



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 33984 B1**
- (43) Date de publication : **01.02.2013**
- (51) Cl. internationale :
**A61K 31/18; A61K 31/194;
A61K 31/427; A61K 31/4418;
A61K 31/498; A61K 31/4985;
A61K 31/506; A61K 31/519;
A61K 31/53; A61K 45/06;
A61P 11/00**
-
- (21) N° Dépôt :
35118
- (22) Date de Dépôt :
02.08.2012
- (30) Données de Priorité :
05.02.2010 EP 10152727.3
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/EP2011/051532 03.02.2011
- (71) Demandeur(s) :
BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH, Alfred-Nobel-Strasse 10 40789 Monheim (DE)
- (72) Inventeur(s) :
SANDNER, Peter ; VON DEGENFELD, Georges ; STASCH, Johannes-Peter
- (74) Mandataire :
CABINET GHARS
-
- (54) Titre : **STIMULATEURS DE SGC OU ACTIVATEURS DE SGC SEULS OU EN COMBINAISON AVEC DES INHIBITEURS DE PDE5 POUR LE TRAITEMENT DE LA FIBROSE KYSTIQUE**
- (57) Abrégé : La présente invention concerne une guanylate cyclase soluble (sGC) et les phosphodiesterases (PDE) et la pharmacologie des stimulateurs de sGC, activateurs de sGC et inhibiteurs de PDE. Plus particulièrement, l'invention concerne l'utilisation de stimulateurs de sGC et d'activateurs de sGC en combinaison avec des inhibiteurs de PDE5 pour la préparation de médicaments pour le traitement de la fibrose kystique (CF).

مثيرات sGC أو منشطات sGC بمفردها أو متحدة مع مثبطات PDE5 لمعالجة التليف

الكيسي

الملخص

يتعلق الاختراع الحالي بكل من guanylate cyclase قابل للذوبان (sGC) و PDEs phosphodiesterases (PDEs) وأيضا فارماكولوجيا مثيرات sGC، منشطات sGC ومثبطات PDE. تحديدا أكثر، يتعلق الاختراع باستخدام مثيرات sGC ومنشطات sGC كمعالجة مفردة أو متحدة مع مثبطات PDE5، لتحضير أدوية لمعالجة التليف الكيسي (CF).

بسم الله الرحمن الرحيم

مثيرات sGC أو منشطات sGC بمفردها أو متحدة مع مثبطات PDE5 لمعالجة التليف

الكيسي

الوصف التفصيلي

المجال التقني

يتعلق الاختراع الحالي بكل من guanylate cyclase قابل للذوبان (sGC) و PDEs phosphodiesterases (PDEs) وأيضا فارماكولوجيا مثيرات sGC، منشطات sGC ومثبطات PDE. تحديدا أكثر، يتعلق الاختراع باستخدام مثيرات sGC ومنشطات sGC كمعالجة مفردة أو متحدة مع مثبطات PDE5، لتحضير أدوية لمعالجة التليف الكيسي (CF).

5 الخلفية التقنية

تم اكتشاف nucleotides الدائرية، adenosine monophosphate دائري (cAMP) و ganosine monophosphate دائري (cGMP)، منذ عقود طويلة مضت وتمثل أحد أهم ممرات الرسل الثانية في الخلايا. من المرسخ بالفعل أن تنظيم تجمعات cGMP داخل الخلايا له تأثير جوهري على الفسيولوجيا والفسيولوجيا المرضية ويعد أحد المبادئ الأساسية للتدخل الفارماكولوجي (Eugenov et al. 2006; Schmidt et al. 2009). بذلك تكون مثبطات PDE5 10 (PDE5i) و nitrates التي تزيد مستويات cGMP داخل الخلية عبارة عن علاجات موافق عليه بالفعل من أجل الذبحة الصدرية، وارتفاع الضغط الشرياني الثوي (PAH) أو الضعف الجنسي لدى الرجال (ED) على التوالي في الآونة الأخيرة، تكون المنشطات والمثيرات sGC التي تم اكتشافها في حالات متقدمة من التطوير الإكلينيكي لأجل PAH وفشل القلب. بذلك، يصبح استهداف المسار cGMP /NO إما بإنتاج cGMP (nitrates، مثيرات sGC، منشطات sGC) 15 أو تحلل cGMP (PDE5i) إستراتيجية تدخل فارماكولوجي مؤثرة جدا في أمراض عديدة.

على المستوى الجزيئي، يؤدي عدم الإنتاج إلى إثارة guanylate cyclase (sGC) قابل للذوبان مؤديا إلى تكوين cGMP معزز. بالتتابع، فإن cGMP ينظم مستهدفات لاحقة مختلفة، تحديدا protein kinases ينظمه cGMP (G-Kinases)، phosphodiesterases ينظمه cGMP (PDES) وقنوات ion ينظمها cGMP الذي يحول عدم وجود إشارة وزيادة في cGMP 20 وانخفاض في calcium حر داخل الخلية. بذلك، تكون معظم الاستجابة السائدة لزيادة cGMP داخل الخلية، تحديدا في خلية عضلية ملساء (SMC)، عبارة عن استرخاء. إضافة لذلك، تناقش

التأثيرات المضادة للانقسام، المضادة للتليف أو proapoptotic من cGMP ويمكن توسيع اختيارات المعالجة من أجل مثبطات PDE5 (Sandner et al. 2007, Schmidt et al. 2009). حديثا أكثر توضح بعض خطوط الأدلة أن مثبطات PDE5 تؤثر أيضا على إفراز chloride خلال CFTR بقناة chloride وقد تكون مؤثرة لعلاج التليف الكيسي (Clarke 2008). 5

يكون التليف الكيسي (CF) هو أحد الاضطرابات الوراثية الأكثر انتشارا، والناجمة عن طفرة في جين فردي، قناة CFTR، التي تؤثر على واحد من 2500 إلى 3000 من حديثي الولادة. في هذا المرض، يؤدي نقل ion الشاذ عبر الغشاء الظهاري بالجهاز التنفسي إلى ظهور مخاط على سطح مجرى الهواء dehydrated ومخاط لزج ينظف بطريقة رديئة. يساهم هذا في إصابات بعدوى في الشعب الهوائية بمجرى الهواء وارتفاع معدل الاعتلال والوفاة المبكرة. حتى الآن، تركز المعالجة أساسيا على المعالجة المضادة للعدوى وازدراع الرئة لكن لا يتاح علاج سببي يركز على تصحيح وتقوية وظيفة CFTR معتل. 10

في المستوى الجزيئي تؤدي الطفرة في الجين CFTR إلى CF. تتعين مجموعة واسعة من الطفرات التي تسبب CF في الجين CFTR. مع ذلك، تكون الطفرة الأكثر انتشارا هي إزالة phenylalanine في الموضع 508 من ترتيب amino acid CFTR، ويسمى هذا $\Delta F508$ CFTR. تحدث هذه الطفرة بنسبة حوالي 70% إلى 80% من حالات CF ويصاحبها مرض شديد. 15

إن إزالة المتخلف 508 في $\Delta F508$ -CFTR تمنع بروتين الطفري من معالجته الصحيحة وتضاعفه. لا يخرج CFTR غير المتضاعف، وبشكل غير كامل، من Er، ويسلك طريقه إلى غشاء البلازما. نتيجة لذلك، يكون عدد القنوات الموجودة في الغشاء بمرضى CFTR أقل بكثير من القنوات الملاحظة في خلايا تظهر CFTR من نوع بري. إضافة لذلك، تظهر القناة الطفرية نشاط منخفض للقناة. يؤدي كل من عدد القنوات المنخفض في الإشية الظهارية والنشاط المنخفض للقناة إلى انتقال anion ضعيف بدرجة كبيرة عبر الغشاء الظهاري مما يؤدي إلى انتقال مائع و ion مختل. يسبب هذا خلافا في نقل المائع الظهاري بالرئة وأخيرا التراكم المفرط للمخاط اللزج في الرئة. علاوة على ذلك تؤثر وظيفة CFTR المعتلة أيضا على سبيل المثال على الوظيفة البنكرياسية، الوظائف المعدية المعوية، وظيفة الكبد، وظيفة الغدد الإفرازية أو إفراز insulin. 20 25

خلاصة لذلك، فإن اختلال وظيفة CFTR بواسطة طفرات عديدة يسبب التليف الكيسي. بذلك يمكن أن يقدم تصحيح و/أو تقوية وظيفة CFTR من هذه الطفرات اختيارا للمعالجة السببية من أجل التليف الكيسي (CF).

إضافة لذلك فإن تصحيح و/أو تقوية وظيفة CFTR يقدم اختيارا للمعالجة السببية من أجل الاعتلال البنكرياسي، خلل وظيفة الكبد، جفاف الفم، جفاف العين، عرض Sojegen، وداء سكر يحته CF.

يتضح أن الفياغرا في الخلايا الظهارية بالرئة - PDE5i قوي وانتقائي - تزيد من إفراز chloride يدفعه CFTR (Cobb et. al 2003). إضافة لذلك فإن حركة والنشاط الوظيفي لقنوات CFTR الطفرية للغشاء الخلوي يتأثران بواسطة PDE5i في المعمل (Dormer et. al 2005, Carlile et al. 2007, Robert et al. 2008) 10 يتضح أن مثبطات PDE5 عند استخدامها في نماذج حيوانية لديها تليف كيسي (CF) قادرة على تقليل mucin secretin (Mc Pherson 1999) وتؤثر على إفراز chloride (Lubamba et al. 2008). لذلك يفترض استخدام مثبطات PDE5 لمعالجة التليف الكيسي (Cobb 1999, Lubamba et. al. 2008, Clarke 2008).

مع ذلك، يتحدد استخدام المثبطات PDE5 عندما تثبط فقط انحلال cGMP. في الحالات التي يكون فيها إنتاج cGMP المستقل منخفضا، تتم إعاقة فعاليتها جزئيا على الأقل. من الهام جدا، توصف مؤخرا مركبات تتغلب على تحديد مثبطات PDE5 خلال إثارة مباشرة أو تنشيط sGC. تم مؤخرا تحديد صنفين من المركبات ينشطان مثيرات sGC غير المعتمدة على NO والمعتمدة على حديد خلايا الدم الحمراء، مثل BAY 41-2272 طبقا لمركب من الصيغة (4a)، BAY 41-8543 طبقا لمركب من الصيغة (1)، و BAY 63-2521 طبقا لمركب من الصيغة (3)، ومنشطات sGC غير معتمدة على حديد خلايا الدم الحمراء، مثل BAY 58-2667 طبقا لمركب من الصيغة (5)، و HMR-1766 طبقا لمركب من الصيغة (6)، (Evgenov et al., 2006 للمرجعة انظر Stasch et al. 2001).

لذلك فإننا نبحث عن مثيرات sGC ومنشطات sGC، أي BAY 41-2272، BAY 60-4552، طبقا لمركب الصيغة (4a,4)، بمفرده أو في اتحادات مع مثبطات PDE5، أي vardenafil، في خلايا بالمعمل وأيضا في عينات أنسجة آدمية وفي الجسم الحي، في نماذج حيوانية طفورية CFTR.

- تحديدا, تختبر مثبطات PDE5, مثيرات sGC ومنشطات sGC بمفردها أو باتحادات منها:
- في خلايا BHK تظهر قناة طفرية, بمعنى قناة deltaF508 CFTR ملحقة, على إظهار سطح خلية من delta F508 CFTR.
 - في خلايا HEK-293 تظهر قناة CFTR طفرية, بمعنى deltaF508 CFTR ملحقة, على وظيفة CFTR خلال مقياس تدفق iodine خلال fluorescence.
 - في خلايا HEK-293 تظهر قناة CFTR طفرية, بمعنى deltaF508 CFTR, على تخليق حيوي معزز (النطاق B) وعلى المعالجة (نطاق C).
 - في خلايا CFBE410 تظهر قناة CFTR طفرية, بمعنى delta F508CFTR, على المواصلة عبر الغشاء الظهاري باستخدام تجارب في غرفة.
 - في خزعات من المستقيم من مرضى CF وبالمقارنة مع خزعات من المستقيم من مرضى ليس لديهم CF على المواصلة عبر الغشاء الظهاري باستخدام تجارب في غرفة.
 - في فنران معدلة وراثيا تظهر قناة delta F508CFTR, على فرق الجهد في الأنف وإفراز اللعاب.
 - في فنران معدلة وراثيا لا تظهر CFTR, على فرق الجهد في الأنف وإفراز اللعاب.
 - نستطيع لأول مرة توضيح أن المثيرات والمنشطات من guanylate cyclase القابل للذوبان, وظيفة CFTR الصحيحة والقوية, تقدم اختيار جديد للمعالجة السببية من أجل مرضى CF. إضافة لذلك, لم نتوقع تماما أن الاتحادات من مثيرات sGC أو منشطات sGC مع PDE5i توضح أكثر من تأثير إضافي على التصحيح والتقوية. لذلك قد تقدم الاتحادات علاج أول سببي وفعال من أجل معالجة التليف الكيسي (CF).
 - تحديدا, وجدنا أن مثبطات PDE5 تصحح وظيفة CFTR وتقويها, بمعنى وظيفة delta F508 CFTR في المعمل. إضافة لذلك, وجدنا أن مثيرات ومنشطات sGC -التي لم تستخدم حتى الآن- تصحح وظيفة CFTR وتقويها, بمعنى وظيفة delta F508 CFTR. أخيرا تم اكتشاف أن اتحادات المثيرات أو المنشطات sGC مع المثبطات PDE5 تكون ممتازة للعلاج الأحادي وتوضح تأثيرات إضافية مفرطة على وظيفة CFTR, أي وظيفة delta F508 CFTR.
- خلاصة لذلك تم اكتشاف أن اتحادات المثيرات أو المنشطات sGC بمفردها و بالاتحاد مع المثبطات PDE5 تصحح وظيفة CFTR وتقويها في المعمل والجسم الحي. بسبب فعالية

مثيرات أو منشطات sGC واتحادات المثيرات أو المنشطات sGC مع المثبطات PDE5، تستخدم مجموعة المعالجة هذه بمفردها وبالالاتحاد لمعالجة التليف الكيسي (CF).

إن اضطرابات رئوية التي يمكن التعامل معها بالعوامل العلاجية من الاختراع والتي يمكن معالجتها بصفة خاصة ومميزة جوهريا بواسطة مثيرات أو منشطات sGC بمفردها أو في اتحاد مع مثبطات PDE5، تتمثل في أمراض الرئة، تشمل تليف كيسي (CF).

يمكن معالجة اضطرابات إفرازية، يحددها عوامل علاجية من الاختراع التي لها تحديدا ميزة أساسية بواسطة المثيرات أو المنشطات sGC المذكورة أعلاه بمفردها أو بالاتحاد مع مثبطات PDE5، تشتمل لكن بدون تحديد على الاعتلال البنكرياسي، اعتلال معدي معوي، أمراض الكبد، مرض السكر متعلق بالتليف الكيسي (CFRD).

يمكن معالجة أمراض أخرى، تحدها عوامل علاجية من الاختراع التي لها تحديدا ميزة أساسية بواسطة المثيرات أو المنشطات sGC المذكورة أعلاه بمفردها أو بالاتحاد مع مثبطات PDE5، تتضمن لكن بدون تحديد، مرض انسداد حاد بالشعب الهوائية، خلل وظيفة الكبد، مرض جفاف العين، مرض جفاف الفم، وعرض Sojegen.

تكون كل الأمراض، التي تحدها عوامل علاجية من الاختراع ويمكن معالجتها تحديدا وبميزة أساسية بواسطة المثيرات أو المنشطات sGC المذكورة أعلاه بمفردها أو باتحاد مع مثبطات PDE5، عبارة عن أمراض تشتمل بشكل اعتلالي على إفراز chloride متغير خلال CFTR.

الكشف عن الاختراع

يوفر الاختراع مثيرات أو منشطات sGC بمفردها أو في اتحاد مع مثبطات PDE5 مفيدة في معالجة تليف كيسي (CF)، وتفوق فعاليتها عن فعالية طرق المعالجة المعروفة بالفعل.

يوفر الاختراع مثيرات أو منشطات sGC بمفردها أو في اتحاد مع مثبطات PDE5 مفيدة في معالجة تليف كيسي (CF)، ويفوق نمط التأثير الجانبي لها عن طرق المعالجة المعروفة بالفعل.

يفضل أن يكون مثير (sGC) Guanylate cyclase ومنشط sGC مركباً منتقياً من المجموعة المكونة من:

2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine (1),

- موصوف أيضا كمثال 16 في WO 00/06569، المندمجة هنا كمرجع،
2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-
amine (2)،
موصوف أيضا كمثال 1 في WO 02/42301، المندمجة هنا كمرجع،
methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5- 5
pyrimidinyl(methyl)carbamate (3)،
موصوف أيضا كمثال 8 في WO 03/095451، المندمجة هنا كمرجع،
methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-
pyrimidinylcarbamate (4)،
موصوف أيضا كمثال 5 في WO 03/095451، المندمجة هنا كمرجع، 10
3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorobenzyl)1H-pyrazolo[3,4-
b]pyridine (4a)،
موصوف أيضا كمثال 1 في WO 00/06568، المندمجة هنا كمرجع،
و
4-({(4-carboxybutyl)[2-(2-{[4-(2-phenylethyl)benzyl] oxy}phenyl)ethyl]amino} 15
methyl) benzoic acid (5)،
موصوف أيضا كمثال 8a في WO 01/019780، المندمجة هنا كمرجع،
5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-
phenyl)-benzamide sodium salt (6)،
موصوف في WO00/02851، 20
2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-
sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7)،
موصوف في WO00/02851،
1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxyphenyl]
pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8)، 25
موصوف في WO 2009/032249،

1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridine-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9),

موصوف في WO 2009/071504،

1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-caboxylic acid (10),

5

موصوف في WO 2009/068652،

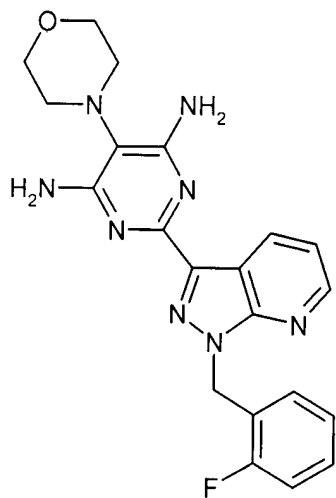
1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11), 4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12)

و 10

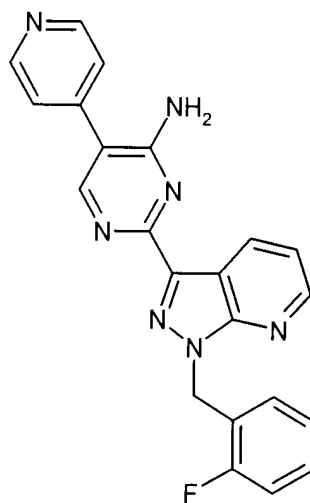
1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13)

موصوف في WO 2009/123316.

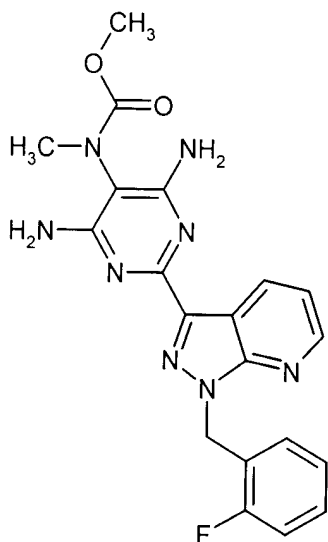
8



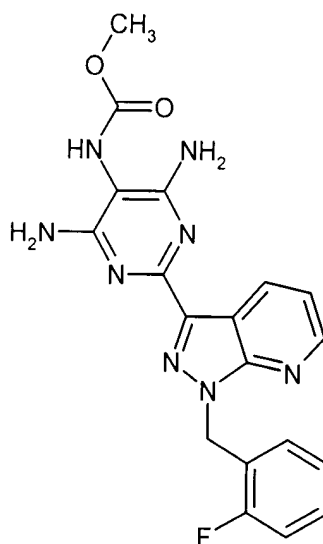
(1)



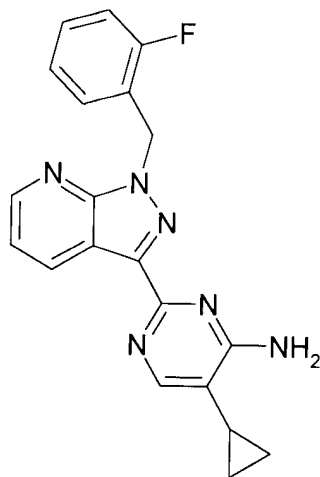
(2)



(3)

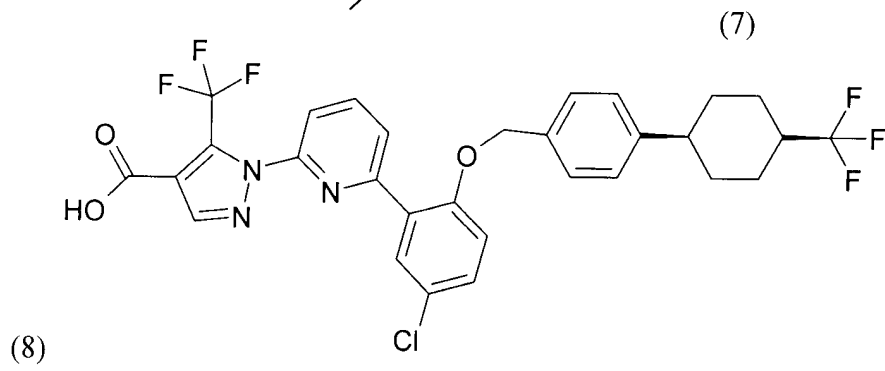
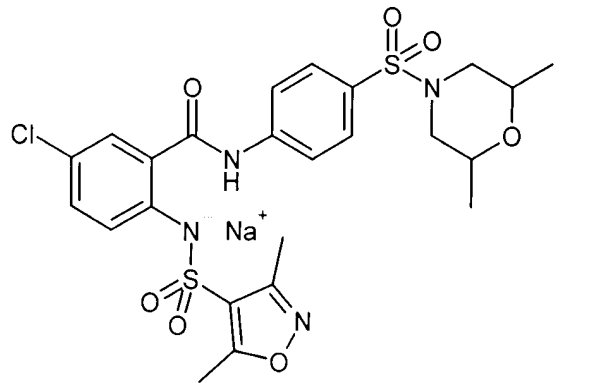
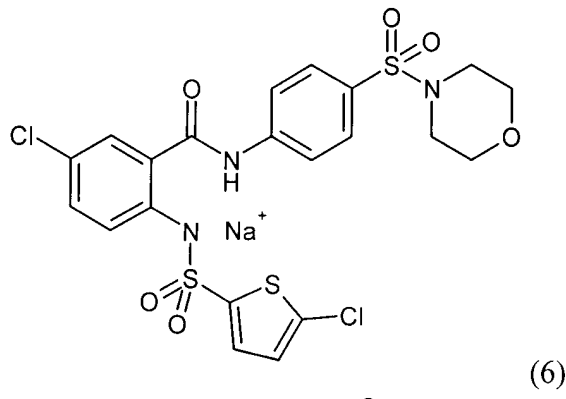
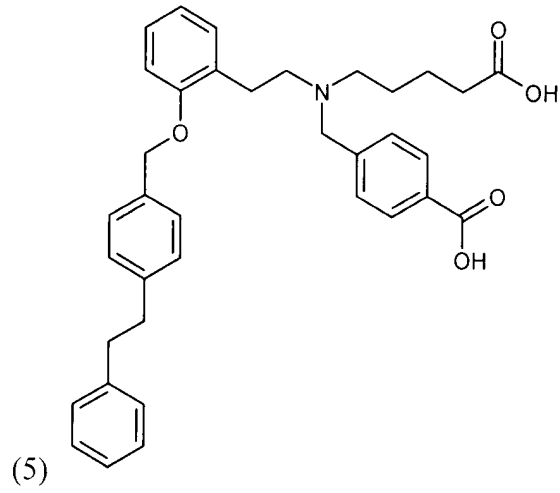


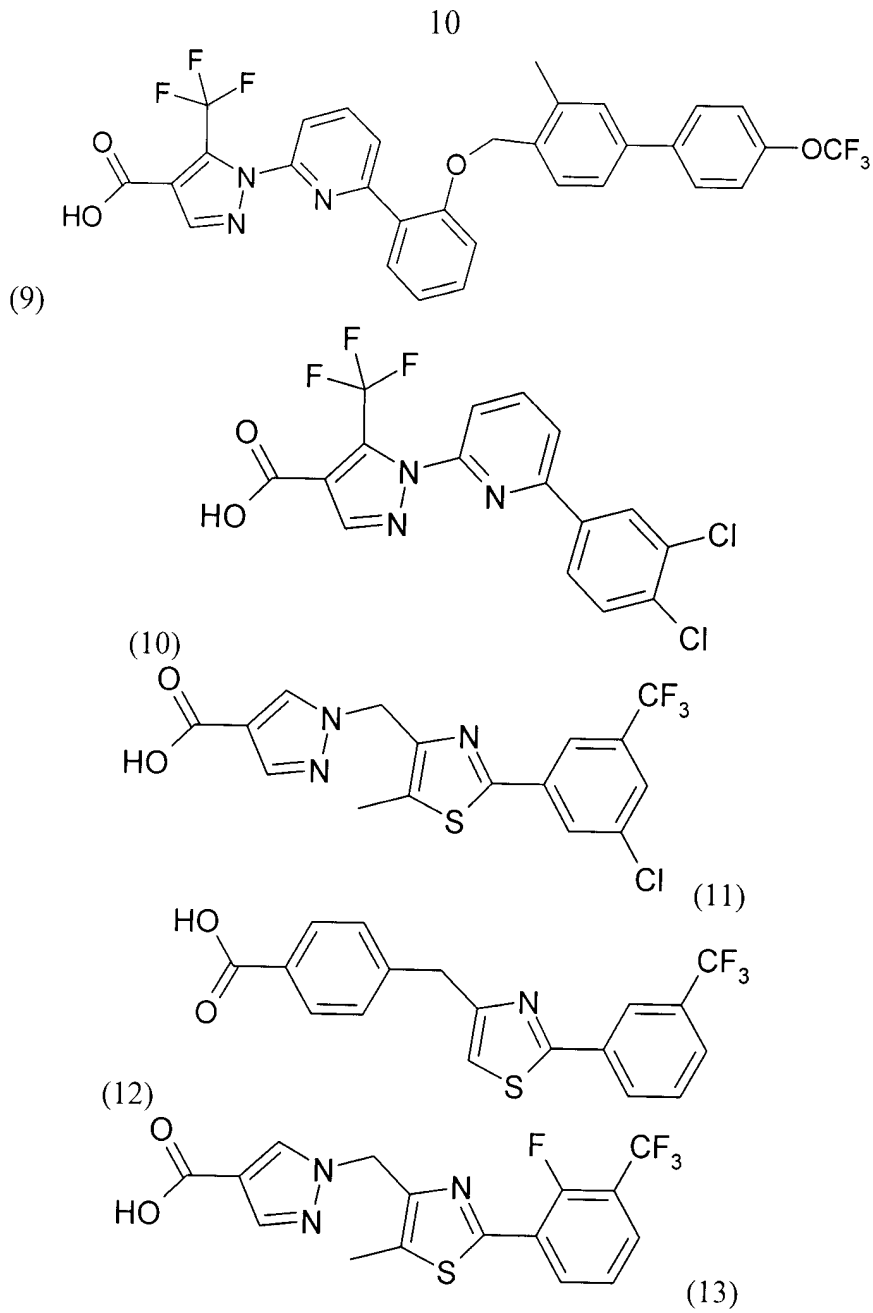
(4)



(4a)

9





5

تعد مركبات (1)، (2)، (3)، (4)، و(4a) مثيرات معروفة guanylate cyclase قابل للذويان (sGC) وصفت من قبل المعالجة الذبحة الصدرية المستقرة أو خلل وظيفة الانتصاب.

تكون المركبات (5)، (6)، (7)، (8)، (9)، (10)، (11)، (12)، و(13) معروفة كمنشطات sGC. إن مثبطات PDE-5 المفيدة في المعالجة الاتحادية لاضطرابات المسالك البولية هي

تحديدا 10

Tadalafil ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a - Hexahydro - 2 - methyl - 6 - (3,4-methylene -dioxypheyl) pyrazino(1',2':1,6) pyrido(3,4-b)indole-1,4-dione),

Vardenafil (2-(2-Ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-yl-1-sulfonyl)phenyl)-5-methyl-7-propyl-3H-imidazo (5,1-f) (1,2,4)triazin-4-one),

Sildenafil (3-[2-ethoxy-5-(4-methylpiperazin-1-yl)sulfonyl-phenyl]- 7- methyl 1- 9-propyl 1-2,4,7,8- tetrazabicyclo [4.3.0]nona -3,8,10-trien-5-one),

Udenafil 5-[2-propyloxy-5-(1-methyl-2-pyrrolidinylethylamidosulfonyl)phenyl]- 5 methyl-3-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo(4,3-d)pyrimidine-7-one,

Dasantafil 7-(3-Bromo-4-methoxybenzyl)-1-ethyl-8-[[[(1,2)-2-hydroxycyclopentyl]amino]-3-(2-hydroxyethyl)-3,7-dihydro-1-purine-2,6-dione,

Avanafil 4-{[(3-chloro-4-methoxyphenyl)methyl]amino}-2-[(2S)-2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl]-N-(pyrimidin-2-ylmethyl)pyrimidine-5- 10 carboxamide,

،Surface Logix من *SLx 2101* ،UK 371.800 ،UK 369.003 ،Lodenafil ،Mirodenafil

*LAS 34179*Triazolo[1,2-]xanthine,6-methyl-4-propyl-2-[2-propoxy-5-(4-methyl piperazino)sulfonyl]phenyl-

أو أملاح أو مواد منحلّة، أو مواد منحلّة من أملاح المثبطات PDE5 المذكورة سابقا. 15

تصاغ تركيبة الاختراع الدوائية الموائمة لطريقة إعطائها المعينة. تتضمن أمثلة على طرق الإعطاء إعطاء عن غير الطريق المعوي مثلا في الوريد، في الأدمة، تحت الجلد، معويا (مثلا بالاستنشاق)، عبر الأدمة (موضعيًا)، عبر مخاط وشرجيا. إن التركيبات الدوائية المناسبة للاستخدام بالحقن تتضمن محاليل مائية (قابلة للذوبان في الماء) أو مشتتات ومساحيق معقمة 20 للتحضير المرئجل لمشتتات أو محاليل معقمة للحقن. يمكن أن تكون المادة الحاملة عبارة عن

وسط مشتت أو مذيّب محتوي مثلا على ماء، ethanol، polyol مقبول دوائيا مثل glycerol،

propylene glycol، polyethylene glycol سائل، وخلطات مناسبة من ذلك. يمكن الحفاظ

على الميوعة الملائمة مثلا باستخدام غلاف مثل lecithin، بالحفاظ على حجم الجسيم

المطلوب في حالة مشتت وباستخدام منشطات سطح. يمكن الحصول على تأثير مانع لوجود

الكائنات الحية المتعضية بواسطة عوامل عديدة مضادة للبكتريا ومضادة للفطريات مثلا 25

،thimerosal، ascorbic acid، phenol، chlorobutanol، parabens، إلخ.

في حالات عديدة، يفضل أن تتضمن عوامل متواترة مثل السكريات، polyalcohols مثل maitol sorbitol sodium chloride في التركيبة.

تتضمن التركيبات المعوية عموماً مادة تخفيف خاملة أو مادة حاملة صالحة للأكل. قد تغلف التركيبات في كبسولات gelatine أو تكبس في أقراص. لأغراض الإعطاء العلاجي المعوي، يمكن دمج المركب النشط مع مواد مسوغة ويستخدم في شكل أقراص، قرصات، أو كبسولات. يمكن أيضاً تحضير التركيبات المعوية باستخدام مادة حاملة مائعة تستخدم كغسول للفم، حيث يطبق المركب في المادة الحاملة المائعة معوياً وسفها ومضمضتها أو بلعها.

يمكن إدخال عوامل ربط موائمة دوائياً، و/أو مواد مساعدة كجزء من التركيبة. قد تحتوي الأقراص، الحبات، الكبسولات، القرصات، إلخ على أي من المقومات التالية، أو مركبات لها طبيعة مماثلة: مادة رابطة مثل cellulose متبلور دقيق، صمغ tragacanth أو gelatin؛ مادة مسوغة مثل النشا أو lactose، عامل تفكك مثل alginic acid، Primogel، أو نشا ذرة؛ مادة مزلجة مثل stearate magnesium أو sterotes؛ مادة مزلقة مثل silicon dioxide غرواني؛ عامل تحلية مثل sucrose أو saccharin؛ أو عامل تنكيه مثل نعناع بستاني، methyl salicylate، أو نكهة يرتقال.

للإعطاء بالاستنشاق، يتم توصيل المركبات في شكل رشاش رذاذ عقار من أداة توزيع أو حاوية مكيفة الضغط محتوية على مادة دافعة مناسبة، مثلاً غاز مثل carbon dioxide، أو مرزذ.

يمكن أيضاً أن يتم الإعطاء الجهازي بواسطة وسيلة عبر المخاط أو عبر الأدمة. بالنسبة للإعطاء عبر المخاط أو عبر الأدمة، تستخدم في المستحضر مواد مختزقة ملائمة للحاجز المراد اختراقه. تعد المواد المختزقة هذه مواد معروفة في الفن بشكل عام، وتتضمن للإعطاء عبر المخاط مثلاً مواد منظفة، أملاح صفراء، ومشتقات fusidic acid. يمكن إنجاز الإعطاء عبر المخاط من خلال استخدام رشاشات أنفية أو تحاميل. للإعطاء عبر الأدمة، تصاغ المركبات النشطة في مراهم، دهانات ملطفة، هلامات، أو كريمات معروفة في الفن بوجه عام. يمكن أيضاً تحضير المركبات في شكل تحاميل (مثلاً مع قواعد تحميلية تقليدية مثل زبدة

الكاكاو و glycerides أخرى) أو حقن شرجية للبقاء عند التوصيل الشرجي.

وسائل تنفيذ الاختراع

في أحد التجسيديت، تحضر المركبات النشطة مع مواد حاملة تحمي المركب من عملية الإزالة السريعة من الجسم، مثلا مستحضر متحكم في إطلاقه، متضمنا غرسات وأنظمة توصيل مكبسلة دقيقة. يمكن استخدام polymers قابلة للتحلل الحيوي ومتوائمة حيويًا، مثل collagen، polyglycolic acid، polyanhydrides، ethylene vinyl acetate، polyorthoesters و poly-lactic acid. 5

في تجسيد آخر، يوفر الاختراع مثيرات أو منشطات sGC متحدة مع مثبطات PDE5 واستخدامها في تحضير تركيبات دوائية لمعالجة التليف الكيسي (CF)، حيث تشتمل هذه التركيبات على إما (1) تركيبات دوائية مشتملة على مركب له تأثير مثير أو منشط sGC ونشاط تثبيطي يحدثه PDE-5، أو (2) تركيبات دوائية مشتملة على مثير ومنشط sGC واحد ومثبط PDE-5 واحد على الأقل كاتحاد ثابت في وحدة تطبيق واحدة، أو (3) مجموعة من أجزاء محتوية على مجموعتين على الأقل من التركيبات الدوائية، تتكون كل مجموعة من مستحضر دوائي واحد على الأقل مشتمل على مثبط PDE-5 في وحدات من جرعة واحدة على الأقل ومستحضر دوائي واحد على الأقل مشتمل على منشط أو مثير sGC في وحدات من جرعة واحدة على الأقل، حيث تعطى كل وحدة تطبيق من التركيبات الدوائية المذكورة متحدة معًا، متعاقبة، أو كجرعات فردية أو متعددة. 15

يوفر الاختراع الحالي بصفة خاصة:

تركيبية دوائية لمعالجة مرض مندرج في مجموعة من الأمراض المتكونة من التليف الكيسي (CF)، تحتوي على مركب واحد على الأقل منتقى من:

2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine (1), 20

2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-amine (2),

methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3),

و 25

methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4),

3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorbenzyl)1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine (4a),

9

5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6),

5

2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7),

9

4-((4-carboxybutyl)[2-(2-{4-(2-phenylethyl)benzyl}oxy)phenyl]ethyl]amino)methyl benzoic acid (5)

10

1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxy)phenyl]pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8)

1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9)

1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (10)

15

1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11)

4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12)

1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13)

20

ومركب واحد على الأقل منتقى من:

Tadalafil ((6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-Hexahydro-2-methyl-6-(3,4-methylene-dioxyphenyl)pyrazino(1',2':1,6)pyrido(3,4-b)indole-1,4-dione),

Vardenafil (2-(2-Ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-yl)-1-sulfonyl)phenyl)-5-methyl-7-propyl-3H-imidazo(5,1-f)(1,2,4)triazin-4-one),

25

- Sildenafil* (3-[2-ethoxy-5-(4-methylpiperazin-1-yl)sulfonyl-phenyl]-7-methy-1-9-propyl-2,4,7,8-tetraabicyclo [4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-one),
- Udenafil* 5-[2-propyloxy-5-(1-methyl-2-pyrrolidinyl-ethyl-amidosulfonyl)phenyl]-methyl-3-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo(4,3-d)pyrimidine-7-one,
- Dasantafil* 7-(3-Bromo-4-methoxybenzyl)-1-ethyl-8-[[1,2)-2-hydroxycyclopentyl] amino]-3-(2-hydroxyethyl)-3,7-dihydro-1-purine-2,6-dione, 5
- Avanafil* 4-{{(3-chloro-4-methoxy phenyl)methyl}amino}-2-[(2S)-2-(hydroxyl methyl)pyrrolidin-1-yl]-N-(pyrimidin-2-yl methyl)pyrimidine-5-carboxamide, ،Surface Logix من *SLx 2101* ،UK 371.800 ،UK 369.003 ،Lodenafil ،Mirodenafil و/أو 10
- LAS 34179*Triazolo[1,2-]xanthine,6-methyl-4-propyl-2-[2-propoxy-5-(4-methyl piperazino)-sulfonyl]phenyl
- أو أملاح أو مواد منحلّة، أو مواد منحلّة من أملاح المثبطات PDE5 المذكورة آنفاً.
- تركيبة دوائية لمعالجة مرض مندرج في مجموعة من الأمراض التي يوجد بها وظيفة CFTR اعتلالياً، تتكون لكن بدون تحديد من اضطرابات بنكرياسية، اضطرابات معدية معوية، اضطرابات بالكبد، أمراض السكر المتعلقة بالتليف الكيسي (CF)، جفاف العين، جفاف الفم، عرض Sjoegren، التي تحتوي على مركب واحد على الأقل منتقى من 15
- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine (1),
- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-amine (2), 20
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3), و
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4), 25

- 3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorbenzyl)1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine (4a), 9
- 5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6), 5
- 2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7), 9
- 4-((4-carboxybutyl)[2-(2-{[4-(2-phenylethyl) benzyl] oxy}phenyl)ethyl]amino) methyl) benzoic acid (5) 10
- 1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-} trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxyphenyl] pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8)
- 1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9)
- 1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-caboxylic acid (10) 15
- 1-((2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11)
- 4-((2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12)
- 1-((2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13) 20

ومركب واحد على الأقل منتقى من:

- Tadalafil* ((6R,12aR) -2,3,6,7,12,12a – Hexahydro – 2 – methyl – 6 - (3,4-methylene-dioxyphenyl) pyrazino(1',2':1,6) pyrido(3,4-b)indole-1,4-dione),
- Vardenafil* (2-(2-Ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-yl)-1-sulfonyl)phenyl)-5-methyl-7-propyl-3H-imidazo (5,1-f) (1,2,4)triazin-4-one), 25

- Sildenafil* (3-[2-ethoxy-5-(4-methylpiperazin-1-yl)sulfonyl-phenyl]-7-methy-1-9-propyl-2,4,7,8-tetraabicyclo [4.3.0]nona-3,8,10-trien-5-one),
- Udenafil* 5-[2-propyloxy-5-(1-methyl-2-pyrrolidinyl-ethyl-amidosulfonyl)phenyl]-methyl-3-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo(4,3-d)pyrimidine-7-one,
- Dasantafil* 7-(3-Bromo-4-methoxybenzyl)-1-ethyl-8-[[[(1,2)-2-hydroxycyclopentyl]amino]-3-(2-hydroxyethyl)-3,7-dihydro-1-purine-2,6-dione,
- Avanafil* 4-{{(3-chloro-4-methoxy phenyl)methyl}amino}-2-[(2S)-2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl]-N-(pyrimidin-2-yl methyl)pyrimidine-5-carboxamide,
- Mirodenafil, Lodenafil, UK 369.003, UK 371.800, *SLx 2101* of Surface Logix, 10
و/أو
- LAS 34179*Triazolo[1,2-]xanthine,6-methyl-4-propyl-2-[2-propoxy-5-(4-methylpiperazino)-sulfonyl]phenyl
- أو أملاح أو مواد منحلّة، أو مواد منحلّة من أملاح المثبطات PDE5 المذكورة آنفاً. استخدام
15 مثيرات ومنشطات sGC لتحضير تركيبة دوائية لمعالجة التليف الكيسي (CF).
استخدام مثيرات ومنشطات sGC لتحضير تركيبة دوائية لمعالجة من اضطرابات
بنكرياسية، اضطرابات معدية معوية، اضطرابات بالكبد، أمراض السكر المتعلقة بالتليف
الكيسي (CF)، جفاف العين، جفاف الفم، عرض Sjoegren.
استخدام اتحاد من مثير أو منشط sGC واحد على الأقل ومثبط PDE5 واحد على الأقل
20 لتحضير تركيبة دوائية لمعالجة التليف الكيسي.
استخدام اتحاد من مثير أو منشط sGC واحد على الأقل ومثبط PDE5 واحد على الأقل
لتحضير تركيبة دوائية لمعالجة اضطرابات بنكرياسية، اضطرابات بالكبد، أمراض سكر متعلقة
بالتليف الكيسي (CFRD)، جفاف العين، جفاف الفم، عرض Sjoegren.
استخدام مثير أو منشط sGc منتقى من مجموعة المثيرات والمنشطات sGC
- 2- [1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine(1), 25

- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-amine (2),
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3),
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4), 5
- 5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6),
- 2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7), 10
- 4-({(4-carboxybutyl)[2-(2-{[4-(2-phenylethyl) benzyl]oxy}phenyl)ethyl]amino}methyl) benzoic acid (5),
- 1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxy)phenyl]pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8),
- 1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9), 15
- 1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (10),
- 1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11), 20
- 4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12),
- 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13)

لتحضر تركيبة دوائية لمعالجة تليف كيسي (CF).

- استخدام اتحاد من مثير ومنشط sGc واحد على الأقل منتقى من مجموعة المثيرات 25
والمنشطات sGC

- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine (1),
- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidinamine (2),
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3), 5
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4),
- 3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorobenzyl)1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine (4a), 10
- 5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6),
- 2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7), 9 15
- 4-((4-carboxybutyl)[2-(2-([4-(2-phenylethyl) benzyl] oxy)phenyl)ethyl]amino) methyl) benzoic acid (5),
- 1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxy)phenyl]pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8),
- 1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9), 20
- 1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-caboxylic acid (10),
- 1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11), 25
- 4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12),

- 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13)
- ومثبط PDE-5 واحد على الأقل ينتقى من مجموعة مثبطات PDE-5 تتكون من
- Vardenafil (2-(2-Ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-yl-1-sulfonyl)phenyl)-5-methyl-7-propyl-3H-imidazo (5,1-f) (1,2,4) triazin-4-one), 5
- Sildenafil (3-[2-ethoxy-5-(4-methylpiperazin-1-yl)sulfonyl-phenyl] - 7- methyl- 9-propyl-1,2,4,7,8- tetrazabicyclo [4.3.0]nona -3,8,10-trien-5-one),
- و
- Tadalafil ((6R,12aR) -2,3,6,7,12,12a- Hexahydro -2-methyl-6- (3,4-methylene-dioxyphenyl) 10
- لتحضير تركيبة دوائية لمعالجة التليف الكيسي (CF)
- طريقة لتحضير تركيبة دوائية لمعالجة الأمراض كما هو مذكور أعلاه حيث ينتقى المثبر والمنشط من guanylate-cyclase القابل للذوبان من مجموعة المركبات المتكونة من
- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine (1), 15
- 2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-amine (2),
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3),
- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4), 20
- 3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorobenzyl)1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine (4a),
- 5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6), 25
- 2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7),

- 4-((4-carboxybutyl)[2-(2-{[4-(2-phenylethyl) benzyl] oxy}phenyl)ethyl]amino}methyl) benzoic acid (5),
- 1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}-trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxyphenyl]pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8), 5
- 1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9),
- 1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (10),
- 1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11), 10
- 4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12),
- 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13).
- استخدام تركيبية دوائية كما هو مذكور أعلاه لإثارة وتنشيط guanylate cyclase القابل للذوبان في كائن ثديي به لديه تليف كيسي (CF). 15
- استخدام تركيبية دوائية كما هو مذكور أعلاه لإثارة وتنشيط guanylate cyclase القابل للذوبان ولتنظيم نشاط PDE في كائن ثديي لديه تليف كيسي (CF).
- تركيبية دوائية تشمل على الأقل methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4) 20
- carboxybutyl)[2-(2-{[4-(2-phenylethyl) benzyl] oxy}phenyl)ethyl]amino}methyl) benzoic acid (5) وعلى الأقل Avanafil ،Dasantafil ،Udenafil ،Tadalafil ،Sildenafil ،Vardenafil أو ملح، مواد منحلة أو مواد منحلة من ملح من مثبطات PDE5 المذكورة سابقا، Mirodenafil ،Lodenafil ،UK 369.003 ،UK 371.800 ،SLx2101 و LAS34179 ويفضل لمعالجة التليف الكيسي (CF). 25
- تجرى تجارب لتوضيح تأثير مثبرات ومنشطات sGC بمفردها ومتحدة مع vardenafil .

تحديدا تختبر مثبّرات sGC ومنشطات sGC، أي، methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-

fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4)

وفي اتحاد مع مثبّطات PDE5، أي، Vardenafil في المعمل وفي الجسم:

● في خلايا BHK تظهر قناة CFTR طفرية، بمعنى قناة deltaF508 CFTR ملحقة، على

5 إظهار سطح خلية من delta F508 CFTR.

● في خلايا HEK-293 تظهر قناة CFTR طفرية، بمعنى deltaF508 CFTR ملحقة، على

وظيفة CFTR خلال مقياس تدفق iodine خلال fluorescence.

● في خلايا HEK-293 تظهر قناة CFTR طفرية، بمعنى deltaF508 CFTR، على

تخليق حيوي معزز (النطاق B) وعلى المعالجة (نطاق C).

● في خلايا CFBE410 تظهر قناة CFTR طفرية، بمعنى delta F508CFTR، على 10

المواصلة عبر الغشاء الظهاري باستخدام تجارب في غرفة.

● في خزعات من المستقيم من مرضى CF وبالمقارنة مع خزعات من المستقيم من

مرضى ليس لديهم CF على المواصلة عبر الغشاء الظهاري باستخدام تجارب في غرفة.

● في فئران معدلة وراثيا تظهر قناة delta F508CFTR، على فرق الجهد في الأنف وإفراز

15 اللعاب.

● في فئران معدلة وراثيا لا تظهر CFTR، على فرق الجهد في الأنف وإفراز اللعاب.

تكون اتحادات من مثبّرات ومنشطات sGC، أي methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-

fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4)

مثبّطات PDE5، أي vardenafil آمنة، مع نمط ديناميكي دموي مماثل إلى vardenafil.

20 إن تجسيد مفضل من الاختراع هو اتحاد من على الأقل مثير أو منشط sGC منتقى من

المجموعة المشتمة على

2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-

pyrimidinediamine (1),

2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-

amine (2),

25

methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-

pyrimidinyl(methyl)carbamate (3),

- methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4),
- 3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorobenzyl)1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine (4a),
- 5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6), 5
- 2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7),
- و/أو
- 4-({(4-carboxybutyl)[2-(2-{{4-(2-phenylethyl) benzyl} oxy}phenyl)ethyl]amino} methyl) benzoic acid (5), 10
- 1-{{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxy)phenyl}pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8),
- 1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9), 15
- 1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (10),
- 1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11),
- 4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12), 20
- 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (13)
- مع مثبط PDE5 منتقى من المجموعة المشتملة على Sildenafil، Vardenafil، UK 369.003، Lodenafil، Mirodenafil، Avanafil، Dasantafil، Udenafil، Tadalafil، UK 371.800 و SLx2101 و LAS34179 حيث يشتمل الاتحاد على 0.1 إلى 1 مجم من مثير أو منشط sGC و 2.5 إلى 20 مجم من مثبط PDE5. 25

إن تجسيد مفضل آخر من الاختراع هو اتحاد طبقا لعنصر الحماية 1 حيث يكون مثير sGC هو methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3)

(4) methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate

5 يكمن تجسيد مفضل آخر من الاختراع في اتحاد كما اتضح أعلاه يكون فيه مثبط PDE5 هو Vardenafil أو Sildenafil.

إن تجسيد مفضل آخر من الاختراع هو اتحاد كما هو مذكورة أعلاه حيث يكون مثير sGC هو methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3) أو methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4) هو PDE5 ومثبط هو

10 (4) methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate ومثبط PDE5 هو Vardenafil.

إن تجسيد مفضل آخر من الاختراع هو اتحاد طبقا للتجسيديات المذكورة أعلاه للاستخدام كدواء.

15 إن تجسيد مفضل آخر من الاختراع هو استخدام اتحاد كما هو مذكور أعلاه لتصنيع دواء لمعالجة التليف الكيسي (CF).

إن تجسيد مفضل آخر من الاختراع هو مستحضر دوائي يشمل اتحاد واحد على الأقل كما هو مذكور أعلاه.

إن تجسيد مفضل آخر من الاختراع هو مستحضر دوائي يشمل اتحاد واحد على الأقل كما هو مذكور أعلاه للاستخدام في التليف الكيسي (CF).

20 جدول 1

تتضح معدلات إفراز اللعاب كمتوسط للزيادة بالنسبة المئوية بعد المعالجة مع vardenafil (0.07, 0.14, 0.42 مجم/كجم فمويا) و BAY 41-2272 (مركب طبقا للصيغة (4a)) (0.01, 0.03, 0.1, 0.3, مجم/كجم فمويا) بالمقارنة مع المعالجة placebo, ***/**/* يعني أهمية استاتيكية مع قيم $P > 0.05 / > 0.01 / > 0.001$ تتحلل بطريقة اختبار واحدة

25 ANOVA ثم تحليل Bonferoni post-hoc.

جدول 1:

معدلات إفراز اللعاب في فئران deltaF508 CFTR بالنسبة المئوية من placebo

عدد الفئران [عدد]	الأهمية الاستاتيكية	معدل إفراز اللعاب [%]	
49		100	Placebo
25	غير هام	111	Vardenafil - 0.07 مجم/كجم
39	***	215	Vardenafil - 0.14 مجم/كجم
30	***	202	Vardenafil - 0.42 مجم/كجم
40	غير هام	142	BAY 41-2272 - 0.01 مجم/كجم
59	**	164	BAY 41-2272 - 0.03 مجم/كجم
59	***	179	BAY 41-2272 - 0.10 مجم/كجم
40	***	200	BAY 41-2272 - 0.30 مجم/كجم

طرق تطبيق الاختراع صناعيا

مثال 1:

تأثيرات vardenafil والمثيرات sGC في فئران معدلة وراثيا تظهر قناة CFTR delta F508, على إفراز اللعاب.

5 اختبار إفراز اللعاب في فئران delta(Δ)508-CFTR

يستخدم في هذا الاختبار Δ508-CFTR متجانس zygous, متغاير zygous ذكر وأنثى (مقاطع عكسيا على الخلفية الوراثية FVB من أجل أكثر من 12 جيل, نحصل عليه أساسيا من Erasmus University, Rotterdam; van Doorninck et al., 1995), تبلغ عمرها 10-14 أسابيع ووزنها 18-36 جم للجنسين.

10 تحضر محاليل Vardenafil بتركيزات 0.07, 0.14 و 0.42 مجم/كجم BW في محلول

ملحي معقم, بحيث يذاب BAY 41-2272 مثير sGC إلى 0.01, 0.03, 0.1 و 0.3

مجم/كجم في مذيب يحتوي على 50% ddH₂O, 40% PEG 400 (polyethylene glycol 400)

و 10% ethanol. تعطى المواد أو الأوساط الناقلة المناسبة لفئران خلال الحقن داخل الغشاء

البريتوني (5 مليلتر/كجم BW) قبل 60 دقيقة من اختبار إفراز اللعاب. بعد 60 دقيقة, تخدر

15 الفئران باتحاد ketamine و diazepam. يحضر المحلول ليحتوي على 1 مليلتر من 5 مجم/

مليلتر diazepam و 1 مليلتر من 100 مجم/مليلتر ketamine في 8 مليلتر محلول ملحي

معقم. يتم حث التخدير بحقن محلول (10 مليلتر/كجم BW) داخل الغشاء البريتوني. بعد

التخدير، تعالج الفئران مسبقا بحقن 1 مللي جزئىي جرامي atropine (50 ميكرو لتر) تحت الجلد في الوجنة اليسرى لتجنب الحث المتقاطع لمستقبلات كولينية الفعل. توضع شرائح صغيرة من ورق مرشح Whatman داخل وجنة محقونة مسبقا لمدة 4 دقائق لامتصاص أي لعاب تم إفرازه بعد حقن atropine. تزال القطعة الأولى من ورق المرشح وتستبدل مع ورق مرشح ثاني موزون مسبقا. بعد ذلك، يحقن 50ميكرو لتر من محلول يحتوي على 100 ميكرو جزئىي جرامي isoprenaline و 1 مللي جزئىي جرامي atropine داخل الوجنة اليسرى عند نفس الموقع لحث إفراز اللعاب بواسطة آليات مفرزة للأدرينالين. يؤخذ زمن حقن isoprenaline كزمن بالصففر، وتستبدل شرائح ورق المرشح كل 10 دقائق من أجل إجمالي فترة تجميع 30 دقيقة. توضع مباشرة كل قطعة من ورق المرشح ويحكم غلقها في قارورة موزونة مسبقا. بعد تجميع كل العينات، يعاد قياس القارورة وتسجل أوزان العينات. يؤخذ الاختلاف في إجمالي الوزن للقارورة زائد الورقة المقاسة قبل وبعد تجميع اللعاب كصافي وزن اللعاب الذي تم إفرازه أثناء فترة التجميع. تحسب إجمالي كميات إفراز اللعاب كوزن اللعاب المقسم بعدد الدقائق المطلوبة لكل تجميع ويتعادل مع كتلة الفأر بالجرامات. يوضح جدول 1 النتائج كمتوسط للزيادة بالنسبة المئوية n لفئران مقارنة مع معالجة placebo. تحلل استاتيكيات بطريقة اختبار واحدة ANOVA ثم تحليل Bonferoni analysis post-hoc؛ إن ****/**/ * يعني أهمية استاتيكية مع قيم $p > 0.05$ / > 0.01 / 0.001 ويعني n.s. عدم وجود أهمية.

المراجع:

- Carlile GW, Robert R, Zhang D (2007): Correctors of protein trafficking defects identified by a novel high-throughput screening assay. *Chem Bio Chem* 8: 1012-1020 20
- Clarke LL (2008): Phosphodiesterase 5 Inhibitors and Cystic Fibrosis. *Am J RRespir Crit Care Med* 177: 469-472
- Cobb BR, Fan L, Kovacs TE (2003): Adenosine receptors and phosphodiesterase inhibitors stimulate Cl⁻ secretion in Calu-3 cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 29: 410-418 25

- Dormer RL, Harris CM, Clark Z et al. (2004) : Sildenafil (Viagra) corrects $\Delta F508$ -CFTR location in nasal epithelia cells from patients with cystic fibrosis. *Thorax* 60: 55-59
- Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM et al. (2006) NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov* 5(9): 755-68 5
- Lubamba B, Lecourt H, Lebacq J (2008): Preclinical evidence that sildenafil and vardenafil activate chloride transport in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 506-515
- McPherson MA, Pereira MMC, Mills CL et al. (1999): A cyclic nucleotide PDE5 inhibitor corrects defective mucin secretion in submandibular cells containing antibody directed against the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein. *FEBS Letters* 464: 48-52 10
- Robert R, Carlile GW, Pavel C et al. (2008): Structural analog of sildenafil identified as a novel corrector of the F508del-CFTR trafficking defect. *Mol Pharmacol* 73: 478-489. 15
- Sandner P, Hütter J, Tinel H et al. (2007): PDE5 inhibitors beyond erectile dysfunction. *Int J Impot Res* 19(6): 533-543
- Schmidt HHHW., Hoffmann F, Stasch JP, Editors (2009): cGMP: Generators, Effectors and therapeutic implications. *Handbook of Experimental Pharmacology* Vol. 191 20
- Stasch JP, Becker EM, Alonso-Alija C et al. (2001): NO-independent regulatory site on soluble guanylate cyclase. *Nature* 411: 212-215

عناصر الحماية

1- اتحاد من على الأقل مثير أو منشط sGC منتقى من المجموعة المشتمة على	1
2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-morpholinyl)-4,6-pyrimidinediamine (1),	2 3
2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-(4-pyridinyl)-4-pyrimidin-amine (2),	4 5
methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate (3),	6 7
methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-3-yl]-5-pyrimidinylcarbamate (4),	8 9
3-(4-amino-5-cyclopropylpyrimidine-2-yl)-1-(2-fluorobenzyl)1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine (4a),	10 11
5-chloro-2-(5-chlorothiophene-2-sulfonylamino-N-(4-(morpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide sodium salt (6),	12 13
2-(4-chloro-phenylsulfonylamino)-4,5-dimethoxy-N-(4-(thiomorpholine-4-sulfonyl)-phenyl)-benzamide (7),	14 15
	و/أو 16
4-({(4-carboxybutyl)[2-(2-{{4-(2-phenylethyl) benzyl}oxy}phenyl)ethyl]amino}methyl) benzoic acid (5),	17 18
1-{6-[5-chloro-2-({4-trans-4-}trifluoromethyl)cyclohexyl]benzyl}oxyphenyl]pyridin-2-yl}-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (8),	19 20
1-[6-(2-(2-methyl-4-(4-trifluoromethoxyphenyl)benzyloxy)-phenyl)pyridin-2-yl]-5-trifluoromethyl-pyrazole-4-carboxylic acid (9),	21 22
1[6-(3,4-dichlorophenyl)-2-pyridinyl-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-4-caboxylic acid (10),	23 24
1-({2-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid (11),	25 26

- 4-({2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,3-thiazol-4-yl}methyl)benzoic acid (12), 27
- 1-({2-[2-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-5-methyl-1,3-thiazol-4-yl}methyl)-1H- 28
pyrazole-4-carboxylic acid (13) 29
- مع مثبط PDE5 منتقى من المجموعة المشتمة على Sildenafil ، Vardenafil 30
- ، UK 369.003 ، Lodenafil ، Mirodenafil ، Avanafil ، Dasantafil ، Udenafil ، Tadalafil 31
- UK 371.800 ، SLx2101 و LAS34179 حيث يشتمل الاتحاد على 0.01 إلى 10 مجم من 32
- مثير أو منشط sGC و 2.5 إلى 20 مجم من مثبط PDE5. 33
- 2- اتحاد طبقا لعنصر الحماية 1 حيث يكون مثير sGC هو methyl-4,6-diamino-2-[1-(2- 1
fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]-5-pyrimidinyl(methyl)carbamate 2
- (3) أو methyl-4,6-diamino-2-[1-(2-fluorobenzyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-3-yl]- 3
5-pyrimidinylcarbamate (4) 4
- 3- اتحاد طبقا لعناصر الحماية 1 و 2 حيث مثبط PDE5 هو Sildenafil أو Vardenafil. 1
- 4- اتحاد طبقا لعناصر الحماية 1 إلى 3 للاستخدام كدواء. 1
- 5- استخدام اتحاد طبقا لعناصر الحماية 1 إلى 3 لتصنيع دواء لمعالجة التليف الكيسي (CF). 1
- 6- اتحاد طبقا لعناصر الحماية 1 إلى 3 للاستخدام في مرضى يعانون من التليف الكيسي 1
(CF). 2
- 7- مستحضر دوائي يشمل اتحاد واحد على الأقل طبقا لعناصر الحماية 1 إلى 3. 1
- 8- مستحضر دوائي يشمل اتحاد واحد على الأقل طبقا لعناصر الحماية 1 إلى 3 للاستخدام 1
لمرضى يعانون من التليف الكيسي (CF). 2