энантиомера, диастереомера, таутомера, полиморфа или псевдополиморфа.

Примеры ионных осмолитов, подходящих для настоящего изобретения, включают любую соль фармацевтически приемлемого аниона и фармацевтически приемлемого катиона. Предпочтительно, либо (или оба) анион и катион являются осмотически активными и не подвержены быстрому активному транспорту, по отношению к поверхности дыхательных путей, на которые их вводят. Такие соединения включают, но не ограничиваются ими, анионы и катионы, которые содержатся в утвержденных FDA коммерчески продаваемых солях; см., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II, pg. 1457 (19th Ed. 1995), и могут быть использованы в любой комбинации, как известно в данной области техники.

Конкретные примеры фармацевтически приемлемых осмотически активных анионов включают, но не ограничиваются ими, ацетат, бензолсульфонат, бензоат, бикарбонат, битартрат, бромид, кальций эдетат, камсилат (камфорсульфонат), карбонат, хлорид, цитрат, дигидрохлорид, эдетат, эдизилат (1,2-этандинсульфонат), эстолат (лаурилсульфат), эзилат (1,2-этандинсульфонат), фумарат, глюцептат, глюко-

нат, глутамат, гликоллиларсанилат (п-гликолламидофениларсонат), гексилрезорцинат, гидрабамин (N,N'-Ди(дегидроабетил)этилендиамин), гидробромид, гидрохлорид, гидроксинафтоат, йодид, изетионат, лактат, лактобионат, малат, малеат, манделат, мезилат, метилбромид, метилнитрат, метилсульфат, мукат, напсилат, нитрат, нитрит, памоат (эмбонат), пантотенат, фосфат или дифосфат, полигалактуронат, салицилат, стеарат, субацетат, сукцинат, сульфат, таннат, тартрат, теоклат (8-хлортеофиллинат), триэтиодид, бикарбонат и т.д. Предпочтительные анионы включают хлорид, сульфат, нитрат, глюконат, йодид, бромид, бикарбонат и фосфат.

Конкретные примеры фармацевтически приемлемых осмотически активных катионов включают, но не ограничиваются ими, органические катионы, такие как бензатин (N,N'-дibenзилэтилендиамин), хлорпрокаин, холин, диэтаноламин, этилендиамин, меглумин (N-метил-D-глюкамин), прокаин, D-лизин, L-лизин, D-аргинин, L-аргинин, триэтиламмоний, N-метил-D глицерин и тому подобное, и катионы металлов, таких как алюминий, кальций, литий, магний, калий, натрий, цинк, железо, аммония и тому подобное. Предпочтительные органические катионы включают 3-углеродные, 4-углеродные, 5-углеродные и 6-углеродные органические катионы. Предпочтительные катионы включают натрий, калий, литий, холин, меглумин, D-лизин, аммоний, магний и кальций.

Конкретные примеры ионных осмолитов, которые могут быть использованы в комбинации с соединением согласно изобретению, включают, но не ограничиваются ими, хлорид натрия (в частности, гипертонический раствор), хлорид калия, хлорид холина, холин йодида, хлорид лития, хлорид меглумаина, хлорид L-лизина, хлорид D-лизина, хлорид аммония, сульфат калия, нитрат калия, глюконат калия, йодид калия, хлорид железа (II), хлорид железа (III), бромид калия и комбинации любых двух или более из указанных выше. В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к комбинации соединения согласно изобретению и двух различных осмотически активных солей. Когда используются различные соли, один из аниона или катиона могут быть одинаковыми среди различных солей. Гипертонический солевой раствора является предпочтительным ионным осмолитом для использования в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению.

Неионные осмолиты включают сахара, сахарные спирты и органические осмолиты. Сахара и сахарные спирты, подходящие в качестве осмолитов для настоящего изобретения, включают, но не ограничиваются ими, 3-углеродные сахара (например, глицерин, дигидроксиацетон); 4-углеродные сахара (например, D и L формы эритрозы, треозы, эритрофулозы); 5-углеродные сахара (например, D и L формы рибозы, арабинозы, ксилозы, ликсозы, пикозы, фруктозы, сорбозы и тагатозы), а также 6-углеродные сахара (например, D и L формы альтозы, аллозы, глюкозы, маннозы, гулозы, идозы, галактозы и талозы и D и L формы аллогептулозы, аллогепулозы, глюкогоптулозы, манногептулозы, гулогоптулозы, идогептулозы, галактогептулозы, талогептулозы). Дополнительные сахара, используемые для осуществления настоящего изобретения, включают раффинозу, олигосахариды раффинозы и стахиозы. Обе D и L формы восстановленной формы каждого сахара/сахарного спирта, также подходят для осуществления настоящего изобретения. Например, глюкоза при восстановлении становится сорбитом; осмолитом в рамках настоящего изобретения. Соответственно, сорбит и другие восстановленные формы сахара /сахарных спиртов (например, маннит, дульцит, арабит) являются подходящими осмолитами для использования в настоящем изобретении. Маннит является предпочтительным неионным осмолитом для использования в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению.

Термин "органические осмолиты", как правило, используется для обозначения молекул, которые контролируют внутриклеточное осмотическое давление в почках. См. например, J. S. Handler et al., *Comp. Biochem. Physiol.* 117, 301-306 (1997); M. Burg, *Am. J. Physiol.* 268, F983-F996 (1995). Органические осмолиты включают, но не ограничиваются ими, три основных класса соединений: полиолы (многоатомные спирты), метиламины и аминокислоты. Подходящие органические полиольные осмолиты включают, но не ограничиваются ими, инозит, миоинозит и сорбит. Подходящие органические метиламинные осмолиты включают, но не ограничиваются ими, холин, бетаин, карнитин (L-, D- и DL формы), фосфорилхолин, лизо-фосфорилхолин, глицерофосфорилхолин, креатин и фосфат креатина. Подходящие аминокислотные органические осмолиты включают, но не ограничиваются ими, D- и L-формы глицина, аланина, глутамина, глутамата, аспартата, пролина и таурина. Дополнительные органические осмолиты, подходящие для использования в настоящем изобретении, включают тигулозу (tihulose) и саркозин. Предпочтительны органические осмолиты для млекопитающих, наиболее предпочтительны органическими осмолитами человека. Тем не менее, некоторые органические осмолиты бактериального, дрожжевого и морского животного происхождения, и указанные соединения также могут быть использованы в настоящем изобретении.

Предшественники осмолитов могут быть использованы в комбинации с соединениями согласно изобретению. В настоящем описании "предшественник осмолита" относится к соединению, которое преобразуется в осмолит на стадии метаболизма, либо катаболизма или анаболизма. Примеры предшественников осмолитов включают, но не ограничиваются ими, глюкозу, полимеры глюкозы, глицерин, холин, фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин и неорганические фосфаты, которые включают предшественники полиолов и метиламинов. Предшественники аминокислотных осмолитов включают белки, пептиды и полиаминокислоты, которые гидролизуются с получением осмолита аминокислоты, и метаболические

предшественники, которые могут быть преобразованы в осмолитические аминокислоты на стадии метаболизма, таких как трансаминирование. Например, предшественник аминокислоты глутамина представляет собой поли-L-глутамин, и предшественником глутамата является поли-L-глутаминовая кислота.

Также могут быть использованы химически модифицированные осмолиты или предшественники осмолитов. Такие химические модификации включают соединение осмолита (или предшественника) с дополнительной химической группой, которая изменяет или усиливает эффект осмолита или предшественника осмолитов (например, ингибирует деградацию молекулы осмолита). Такие химические модификации были использованы с лекарственными средствами или пролекарствами, и известны в данной области техники. (См. например, патент США №№. 4479932 и 4540564; Shek, E. et al., J. Med. Chem. 19:113-117 (1976); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 67:1045-1050 (1978); Bodor, N. et al., J. Med. Chem. 26:313-318 (1983); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 75:29-35 (1986).

Предпочтительные осмолиты для применения в комбинации с соединениями согласно изобретению включают хлорид натрия, особенно гипертонический солевой раствор и маннит.

Для получения 7% и >7% гипертонического раствора, могут особенно подходить составы, содержащие анионы бикарбоната, особенно для дыхательных нарушений с дисфункцией муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (CFTR), таких как CF или ХОБЛ. Последние данные показывают, что, хотя относительное соотношение проводимости HCO_3^- / проводимости Cl^- составляет от 0,1 до 0,2 для одиночных каналов CFTR, активированных цАМФ и АТФ, соотношение в потовом ходе может варьироваться от 0 до практически почти 1,0, в зависимости от условий стимуляции. То есть, комбинирование цАМФ+цГМФ+ α -кетоглутарата может привести к HCO_3^- проводимости CFTR почти равной Cl^- проводимости (Quiton et al. Physiology, Vol. 22, No. 3, 212-225, June 2007). Кроме того, составы 7% и >7% гипертонического раствора солевого раствора, содержащего бикарбонатные анионы, могут особенно подходить вследствие лучшего контроля pH в поверхностной жидкости дыхательных путей. Во-первых, было показано, что подкисление дыхательных путей происходит при CF (Tate и соавт. 2002) и что отсутствующая CFTR-зависимая секреция бикарбонатов может привести к нарушению способности реагировать на состояния дыхательных путей, связанные с подкислением жидкого слоя поверхности дыхательных путей (Coakley et al. 2003). Во-вторых, добавление HS раствора без бикарбоната на поверхности легких может дополнительно разбавить концентрацию бикарбоната и потенциально уменьшить pH или способность реагировать на подкисление дыхательных путей в жидком слое поверхности дыхательных путей. Поэтому добавление бикарбонатных анионов в HS может способствовать сохранению или улучшению pH жидкого слоя поверхности дыхательных путей у пациентов с CF.

В связи с указанными данными, включение бикарбонатного аниона в состав 7% или >7% гипертонического солевого раствора, вводимого с помощью способа согласно данному изобретению, будет особенно полезным. Составы, содержащие 30-200 мМ концентрации бикарбонатных анионов представляют особый интерес для 7% или >7% HS растворов.

Полагают, что гипертонический солевой раствор содержит соль концентрации большей, чем у нормального физиологического раствора (NS), то есть больше, чем 9 г/л или 0,9% мас./об., и гипотонический солевой раствор содержит соль концентрации меньшей, чем нормального физиологического раствора, например, от примерно 1 г/л или 0,1% мас./об. до примерно 8 г/л или 0,8% мас./об. Гипертонические солевые растворы, подходящие для составов и способов лечения, предложенных в настоящем изобретении, могут иметь концентрацию соли от примерно 1% до примерно 23,4% (мас./об.). Согласно одному из вариантов реализации указанный гипертонический солевой раствор имеет концентрацию соли от примерно 60 г/л (6% мас./об.) до примерно 100 г/л (10% мас./об.). Согласно другому варианту реализации указанный солевой раствор имеет концентрацию соли от примерно 70 г/л (7% мас./об.) до примерно 100 г/л (10% мас./об.). Согласно дополнительным вариантам реализации указанный солевой раствор имеет концентрации соли а) от примерно 0,5 г/л (0,05% мас./об.) до примерно 70 г/л (7% мас./об.); б) от примерно 1 г/л (0,1% мас./об.) до примерно 60 г/л (6% мас./об.); в) от примерно 1 г/л (0,1% мас./об.) до примерно 50 г/л (5% мас./об.); г) от примерно 1 г/л (0,1% мас./об.) до примерно 40 г/л (4% мас./об.); е) от примерно 1 г/л (0,1% мас./об.) до примерно 30 г/л (3% мас./об.); и ф) от примерно 1 г/л (0,1% мас./об.) до примерно 20 г/л (2% мас./об.).

Конкретные концентрации солевых растворов, подходящих для составов и способов лечения, предложенных в настоящем изобретении, включают, независимо, растворов концентрациями солей 1 г/л (0,1% мас./об.), 2 г/л (0,2% мас./об.), 3 г/л (0,3% мас./об.), 4 г/л (0,4% мас./об.), 5 г/л (0,5% мас./об.), 6 г/л (0,6% мас./об.), 7 г/л (0,7% мас./об.), 8 г/л (0,8% мас./об.), 9 г/л (0,9% мас./об.), 10 г/л (1% мас./об.), 20 г/л (2% мас./об.), 30 г/л (3% мас./об.), 40 г/л (4% мас./об.), 50 г/л (5% мас./об.), 60 г/л (6% мас./об.), 70 г/л (7% мас./об.), 80 г/л (8% мас./об.), 90 г/л (9% мас./об.), 100 г/л (10% мас./об.), 110 г/л (11% мас./об.), 120 г/л (12% мас./об.), 130 г/л (13% мас./об.), 140 г/л (14% мас./об.), 150 г/л (15% мас./об.), 160 г/л (16% мас./об.), 170 г/л (17% мас./об.), 180 г/л (18% мас./об.), 190 г/л (19% мас./об.), 200 г/л (20% мас./об.), 210 г/л (21% мас./об.), 220 г/л (22% мас./об.), и 230 г/л (23% мас./об.). Также можно использовать концентрации солевых растворов между каждой из указанных перечисленных концентраций/процентов, например, солевой раствор 1,7 г/л (0,17% мас./об.), 1,25 г/л (1,25% мас./об.), 1,5 г/л (1,5% мас./об.), 25 г/л (2,5% мас./об.), 28 г/л (2,8% мас./об.), 35 г/л (3,5% мас./об.), 45 г/л (4,5% мас./об.), и 75 г/л (7,5% мас./об.).

Конкретные подходящие концентрации гипотонических солевых растворов включают растворы от примерно 0,12 г/л (0,012% мас./об.) до примерно 8,5 г/л (0,85% мас./об.). Могут быть использованы любые концентрации в пределах указанного диапазона, например, основе мас./об., 0,05%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,225% (1/4 NS), 0,25%, 0,3% (1/3 NS), 0,35%, 0,4%, 0,45% (1/2 NS), 0,5%, 0,55%, 0,6% (2/3 NS), 0,65%, 0,675% (3/4 NS), 0,7%, 0,75%, и 0,8%.

Каждый из диапазонов и конкретных концентраций солевых растворов, описанных в настоящем документе, можно использовать в составах, способах лечения, режимах и наборах, описанных в настоящем документе.

Также включены в объем настоящего изобретения химически модифицированные осмолиты или предшественники осмолитов. Такие химические модификации включают связывание осмолита (или предшественника) с дополнительной химической группой, которая изменяет или усиливает действие осмолита или предшественника осмолита (например, ингибирует деградацию молекулы осмолита). Такие химические модификации были использованы с лекарственными средствами или пролекарствами и известны в данной области техники. (См., например, патенты США. №№ 4479932 и 4540564; Shek, E. et al., J. Med. Chem. 19:113-117 (1976); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 67:1045-1050 (1978); Bodor, N. et al., J. Med. Chem. 26:313-318 (1983); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 75:29-35 (1986), каждый из которых включен в настоящее описание посредством ссылки.

Подходящие противовоспалительные агенты для использования в комбинации с соединениями согласно изобретению включают кортикостероиды и нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), в частности ингибиторы фосфодиэстеразы (PDE). Примеры кортикостероидов для использования в настоящем изобретении включают пероральные или ингаляционные кортикостероиды или пролекарства. Конкретные примеры включают, но не ограничиваются ими, циклезонид, десизобутирил-циклезонид, будезонид, флунизол, мометазон и сложные эфиры (например, фуруат мометазона), пропионат флутиказона, фуруат флутиказона, беклометазон, метилпреднизолон, преднизолон, дексаметазон, S-фторметилэвский эфир 6 α ,9 α -дифтор-17 α -[(2-фуранилкарбонил)окси]-11 β -гидрокси-16 α -метил-3-оксо-андроста-1,4-диен-17 β -карботиокислоты, S-(2-оксотетрагидрофуран-3S-ил) эфир 6 α ,9 α -дифтор-11 β -гидрокси-16 α -метил-3-оксо-17 β -пропионилоксиандроста-1,4-диен-17 β -карботиокислоты, сложные эфиры беклометазона (например, 17-пропионатные эфиры или 17,21-дипропионатные эфиры, фторметил-ные сложные эфиры, ацетонид триамцинолона, рофленид или любую комбинацию или подгруппу указанных веществ. Предпочтительные кортикостероиды для композиции или применения в комбинации с соединениями согласно изобретению, выбраны из циклезонида, десизобутирил-циклезонида, будезонида, мометазона, пропионата флутиказона, фуруата флутиказона или любой их комбинации или подгруппы.

НПВП для использования в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются ими, кромогликат натрия, недокромил натрия, ингибиторы фосфодиэстеразы (PDE) (например, теофиллин, аминафиллин, ингибиторы PDE4, смешанные ингибиторы PDE3/PDE4 или смешанные ингибиторы PDE4/PDE7), антагонисты лейкотриенов, ингибиторы синтеза лейкотриена (например, 5 LO и ингибиторы FLAP), ингибиторы индуцибельной NO-синтазы (iNOS), ингибиторы протеаз (например, ингибиторы трипазы, ингибиторы эластазы нейтрофилов и ингибиторы металлопротеаз) антагонисты β 2 интегрин и агонисты антагонисты рецептора аденозина (например, агонисты аденозина 2a), антагонисты цитокинов (например, антагонисты хемокинов) или ингибиторы синтеза цитокинов (например, простагландин антагонисты рецепторов D2 (CRTH2)). Примеры антагонистов лейкотриенов, подходящих для введения с помощью способа согласно изобретению, включают монтелукаст, zileuton и зафирлукаст.

Ингибитор PDE4, смешанный ингибитор PDE3/PDE4 или смешанный ингибитор PDE4/PDE7 может представлять собой любое соединение, ингибирующее фермент PDE4 или у которого обнаружено действие в качестве ингибитора PDE4, и которые являются селективным ингибитором PDE4 (например, соединения, которые существенно не ингибируют других представителей семейства PDE). Примеры конкретных ингибиторов PDE4 для составов и для применения в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, рофлумиласт, пумафентрин, арофиллин, циломиласт, тофимиласт, оглемиласт, толафентрин, пикламиласт, ибудиласт, апремиласт, 2-[4-[6,7-диэтокси-2,3-бис(гидроксиметил)-1-нафталенил]-2-пиридирил]-4-(3-пиридирил)-1(2H)-фталазинон (T2585), N-(3,5-дихлор-4-пиридирил)-1-[(4-фторфенил)метил]-5-гидрокси- α -оксо-1H-индол-3-ацетамид (AWD-12-281), 4-[(2R)-2-[3-(циклопентилокси)-4-метоксифенил]-2-фенилэтил]-пиридин (CDP-840), 2-[4-[[[2-(1,3-бензодиоксол-5-илокси)-3-пиридирил]карбонил]амино]метил]-3-фторфенокси]-(2R)-пропановая кислота (CP-671305), N-(4,6-диметил-2-пиримидинил)-4-[4,5,6,7-тетрагидро-2-(4-метокси-3-метилфенил)-5-(4-метил-1-пиперазинил)-1H-индол-1-ил]-бензолсульфонамид, (2E)-2-бутенедиоат (YM-393059), 9-[(2-фторфенил)метил]-N-метил-2-(трифторметил)-9H-пурин-6-амин (NCS-613), N-(2,5-дихлор-3-пиридирил)-8-метокси-5-хиолинкарбоксамид (D-4418), N-[(3R)-9-амино-3,4,6,7-тетрагидро-4-оксо-1-фенилпирроло[3,2,1-b][1,4]бензодиазепин-3-ил]-3H-пурин-6-амин (PD-168787), 3-[[3-(циклопентилокси)-4-метоксифенил]метил]-N-этил-8-(1-метилэтил)-3H-пурин-6-амин гидрохлорид (V-11294A), N-(3,5-дихлор-1-оксидо-4-пиридирил)-8-метокси-2-(трифторметил)-5-хиолинкарбоксамид (Sch351591), 5-[3-

(циклопентилокси)-4-метоксифенил]-3-[(3-метилфенил)метил]-(3S,5S)-2-пиперидион (НТ-0712), 5-(2-((1R,4R)-4-амино-1-(3-(циклопентилокси)-4-метоксифенил)циклогексил)этинил)пиримидин-2-амин, цис-[4-циано-4-(3-циклопропилметокси-4-дифторметоксифенил)циклогексан-1-ол], и 4-[6,7-диэтокси-2,3-бис(гидроксиметил)-1-нафталенил]-1-(2-метоксиэтил)-2(1H)-пиридион (Т-440), и любую их комбинацию или подгруппу.

Антагонисты лейкотриенов и ингибиторы синтеза лейкотриенов включают зафирлукаст, монтелукаст натрия, zileuton и pranlukast.

Антихолинергические агенты для состава или применения в комбинации с соединениями согласно изобретению, включают, но не ограничиваются ими, антагонисты мускариновых рецепторов, в частности, панантагонисты и антагонисты рецепторов М₃. Примеры соединений включают алкалоиды растений белладонны, такие как атропин, скополамин, гоматропин, гиосциамин, а также их различные формы, включая соли (например, безводный атропин, сульфат атропина, оксид атропина или HCl атропина, нитрат метилатропина, гидробромид гоматропина, бромистый метил гоматропина, гидробромид гиосциамин, сульфат гиосциамин, гидробромид скополамина, бромистый метил скополамина), или любую их комбинацию или подгруппу.

Дополнительные антихолинергические средства для состава и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению включают метантелин, бромид пропантелина, анизотропинметилбромид или Valpin 50, аклидиниум бромид, гликопирролат (Robinul), изопропамид йодид, мепензолата бромид, хлорид тридигексетила, метилсульфат гексоциклиума, HCl циклопентолата, тропикамид, CCl тригексифенидила, пирензепин, телензепин и метоктрамин или любую их комбинацию или подгруппу.

Предпочтительные антихолинергические средства для состава и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению включают ипратропий (бромид), окситропиум (бромид) и тиотропий (бромид) или любую их комбинацию или подгруппу.

Примеры р-агонистов для объединения в процессе получения лекарственной формы и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению включают, но не ограничиваются ими, сальметерол, R-сальметерол и его ксинафотные соли, альбутерол или R-альбутерол (свободное основание или сульфат), левосальбутамол, сальбутамол, формотерол (фумарат), фенотерол, прокатерол, пирбутерол, метапротеренол, тербуталин и их соли, а также любую их комбинацию или подгруппу.

Агонисты рецепторов P2Y₂ для объединения в процессе получения лекарственной формы и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению могут быть использованы в количестве, эффективном для стимулирования секреции хлоридов и воды на поверхности дыхательных путей, в частности назальных поверхностях дыхательных путей. Подходящие агонисты рецепторов P2Y₂ известны в данной области техники и описаны, например, в колонках 9-10 патента США № 6264975, а также в патентах США №№ 5656256 и 5292498.

Агонисты P2Y₂, которые могут быть введены с помощью способов согласно изобретению, включают агонисты рецепторов P2Y₂, такие как ATP, UTP, UTP-гамма.-S и динуклеотидные агонисты рецепторов P2Y₂ (например денуфосол или диквафосол) или его фармацевтически приемлемую соль. Агонист рецептора P2Y₂, как правило, содержится в количестве, эффективном для стимулирования секрецию хлоридов и воды на поверхности дыхательных путей, особенно назальных поверхностей дыхательных путей. Подходящие агонисты рецепторов P2Y₂ описаны, но не ограничиваются ими, в патенте США № 6264975, патенте США № 5656256, патенте США № 5292498, патенте США № 6348589, патенте США № 6818629, патенте США № 6977246, патенте США № 7223744, патенте США № 7531525 и патенте США № 2009/0306009, каждый из которых включен в настоящее описание в качестве ссылки.

Комбинированные терапии и составы по настоящему изобретению могут включать агонисты аденозина 2b (A2b), также включая BAY 60-6583, NECA (N-этилкарбоксамидоаденозин), (S)-PHPNECA, LUF-5835 и LUF-5845. Агонисты A2b, которые могут быть использованы, описаны в Volpini et al., Journal of Medicinal Chemistry 45(15):3271-9 (2002); Volpini et al., Current Pharmaceutical Design 8 (26): 2285-98 (2002); Baraldi et al., Journal of Medicinal Chemistry 47 (6): Cacciari et al., 1434-47 (2004); Mini Reviews in Medicinal Chemistry 5 (12): 1053-60 (Dec. 2005); Baraldi et al., Current Medicinal Chemistry 13 (28): 3467-82 (2006); Beukers et al., Medicinal Research Reviews 26 (5): 667-98 (Sept. 2006); Elzein et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16 (2): 302-6 (Jan. 2006); Carotti, et al., Journal of Medicinal Chemistry 49 (1): 282-99 (Jan. 2006); Tabrizi et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry 16 (5): 2419-30 (March 2008); и Stefanchi, et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry 16 (6): 2852-69 (March 2008).

Примеры других блокаторов рецепторов ENaC для состава и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению, включают, но не ограничиваются ими, амилорид и его производные, такие как соединения, описанные в патенте США № 6858615, и публикации PCT № WO2003/070182, WO2004/073629, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2007/018640, и WO2007/146869, все на имя Parion Sciences, Inc.

Малые молекулы блокаторов ENaC способны непосредственно предотвращать транспорт натрия через поры канала ENaC. Блокатор ENaC, который может быть введен в комбинации согласно изобретению, включает, но не ограничивается ими, амилорид, бензамил, фенамил и аналоги амилоридов, приведенные в примерах в патенте США № 6858614, патенте США № 6858615, патенте США № 6903105, па-

тенте США № 6995160, патенте США № 7026325, патенте США № 7030117, патенте США № 7064129, патенте США № 7186833, патенте США № 7189719, патенте США № 7192958, патенте США № 7192959, патенте США № 7241766, патенте США № 7247636, патенте США № 7247637, патенте США № 7317013, патенте США № 7332496, патенте США № 7345044, патенте США № 7368447, патенте США № 7368450, патенте США № 7368451, патенте США № 7375107, патенте США № 7399766, патенте США № 7410968, патенте США № 7820678, патенте США № 7842697, патенте США № 7868010, патенте США № 7875619.

Хорошо описано, что протеолиз ENaC увеличивает транспорт натрия через ENaC. Ингибитор протеазы блокирует активность эндогенных протеаз дыхательных путей, тем самым предотвращая расщепление и активацию ENaC. Протеазы, расщепляющие ENaC, включают фурин, меприн, матриптазу, трипсин, протеазы, связанные каналом (CAP) и нейтрофил-эластазу. Ингибиторы протеазы, которые могут ингибировать протеолитическую активность указанных протеаз, которые могут быть введены в комбинации согласно изобретению, включают, но не ограничиваются ими, ингибиторы камостата, простазина, фурина, апротинина, лейпептина и трипсина.

Комбинации согласно изобретению могут включать одну или более подходящую нуклеиновую кислоту (или полинуклеиновую кислоту), в том числе, но не ограничиваясь ими, антисмысловой олигонуклеотид, миРНК, микроРНК, мимик микроРНК, антагомир, рибозим, аптамер и олигонуклеотидные нуклеиновые кислоты "ловушки". См., например, заявку на патент США № 20100316628. В целом, такие нуклеиновые кислоты могут быть от 17 или 19 нуклеотидов в длину, до 23, 25 или 27 нуклеотидов в длину или более. Примеры включают, но не ограничиваются ими, те, которые описаны в патенте США № 7517865 и заявках на патент США № 20100215588; 20100316628; 20110008366; и 20110104255. В целом, миРНК содержат от 17 или 19 нуклеотидов в длину, до 23, 25 или 27 нуклеотидов в длину, или более.

Соединения, модулирующие активность CFTR, которые можно вводить в комбинации согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, соединения, описанные в US 2009/0246137 A1, US 2009/0253736 A1, US 2010/0227888 A1, патенте № 7,645,789, US 2009/0246820 A1, US 2009/0221597 A1, US 2010/0184739 A1, US 2010/0130547 A1, US 2010/0168094 A1 и выданном патенте 7,553,855; US 7,772,259 B2, US 7,405,233 B2, US 2009/0203752, US 7,499,570.

Агенты, модифицирующие слизь или муцин, подходящие для комбинаций и способов согласно изобретению, включают восстановители, поверхностно-активные вещества и детергенты, отхаркивающие агенты и дезоксирибонуклеазные агенты.

Мукопротеины организованы в высокомолекулярные полимеры через образование ковалентной (дисульфидной) и нековалентной связей. Разрыв ковалентных связей восстанавливающими агентами является хорошо известным способом снижения вязкоупругих свойств слизи *in vitro* и, предположительно, позволяет минимизировать адгезивность слизи и улучшить клиренс *in vivo*. Хорошо известно, что восстанавливающие агенты уменьшают вязкость слизи *in vitro* и обычно используется в качестве средств, облегчающих обработку образцов мокроты. Примеры восстанавливающих агентов включают сульфид-содержащий молекулы или фосфины, способные восстанавливать дисульфидные связи белка, включая, но не ограничиваясь ими, N-ацетил цистеин, N-ацистелин (acystelyn), карбоцистеин, глутатион, дитиотреитол, тиоредоксин содержащие белки и трис (2-карбокситил)фосфин.

N-ацетил цистеин (NAC) одобрен для использования в сочетании с физиотерапией грудной клетки для ослабления вязкой или густой слизи в дыхательных путях^[12]. Клинические исследования по оценке влияния перорального или ингаляционного NAC на CF и ХОБЛ показали улучшения реологических свойств слизи и тенденции к улучшению функции легких и снижению легочных обострений⁹. Тем не менее, подавляющее большинство клинических данных позволяет предположить, что NAC является в лучшем случае незначительно эффективным терапевтическим агентом для лечения обструкции слизистой дыхательных путей при пероральном введении или при ингаляции. В недавнем обзоре существующей клинической литературы по использованию NAC Cochrane не обнаружил никаких доказательств в поддержку эффективности NAC для CF¹⁰. Незначительная клиническая эффективность NAC отражает: NAC является относительным неэффективным восстанавливающим агентом, который лишь частично активен на поверхности дыхательных путей. Очень высокие концентрации NAC (200 мм или 3,26%) требуются для полного восстановления Muc5B, важного гелеобразующего муцина дыхательных путей, *in vitro*. Кроме того, в среде pH на поверхность дыхательных путей (измеряется в диапазоне pH от 6,0 до 7,2 при CF и ХОБЛ дыхательных путей)¹¹, NAC существует только частично в активном состоянии, как отрицательно заряженный тиолят. Таким образом, в клинике, NAC вводят в очень высоких концентрациях. Тем не менее, предполагалось, что в настоящее время аэрозольные устройства не смогут доставить терапевтические концентрации даже 20%-ного раствора Mucomyst на дистальные поверхности дыхательных путей в пределах относительно коротких временных интервалов (7,5-15 мин), используемых традиционно.

В неклинических исследованиях ¹⁴C-меченный NAC, вводимый путем ингаляции, быстро удаляется из легких с периодом полувыведения от 6 до 36 мин¹². NAC вводится в виде высококонцентрированного, гипертонического раствора для ингаляции (20% или 1,22 молярный) и, как сообщается, вызывает бронхоспазм и кашель. Во многих случаях рекомендуется, чтобы NAC вводился с бронхолитическим сред-

ством, чтобы улучшить переносимость указанного агента.

Таким образом, восстанавливающие агенты, такие как НАС, не очень хорошо подходят для аэрозольного введения болюса. Тем не менее, полагают, что доставка восстанавливающих агентов путем легкой аэрозольной инфузии может повысить эффективность, позволяя при этом уменьшить концентрацию восстанавливающего агента в ингаляционном растворе (ожидается увеличенная переносимость).

Было показано, что поверхностно-активные вещества и детергенты уменьшают вязкоупругость слизи, улучшая клиренс слизи. Примеры поверхностно-активных веществ включают дипальмитоилфосфатидилхолин (ДПФХ), PF, пальмитиновую кислоту, пальмитоил-олеоилфосфатидилглицерин, белки, связанные с ПАВ (например, SP-A, B, или C) или могут быть животного происхождения (например, после промывания легких коровы или телят или извлечения из фарша свиных легких) или их комбинации. См., например, патент США №№ 7897577; 5876970; 5614216; 5100806 и 4312860. Примеры поверхностно-активных продуктов включает Exosurf® Neonatal (колфосцерил пальмитат), Pumactant® (DPPC и яичный фосфатидилглицерин), KL-4 ПАВ, Venticute® (lulsuptide, RSP-C ПАВ), Alveofact® (бовактант), Curosurf® (порактант альфа), Infasurf® (calfactant), Newfacten® (модифицированные бычье ПАВ), Surface®, Natsurf™ (неионное спиртоэтоксилатное ПАВ) и Survanta® (берактант). Примеры детергентов включают, но не ограничиваются ими, Tween-80 и тритон X-100.

Любое подходящее отхаркивающее средство может быть использовано, в том числе, но не ограничиваясь им, гвайфенезин (см., например, патент США № 7345051). Может быть использована любая подходящая дезоксирибонуклеаза, в том числе, но не ограничиваясь ею, Dornase Alpha, (см., например, патент США № 7482024). Примеры ингибиторов киназы включают ингибиторы NFκB, PI3K (фосфатидилинозитол 3-киназы), p38-MAP-киназы и Rho-киназы.

Противоинфекционные агенты для объединения в процессе получения лекарственной формы и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению включают противовирусные препараты и антибиотики. Примеры подходящих противовирусных препаратов включают Тамифлю® (осельтамивир) и Relenza® (занамивир). Примеры подходящих антибиотиков включают, но не ограничиваются ими, азтреонам (аргинин или лизин), фосфомицин и аминогликозиды, такие как тобрамицин, или любую их комбинацию или подгруппу. Дополнительные противоинфекционные агенты, которые можно использовать в изобретении, включают аминогликозиды, даптомицин, фторхинолоны, кетолиды, карбапенемы, цефалоспорины, эритромицин, линезолид, пенициллины, азитромицин, клиндамицин, оксазолидиноны, тетрациклины и ванкомицин.

Примеры подходящих антибиотиков карбапенемов представляют собой импенам (impenam), панипенам (panipenam), меропенам (meropenam), биапенам (biapenam), MK-826 (L-749,345), DA-1131, ER-35786, ленапенам (lenapenam), S-4661, CS-834 (пролекарство R-95867), KR-21056 (пролекарство KR-21012), L-084 (пролекарство LJC 11036) и цефтолозан (Ceftolozane) (CXA-101).

Антигистамины (например, антагонисты H1-рецепторов) для состава и применения в комбинации с соединениями согласно изобретению включают, но не ограничиваются ими: этаноламины, такие как дифенгидрамин HCl, малеат карбиноксамина, доксиламин, фумарат клемастина, дифенилгидрамина HCl и дименгидринат; этилендиамины, такие как малеат пириламина (metpyramine), трипеленнамин HCl, цитрат трипеленнамина, и антазолин; алкиламины, такие как фенирамин, хлорофенирамин, бромфенирамин, дихлорбромфенирамин, трипролидин и акривастин; пиридины, такие как метапирилен, пиперазины, такие как гидроксизина HCl, гидроксизина памоат, циклизина HCl, лактат циклизина, меклизина HCl и цетиризина HCl; пиперидины, такие как астемизол, левокабастин HCl, лоратадин, дескарбоэтоксилоратадин, терфенадин, фексофенадин HCl и; три- и тетрациклины, такие как прометазин, хлорпрометазин тримепразин и азатадин, и азеластин HCl, или любую их комбинацию или их подгруппу.

Примеры других классов терапевтических агентов, подходящих для использования в комбинациях и способах согласно изобретению, включают противовирусные препараты, такие как рибавирин, противогрибковые агенты, такие как амфотерицин, итраконазол и вориконазол, агенты против отторжения, такие как циклоспорин, такролимус и сиролимус, бронхолитические агенты, включая, но не ограничиваясь ими, антихолинергические агенты, такие как атровент, миРНК, векторы для генной терапии, аптамеры, антагонисты рецепторов эндотелина, альфа-1-антитрипсина и простациклины.

В описанных выше способах лечения и применения соединения согласно изобретению можно использовать отдельно или в комбинации с одним или более другими терапевтически активными агентами. Как правило, любой терапевтически активный агент, который обладает терапевтическим действием в отношении заболевания или состояния, подлежащего лечению с помощью соединения согласно изобретению, может быть использован в комбинации с соединениями согласно изобретению, при условии, что конкретный терапевтически активный агент совместим с терапией с использованием соединения согласно изобретению. Типичные терапевтически активные агенты, подходящие для использования в комбинации с соединениями согласно изобретению, включают агенты, описанные выше.

Согласно одному из предпочтительных вариантов реализации соединения согласно изобретению используют в комбинации с одним или более осмолитом, в частности гипертоническим раствором или маннитом.

В другом аспекте в изобретении предложены способы лечения и применения, описанные выше, включающие введение эффективного количества соединения согласно изобретению и по меньшей мере другого одного терапевтически активного агента. Соединения согласно изобретению и по меньшей мере один дополнительный терапевтически активный агент может быть использован в комбинации одновременно или последовательно в любой терапевтически подходящей комбинации. Введение соединения согласно изобретению с одним или более другими терапевтически активными агентами может представлять собой введение одновременно в 1) единичной фармацевтической композиции, такой как композиции, описанные выше, или 2) отдельных фармацевтических композициях, каждая из которых содержит один или более из компонентов активных ингредиентов. Компоненты комбинации можно вводить по отдельности в последовательно, причем соединение согласно изобретению вводят первым, а другой терапевтически активный агент вводят вторым или наоборот.

В вариантах реализации, в которых соединение согласно изобретению вводят в комбинации с одним или более осмолитом, введение каждого компонента осуществляют предпочтительно одновременно в единичной композиции или в отдельных композициях. Согласно одному из вариантов реализации соединение согласно изобретению и один или более осмолитов осуществляют параллельно с трансбиоскопическим лаважем. Согласно другому варианту реализации соединение согласно изобретению и один или более осмолитов вводят одновременно путем ингаляции.

Когда соединение согласно настоящему изобретению используют в комбинации с другим терапевтически активным агентом, доза каждого соединения может отличаться от используемой в том случае, когда соединение по настоящему изобретению используют отдельно. Соответствующие дозы могут быть легко определены специалистом с обычной квалификацией в данной области техники. Соответствующую дозу соединения согласно изобретению, другой терапевтически активный агент(ы) и относительное время введения будут выбраны для достижения требуемого комбинированного терапевтического эффекта, и находятся в пределах знаний и компетенции лечащего врача, клинициста или ветеринара.

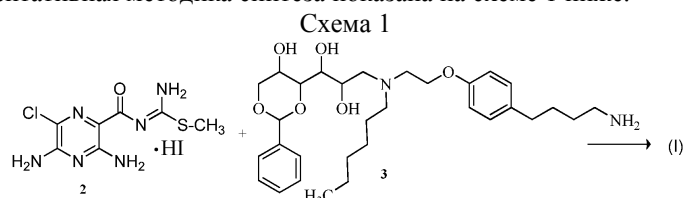
Экспериментальные процедуры

Настоящее изобретение также относится к способам получения соединений согласно изобретению и к синтетическим промежуточным соединениям, используемым в таких способах, как подробно описано ниже.

Некоторые сокращения и аббревиатуры используются для описания процессов синтеза и экспериментальных подробностей. Хотя большинство из них будет понятно специалисту в данной области, в следующей таблице приведен список многих из указанных аббревиатур и сокращений.

Сокращение	Значение
AcOH	уксусная кислота
AIBN	азобisisобутиронитрил
DIAD	диизопропил азидокарбоксилат
DIPEA	N,N-диизопропилэтиламин
ДХЭ	дихлорэтан
ДХМ	дихлорметан
ДМФА	диметилформамид
Et	этил
EtOAc или EA	этилацетат
EtOH	этанол
ESI	ионизация электрораспылением
HATU	2-(1H-7-азабензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфат
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
iPrOH	изопропиловый спирт
i.t. или IT	интратрахеально
Me	Метил
MeOH	метанол
m/z или m/e	отношение массы к заряду
MH ⁺	масса плюс 1
MH ⁻	масса минус 1
MIC	минимальная ингибирующая концентрация
MS или ms	масс-спектр
rt или r.t.	комнатная температура
R _f	коэффициент удерживания
t-Bu	трет-бутил
THF	тетрагидрофуран
ТСХ или ТСХ	тонкослойная хроматография
δ	частей на миллион вниз от тетраметилсилана
Cbz	бензилоксикарбонил, т.е. -(CO)O-бензил
AUC	площадь под кривой или пик
MTBE	Метил-трет-бутиловый эфир
t _R	время удерживания
GC-MS	газовая хроматография-масс-спектрометрия
масс%	Массовая доля
ч	часы
мин	минуты
МГц	мегагерц
TFA	трифторуксусная кислота
УФ	Ультрафиолет
Вос	трет-бутилоксикарбонил
DIAD	Диизопропилазидокарбоксилат
AcOH	уксусная кислота
DIPEA	N,N- диизопропилэтиламин или основание Хюнига
Ph ₃ P	трифенилфосфин

Соединения формулы I можно синтезировать с использованием способов, известных в данной области техники. Репрезентативная методика синтеза показана на схеме 1 ниже.



Указанные процедуры описаны, например, в E. J. Cragoe, "The Synthesis Amiloride and Its Analogs" (Chap 3) in Amiloride and Its Analogs, pp. 25-36. Другие способы получения аналогов амилорида описаны, например, в патенте США 3318813, на имя Cragoe, особенно в методах A, B, C, и D патента '813. Тем не менее, другие процессы, которые могут быть адаптированы для получения соединений согласно изобретению, описаны в публикации PCT №. WO 2003/07182, WO 2005/108644, WO 2005/022935, US 7064129, US 6858615, US 6903105, WO 2004/073629, WO 2007/146869, и WO 2007/018640, все выданы на имя Parion Sciences, Inc.

Способ получения метил-N'-3,5-диамино-6-хлорпирозин-2-карбонилкарбамимидотиоата (2) может быть найден в WO 2009/074575.

В целом, указанные соединения согласно изобретению можно традиционным образом получить путем обработки соединения формулы 2 амином формулы 3. В частности, соединения формулы 2 обрабатывают амином формулы 3 в подходящем растворителе, таком как метанол, этанол или тетрагидрофуран, и основании, таком как триэтиламин (TEA), или ди-диизопропилэтиламин (DIPEA), при нагревании до повышенной температуры, например, 70°C. Дальнейшую очистку, разделение стереоизомеров, кристаллизацию и/или получение солевых форм можно осуществить с использованием традиционных методов.

Специалистам в данной области будет понятно, что в некоторых случаях исходные или промежуточные соединения в синтезе могут содержать другие функциональные группы, которые имеют альтернативные реакционноспособные участки. Действия таких функциональных групп можно избежать путем использования соответствующих защитных групп, таких как аминные или спиртовые защитные группы, и где это применимо, соответствующие распределение приоритетности стадий синтеза. Подходящие защитные группы будут понятны специалистам в данной области техники. В данной области техники хорошо известны способы установки и удаления таких защитных групп и такие традиционные методики могут также быть использованы в способах согласно настоящему изобретению.

Следующие конкретные примеры приведены в настоящем документе только в целях иллюстрации и не ограничивают объем изобретения, который определен формулой изобретения.

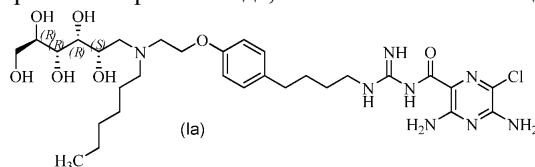
Материалы и способы. Все реагенты и растворители были приобретены у Aldrich Chemical Corp. Chem-Impex International Inc. и TCI chemical industry Co. Ltd. ЯМР были получены либо на Bruker AC 400 (¹H ЯМР при 400 МГц и ¹³C ЯМР при 100 МГц), либо Bruker AC 300 (¹H ЯМР при 300 МГц и ¹³C ЯМР при 75 МГц). Протонные спектры сравнивали с татраметилсианом в качестве внутреннего стандарта и углеродные спектры сравнивали с CDCl₃, CD₃OD или DMSO-d₆ (приобретенные у Aldrich или Cambridge Isotope Laboratories, если не указано иное). Флэш-хроматографию проводили на Combiflash system (Combiflash Rf, Teledyne Isco), содержащую колонку с силикагелем (Redi Sep. Rf, Teledyne Isco) или колонку с обращенной фазой (Высокоэффективная C18 золотая колонка). ESI масс-спектры были получены на масс-спектрометре Shimadzu LCMS-2010 EV. ВЭЖХ анализы получали с использованием Waters XTerra MS C18 5 мкм 4,6×150 мм аналитической колонки при 220 нм (если не указано иное) на ВЭЖХ системе Shimadzu Prominence. Следующую временную программу использовали при скорости потока 1,0 мл в минуту:

Время (мин)	Содержание А (H ₂ O с 0,05% TFA)	Содержание В (CH ₃ CN с 0,05% TFA)
2,50	90	10
20,00	10	90
30,00	10	90
32,50	90	10

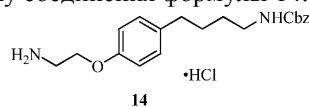
UPLC анализы получали с использованием Waters ACQUITY UPLC HSS T3 1,8 мкм 2,1×100 мм аналитической колонки при 220 нм (если не указано иное) на UPLC системе Shimadzu Prominence. Следующую временную программу использовали при скорости потока 0,3 мл в минуту:

Время (мин)	Содержание А (H ₂ O с 0,05% NH ₄ COOH and 0,1% HCOOH)	Содержание В (CH ₃ CN/Вода 80:20% с 0,05% NH ₄ COOH и 0,1% HCOOH)
1,00	90	10
4,00	30	70
5,00	30	70
5,50	90	10
6,50	90	10

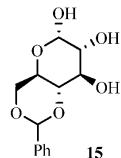
Также в настоящем изобретении предложен (схема 2) способ получения соединения (Ia), 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пирозин-2-карбоксамида, описанного в настоящем документе ранее,



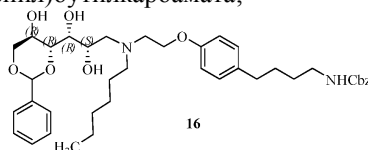
включающий стадии: (i) обработку соединения формулы 14:



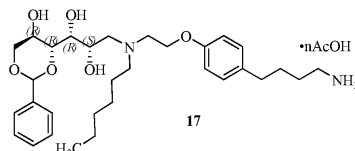
защищенным сахаром, (4aR,6S,7R,8R,8aS)-2-фенилгексагидропирано[3,2-d][1,3]диоксин-6,7,8-триолом, формулы 15:



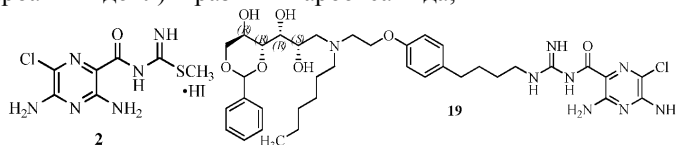
в присутствии восстанавливающего агента, с последующей обработкой гексаналом с образованием соединения 16, бензил-4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-фенил-1,3-диоксан-4-ил)пропил)(гексил)амино)этокси)фенил)бутилкарбамата;



(ii) каталитическое гидрирование соединения 16 с образованием соединения 17, (1R,2S)-3-((2-(4-(4-аминобутил)фенокси)этил)(гексил)амино)-1-((4R,5R)-5-гидрокси-2-фенил-1,3-диоксан-4-ил)пропан-1,2-диола; и



(iii) конденсирование соединения 17 и соединения 2, метил 3,5-диамино-6-хлорпирозин-2-карбонилкарбамимидотиоата, в присутствии основания с образованием 19, 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-фенил-1,3-диоксан-4-ил)пропил)(гексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пирозин-2-карбоксамида; и



(iv) гидролиз соединения 19 в присутствии кислоты с образованием (Ia).

Альтернативный способ включает замену соединения формулы 16, указанного выше, соединением 27, с последующими стадиями гидрирования, конденсации и гидролиза, описанными выше, с образованием соединения (Ia).

Также в настоящем изобретении предложен (схема 3) способ получения соединения (Ia), 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пирозин-2-карбоксамида, описанного в настоящем документе ранее.

Схема 2. Способ получения 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пирозин-2-карбоксамида

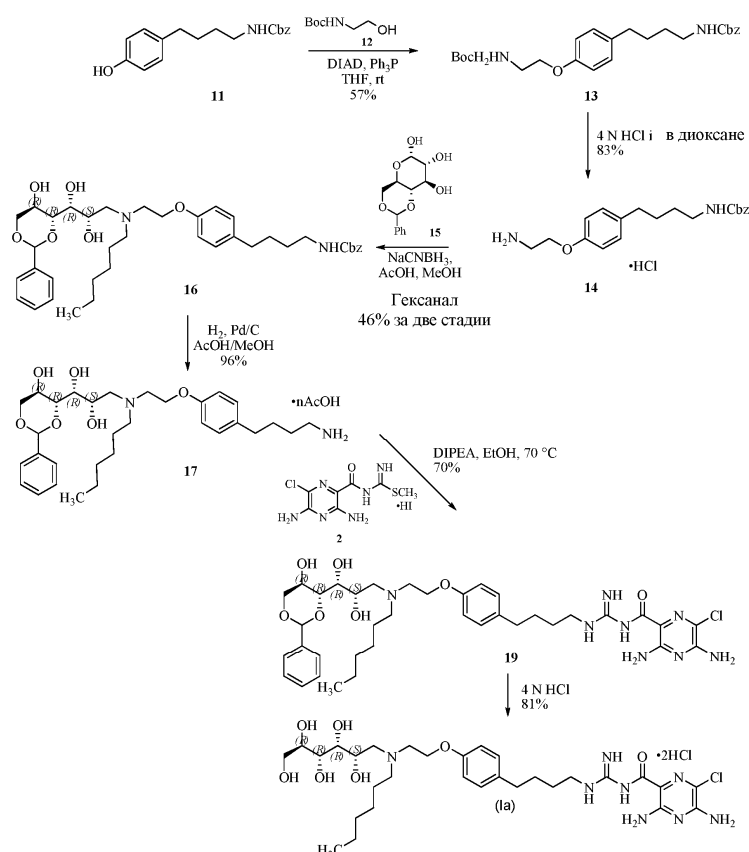
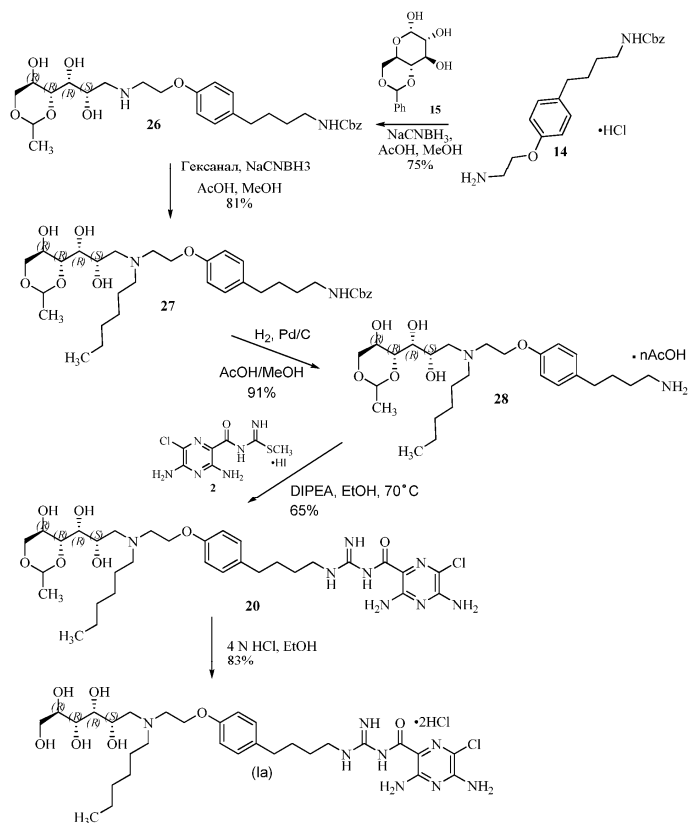


Схема 3. Альтернативный способ получения 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидаил)пирозин-2-карбоксамида



Примеры

Изобретение также включает соединение, полученное с помощью способов, приведенных в данном описании, или фармацевтически приемлемую соль указанного соединения.

Синтез Ia 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидаил)пирозин-2-карбоксамида

амино)этоксифенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида.

Стадия 1.

Получение бензил-4-(4-(3-(трет-бутилоксикарбониламино)пропокси)фенил)бутилкарбамата (соединение 13): К раствору бензил-4-(4-гидроксифенил)бутилкарбамата (11, 60,0 г, 300 ммоль) в сухом ТГФ (600 мл) добавляли N-Вос этаноламин (12, 38,7 г, 300 ммоль), Ph_3P (62,9 г, 300 ммоль) и DIAD (48,6 г, 300 ммоль) при 0°C, затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, 15:85 EA/гексаны) с получением требуемого соединения 13 (50,0 г, 57%) в виде желтого твердого вещества: ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,35 (m, 5H), 7,10 (d, $J=8,0$ Гц, 2H), 6,80 (d, $J=8,0$ Гц, 2H), 5,10 (s, $J=4,0$ Гц, 2H), 4,0 (m, 2H), 3,5 (q, 2H), 3,2 (q, 2H), 2,55 (t, $J=8,0$ Гц, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,55 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

Стадия 2.

Получение соли хлористо-водородной кислоты и бензил-4-(4-(2-аминоэтоксифенил)бутилкарбамата (14): Соединение 13 (50,0 г, 112 ммоль) растворяли в 4N HCl в диоксане (250 мл) при комнатной температуре и указанный раствор перемешивали в течение 1 ч. После концентрирования, остаток суспендировали в MTBE (500 мл) и перемешивали в течение 0,5 ч. Твердое вещество отфильтровывали с получением соли хлористо-водородной кислоты 14 (40,0 г, 83%) в виде белого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,33 (m, 5H), 7,10 (d, $J=8,7$ Гц, 2H), 6,88 (d, $J=8,7$ Гц, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,18 (t, 2H), 3,39 (m, 2H), 3,14 (t, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,56 (t, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,57 (m, 4H).

Стадия 3.

Получение бензил-4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-фенил-1,3-диоксан-4-ил)пропил)(гексил)амино)этоксифенил)бутилкарбамата (16): Раствор соли хлористо-водородной кислоты 14 (13,5 г, 39,35 ммоль) и триола 15 (10,5 г, 39,35 ммоль) в MeOH (150 мл) и AcOH (18,8 г, 314,8 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, добавляли цианоборогидрид натрия (6,1 г, 98,37 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли дополнительный триол 15 (5,2 г, 19,67 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. После полного расходования исходного материала 14 добавляли гексанал (5,9 г, 59,03 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток промывали насыщ. Na_2CO_3 (5,0 мл), азеотропировали с MeOH и очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, 10:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) с получением соединения 16 (12,2 г, 46% за две стадии) в виде беловатого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,45-7,44 (m, 3H), 7,31-7,29 (m, 9H), 7,05 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,79 (d, $J=8,4$ Гц, 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, $J=6,7$ Гц, 2H), 1,58-1,48 (m, 6H), 1,23 (br s, 6H), 0,86 (t, $J=6,1$ Гц, 3H).

Стадия 4. Получение соли уксусной кислоты и (1R,2S)-3-((2-(4-(4-аминобутил)феноксифенил)пропан-1,2-диола (17).

Суспензию карбамата 16 (12,2 г, 17,99 ммоль) и 10% Pd/C (3,66 г) в EtOH/AcOH (5:1, 120 мл) подвергали условиям гидрирования (1 атм) в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через целит и промывали EtOH. Фильтрат концентрировали в вакууме с получением уксусной соли 17 (9,40 г, 96%) в виде бесцветного масла: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,48-7,44 (m, 2H), 7,32-7,30 (m, 3H), 7,11 (d, $J=8,5$ Гц, 2H), 6,84 (d, $J=8,5$ Гц, 2H), 5,51 (s, 1H), 4,26-4,10 (m, 3H), 3,95-3,91 (m, 2H), 3,78 (dd, $J=1,8, 9,3$ Гц, 1H), 3,60 (t, $J=10,4, 1\text{H}$), 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 (br s, 6H), 0,89 (t, $J=6,6$ Гц, 3H).

Стадия 5. Получение 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-фенил-1,3-диоксан-4-ил)пропил)(гексил)амино)этоксифенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида (19).

К раствору соли уксусной кислоты 7 (9,40 г, 17,27 ммоль) и соли йодисто-водородной кислоты и метил-3,5-диамино-6-хлорпиразин-2-карбонилкарбамимидотиоата (18, 7,20 г, 27,64 ммоль) в EtOH (75 мл) добавляли DIPEA (17,8 г, 138,16 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь нагревали при 70°C и запечатывали в пробирке в течение 2 ч, затем охлаждали до комнатной температуры, и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) с получением карбоксамида 19 (9,20 г, 70%) в виде желтого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,46-7,43 (m, 2H), 7,30-7,28 (m, 3H), 7,07 (d, $J=8,6$ Гц, 2H), 6,79 (d, $J=8,6$ Гц, 2H), 5,48 (s, 1H), 4,22 (dd, $J=3,9, 7,8$ Гц, 1H), 4,06-3,88 (m, 5H), 3,75 (dd, $J=1,5, 6,9$ Гц, 1H), 3,57 (t, $J=10,5$ Гц, 1H), 3,25 (t, $J=6,6$ Гц, 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, $J=8,1$ Гц, 3H).

Стадия 6. Получение соли хлористо-водородной кислоты и 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этоксифенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида (1a).

К раствору карбоксамида 19 (9,20 г, 12,16 ммоль) в EtOH (30 мл) добавляли 4N водн. HCl (95 мл) при комнатной температуре и реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной темпера-

туре. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с обращенной фазой и лиофилизировали с получением соли хлористо-водородной кислоты 1a (6,60 г, 81%) в виде желтого гигроскопичного твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,17 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,94 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 4,36 (br s, 2H), 4,21-4,19 (m, 1H), 3,84-3,61 (m, 7H), 3,46-3,30 (m, 5H), 2,64 (t, $J=6,5$ Гц, 2H), 1,80-1,69 (m, 6H), 1,36 (br s, 6H), 0,91 (t, $J=6,6$ Гц, 3H); ESI-MS m/z 669 $[\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{ClN}_8\text{O}_7+\text{H}]^+$; Anal. ($\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{ClN}_8\text{O}_7 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$). Вычисл. С 47,40, Н 7,03, N, 14,74; Обнар, С 47,11, Н 7,06, N 14,54.

Альтернативный синтез I 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида.

Стадия 1. Получение бензил-4-(4-(3-((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-метил-1,3-диоксан-4-ил)пропиламино)пропокси)фенил)бутилкарбамата (26).

А раствор соли хлористо-водородной кислоты 14 (155 мг, 0,41 ммоль) и триола 15 (84 мг, 0,41 ммоль) в MeOH (5,0 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч, затем добавляли AcOH (0,036 мл, 0,6 ммоль) и цианоборгидрид натрия (43 мг, 0,6 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток промывали насыщ. Na_2CO_3 (5,0 мл), азеотропировали с MeOH и очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, 10:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 10:1:0,1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) с получением карбамата 26 (163 мг, 75%) в виде белого липкого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) 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, $J=4,8$ Гц, 3H).

Стадия 2. Получение бензил-4-(4-(2-((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-метил-1,3-диоксан-4-ил)пропил)(гексил)амино)этокси)фенил)бутилкарбамата (27).

Раствор карбамата 26 (1,02 г, 1,90 ммоль), гексаналя (380 мг, 3,80 ммоль), AcOH (0,33 мл, 5,70 ммоль) и цианоборгидрид натрия (410 мг, 5,70 ммоль) в MeOH (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток примывали насыщ. Na_2CO_3 (30 мл), азеотропировали с MeOH и очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, 10:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) с получением карбамата 27 (990 мг, 84%) в виде белого липкого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,35-7,31 (m, 5H), 7,06 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 6,81 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,80 (br s, 1H), 4,69-4,66 (m, 1H), 4,12 (dd, $J=9,3$, 2,4 Гц, 1H), 4,05-3,98 (m, 3H), 3,84-3,76 (m, 2H), 3,54-3,48 (m, 1H), 3,38 (t, $J=10,5$ Гц, 1H), 3,20-2,96 (m, 4H), 2,83 (d, $J=6,0$ Гц, 2H), 2,73-2,64 (m, 2H), 2,56 (t, $J=7,2$ Гц, 2H), 1,63-1,50 (m, 6H), 1,32 (d, $J=5,1$ Гц, 3H), 1,27-1,24 (m, 6H), 0,87 (d, $J=6,6$ Гц, 3H).

Стадия 3.

Получение соль уксусной кислоты и (1R,2S)-3-((2-(4-(4-Аминобутил)фенокси)этил)(гексил)амино)-1-((4R,5R)-5-гидрокси-2-метил-1,3-диоксан-4-ил)пропан-1,2-диола (28).

Суспензию карбамата 27 (890 мг, 1,44 ммоль) и 10% Pd/C (400 mg) в MeOH/AcOH (5:1, 60 мл) подвергали условиям гидрирования (1 атм) в течение 6 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали через целит и примывали MeOH. Фильтрат концентрировали в вакууме и выводили из эфира с получением уксусной соли 28 (782 мг, 90%) в виде белого липкого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,09 (d, $J=8,7$ Гц, 2H), 6,86 (d, $J=8,7$ Гц, 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, $J=10,5$ Гц, 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, $J=5,1$ Гц, 3H), 0,88 (d, $J=6,3$ Гц, 3H).

Стадия 4. Получение 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-((2S,3R)-2,3-дигидрокси-3-((4R,5R)-5-гидрокси-2-метил-1,3-диоксан-4-ил)пропил)(гексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида (20).

К раствору соли уксусной кислоты 28 (189 мг, 0,313 ммоль) и соли йодисто-водородной кислоты и метил-3,5-диамино-6-хлорпиразин-2-карбонилкарбамимидотиоата (18, 192 мг, 0,502 ммоль) в EtOH (8 мл) добавляли DIPEA (0,42 мл, 2,50 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь нагревали при 70°C и запечатывали в пробирке в течение 2 ч, затем охлаждали до комнатной температуры, и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) с получением карбоксамида 20 (142 мг, 65%) в виде желтого твердого вещества: ^1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 7,10 (d, $J=8,1$ Гц, 2H), 6,84 (d, $J=8,1$ Гц, 2H), 4,66 (q, $J=5,1$ Гц, 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 Гц, 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 (br s, 6H), 1,25 (d, $J=5,1$ Гц, 3H), 0,87 (t, $J=6,9$ Гц, 3H).

Стадия 5. Получение соли хлористо-водородной кислоты и 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида (1a).

К раствору карбоксамида 20 (400 мг, 0,57 ммоль) в EtOH (5 мл) добавляли 4N водн. HCl (15 мл) при комнатной температуре и реакционную смесь нагревали при 55°C в течение 24 ч. После концентрирования, остаток растворяли в 4N водн. HCl (15 мл) и нагревали при 65°C в течение 16 ч. Реакционную смесь

концентрировали, выделяли из EtOH/Et₂O, повторно очищали с помощью препаративной ТСХ и лиофилизировали с получением соли хлористо-водородной кислоты (Ia) (, 354 мг, 83%) в виде желтого гигроскопичного твердого вещества: ¹H ЯМР (300 МГц, D₂O) δ 7,18 (d, J=8,1 Гц, 2H), 6,87 (d, J=8,1 Гц, 2H), 4,30 (br s, 2H), 4,19-4,16 (m, 1H), 3,76-3,55 (m, 7H), 3,39-3,24 (m, 6H), 3,57 (t, J=5,4 Гц, 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]⁺.

Получение 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида (свободное основание Ia).

Соль хлористо-водородной кислоты и 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида (12,51 г) растворяли в 150 мл H₂O и обрабатывали, перемешивали с NaOH (0,1M водн, 435 мл) с получением липкого осадка. Жидкость (pH ~11) декантировали через капельную воронку (большая часть материала прилипла к стенкам колбы). Остаток обрабатывали H₂O (2×300 мл), перемешивали и декантировали/фильтровали аналогичным образом. Оставшийся остаток суспендировали в CH₃CN/H₂O/MeOH, и концентрировали с получением желто-янтарного твердого вещества, 9,55 г. ESI-MS m/z 669 [C₃₀H₄₉ClN₈O₇+H]⁺, чистота 89% при 224 нм, 90% при 272 нм, 82% при 304 нм, 63% в следе MS. Неочищенный продукт нагревали с изопропанолом (100-150 мл) при 70°C в течение 15 мин, затем фильтровали теплым. Твердые вещества обрабатывали аналогичным образом с изопропанолом еще дважды, нагревали в течение 30 мин каждый раз и давали смеси остыть (2 часа - O/N) до фильтрования. Полученные твердые вещества сушили с получением 7,365 г желто-янтарного аморфного твердого вещества, т.п 133,1-135,6°C (11,0 ммоль в виде свободного основания). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 9,31-7,34 (m, 4H), 7,10 (d, J=8,6 Гц, 2H), 6,83 (d, J=8,5 Гц, 2H), 6,61 (br. s, 3H), 4,76-4,09 (m, 5H), 3,98 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,71-3,62 (m, 2H), 3,59 (dd, J=10,8, 3,4 Гц, 1H), 3,54-3,46 (m, 1H), 3,43 (dd, J=7,9, 1,3 Гц, 1H), 3,38 (dd, J=10,8, 5,9 Гц, 1H), 3,15 (br. s, 2H), 2,92-2,76 (m, 2H), 2,66 (dd, J=13,1, 5,2 Гц, 1H), 2,58-2,51 (m, 4H), 2,46 (dd, J=13,1, 6,5 Гц, 1H), 1,66-1,45 (m, 4H), 1,45-1,31 (m, 2H), 1,31-1,09 (m, 6H), 0,90-0,76 (m, 3H). ¹³C ЯМР (101 МГц, 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]⁺.

Получение 1-гидрокси-2-нафтоатной соли 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида.

Смесь 32,8 мг (0,049 ммоль) 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида, 164 мкл 0,3 М раствора 1-гидрокси-2-нафтоатной кислоты в метаноле (0,049 ммоль 1-гидрокси-2-нафтоатной кислоты), и примерно 0,33 мл метанола нагревали на горячей тарелке при 85°C до растворения всего твердого вещества. Раствор оставляли остывать до комнатной температуры. Раствор помещали в холодильник (примерно 5°C) и оставляли в течение ночи, в течение которой происходила кристаллизация. Жидкость декантировали и твердое вещество сушили в потоке сухого воздуха с образованием 29,5 мг (62% выход) 1-гидрокси-2-нафтоатной соли 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 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.

Получение 1-гидрокси-2-нафтоатной соли 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида.

Смесь 105,3 мг (0,157 ммоль) 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида, 525 мкл 0,3 М раствора 1-гидрокси-2-нафтоатной кислоты в метаноле (0,158 ммоль 1-гидрокси-2-нафтоатной кислоты), и примерно 1 мл метанола нагревали на горячей тарелке при 85°C до растворения всего твердого вещества. Раствор оставляли остывать до комнатной температуры и помещали в холодильник (примерно 5°C). Через примерно 20 мин он становился мутным, в нем образовывались затравки. Через примерно 2 ч появилось твердое вещество. Мешалку добавляли к указанной смеси и перемешивали ее в холодильнике в течение ночи, за это время она стала очень густой. Добавляли другие 1,5 мл метанола и суспензию перемешивали в холодильнике в течение ночи. Указанную смесь центрифугировали, жидкость декантировали, и твердое вещество сушили в токе сухого воздуха с получением 74 мг (55% выход) 1-гидрокси-2-нафтоатной соли 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида.

Фармакология соединения (Ia) 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида.

Исследование 1. Измерение блокирующей активности натриевых каналов и обратимости in vitro.

Один анализ, использующийся для оценки механизма действия и/или активности соединений согласно настоящему изобретению, включает определение ингибирования лекарственного средства в дыхательных путях эпителиальных натриевых токов, измеренного под током короткого замыкания (I_{SC}) с

помощью эпителиальных монослоев дыхательных путей, установленных в камере Уссинга. Клетки получали из свежерезанных дыхательных путей человека, собак, овец или грызунов. Указанный анализ подробно описан в Hirsh, A.J., Zhang, J., Zamurs, A., et al. Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-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.

Ингибирование трансцеллюлярного движения натрия через ENaC измеряли с помощью поляризованных эпителиальных клеток монослоев бронхов, установленных в модифицированной камере Уссинга. Первичные культуры собачьих или человеческих бронхиальных эпителиальных клеток, выращенных с использованием границы раздела водной и воздушной сред, были испытаны в условиях фиксации напряжения. Ток короткого замыкания (I_{SC}) измеряли в качестве показателя трансэпителиального транспорта натрия для оценки активности.

Соединение (Ia).

3,5-Диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этоксифенил)бутил)карбамимидоил)пирозин-2-карбоксамид был высокоактивным ингибитором трансцеллюлярного транспорта натрия и был примерно в 60 раз более активен, чем амилорид в собачьих бронхиальных эпителиальных клетках (СВЕ), и примерно 160-раз в бронхиальных эпителиальных клетках человека (НВЕ) (фиг. 1). В СВЕ соединение (Ia) имело IC_{50} $13,2 \pm 8,0$ нМ и в НВЕ соединение (Ia) имело IC_{50} $2,4 \pm 1,8$ нМ (табл. 1).

Таблица 1. Ингибирование тока короткого замыкания соединением (Ia) в бронхиальных эпителиальных клетках собаки и бронхиальных эпителиальных клетках человека (IC_{50} нМ)

Образец	Амилорид	Соединение I (исходное)
Собачьи	$781,5 \pm 331$ (40)	$13,2 \pm 8,0$ (7)*
Человечьи	389 ± 188 (22)	$2,4 \pm 1,2$ (4)*

Значения представляют среднее $\pm$ СКО (n). * Указывает значимость ($p < 0,05$) от амилорида.

Восстановление тока короткого замыкания (I_{SC}) от максимального блока использовали в качестве косвенного измерения диссоциации лекарственного средства. Процент восстановления I_{SC} после полного блокирования, определенный после трех промывок апикальной поверхности и рассчитанный по формуле: $(I_{SC})_{\text{восстановленный}} / (I_{SC})_{\text{предварительная обработка}} \times 100$, был значительно (в 22 раза) менее обратим, чем у амилорида в СВЕ и 9,5 раза менее в НВЕ (табл. 2), что указывает на то, что соединение (Ia) обеспечивает более продолжительное, более надежное блокирование ENaC.

Таблица 2. Обратимость соединения (Ia) в отношении тока короткого замыкания в бронхиальных эпителиальных клетках собак и бронхиальных эпителиальных клетках человека (% восстановления)

Образец	Амилорид	Соединение (Ia)
Собачьи	$90,1 \pm 27,6$ (39)	$4,1 \pm 11,6$ (7)*
Человечьи	$89,5 \pm 10,7$ (4)	$9,4 \pm 17$ (3)*

Значения представляют среднее $\pm$ СКО (n). * Указывает значимость ($p < 0,05$) от амилорида.

Исследование 2. Исследования мукоцилиарного клиренса (МСС) у овец.

Животной моделью, которая чаще всего используется для измерения изменений в МСС, является модель на овцах. Действие соединений для повышения мукоцилиарного клиренса (МСС) может быть измерено с помощью *in vivo* модели, описанной в Sabater et al., Journal of Applied Physiology, 1999, pp. 2191-2196, включенной в настоящее описание посредством ссылки.

В указанных исследованиях взрослую овцу обездвиживали и назально интубировали с помощью эндотрахеальной трубки. Аэрозольные исследуемые частицы вводили овце в течение 10-15 мин. Затем вводили меченный коллоид ^{99m}Tc -сера (TSC, 3,1 мг/мл; содержащий приблизительно 20 мКи) в определенное время через четыре или восемь часов после ввода исследуемых частиц. Радиоактивный аэрозоль вводили через эндотрахеальную трубку в течение 5 мин. Овцу затем экстубировали, и общее содержание радиоактивности измеряли каждые 5 мин в течение 1-часового периода наблюдения. Скорость клиренса радиоактивной метки из легких представляет собой скорость МСС в животном. Преимущество указанной системы состоит в том, что оно близко имитирует среду легких человека. Модель также позволяет осуществлять сбор одновременного информации по РК/PD через получение образцов плазмы и мочи за весь период испытания. Существуют также несколько методов измерения концентрации лекарственного средства на поверхности дыхательных путей во время измерений МСС. Они включают сбор выдыхаемого конденсата дыхания или метод фильтровальной бумаги для получения ASL через бронхоскопию.

Описанная выше модель на овцах была использована для оценки *in vivo* действия (эффектив-

ность/устойчивость) у аэрозольно доставляемого соединения (Ia) на МСС. Были исследованы методики лечения, включающие 4 мл соединения (Ia), сравнительного примера 1, сравнительного примера 4, носителя (стерильной дистиллированной H₂O) или тестируемого агента в комбинации с HS. Для определения комбинирования HS с соединением (Ia) в отношении МСС, HS вводили сразу после введения соединения (Ia). Исследуемые растворы распыляли с использованием небулайзера Raindrop при расходе восемь литров в минуту и подключенного к дозирующей системе, состоящей из электромагнитного клапана и источника сжатого воздуха (20 фунтов на квадратный дюйм). Осажденную дозу лекарственного средства в овечьих легких после введения аэрозоля с использованием небулайзера Raindrop оценивали в 8-15% от дозы. С помощью небулайзера Raindrop TSC, меченый радиоактивным изотопом, вводили в течение примерно 3 мин либо 4 или 8 ч после медикаментозного лечения для оценки эффективности/ устойчивости. Содержание радиоактивных элементов было измерено в центральной области в правом легком через 5-минутные интервалы в течение одного часа с помощью гамма-камеры. Были использованы три способа анализа 1) начальная скорость клиренса (наклон) в течение первых 30 мин, нормированных с использованием линейной регрессии 2) площадь под кривой для определения % клиренса в течение одного часа, и 3) максимальный клиренс, достигнутый в течение одного часа.

Действие соединения (Ia) при 16 мкг/кг, 0,16 мкг/кг и 0,016 мкг/кг было исследовано и произведено сравнение с носителем (4 мл стерильной H₂O) на МСС у овцы через четыре часа после введения дозы (фиг. 2). Анализы действия приведены в табл. 3. При всех испытанных дозах, соединение (Ia) усиливало МСС по сравнению с контрольным носителем. Доза 16 мкг/кг обеспечивала максимальный эффект в отношении МСС.

Таблица 3. МСС у овцы через 4 ч после дозирования соединения (Ia) или носителя

Доза соединения I	Начальный наклон (4,0-4,5ч)	AUC (% CI - h)	Максимальный клиренс
16 мкг/кг	39,0±3,9* (4)	18,6±2,2*† (4)	33,8±3,7*† (4)
0,16 мкг/кг	39,1 (2)	19 (2)	33,1 (2)
0,016 мкг/кг	33,3±4,4* (4)	14,4±1,3* (4)	25,5±1,3* (4)
Носитель (H ₂ O) 4 мл	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Данные представлены в виде среднего значения ±СКО (n) исследование с n=2 не включено в статистический анализ. * Указывает на значимость (p<0,05) от носителя. † Указывает на значимость (P<0,05) от 0,016 мкг/кг дозы.

Чтобы определить, увеличивает ли HS действие соединения (Ia) на МСС, HS (6,25 мл 10% HS; осажденные 62,5 мг, предполагая 10% осаждение) вводили сразу после 0,016 мкг/кг соединения (Ia) и МСС оценивали через четыре часа после комбинированного введения дозы (фиг. 12). HS увеличивал эффект 0,016 мкг/кг дозы соединения (Ia) до максимального эффекта, как видно при обеих 0,16 и 16 мкг/кг дозах соединения (Ia) в отдельности (рис. 2). Таким образом, максимальный эффект МСС может быть достигнут, когда HS добавляют к дозе (0,016 мкг/кг) соединения (Ia), которая обеспечивает субмаксимальный ответ при введении без HS.

Таблица 4. МСС у овцы через 4 ч после дозирования соединения (Ia) или HS

Доза	Начальный наклон (4,0-4,5ч)	AUC (% CI h)	Максимальный клиренс
Соединение (Ia) (0,016 мкг/кг; 4 мл + HS)	44,9 (2)	20,7 (2)	37,0 (2)
Соединение (Ia) (0,016 мкг/кг; 4 мл)	33,3±4,4 (4)	14,4±1,3 (4)	25,5±1,3 (4)
Носитель H ₂ O (4 мл)	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±3 (8)

Данные представлены в виде среднего значения ±СКО (n). Исследование с n=2 не включено в статистический анализ.

Для оценки как устойчивости (продолжительности действия) соединения (Ia), так и эффекта добавления HS к соединению (Ia), МСС измеряли через восемь часов после введения дозы носителя (H₂O), HS 7% в отдельности, 0,16, 1,6 и 16 мкг/кг соединения (Ia) в отдельности или комбинации 0,16 мкг/кг соединения (Ia) и 7% HS (общий объем 4 мл для каждой обработки) (фиг. 4). После дозирования носителя, МСС через 4 и 8 ч был одинаков, что указывает на то, что скорость МСС у овцы в течение 4-8 ч находится в стационарном состоянии (фиг. 12 и 13). Через восемь часов после введения 4 мл 7% HS, не наблюдалось никаких изменений в МСС по сравнению с носителем, что указывает на то, что действие HS не проявилось. Все три группы доз (0,16, 1,6 и 16 мкг/кг) соединения (Ia) увеличивали МСС дозозависимым образом по сравнению с носителем и HS, что указывает на то, что соединение (Ia) имеет большую продолжительность действия, чем HS в отдельности (фиг. 4). Комбинированная доза HS и соединения (Ia)

увеличила эффект 0,16 мкг/кг дозы соединения (Ia) до большего, чем наблюдаемый для 16 мкг/кг дозы, что указывает на 100 кратное увеличение активности при добавлении HS к соединению (Ia) (фиг. 4).

Усиление активности

Соединения (Ia) с помощью HS, в то время, когда HS не имеет собственной активности, четко указывает на синергизм между HS и соединением (Ia)

Таблица 5. МСС у овцы через 8 ч после дозирования носителя, HS, соединения (Ia) или комбинации HS и соединения (Ia)

Доза	Начальный наклон (8,0-8,5ч)	AUC (% CI h)	Максимальный клиренс
Носитель - H ₂ O (4 мл)	17,8±5,7 (4)	7,8±1 (4)	14,2±0,7 (4)
7 % HS (4 мл)	17,8 (2)	7,6 (2)	14,6 (2)
Соединение (Ia) (0,16 мкг/кг; 4 мл)	24,0 (2)	10,7 (2)	19,7 (2)
Соединение (Ia) (1,6 мкг/кг; 4 мл)	24,4 (2)	11,1 (2)	21,2 (2)
Соединение (Ia) (16 мкг/кг; 4 мл)	28,0 (2)	13,9 (2)	26,7 (2)
Соединение (Ia) (0,16 мкг/кг +7 % HS; 4 мл)	30,9±2,5 (4)	15,3±2,2 (4)	27,5±1,6 (4)

Данные представлены в виде среднего значения ±СКО (n) исследование с n=2 не включено в статистический анализ

Анализ 3. d. Клиренс лекарственного средства из поверхностной жидкости дыхательных путей (ASL) и метаболизм эпителия дыхательных путей человека.

Исчезновение соединения (Ia) с апикальной поверхности и эпителиальный метаболизм дыхательных путей были оценены в HBE (табл. 6). В указанных экспериментах 25 мкл 25 мкМ раствора блокатора ENaC добавляли к апикальной поверхности клеток HBE, выращенных на границе водной и воздушной сред, и концентрацию лекарственного средства в апикальном и базолатеральном отделе измеряли в течение 2 ч с помощью UPLC. После 2 ч инкубации соединения (Ia) на апикальной поверхности (37°C), метаболиты не были обнаружены как на апикальной, так и на базолатеральной сторонах, и соединение (Ia) не было обнаружено на базолатеральной стороне.

Таблица 9. Апикальное исчезновение и метаболизм соединения (Ia), измеренные с помощью HBE

Соединение	% изначальной массы лекарственного средства на апикальной стороне (исходное и метаболит, 2ч)	% апикальной массы метаболита (2ч)	% апикальной массы на базолатеральной стороне (2ч)	% на базолатеральной стороне в виде метаболитов (2ч)
Соединение (Ia)	80,7±6,2%	нет	нет	нет

Анализ 4. e. Гидратация дыхательных путей и блокирование натриевого канала (in vitro модель).

Parion Sciences разработала экспериментальные модели для оценки гидратации дыхательных путей в клеточных культурах (Hirsh, A.J., Sabater, J.R., Zamurs, A., et. al. 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., et al. Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonyl)-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).

Первичные клетки CBE высевали на покрытые коллагеном пористые мембраны, которые хранили на границе воздух-жидкость для оценки объема поверхностной жидкости с течением времени. В начале эксперимента, каждую 12 мм вставку snapwell удаляли из планшета, содержащего культуральную среду на границе воздух-жидкость, блоттировали досуха, взвешивали и наносили 50 мкл носителя (0,1% ДМСО) или блокатора ENaC (10 мкМ в 0,1% ДМСО) на апикальную поверхность, и записывали массу. Вставки немедленно возвращали на планшеты Transwell (500 мкл, Krebs Ringer бикарбонат (КРФ), pH 7,4 в нижней камере) и помещали в 37°C, 5% CO₂-инкубаторе. Для уменьшения артефактов вследствие осмотического градиента апикальных углеводов при потере воды, глюкозу не включали в апикальной буфер. Соединение (Ia) было исследовано и произведено сравнение с носителем, и массу ASL контролировали последовательно в течение 0-8 или 24 ч. Масса поверхностной жидкости была преобразована в объеме в мкл. Данные представлены в виде % от первоначального объема (100%=50 мкл).

Продолжительность ингибирования транспорта натрия была определена косвенно путем измерения буфера, оставшегося после добавления экспериментального буфера объемом 50 мкл к апикальной поверхности клеток CBE. Только 12,5±12,1% носителя (буфера) осталось на поверхности через 8 ч и было отмечено небольшое увеличение удержания поверхностной жидкости с 10 мкМ амилорида в носителе (25

19,2% через 8 ч). Для сравнения, соединение (Ia) значительно увеличило удержание апикальной поверхностной жидкости, поддерживая 88,3±13% поверхностной жидкости в течение 8 ч (фиг. 5).

Для исследования соединение (Ia) далее, продолжительность инкубации была увеличена с восьми до 24 ч. Амилорид не исследовали через 24 часа, так как большая часть эффекта исчезла через восемь часов. Через 24 ч осталось только 11% буфера носителя, в то время как соединение (Ia) поддерживало 72,3±7,3% поверхностной жидкости в течение 24 ч, потеряв только 16% по отношению к 8-часовому измерению, что свидетельствует о том, что соединение (Ia) обладает пролонгированным действием в отношении удержания жидкости (фиг. 6).

Сравнительные примеры

Настоящее соединение формулы (I) является более активным и/или медленнее всасывается на поверхностях слизистых оболочек, особенно на поверхностях дыхательных путей, по сравнению с известными блокаторами натриевых каналов, такими, как соединения согласно сравнительным примерам с 1 по 5, описанными ниже. Таким образом, соединение формулы (I) имеет более длительный период полувыведения на поверхности слизистых оболочек по сравнению с указанными соединениями.

Соединения согласно сравнительным примерам 1-4 заявлены, описаны или упоминаются в документах WO 2003/070182 (патент США № 6858615; 7186833; 7189719; 7192960; и 7332496), WO 2005/044180 (заявка на патент США № 2005/0080093 и патент США № 7745442), WO 2004/073629 (патент США № 6903105; 6995160; 7026325; 7030117; 7345044; 7820678; и 7875619), WO 2005/016879 (патент США № 7064129; 7247637; 7317013; 7368447; 7368451; 7375107; 7388013; 7410968; и 7868010), или WO 2008/031028 (публикации заявок на патент США 2008/0090841 и 2009/0082287) в качестве блокаторов натриевых каналов, обладающих медицинскими свойствами, и могут быть получены способами, известными в данной области техники.

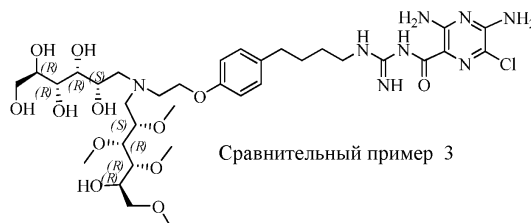


Соединение сравнительного примера 1 включено в соединения блокаторы натриевых каналов в WO 2008/031028, где его структуру можно увидеть на странице 14.

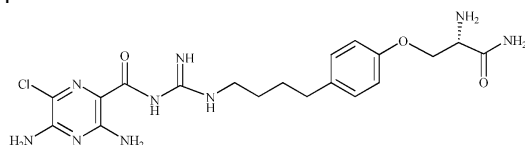
Соединение согласно сравнительному примеру 2 представляет собой 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(дигексиламино)этокси)фенил)бутил)карбамимидаил)пиразин-2-карбоксамид, который находится в пределах общего раскрытия WO 2004/073629.



Соединение согласно сравнительному примеру 3 представляет собой 3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2-(((2S,3R,4R,5R)-5-гидрокси-2,3,4,6-тетраметоксигексил)((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)амино)этокси)фенил)бутил)карбамимидаил)пиразин-2-карбоксамид, который находится в пределах общего раскрытия WO 2008/031028.



Сравнительный пример 4



(S)-3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2,3-диамино-3-оксопропокси)фенил)бутил)карбамимидаил)пиразин-2-карбоксамид.

Соединение согласно сравнительному примеру 4 может быть найдено на странице 15 US

2005/0080093 и как соединение 2 на странице 90 WO 2008/031048, и как соединение 2 на страницах 42-43 WO 2008/031028. Чтобы обладать полезной активностью для лечения кистозного фиброза и ХОБЛ соединение должно обладать свойствами, вызывающими повышение мукоцилиарного клиренса (МСС) в дозах, которые не поднимают калий в плазме, который в конечном итоге при многократном дозировании приводит к гиперкалиемии, серьезному и опасному состоянию. В связи с этим этому классу следует избегать соединений, известных как повышающие калий в плазме, если они существенно выводятся почками. Чтобы оценить указанный потенциал, необходимо оценить активность в отношении МСС *in vivo* и повышение калия в плазме в пределах подходящей дозы. Одной из моделей для оценки является МСС модель на овцах, описанная ниже. Как видно из табл. 7 ниже, ED₅₀ (AUC=47%) для сравнительного примера 1 в МСС модель на овцах составляет примерно 3000 мкМ.

Таблица 7. Изменение от носителя эффекта МСС через 8 ч у овцы с использованием 3 различных измерений

Таблица 1.	наклон (8-8,5h)	AUC (%CI*h)	Макс клиренс (%)	приблизительное ED ₅₀
300 мкМ (Ia)	10,2 (100%)	6,2 (100%)	12,8 (100%)	
30 мкМ (Ia)	6,6(65%)	3,3(53%)	7,0(55%)	2,4 нмоль/кг
3000 мкМ (Сравн. Пр. 1)	6,1 (60%)	2,9 (47%)	4 (31%)	240 нмоль/кг
Максимал. эффект	10,2 (100%)	6,2 (100%)	12,8 (100%)	

Как видно из табл. 7 и фиг. 7 ED₅₀ для соединения согласно сравнительному примеру 1 на модели МСС у овцы составляет примерно 240 нмоль/кг (3 мМ) с использованием трех различных измерений (наклона, AUC и максимального клиренса). При указанной дозе, которая была бы клинически активной дозой, соединение согласно сравнительному примеру 1 вызывает повышение калия в плазме, который при повторной дозе приведет к гиперкалиемии (фиг. 8). Таким образом, соединение согласно сравнительному примеру 1 не подходит для использования человеком, в то время как соединение (Ia) приводит к безопасному и эффективному МСС с преимуществами с отношением рисков более, чем в 1000 в данной модели.

Чтобы снизить потенциальное действие молекулы на почки, исследовали более липофильные соединения. Соединение согласно сравнительному примеру 2, в котором две гидрофильные группы из соединения согласно сравнительному примеру 1 заменены двумя липофильными цепями равной длины является соединением согласно сравнительному примеру 2, которое на порядок менее эффективно, чем соединение согласно сравнительному примеру 1 *in vitro* (табл. 8) и, таким образом, не подходит для получения устойчивого МСС *in vivo*. Соединение согласно сравнительному примеру 3, в котором были сохранены все кислороды из соединения согласно сравнительному примеру 1 и 5 метильных групп гидроксильных были добавлены к 5 гидроксильным, имеет аналогичную степень активности *in vitro*. Таким образом, оказалось, что невозможно получить активную и безопасную для почек молекулу из указанного структурного скелета. Это было неожиданно, поскольку было обнаружено, что соединение (Ia) сохраняет активность *in vitro*, равную активности соединения согласно сравнительному примеру 1. Еще более удивительным и неожиданным было то, что соединение (Ia) было в 100 раз более активным, чем соединение согласно сравнительному примеру I, и не вызывало повышение калия в плазме при дозах, эффективных в отношении МСС.

Таблица 8. Измерение блокирующей активности натриевых каналов *in vitro*

Соединение	IC ₅₀ (нМ)
Ia	13,2
Сравнительный пример 1	11,8
Сравнительный пример 2	124,5
Сравнительный пример 3	144,1
Сравнительный пример 4	6,6

Другое хорошо изученное соединение представляет собой соединение из сравнительного примера 4, (S)-3,5-диамино-6-хлор-N-(N-(4-(4-(2,3-диамино-3-охопропокси)фенил)бутил)карбамимидоил)пирозин-2-карбоксамид.

Исчезновение соединения (Ia) с апикальной поверхности и эпителиальный метаболизм дыхательных путей были оценены в HBE, и было приведено сравнение с соединением согласно сравнительному примеру 4 (табл. 9). В указанных экспериментах 25 мкл 25 мкМ раствора блокатора ENaC добавляли к

апикальной поверхности клеток НВЕ, выращенных на границе водной и воздушной сред, и концентрацию лекарственного средства в апикальном и базолатеральном отделе измеряли в течение 2 ч с помощью UPLC. После 2 ч инкубации соединения (Ia) на апикальной поверхности (37°C), метаболиты не были обнаружены как на апикальной, так и на базолатеральной сторонах, и соединение (Ia) не было обнаружено на базолатеральной стороне. Напротив, большая часть соединения согласно сравнительному примеру 4 была выведена с апикальной стороны с 83% метаболизмом в менее активную карбоновую кислоту, (S)-2-амино-3-(4-(4-(3-(3,5-диамино-6-хлорпиразин-2-карбонил)гуанидино)бутил) фенокси)пропановую кислоту, структура ниже.

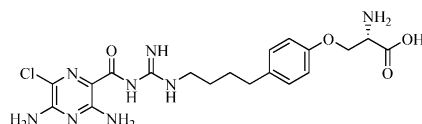


Таблица 9. Апикальное исчезновение и метаболизм соединения (Ia), измеренные с помощью НВЕ

Соединение	% изначальной массы лекарственного средства на апикальной стороне (исходное и метаболит, 2ч)	% апикальной массы метаболита (2ч)	% апикальной массы на базолатеральной стороне (2ч)	% на базолатеральной стороне в виде метаболитов (2ч)
Соединение (Ia)	80,7 $\pm$ 6,2%	нет	нет	нет
Сравнительный пример 4	41,6 $\pm$ 7,6%	83,0 $\pm$ 3,5%	8,3 $\pm$ 0,2	94,7 $\pm$ 1,0%

Значения представляют среднее $\pm$ СКО (n). * Указывает значимость ($p < 0,05$) по сравнению с соединением согласно сравнительному примеру 4.

Соединение (Ia) в 10000 раз более активно в отношении МСС овцы, чем соединение согласно сравнительному примеру 4, без повышения К в плазме, в то время как соединение согласно сравнительному примеру 4 приводило к повышению К в плазме при приблизительной дозе ED₅₀ 3 мМ (фиг. 9 и 10). Это, опять же, показывает уникальную неожиданную высокую активность и преимущества с точки зрения безопасности соединения Ia.

Таблица 10. МСС у овцы через 4 ч после дозирования носителя, соединения согласно сравнительному примеру 4 или соединения (Ia)

Доза	Изначальный наклон (4,0-4,5ч)	AUC (% CI x h)	Максимальный клиренс
Сравнительный пример 4(112 мкг/кг; 4 мл)	32,2 $\pm$ 7,3* (6)	14,1 $\pm$ 2,2* (6)	22,9 $\pm$ 2,1* (6)
Сравнительный пример 4(11,2 мкг/кг; 4 мл)	14,5 $\pm$ 1,3 (3)	6,9 $\pm$ 1,0 (3)	14,6 $\pm$ 0,9 (3)
Соединение (Ia) (0,016 мкг/кг; 4 мл)	33,3 $\pm$ 4,4* (4)	14,4 $\pm$ 1,3* (4)	25,5 $\pm$ 1,3* (4)
Носитель Н ₂ O (4 мл)	17,2 $\pm$ 6,8 (8)	7,3 $\pm$ 1,5 (8)	12,2 $\pm$ 2,9 (8)

Было показано, что повышение безопасности соединения (Ia) для почек может быть объяснено заметным снижением клиренса лекарственного средства в почках. Если соединение может находиться в стороне от натриевых каналов в почках, гиперкалиемия заметно снижается. После внутривенного введения овцам 43% Сравнительного примера 1 было выделено с мочой, тогда как только 5% соединения I было выделено с мочой. Даже более существенным является неожиданное уменьшение выведения с мочой при введении лекарственного средства в виде аэрозоля непосредственно в легкие. Когда соединение согласно сравнительному примеру 4 вводили овцам в виде ингаляционного аэрозоля, 7% дозы выводилось мочой, тогда как только 0,07% из аэрозольной дозы соединения (Ia) выводилось с мочой. Снижение клиренса соединения в моче (10-100-кратное) в сочетании с вышеописанным значительным снижением требуемой дозы приводит к неожиданной от 100000 до 1000000-кратной разнице в соотношении риска-выгода.

Таблица 11. Выделение с мочой соединения (Ia) и соединение согласно сравнительному примеру 4 у овцы

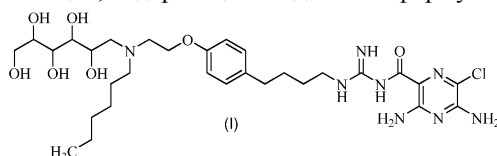
Анализ	Сравн. Пр. 4	Соединение (Ia)
Log D	0,64	2,2
IC50	6,6±3,7 нМ	13±8 нМ
Метаболизм в плазме человека	крови t _{1/2} = 37 мин	нет
Связывание белка в плазме человека	крови 76±2%	97±2%
Выделение с мочой введенной дозы (овца)	7 %	0,07 %

На фиг. 9 показан график клиренса слизи с течением времени с помощью соединения (Ia), соли хлористо-водородной кислоты и 3,5-Диамино-6-хлор-N-(N-(4-(2-(гексил((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидрогексил)амино)этоксифенил)бутил)карбамимидоил)пиразин-2-карбоксамида, и сравнительного примера 4, как описано в модели МСС выше. Был получен одинаковый процент клиренса слизи с помощью соединения (Ia) при дозе, в 7000 раз меньшей, чем у соединения согласно сравнительному примеру 4. Соединение (Ia) обеспечивало максимальный эффект в клинически релевантном диапазоне доз.

Фиг. 10 иллюстрирует значительное увеличение уровня калия в плазме при эффективной дозе, наблюдаемое в плазме овцы, получавшей соединение согласно сравнительному примеру 4 в исследовании МСС выше, с течением времени. Отсутствие действия на уровень калия в плазме наблюдали при всех тестируемых дозах у овцы, получавшей соединение (Ia).

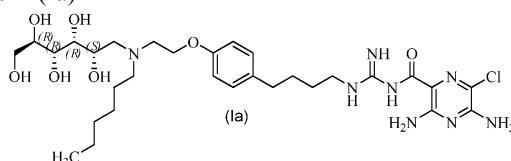
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемую соль, и осмолит.

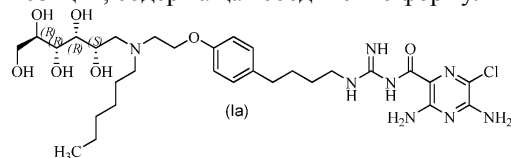
2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia)



или его фармацевтически приемлемую соль.

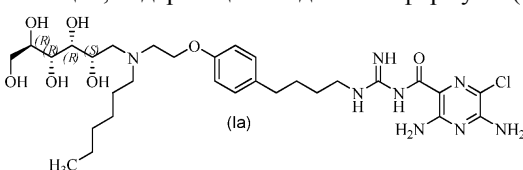
3. Фармацевтическая композиция по п.1 или 2, отличающаяся тем, что осмолит представляет собой гипертонический солевой раствор.

4. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (Ia)



или его фармацевтически приемлемую соль, и гипертонический солевой раствор.

5. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (Ia)



и гипертонический солевой раствор.

6. Фармацевтическая композиция по любому из пп.3-5, отличающаяся тем, что гипертонический солевой раствор имеет концентрацию от 4 до 5% (мас./об.).

7. Фармацевтическая композиция по любому из пп.3-5, отличающаяся тем, что гипертонический солевой раствор имеет концентрацию примерно 4% (мас./об.).

8. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-7, дополнительно содержащая соединение, модулирующее активность муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (CFTR).

9. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-7, дополнительно содержащая фармацевтически эффективное количество терапевтически активного агента, выбранного из противовоспалительных агентов, антихолинергических агентов, р-агонистов, агонистов рецепторов P2Y₂, агонистов рецептора, активируемого пролифератором пероксисом, ингибиторов киназы, противоинфекционных агентов и антигистаминных средств.

10. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что указанная композиция подходит для ингаляции.

11. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой раствор для распыления в виде аэрозоля и введения с помощью небулайзера.

12. Фармацевтическая композиция по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что указанная композиция подходит для введения с помощью дозирующего ингалятора.

13. Фармацевтическая композиция по пп.1 или 2, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой сухой порошок для введения с помощью ингалятора сухого порошка.

14. Способ блокирования натриевых каналов у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

15. Способ стимулирования гидратации поверхностей слизистой оболочки, улучшения мукоцилиарного клиренса или восстановления защитного барьера слизистой оболочки у человека, включающий введение указанному человеку эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

16. Способ лечения заболевания, выбранного из обратимой или необратимой обструкции дыхательных путей, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), астмы, бронхоэктаза, острого бронхита, хронического бронхита, поствирусного кашля, кистозного фиброза, эмфиземы, пневмонии, панбронхиолита, бронхиолита, связанного с трансплантатом, и трахеобронхита, связанного с аппаратом искусственной вентиляции легких, или предотвращения пневмонии, связанной с аппаратом искусственной вентиляции легких, у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

17. Способ лечения сухости во рту (ксеростомии), сухости кожи, вагинальной сухости, синусита, риносинусита, обезвоживания носовой полости, сухости глаз, болезни Шегрена, синдрома дистальной интестинальной обструкции, среднего отита, первичной цилиарной дискинезии, эзофагита, запора, хронического дивертикулита или стимулирования гидратации глаза или роговицы у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

18. Способ лечения кистозного фиброза у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

19. Способ лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

20. Способ лечения первичной цилиарной дискинезии у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

21. Способ лечения бронхоэктаза у человека, включающий введение указанному человеку фармацевтической композиции по любому из пп.1-13.

22. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для блокирования натриевых каналов.

23. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для стимулирования гидратации поверхностей слизистой оболочки, улучшения мукоцилиарного клиренса или восстановления защитного барьера слизистой оболочки.

24. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для лечения заболевания, связанного с обратимой или необратимой обструкцией дыхательных путей, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), астмы, бронхоэктаза, острого бронхита, хронического бронхита, поствирусного кашля, кистозного фиброза, эмфиземы, пневмонии, панбронхиолита, бронхиолита, связанного с трансплантатом, и трахеобронхита, связанного с аппаратом искусственной вентиляции легких, или предотвращения пневмонии, связанной с аппаратом искусственной вентиляции легких.

25. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для лечения сухости во рту (ксеростомии), сухости кожи, вагинальной сухости, синусита, риносинусита, обезвоживания носовой полости, сухости глаз, болезни Шегрена, синдрома дистальной интестинальной обструкции, среднего отита, первичной цилиарной дискинезии, эзофагита, запора или хронического дивертикулита, или для стимулирования гидратации глаза или роговицы.

26. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для лечения кистозного фиб-

роза.

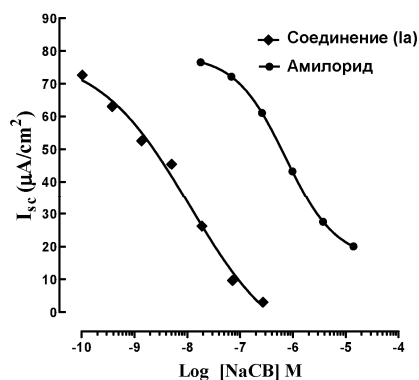
27. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ).

28. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для лечения первичной цилиарной дискинезии.

29. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-13 для лечения бронхоэктаза.

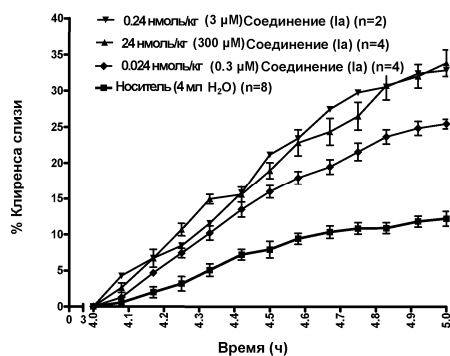
30. Терапевтический набор, содержащий фармацевтическую композицию по любому из пп.1-13, устройство для ингаляции и инструкции по их применению.

31. Набор по п.30, отличающийся тем, что указанная фармацевтическая композиция находится в контейнере, представляющем собой бутылку, флакон или блистерную упаковку, подходящем для применения в ингаляционном устройстве.



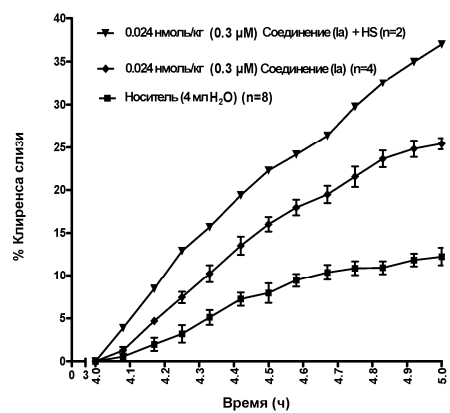
Репрезентативный график зависимости концентрация-эффект для соединения (Ia) на ток короткого замыкания, полученный с помощью бронхиальных эпителиальных клеток собаки

Фиг. 1



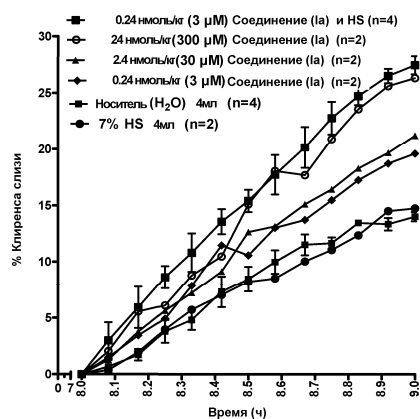
Зависимость доза-ответ для соединения (Ia) на MCC у овцы через 4 ч после дозирования

Фиг. 2

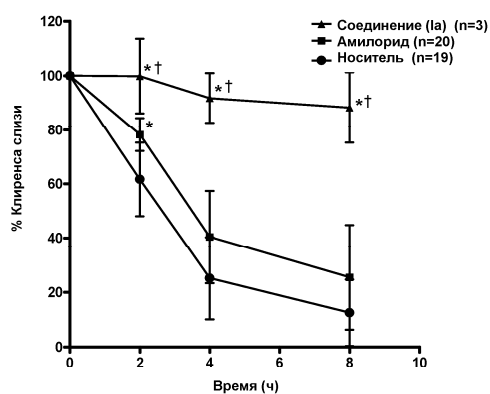


Действие соединения (Ia) и HS MCC у овцы через 4ч после дозирования

Фиг. 3



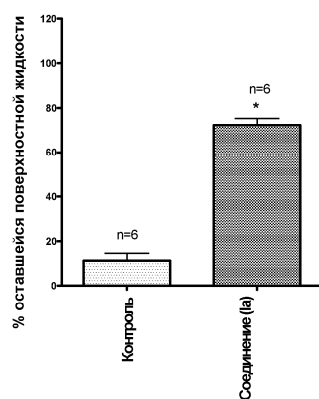
Действие соединения (Ia) и HS MCC у овцы через 4ч после дозирования
Фиг. 4



Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ СКО (n) * указывает на значимость ($p < 0,05$) от носителя. † Указывает на значимость ($P < 0,05$) от 0 амилорида;

Эффект блокирования натриевых каналов соединением (Ia) на удержание поверхностной жидкости в течение 0-8 ч на in vitro модели СВЕ

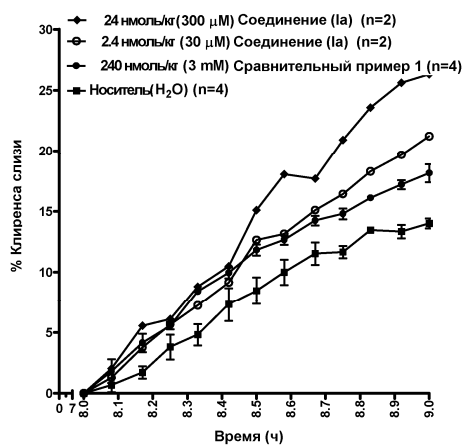
Фиг. 5



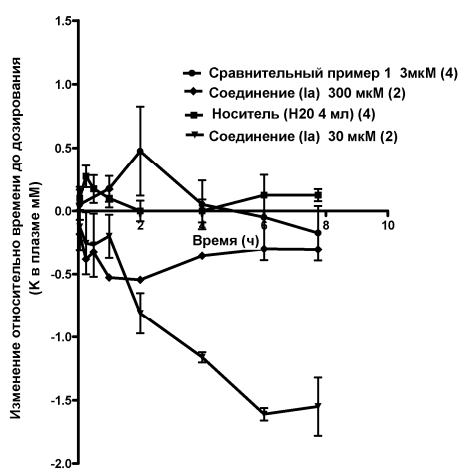
Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ СКО (n) * указывает на значимость ($p < 0,05$) от контроля

Действие соединения (Ia) на удержание поверхностной жидкости через 24 ч на in vitro модели СВЕ

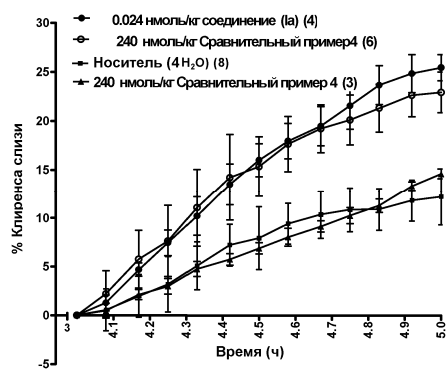
Фиг. 6



Действие блокаторов ENaC I и сравнительного примера I на МСС у овцы через 8 ч
Фиг. 7

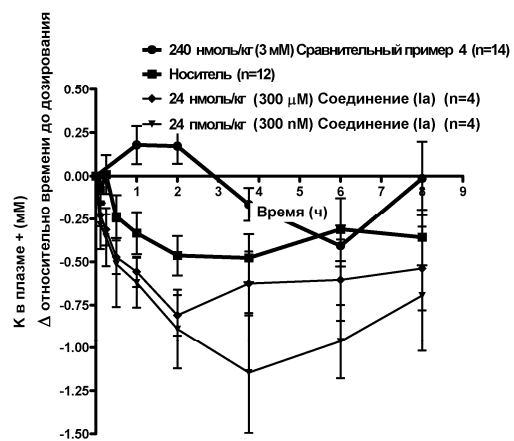


Действие блокаторов ENaC I и сравнительного примера I на уровне содержания калия в плазме овцы
Фиг. 8



Сравнение сравнительного примера 4 и соединения 1 на МСС у овцы через 4 ч после дозирования
Фиг. 9

Соединение 1 не влияет на K^+ в плазме при 1000х эффективной дозе у овцы



Сравнительный пример 4 повышает K^+ в плазме при эффективной дозе
Фиг. 10



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2