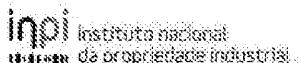

(11) Número de Publicação: **PT 2035004 E**



(51) Classificação Internacional:

A61K 31/497 (2011.01) **A61K 31/4965**

(2011.01)

A61P 31/00 (2011.01) **A61P 11/00** (2011.01)

A61P 13/00 (2011.01) **A61P 17/04** (2011.01)

A61P 27/04 (2011.01) **C07D 241/32** (2011.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2007.06.11**

(30) Prioridade(s): **2006.06.09 US 812077 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2009.03.18**

(45) Data e BPI da concessão: **2012.08.08**
224/2012

(73) Titular(es):

PARION SCIENCES, INC.

2525 MERIDIAN PARKWAY, SUITE 260

DURHAM, NC 27713

US

(72) Inventor(es):

MICHAEL ROSS JOHNSON

US

ANDREW J. HIRCH

US

RICHARD C. BOUCHER

US

JIANZHONG ZHANG

US

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA

RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **BLOQUEADORES DOS CANAIS DE SÓDIO DE PIRAZINOILGUANIDONA
SUBSTITUIDA COM FENILO QUE POSSUEM ACTIVIDADE AGONISTA BETA**

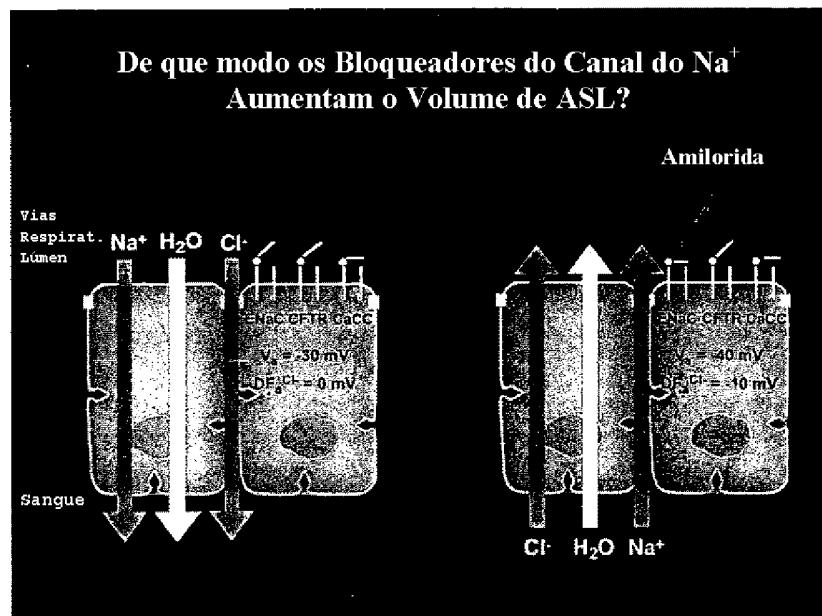
(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A BLOQUEADORES DOS CANAIS DE SÓDIO. A PRESENTE INVENÇÃO INCLUI TAMBÉM UMA VARIEDADE DE MÉTODOS DE TRATAMENTO QUE UTILIZAM ESTES BLOQUEADORES DE CANAIS DE SÓDIO DA INVENÇÃO.

RESUMO

"Bloqueadores dos canais de sódio de pirazinoilguanidona substituída com fenilo que possuem actividade agonista beta"

A presente invenção refere-se a bloqueadores dos canais de sódio. A presente invenção inclui também uma variedade de métodos de tratamento que utilizam estes bloqueadores de canais de sódio da invenção.



DESCRIÇÃO

"Bloqueadores dos canais de sódio de pirazinoilguanidona substituída com fenilo que possuem actividade agonista beta"

DADOS DO PEDIDO DE CONTINUAÇÃO

O presente pedido reivindica prioridade do pedido provisório dos E.U.A. com o Nº 60/812 077, apresentado em 9 de Junho de 2006.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a bloqueadores dos canais do sódio que possuem actividade agonista do receptor adrenérgico beta. A presente invenção inclui também uma variedade de utilizações com estes bloqueadores dos canais do sódio/agonistas do receptor adrenérgico beta.

Descrição dos Antecedentes

As superfícies das mucosas na interface entre o ambiente e o organismo envolvem uma série de "defesas inatas", i.e., mecanismos de protecção. Uma forma principal dessas defesas inatas é a limpeza destas superfícies com líquido. Tipicamente, a quantidade da camada líquida sobre a superfície da mucosa reflecte o equilíbrio entre a secreção líquida epitelial, que reflecte frequentemente a secreção de aníões (Cl^- e/ou HCO_3^-) acoplados com água (e um catião contra-ião) e a absorção de líquido epitelial, que reflecte frequentemente a absorção de Na^+ acoplado com água e um contra-anião (Cl^- e/ou HCO_3^-). Muitas doenças das superfícies das mucosas são provocadas por escassez de líquido protector nessas superfícies de mucosas, criada por um desequilíbrio entre a secreção (demasiado escassa) e a absorção (relativamente em demasia). Os processos deficientes de transporte de sais que caracterizam estas disfunções das mucosas residem na camada epitelial da superfície das mucosas.

Uma abordagem para repor a camada líquida protectora sobre as superfícies das mucosas é "reequilibrar" o sistema por bloqueio do canal do Na^+ e da absorção de líquido e simultaneamente, por activação dos receptores adrenérgicos beta, provocando assim a secreção de líquido. A proteína epitelial que media o passo limitante da velocidade de absorção de Na^+ e de líquido é o canal epitelial de Na^+ (ENaC). A ENaC e os receptores adrenérgicos beta estão posicionados sobre a superfície apical do epitélio, i.e., a interface entre a superfície da mucosa e o ambiente externo. Deste modo, para inibir a absorção de Na^+ e de líquido mediada por ENaC, deve ser fornecido um bloqueador de ENaC da classe amilorida (que bloqueia a partir do domínio extracelular de ENaC) à superfície da mucosa e, muito importante, ser mantido neste local para se alcançar utilidade terapêutica. A presente invenção descreve doenças caracterizadas por muito pouco líquido sobre a superfície das mucosas e bloqueadores "tópicos" de canais de sódio que contêm actividade agonista do receptor adrenérgico beta concebida para exibir a potência aumentada, absorção pelas mucosas reduzida, e dissociação lenta ("desligação" ou desprendimento) de ENaC e do receptor adrenérgico beta requerida para terapia destas doenças.

A bronquite crónica (BC), incluindo a forma genética mortal mais comum de bronquite crónica, fibrose quística (FQ), são doenças que reflectem a incapacidade do organismo para limpar o muco normalmente dos pulmões, o que conduz por fim a uma infecção crónica das vias respiratórias. No pulmão normal, a defesa primária contra infecção crónica das vias respiratórias intrapulmonares (bronquite crónica) é mediada pela eliminação contínua de muco das superfícies das vias brônquicas. Esta função em sujeitos saudáveis remove eficazmente dos pulmões as toxinas e patogéneos potencialmente nefastos. Dados recentes indicam que o problema iniciador, i.e., o "defeito "básico" tanto na BC como na FQ é a incapacidade de eliminação de muco das superfícies das vias respiratórias. A incapacidade de eliminação de muco reflecte um desequilíbrio entre a quantidade de líquido e mucina sobre as superfícies das vias respiratórias. Este "líquido da superfície das vias respiratórias" (ASL) é composto principalmente por sal e água

em proporções semelhantes ao plasma (i.e., isotónico). As macromoléculas de mucina estão organizadas numa "camada de muco" bem definida que normalmente aprisiona as bactérias inaladas e que são transportadas para fora dos pulmões através da acção dos cílios que se movimentam numa solução aquosa de baixa viscosidade denominada "líquido periciliar" (PCL). Em estado de doença, existe um desequilíbrio entre as quantidades de muco e ASL sobre as vias respiratórias. Este desequilíbrio resulta numa redução relativa do ASL que conduz a concentração de muco, a uma redução da actividade lubrificante do PCL e a uma incapacidade de eliminação do muco através da actividade ciliar para a boca. A redução na eliminação mecânica de muco dos pulmões conduz a colonização bacteriana crónica de muco aderente à superfície das vias respiratórias. É a retenção crónica de bactérias, a incapacidade de substâncias antimicrobianas locais de matar as bactérias aprisionadas no muco numa base crónica e as consequentes respostas inflamatórias crónicas do organismo a este tipo de infecção da superfície que conduzem aos síndromes de BC e FQ.

A população actualmente afligida nos E.U.A. é de 12000000 pacientes com a forma adquirida (principalmente por exposição ao fumo de cigarros) de bronquite crónica e de aproximadamente 30000 pacientes com a forma genética, fibrose quística. Existem aproximadamente números iguais de ambas as populações presentes na Europa. Na Ásia, há pouca FQ, mas a incidência de BC é elevada e, tal como no resto do mundo, está a aumentar.

Existe actualmente uma grande necessidade médica não satisfeita de produtos para tratar especificamente a BC e a FQ ao nível do defeito básico que provoca estas doenças. As terapias actuais para a bronquite crónica e para a fibrose quística focam-se no tratamento dos sintomas e/ou dos efeitos tardios destas doenças. Assim, para a bronquite crónica, os agonistas β inalados, esteróides inalados, agentes anticolinérgicos e teofilinas orais e inibidores de fosfodiesterase estão todos actualmente em utilização. No entanto, nenhuma destas drogas sozinha trata eficazmente o problema fundamental da incapacidade de eliminação do muco dos pulmões. Similarmente, na fibrose quística é utilizado o

mesmo espectro de agentes farmacológicos. Estas estratégias foram complementadas por estratégias mais recentes designadas para eliminar do pulmão com FQ o ADN ("Pulmozyme"; Genentech) que se depositou no pulmão por neutrófilos que tentaram futilmente matar as bactérias que crescem em massas de muco aderente e por meio da utilização de antibióticos inalados (e.g. "TOBI"), concebidos para aumentar os próprios mecanismos mortais dos pulmões para se libertarem das placas de bactérias de muco aderente. Um princípio geral do organismo é o de que se uma lesão inicial não é tratada, neste caso retenção/obstrução de muco, as infecções bacterianas tornam-se crónicas e crescentemente resistentes a terapia antimicrobiana. Assim, Uma necessidade terapêutica primordial não satisfeita para as doenças pulmonares BC e FQ é um meio eficaz de rehidratação do muco das vias respiratórias (i.e., restauração/expansão do volume do ASL) e promoção da sua eliminação, com bactérias, dos pulmões.

R.C. Boucher, no documento dos E.U.A. 6 264 975, descreve a utilização de bloqueadores dos canais do sódio de pirazinoílguanidina para hidratação das superfícies de mucosas. Estes compostos, tipificados pelos bem conhecidos diuréticos amilorida, benzamil e fenamil são efectivos. No entanto, estes compostos sofrem da desvantagem significativa de serem (1) relativamente impotentes, o que é importante porque a massa de droga que pode ser inalada é limitada; (2) rapidamente absorvidos, o que limita a meia-vida da droga na superfície da mucosa; e (3) serem livremente dissociados de ENaC. A soma destas desvantagens concretizada nestes bem conhecidos diuréticos produz compostos com uma potência insuficiente para terem benefício terapêutico para hidratação das superfícies das mucosas.

Claramente, o que é necessário são drogas que sejam mais eficazes para restaurar a eliminação de muco dos pulmões de pacientes com BC/FQ. O valor destas novas terapias será reflectido em melhoramentos na qualidade e duração de vida para ambas as populações com FQ e BC.

Outras superfícies de mucosas no e sobre o organismo exibem diferenças subtis na fisiologia normal dos líquidos de superfície protectores sobre as suas superfícies, mas a

patofisiologia de doença reflecte um tema comum, i.e., muito pouco líquido protector da superfície. Por exemplo, na xerostomia (boca seca) a cavidade fica esgotada de líquido devido a uma insuficiência das glândulas parótidas sublingual e submandibular para segregar líquido apesar da continuada absorção de líquido mediada por transporte de Na^+ (ENaC) da cavidade oral. De modo semelhante, a ceratoconjuntivite sicca (olho seco) é provocada pela insuficiência das glândulas lacrimais para segregar líquido em face da continuada absorção de líquido dependente de Na^+ sobre superfícies conjuntivais. Na rinossinusite, há um desequilíbrio, tal como na BC, entre a secreção de mucina e a eliminação relativa de ASL. Finalmente, no tracto gastrointestinal, a incapacidade de segregação de Cl^- (e líquido) na porção proximal do intestino delgado, combinada com absorção aumentada de Na^+ (e líquido) no íleo terminal conduz ao síndrome de obstrução intestinal na porção distal (DIOS). Em pacientes idosos, a absorção excessiva de Na^+ (e volume) no cólon descendente produz obstipação crónica e diverticulite.

O documento WO 2005 018644 revela compostos similares aos presentes para o tratamento dos presentes distúrbios.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É um objectivo da presente invenção proporcionar compostos que tenham simultaneamente actividade bloqueadora dos canais do sódio e actividade agonista do receptor adrenérgico beta na mesma molécula.

É um objectivo da presente invenção proporcionar compostos que sejam mais potentes e/ou absorvidos com menor rapidez pelas superfícies das mucosas e/ou sejam menos reversíveis em comparação com compostos conhecidos.

Constitui outro aspecto da presente invenção proporcionar compostos que sejam mais potentes e/ou absorvidos com menor rapidez e/ou que exibam menos reversibilidade, em comparação com compostos tais como amilorida, benzamil, e fenamil. Desta forma, os compostos proporcionarão uma meia-vida farmacodinâmica prolongada sobre superfícies de mucosas, em comparação com compostos conhecidos.

Constitui outro objecto da presente invenção proporcionar compostos que sejam (1) absorvidos com menor rapidez pelas superfícies das mucosas, especialmente as superfícies das vias respiratórias, em comparação com compostos conhecidos e; (2) quando absorvidos pelas superfícies das mucosas após administração às superfícies das mucosas, sejam convertidos *in vivo* em seus derivados metabólicos que tenham uma eficácia reduzida para bloquear canais do sódio e a actividade agonista do receptor adrenérgico beta, em comparação com o composto parente administrado.

Constitui outro objecto da presente invenção proporcionar compostos que sejam mais potentes e/ou absorvidos com menor rapidez e/ou que exibam menos reversibilidade em comparação com compostos tais como amilorida, benzamil e Fenamil. Desta forma, esses compostos proporcionarão uma meia-vida farmacodinâmica prolongada sobre as superfícies das mucosas, em comparação com compostos anteriores.

A presente revelação descreve métodos de tratamento que tiram vantagem das propriedades farmacológicas dos compostos descritos acima.

Em particular, a presente revelação descreve métodos de tratamento que assentam na reidratação das superfícies de mucosas.

Qualquer um dos compostos descritos aqui pode ser um seu sal farmaceuticamente aceitável e em que os compostos acima incluem todos os seus racematos, enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, polimorfos e pseudopolimorfos. Os polimorfos são formas físicas diferentes - formas cristalinas diferentes que têm intervalos de fusão diferentes, apresentam registos de calorimetria de varrimento diferencial (DSC) diferentes e exibem espectros de difracção de raios-X de pó (XRPD) diferentes. Os pseudopolimorfos são formas físicas solvatadas diferentes - formas cristalinas diferentes que têm intervalos de fusão diferentes como solvatos, apresentam registos de calorimetria de varrimento diferencial (DSC)

diferentes como solvatos e exibem espectros de difracção de raios-X de pó (XRPD) diferentes como solvatos.

A presente invenção proporciona também composições farmacêuticas que contêm um composto descrito acima.

A presente revelação também descreve um método de promoção da hidratação de superfícies de mucosas que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a uma superfície de mucosa de um sujeito.

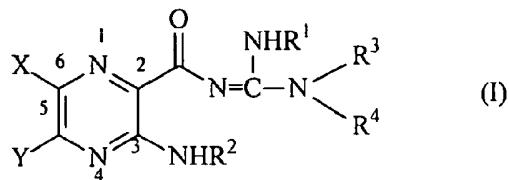
A presente revelação também descreve um método de restaurar uma defesa da mucosa que compreende:

a administração tópica de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a uma superfície de mucosa de um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de bloqueio de ENaC e de realização de agonismo do receptor adrenérgico beta que compreende:

o contacto de canais de sódio e, ao mesmo tempo, a activação de receptores adrenérgicos beta (agonistas beta) com uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I).

Os objectivos da presente invenção podem ser alcançados com uma classe de compostos pirazinoílguanidina que representam um composto representado pela fórmula (I):



em que

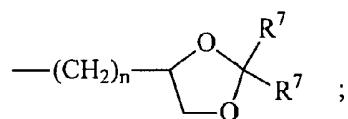
X é hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, alquilo C₁-C₇,

fenilo não substituído ou substituído, alquil C₁-C₇-tio, fenilalquil C₁-C₇-tio, alquil C₁-C₇-sulfônico, ou fenilalquil C₁-C₇-sulfônico;

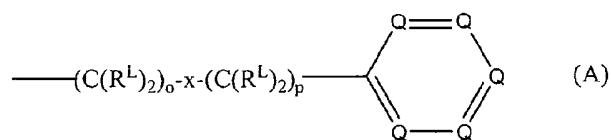
Y é hidrogénio, hidroxilo, mercapto alcoxi C₁-C₇, alquil C₁-C₇-tio, halogéneo, alquilo C₁-C₇, um grupo fenilo não substituído ou substituído, ou -N(R²)₂;

R¹ é hidrogénio ou alquilo C₁-C₇;

cada R² é, independentemente, -R⁷, -(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z_g-R⁷, -(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, ou

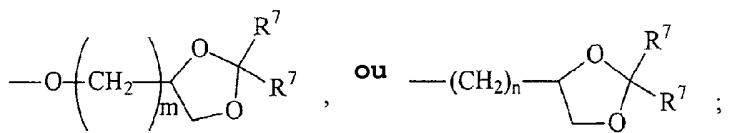


R³ e R⁴ são cada um, independentemente, hidrogénio, um grupo representado pela Fórmula (A), alquilo C₁-C₇, hidroxialquilo C₁-C₇, fenilo, fenilalquilo C₁-C₇, (halofenil)-alquilo C₁-C₇, (alquilfenilalquilo) C₁-C₇, (alcoxifenil) C₁-C₇ - alquilo C₁-C₇, naftil-alquilo C₁-C₇, ou piridil-alquilo C₁-C₇, com a condição de pelo menos um de entre R³ e R⁴ ser um grupo representado pela Fórmula (A) :



em que

cada R^L é, independentemente, -R⁷, -(CH₂)_n-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-(Z)_g-R⁷, -O-(CH₂)_m-(Z)_g-R⁷, -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, -O-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -OSO₃H, -O-glucurônido, -O-glucose,



cada o é, independentemente, um inteiro de 0 a 10;

cada p é um inteiro de 0 a 10;

com a condição da soma de o e p em cada cadeia contígua ser de 1 a 10;

cada x é, independentemente, O, NR¹⁰, C(=O), CHO, C(=N-R¹⁰), CHNR⁷R¹⁰, ou representa uma ligação simples;

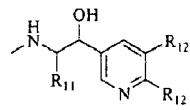
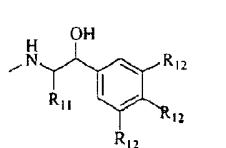
em que cada R⁵ é, independentemente,

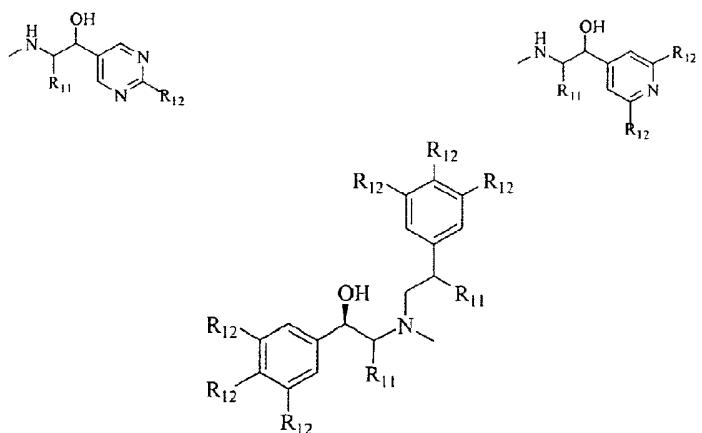
Link-(CH₂)_n-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CR¹¹R¹¹-CAP,
 Link-(CH₂CH₂O)_m-CH₂-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂-CR¹¹R¹¹-CAP,
 Link-(CH₂)_n-(Z)_g-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂)_n(Z)_g-(CH₂)_m-CR¹¹R¹¹-CAP,
 Link-(CH₂)_n-NR¹³-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂)_n-(CHOR⁸)_mCH₂-NR¹³-(Z)_gCR¹¹R¹¹-CAP,
 Link-(CH₂)_nNR¹³-(CH₂)_m(CHOR⁸)_nCH₂NR¹³-(Z)_g-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂)_m-(Z)_g-(CH₂)_m-CR¹¹R¹¹-CAP,
 Link-NH-C(=O)-NH-(CH₂)_m-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂)_m-C(=O)NR¹³-(CH₂)_m-CR¹¹R¹¹-CAP, Link-(CH₂)_n-(Z)_g-(CH₂)_m-(Z)_gCR¹¹R¹¹-CAP,
 Link-Z_g-(CH₂)_m-Het-(CH₂)_m-CR¹¹R¹¹-CAP,

em que Link é, independentemente,

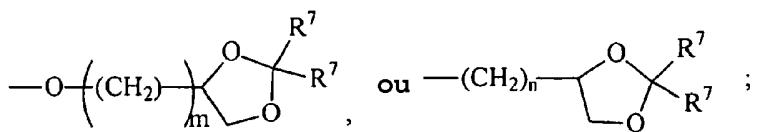
-O-, (CH₂)_n-, -O(CH₂)_m-, -NR¹³-C(=O)-NR¹³, -NR¹³-C(=O)-(CH₂)_m-,
 -C(=O)NR¹³-(CH₂)_m, -(CH₂)_n-Z_g-(CH₂)_n, -S-, -SO-, -SO₂-, SO₂NR⁷-,
 SO₂NR¹⁰-, -Het-,

em que cada CAP é, independentemente,





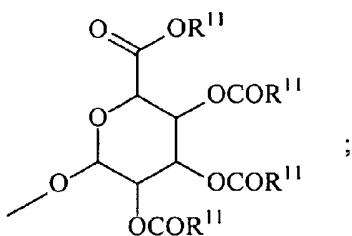
cada R^6 é, independentemente, $-R^7$, $-OR^7$, $-OR^{11}$, $-N(R^7)_2$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10} = -(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónido, $-O$ -glucose,



em que, quando dois R^6 são $-OR^{11}$ e estão localizados adjacentes um ao outro num anel fenilo, as porções alquilo dos dois R^6 podem estar ligadas em conjunto para formar um grupo metilenodioxi; com a condição de que quando pelo menos dois $-CH_2OR^8$ estiverem localizados adjacentes um ao outro, os grupos R^8 poderem ser ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou dissustituído,

cada R^7 é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, fenilo, ou fenilo substituído;

cada R^8 é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, $-C(=O)-R^{11}$, glucurónido, 2-tetrahidropiranilo, ou



cada R^9 é, independentemente, $-CO_2R^{13}$, $-CON(R^{13})_2$, $-SO_2CH_2R^{13}$, ou $-C(=O)R^{13}$;

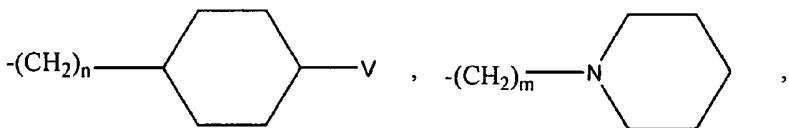
cada R^{10} é, independentemente, $-H$, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7R^9$, $-C(=O)R^7$, ou $-(CH_2)_m-(CHOH)_n-CH_2OH$;

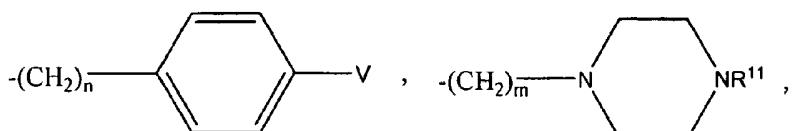
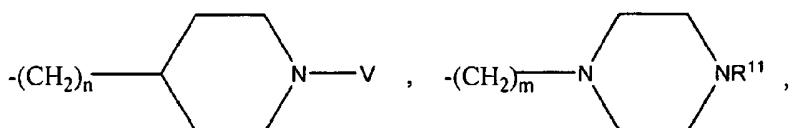
cada Z é, independentemente, $CHOH$, $C(=O)$, $-(CH_2)_n$, $-CHNR^{13}R^{13}$, $C=NR^{13}$, ou NR^{13} ;

cada R^{11} é, independentemente, hidrogénio, alquilo C_1-C_7 , fenilalquilo C_1-C_7 ou fenil substituído-alquilo C_1-C_7 ;

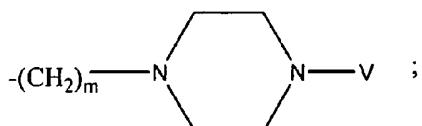
cada R^{12} é independentemente, $-(CH_2)_n-SO_2CH_3$, $-(CH_2)_n-CO_2R^{13}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-(CH_2)_n-C(=O)R^{13}$, $-(CH_2)_n-(CHOH)_n-CH_2OH$, $-NH-(CH_2)_n-SO_2CH_3$, $NH-(CH_2)_n-C(=O)R^{11}$, $NH-C(=O)-NH-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-OR^{11}$, $-NH-(CH_2)_n-R^{10}$, $-Br$, $-Cl$, $-F$, $-I$, SO_2NHR^{11} , $-NHR^{13}$, $NH-C(=O)-NR^{13}R^{13}$, $NH-(CH_2)_nSO_2CH_3$, $NH-(CH_2)_n-C(=O)R^{11}$, $-NH-C(=O)-NH-C(=O)R''$, $-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-OR^{11}$, $-(CH_2)_n-NHR^{13}$, $-NH-C(=O)-NR^{13}R^{13}$, ou $-NH-(CH_2)_n-C(=O)-R^{13}$;

cada R^{13} é, independentemente, hidrogénio, alquilo C_1-C_7 , fenilo, fenilo substituído, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7R^7$, $-C(=O)NR^7SO_2CH_3$, $-C(=O)NR^7-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7-C(=O)NR^7R^7$, $-C(=O)NR^7-C(=O)R^7$, $-C(=O)NR^7-(CH_2)_m-(CHOH)_n-CH_2OH$, $-C(=O)R^7$, $-(CH_2)_m-(CHOH)_n-CH_2OH$, $-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$,
+
 $-(CH_2)_mNR^7R^7R^7$, $-(CH_2)_m-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^7R^7$, $-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$,
+
 $-(CH_2)_m-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^7R^7R^7$,

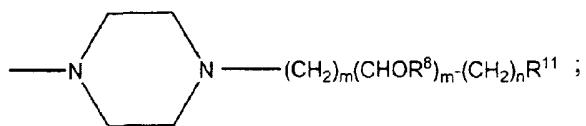
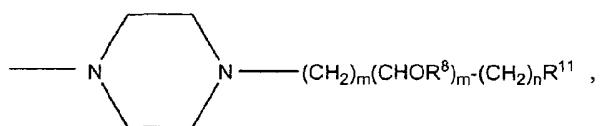
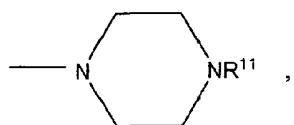




ou



com a condição de $NR^{13}R^{13}$ poder ser ligado em si próprio para formar um dos seguintes:



cada Het é independentemente, $-NR^{13}$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$; $-O-$, $-SO_2NR^{13}-$, $-NHSO_2-$, $-NR^{13}CO-$, $-CONR^{13}-$;

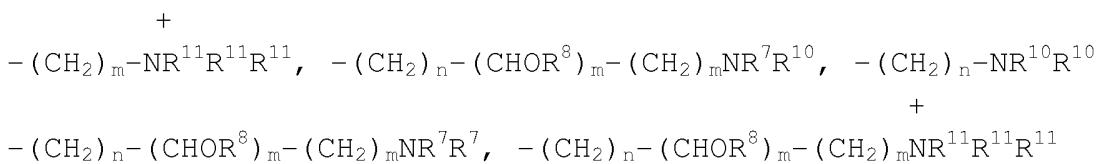
cada g é, independentemente, um inteiro de 1 a 6;

cada m é, independentemente, um inteiro de 1 a 7;

cada n é, independentemente, um inteiro de 0 a 7;

cada Q é, independentemente, $C-R^5$, $C-R^6$, ou um átomo de azoto, em que pelo menos um Q é CR^5 e no máximo três Q num anel são átomos de azoto;

cada V é, independentemente, $-(CH_2)_m - NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_m - NR^7R^7$,



com a condição de que quando V está ligado directamente a um átomo de azoto, então V pode também ser, independentemente, R^7 , R^{10} , ou $(\text{R}^{11})_2$;

em que para qualquer um dos compostos acima, quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estiverem localizados 1,2- ou 1,3- em relação um ao outro, os grupos R^8 podem estar ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cílico mono- ou dissubstituído;

em que qualquer um dos compostos acima pode ser um seu sal farmaceuticamente aceitável e em que os compostos acima incluem todos os seus racematos, enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, polimorfos e pseudopolimorfos.

A presente invenção é definida pelas reivindicações.

A presente revelação também descreve um método de promoção da eliminação de muco em superfícies de mucosas que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a uma superfície de mucosa de um sujeito.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da bronquite crónica que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da fibrose quística que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da rinossinusite que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da desidratação nasal que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) às passagens nasais de um sujeito necessitado.

Num aspecto específico, a desidratação nasal é provocada pela administração de oxigénio seco ao sujeito.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da sinusite que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento de pneumonia que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de prevenção da pneumonia induzida por ventilador que compreende:

a administração de um composto efectivo representado pela fórmula (I) a um sujeito, por meio de um ventilador.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da asma que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da disquinésia ciliar primária que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da otite média que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de indução de expectoração para fins de diagnóstico que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da doença pulmonar obstrutiva crónica que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento do enfisema que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento do olho seco que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) ao olho do sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de promoção da hidratação ocular que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) ao olho do sujeito.

A presente revelação também descreve um método de promoção da hidratação da córnea que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) ao olho do sujeito.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da doença de Sjögren que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da secura vaginal que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) ao tracto vaginal de um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da pele seca que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) à pele de um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da boca seca (xerostomia), que compreende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) à boca de um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento do síndrome de obstrução intestinal na porção distal que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da esofagite que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da obstipação que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

Num aspecto deste método, o composto é administrado oralmente ou por meio de um supositório ou enema.

A presente revelação também descreve um método de tratamento da diverticulite crónica que comprehende:

a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente invenção proporciona também a utilização de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) na produção de um medicamento para o tratamento de uma ou mais condições seleccionadas de entre o grupo constituído por bronquite crónica, fibrose quística,

sinusite, secura vaginal, olho seco, doença de Sjogren, síndrome de obstrução intestinal na porção distal, pele seca, esofagite, boca seca (xerostomia), desidratação nasal, pneumonia induzida por ventilador, asma, disquinésia ciliar primária, otite média, doença pulmonar obstrutiva crónica, enfisema, pneumonia, obstipação, diverticulite crónica e rinossinusite.

A presente invenção proporciona também um composto representado pela fórmula (I) para utilização como medicamento.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Fig. 1 mostra a actividade da linha de base dos canais do sódio antes e após bloqueio com amilorida.

A Fig. 2 mostra a actividade de canais do sódio antes e após a adição de um agonista beta.

A Fig. 3 mostra o mecanismo subjacente à aditividade de um bloqueador de canais de Na e um agonista beta.

A Fig. 4 mostra os tautómeros dos compostos de fórmula I.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção é baseada na constatação de que compostos de fórmula (I) possuem também simultaneamente actividade bloqueadora do canal do sódio e actividade agonista beta na mesma molécula.

A presente invenção é também baseada na constatação de que os compostos de fórmula (I) são mais potentes e/ou absorvidos com menor rapidez pelas superfícies das mucosas, especialmente as superfícies das vias respiratórias e/ou menos reversíveis de interacções com ENaC, em comparação com compostos tais como compostos amilorida, benzamil, e fenamil. Deste modo, os compostos de fórmula (I) têm uma meia-vida mais longa sobre as superfícies de mucosas em comparação com estes compostos.

A presente invenção é também baseada na constatação de que certos compostos abrangidos pela fórmula (I) são convertidos *in vivo* em seus derivados metabólicos que têm eficácia reduzida no bloqueio dos canais do sódio e actuação como agonistas do receptor adrenérgico beta em comparação com o composto parente administrado, depois de serem absorvidos pelas superfícies das mucosas após a administração. Esta propriedade importante significa que os compostos terão uma menor tendência para provocar efeitos secundários indesejados por bloqueio dos canais do sódio e activação de receptores beta localizados noutras locais não alvo no corpo do receptor, e.g., nos rins e coração..

A terapia com monodrogas proporciona à maior parte de doenças tais como a bronquite crónica e a fibrose quística um tratamento inadequado. É assim frequentemente necessário encontrar e desenvolver novas drogas ou combinação de drogas que tratem e modulem múltiplos alvos em simultâneo (polifarmacologia), com o objectivo de aumentar a eficácia ou melhorar a segurança em relação às drogas de alvos simples. Há três maneiras de alcançar este objectivo. 1) Combinação de "cocktails" terapêuticos de duas ou mais drogas individuais; os benefícios desta abordagem são frequentemente diminuídos por fraco cumprimento pelos pacientes. Uma droga de múltiplos componentes ("combinação fixada" ou droga de múltiplos componentes) que contém dois ou mais agentes num único comprimido, formulação líquida, inalador ou dispositivo de pó seco. Isto pode por vezes melhorar o cumprimento pelo paciente versus drogas de múltiplos componentes mas adiciona a complexidade de dosear cuidadosamente de forma a minimizar as múltiplas vias metabólicas. 3). Uma entidade molecular singular que pode simultaneamente modular múltiplos alvos de drogas (designados por ligandos múltiplos). A vantagem de um ligando múltiplo em relação às duas primeiras abordagens é que aumenta o cumprimento pelos pacientes, aumenta a eficácia, é direcionado para um conjunto conhecido de deficiências em sistemas múltiplos com uma única entidade química nova, não tem frequentemente as diferenças imprevisíveis na variabilidade farmacocinética e farmacodinâmica entre pacientes, é frequentemente mais fácil de formular e potencialmente diminui o risco de interacções.

droga-droga, em comparação com cocktails de drogas e drogas de múltiplos componentes. Era portanto um objectivo dos presentes inventores encontrar ligandos múltiplos que tenham tanto actividade bloqueadora de canais do sódio como actividade agonista beta.

A adição de actividade agonista do receptor adrenérgico beta a um bloqueador de canal de sódio aumentará significativamente a capacidade de hidratação das superfícies das vias respiratórias em sujeitos necessitados de hidratação para fins terapêuticos. O mecanismo por meio do qual a actividade agonista beta é adicionada à capacidade de hidratação de bloqueadores de canais de Na sozinhos, ou agonistas beta sozinhos, é descrito nos diagramas que se seguem que descrevem os gradientes electroquímicos para fluxos iónicos e a secreção líquida que resulta destas forças nos epitélios das vias respiratórias.

Tal como mostrado na Fig. 1, sob condições de linha de base os epitélios das vias respiratórias humanas absorvem NaCl e H₂O. A absorção activa de Na⁺ conduz o processo. O Cl⁻ é absorvido passivamente com Na⁺ para conservar a electroneutralidade. Como não há uma força motriz líquida para que o Cl⁻ se move através da membrana celular apical, o Cl⁻ é absorvido paracelularmente em resposta ao potencial eléctrico transepitelial. A água move-se cellularmente e paracelularmente em resposta aos gradientes osmóticos gerados pela absorção de NaCl.

A aplicação de um bloqueador do canal do sódio (como exemplo é mostrada a amilorida) inibe a entrada de Na⁺ para a célula que: (1) anula a absorção de Na⁺ e (2) hiperpolariza a membrana celular apical (V_a). A hiperpolarização de V_a gera uma força motriz electroquímica que favorece a secreção de Cl⁻ (o Na⁺ segue agora a direcção secretória pela via paracelular). A velocidade de secreção de Cl⁻ é proporcional à actividade dos canais de Cl⁻ da membrana apical que são tipicamente 30-50% maximamente activos sob condições basais. Em suma, a aplicação de um bloqueador de canal de Na⁺ inibe a absorção de Na⁺ e desencadeia uma quantidade modesta de secreção de Cl⁻. Note-se novamente que a água prosseguirá transcelularmente em resposta ao NaCl segregado.

Em contraste, como mostrado na Fig. 2, a adição de um agonista beta (como exemplo é mostrado isoproterenol) sozinho ao epitélio das vias respiratórias humanas não produz alterações na absorção de Na^+ ou na secreção de Cl^- . A razão para esta ausência de efeito é que não existe uma força motriz electroquímica para o Cl^- se mover através da célula (Ver as seguintes referências: Intracellular Cl- activity and cellular Cl- pathways in cultured human airway epithelium. Am J Physiol. Maio de 1989; 256(5 Pt 1):C1033-44. Willumsen NJ, Davis CW, Boucher RC. Cellular Cl- transport in cultured cystic fibrosis airway epithelium. Am J Physiol. Maio de 1989; 256(5 Pt 1):C1045-53. Willumsen NJ, Davis CW, Boucher RC. Activation of an apical Cl- conductance by Ca^{2+} ionophores in cystic fibrosis airway epithelia. Am J Physiol. Fevereiro de 1989; 256(2 Pt 1):C226-33. Willumsen NJ, Boucher RC). Deste modo, a activação mediada por um agonista beta de um canal de membrana apical de Cl^- , usualmente CFTR via alterações em cAMP, não produz alteração na velocidade de movimento de Cl^- através da barreira e, consequentemente, nenhuma alteração no cloreto de sódio transepitelial ou na secreção de água.

No entanto, quando um bloqueador de canal de Na é administrado com um agonista beta, a aditividade entre estas duas classes de compostos é alcançada com o resultado de uma secreção de Cl^- (e Na^+ , H_2O) acelerada. O mecanismo subjacente à aditividade é apresentado na Fig.3. Na presença de um bloqueador de canal do Na , é gerado um gradiente electroquímico para secreção de Cl^- (ver também Fig. 1). Quando está presente um agonista beta, converte o CFTR da membrana apical de uma actividade basal de ~30% para uma actividade de ~100% via aumento induzido por agonista beta em cAPF que por fim activa CFTR via PKA (proteína cinase A). Uma vez que há uma força motriz electroquímica que favorece a secreção de Cl^- como resultado do bloqueio de ENaC, o aumento na actividade do canal do Cl^- traduz-se numa secreção crescente de Cl^- (e Na^+ , H_2O). Assim, a capacidade de hidratação do epitélio é grandemente aumentada pela presença de ambos, o bloqueador do canal de Na^+ e actividade agonista do receptor adrenérgico beta, no ambiente que banha o epitélio das vias respiratórias humanas, em comparação com apenas bloqueador de canal de Na^+ ou de agonista de receptor

adrenérgico beta por si sós. Uma constatação deste invenção é que a administração de ambas as actividades contidas na mesma molécula ao epitélio é pelo menos tão eficaz como a administração sequencial de um bloqueador de canal de Na seguido por um agonista beta e portanto tem as vantagens citadas anteriormente.

Os compostos de fórmula I existem principalmente como uma combinação de três tautómeros apresentados na Figura 4. A Figura 4 mostra os três tautómeros representados na fórmula I que existem em solução. Estudos anteriores de Smith et al. mostraram que a base livre existe principalmente como o tautómero acilimino, enquanto as espécies fisiologicamente activas existem como a forma protonada do tautómero acilamino (Figura 1, refRL Smith et. Al. Journal of the American Chemical Society, 1979, 101, 191-201). Estas representações estruturais foram utilizadas para representar amilorida e os seus análogos na literatura de patentes e científica. A presente Requerente utiliza ambas as representações de acilamino e acilimino por conveniência ao longo desta patente com o entendimento de que as estruturas são na realidade um híbrido das três formas com a quantidade real de cada uma dependente do pH, do sítio de acção e da natureza dos substituintes.

Nos compostos representados pela fórmula (I), X pode ser hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, alquilo C₁-C₇, cicloalquilo C₁-C₇, fenilo não substituído ou substituído, alquil C₁-C₇-tio, fenilalquil C₁-C₇-tio, alquil C₁-C₇-sulfônilo, ou fenilalquil C₁-C₇-sulfônilo. Halogéneo é preferido.

Exemplos de halogéneo incluem flúor, cloro, bromo, e iodo. Cloro e bromo são os halogéneos preferidos. O cloro é particularmente preferido. Esta descrição é aplicável ao termo "halogéneo" tal como é utilizado ao longo desta revelação.

Tal como é aqui utilizado, o termo "alquilo inferior" significa um grupo alquilo que possui menos do que 8 átomos de carbono. Este intervalo inclui todos os valores específicos de átomos de carbono e os sub-intervalos entre

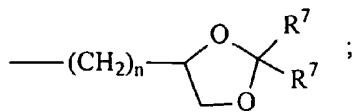
eles, tais como 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 átomos de carbono. O termo "alquilo" engloba todos os tipos desses grupos, e.g., grupos alquilo lineares, ramificados e cílicos. Esta descrição é aplicável ao termo "alquilo inferior" tal como utilizado ao longo da presente revelação. Exemplos de grupos alquilo inferior adequados incluem metilo, etilo, propilo, ciclopropilo, butilo, isobutilo, etc.

Os substituintes para o grupo fenilo incluem halogéneos. Os substituintes halogéneo particularmente preferidos são cloro e bromo.

Y pode ser hidrogénio, hidroxilo, mercapto, alcoxi C₁-C₇, alquil C₁-C₇-tio, halogéneo, alquilo C₁-C₇, cicloalquilo C₁-C₇, grupo fenilo, ou -N(R²)₂. A porção alquilo dos grupos alcoxi inferiores é a mesma que descrita acima. Exemplos de arilo mononuclear incluem grupos fenilo. O grupo fenilo pode ser não substituído ou substituído como descrito acima. A identidade preferida de Y é -N(R²)₂. São particularmente preferidos aqueles compostos em que cada R² é hidrogénio.

R¹ pode ser hidrogénio ou alquilo C₁-C₇. Hidrogénio é preferido para R¹.

Cada R² pode ser, independentemente, -R⁷, -(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_nCHOR⁸)(CHOR⁸)_nCH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z₉-R⁷, -(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)CH₂OR⁸, -(CH₂)_nCO₂R⁷, ou



Hidrogénio e alquilo C₁-C₇, particularmente alquilo C₁-C₃ são preferidos para R². Hidrogénio é particularmente preferido.

R³ e R⁴ podem ser, independentemente, hidrogénio, um grupo representado pela Fórmula (A), alquilo C₁-C₇, hidroxialquilo C₁-C₇, fenilo, fenilalquilo C₁-C₇, (halofenil)alquilo C₁-C₇, (alquilfenilalquilo) C₁-C₇, (alcoxifenil) C₁-C₇-alquilo C₁-C₇, naftil-alquilo C₁-C₇, ou

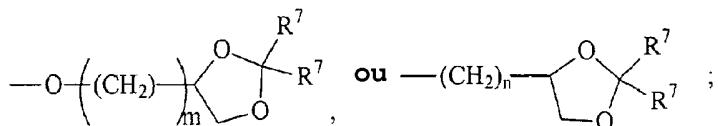
piridil-alquilo C₁-C₇, desde que pelo menos um de entre R³ e R⁴ seja um grupo representado pela Fórmula (A).

Os compostos preferidos são aqueles em que um de entre R³ e R⁴ é hidrogénio e o outro é representado pela fórmula (A).

Na fórmula (A), a porção -(C(R^L)₂)_o-X-(C(R^L)₂)_p- define um grupo alquíleno ligado ao anel aromático. As variáveis o e p podem ser cada uma um inteiro de 0 a 10, sujeito à condição de que a soma de o e p na cadeia é de 1 a 10. Assim, o e p podem ser cada um 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, ou 10. Deste modo, a soma de o e p pode ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10, ou qualquer sub-intervalo no meio deste. De preferência, a soma de o e p é de 2 a 6. Numa concretização particularmente preferida, a soma de o e p é 4.

O grupo de ligação na cadeia alquíleno, x, pode ser, independentemente, O, NR¹⁰, C(=O), CHO, C(=N-R¹⁰), CHNR⁷R¹⁰, ou representa uma ligação simples. Assim, quando x representa uma ligação simples, a cadeia alquíleno ligada ao anel é representada pela fórmula -(C(R^L)₂)_{o+p}-, em que a soma o+p é de 1 a 10.

Cada R^L pode ser, independentemente, -R⁷, -(CH₂)_n-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-(Z)_g-R⁷, -O-(CH₂)_m-(Z)_g-R⁷, -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, -O-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -OSO₃H, -O-glucurónido, -O-glucose,



Os grupos R^L preferidos incluem -H, -OH, -N(R⁷)₂, especialmente em que cada R⁷ é hidrogénio.

Na cadeia alquíleno na fórmula (A), é preferido que

quando um grupo R^L ligado a um átomo de carbono é outro que não hidrogénio, então o outro R^L ligado a esse átomo de carbono é hidrogénio, i.e., a fórmula $-CHR^L-$. É também preferido que no máximo dois grupos R^L numa cadeia alquíleno sejam diferentes de hidrogénio, sendo que os outros grupos R^L na cadeia são hidrogénio. Ainda com maior preferência, apenas um grupo R^L numa cadeia alquíleno é diferente de hidrogénio, enquanto os outros grupos R^L na cadeia são hidrogénio. Nestas concretizações, é preferível que x represente uma ligação simples.

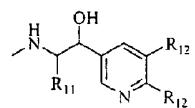
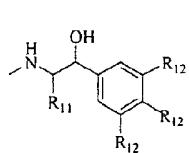
Noutra concretização particular da invenção, todos os grupos R^L na cadeia alquíleno são hidrogénio. Nestas concretizações, a cadeia alquíleno é representada pela fórmula $-(CH_2)_o-x-(CH_2)_p-$.

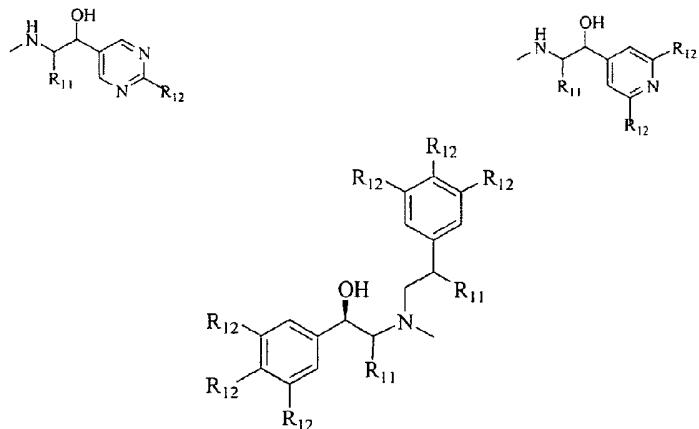
Tal como discutido acima, cada R^5 é, independentemente,

$Link-(CH_2)_n-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 $Link-(CH_2CH_2O)_m-CH_2-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 $Link-(CH_2)_n-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2)_n(Z)_g-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 $Link-(CH_2)_n-NR^{13}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2)_n-(CHOR^8)_mCH_2-NR^{13}-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2)_nNR^{13}-$
 $(CH_2)_m(CHOR^8)_nCH_2NR^{13}-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 $Link-NH-C(=O)-NH-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-(CH_2)_m-C(=O)NR^{13}-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 $Link-(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, $Link-Z_g-(CH_2)_m-Het-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$.

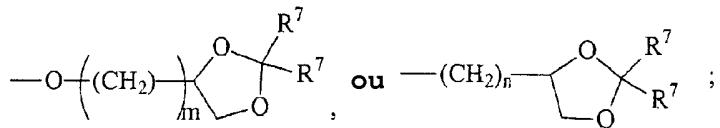
Tal como discutido acima, cada $Link$ é, independentemente, $-O-$, $(CH_2)_n-$, $-O(CH_2)_m-$, $-NR^{13}-C(=O)-NR^{13}$,
 $-NR^{13}-C(=O)-(CH_2)_m-$, $-C(=O)NR^{13}-(CH_2)_m$, $-(CH_2)_n-Z_g-(CH_2)_n$, $-S-$,
 $-SO-$, $-SO_2-$, $SO_2NR^{10}-$, $SO_2NR^{10}-$, $-Het-$.

Cada CAP é, independentemente,





Cada R⁶ é, independentemente, -R⁷, -OR⁷-OR¹¹, -N(R⁷)₂, -(CH₂)_m-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-(Z)_g-R⁷, -O-(CH₂)_m-(Z)_g-R⁷, -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, -O-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -OSO₃H, -O-glucurónido, -O-glucose,

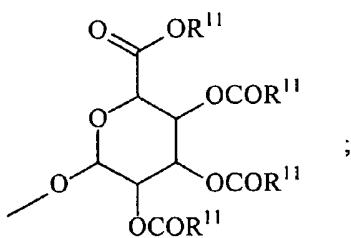


em que quando R⁶ são -OR¹¹ e estão localizados adjacentes um ao outro num anel fenilo, as porções alquilo dos dois R⁶ podem estar ligadas para formar um grupo metilenodioxi;

com a condição de quando pelo menos dois -CH₂OR⁸ estiverem localizados adjacentes um ao outro, os grupos R⁸ poderem estar ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou dissustituído,

Cada R⁷ é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, fenilo, ou fenilo substituído.

Cada R⁸ é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, -C(=O)-R¹¹, glucurónido, 2-tetrahidropiranilo, ou



Cada R^9 é, independentemente, $-CO_2R^{13}$, $-CON(R^{13})_2$, $-SO_2CH_2R^{13}$, ou $-C(=O)R^{13}$.

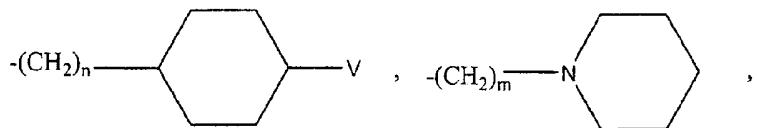
Cada R^{10} é, independentemente, $-H$, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7R^9$, $-C(=O)R^7$, ou $-(CH_2)_m-(CHOH)_nCH_2OH$.

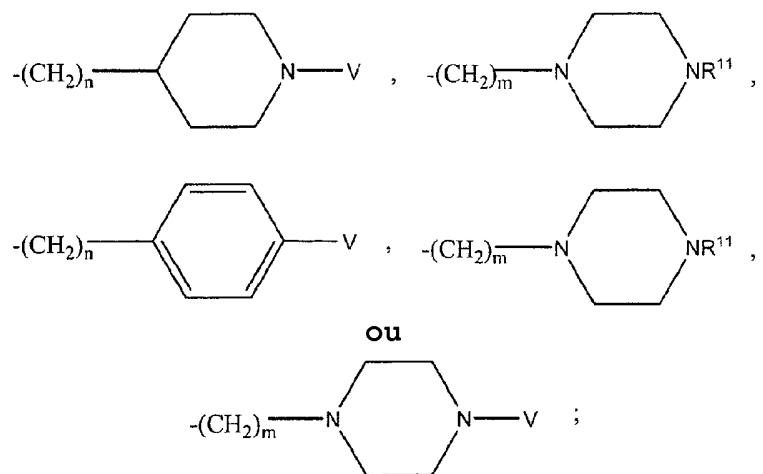
Cada Z é, independentemente, $CHOH$, $C(=O)$, $-(CH_2)_n-$, $CHNR^{13}R^{13}$, $C=NR^{13}$ ou NR^{13} .

Cada R^{11} é, independentemente, hidrogénio, alquilo C_1-C_7 , fenil-alquilo C_1-C_7 ou fenil substituído-alquilo C_1-C_7 .

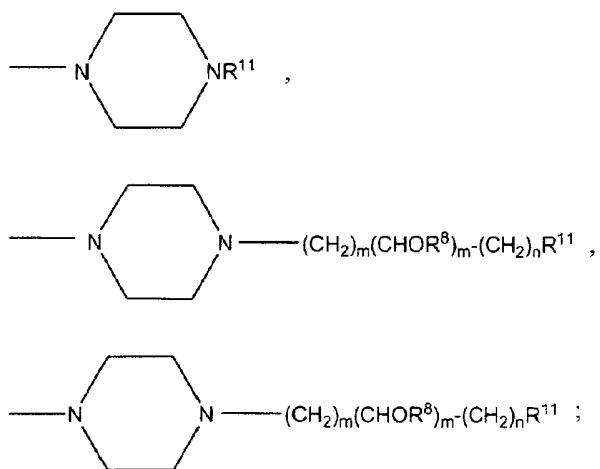
Cada R^{12} é independentemente, $-(CH_2)_n-SO_2CH_3$, $-(CH_2)_n-CO_2R^{13}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-(CH_2)_n-C(=O)R^{13}$, $-(CH_2)_n-(CHOH)_n-CH_2OH$, $-NH-(CH_2)_n-SO_2CH_3$, $NH-(CH_2)_n-C(=O)R^{11}$, $NH-C(=O)-NH-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-OR^{11}$, $-NH-(CH_2)_n-R^{10}$, $-Br$, $-Cl$, $-F$, $-I$, SO_2NHR^{11} , $-NH-R^{13}$, $-NH-C(=O)-NR^{13}R^{13}$, $NH-(CH_2)_n-SO_2CH_3$, $NH-(CH_2)_n-C(=O)R^{11}$, $-NH-C(=O)-NH-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-OR^{11}$, $-(CH_2)_n-NHR^{13}$, $-NH-C(=O)-NR^{13}R^{13}$, ou $-NH-(CH_2)_n-C(=O)-R^{13}$.

Cada R^{13} é, independentemente, hidrogénio, alquilo C_1-C_7 , fenilo, fenilo substituído, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7R^7$, $-C(=O)NR^7SO_2CH_3$, $-C(=O)NR^7-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7-C(=O)NR^7R^7$, $-C(=O)NR^7-C(=O)R^7$, $-C(=O)NR^7-(CH_2)_m-(CHOH)_n-CH_2OH$, $-C(=O)R^7$, $-(CH_2)_m-(CHOH)_n-CH_2OH$, $-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$,
+
 $-(CH_2)_m-NR^7R^7R^7$, $-(CH_2)_m-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^7R^7$, $-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$,
+
 $-(CH_2)_m-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^7R^7R^7$,





com a condição de $NR^{13}R^{13}$ poder estar ligado a si próprio para formar um anel que compreende um dos seguintes:



Cada Het é independentemente, $-NR^{13}$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-O-$, $-SO_2NR^{13}-$, $-NHSO_2-$, $-NR^{13}CO-$, ou $-CONR^{13}-$.

Cada g é, independentemente, um inteiro de 1 a 6.

Cada m é, independentemente, um inteiro de 1 a 7.

Cada n é, independentemente, um inteiro de 0 a 7.

Cada Q é, independentemente, $C-R^5$, $C-R^6$, ou um átomo de azoto, em que pelo menos um Q é $C-R^5$, e em que no máximo três Q num anel são átomos de azoto;

Cada V é, independentemente, $-(CH_2)_m - NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_m - NR^7R^7$, $-(CH_2)_m -$

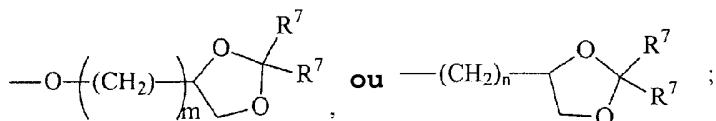
+

$\text{NR}^{11}\text{R}^{11}$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHOR}^8)_m-(\text{CH}_2)_m-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}\text{R}^{10}$

+

$-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHOR}^8)_m-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^7\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHOR}^8)_m-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{11}\text{R}^{11}\text{R}^{11}$ com a condição de que quando V está ligado directamente a um átomo de azoto, então V pode também ser, independentemente, R^7 , R^{10} , ou $(\text{R}^{11})_2$;

Numa concretização da invenção, quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação um ao outro, os grupos R^8 podem estar ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cílico mono- ou dissustituído;



Na presente invenção, quando dois R^6 são $-\text{OR}^{11}$ e estão localizados adjacentes um ao outro sobre um anel fenilo, as porções alquilo dos dois R^6 podem estar ligadas para formar um grupo metilenodioxi.

Na presente invenção, quando pelo menos dois $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados adjacentes um ao outro, os grupos R^8 podem estar ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cílico mono- ou dissustituído.

Adicionalmente, um ou mais dos grupos R^6 pode ser um dos grupos R^5 que caem dentro da definição vasta de R^6 estabelecida acima.

Quando dois R^6 são $-\text{OR}^{11}$ e estão localizados adjacentes um ao outro sobre um anel fenilo, as porções alquilo dos dois grupos R^6 podem estar ligadas para formar um grupo metilenodioxi, i.e., um grupo de fórmula $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$.

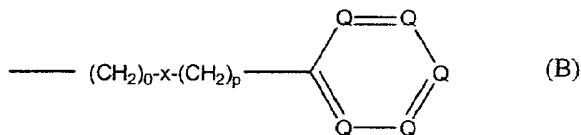
Tal como discutido acima, R^6 pode ser hidrogénio. Assim, 1, 2, 3, ou 4 grupos R^6 podem ser diferentes de hidrogénio. De preferência, no máximo 3 dos grupos R^6 são diferentes de hidrogénio.

Cada g é, independentemente, um inteiro de 1 a 6. Deste modo, cada g pode ser 1, 2, 3, 4, 5, ou 6.

Cada m é um inteiro de 1 a 7. Deste modo, cada m pode ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, ou 7. Cada n é um inteiro de 0 a 7. Deste modo, cada n pode ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, ou 7.

Cada Q na fórmula (A) é C-R⁵, C-R⁶, ou um átomo de azoto, em que pelo menos um Q é C-R⁵ em que no máximo três Q num anel são átomos de azoto. Assim, podem existir 1, 2, ou 3 átomos de azoto num anel. De preferência, no máximo dois Q são átomos de azoto. Com maior preferência, no máximo um Q é um átomo de azoto. Numa concretização particular, o átomo de azoto está na posição 3 do anel. Noutra concretização da invenção, cada Q é C-R⁵ ou C-R⁶, i.e., não há átomos de azoto no anel. Noutra concretização, um Q é C-R⁵.

Exemplos mais específicos de grupos adequados representados pela fórmula (A) são apresentados nas fórmulas (B)-(E) abaixo:



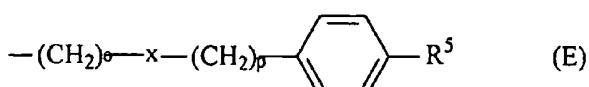
em que o, x, p, R⁵, e R⁶, são como definidos acima;



em que n é um inteiro de 1 to 10 e R⁵ é como definido acima;



em que n é um inteiro de 1 a 10 e R⁵ é como definido acima;



em que o, x, p, e R⁵ são como definidos acima.

Numa concretização preferida da invenção, Y é -NH_2 .

Noutra concretização preferida, R² é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, R¹ é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, X é cloro.

Noutra concretização preferida, R³ é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, R⁴ é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, o é 4.

Noutra concretização preferida, p é 0.

Noutra concretização preferida, a soma de o e p é 4.

Noutra concretização preferida, x representa uma ligação simples.

Noutra concretização preferida, R⁶ é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, no máximo um Q é um átomo de azoto.

Noutra concretização preferida, nenhum Q é um átomo de azoto.

Numa concretização preferida da presente invenção:

X é halogéneo;

Y é $\text{-N(R}^7\text{)}_2$;

R¹ é hidrogénio ou alquilo C₁-C₃;

R² é -R^7 , -OR^7 , CH_2OR^7 , ou $\text{-CO}_2\text{R}^7$;

R³ é um grupo representado pela Fórmula (A); e

R^4 é hidrogénio, um grupo representado pela Fórmula (A), ou alquilo C_1-C_7 ;

Noutra concretização preferida da presente invenção:

X é cloro ou bromo;

Y é $-N(R^7)_2$;

R^2 é hidrogénio ou alquilo C_1-C_3 ;

no máximo três R^6 são outro que não hidrogénio tal como descrito acima;

no máximo três R^L são outro que não hidrogénio como descrito acima; e

no máximo 2 Q são átomos de azoto.

Noutra concretização preferida da presente invenção:

Y é $-NH_2$;

Noutra concretização preferida da presente invenção:

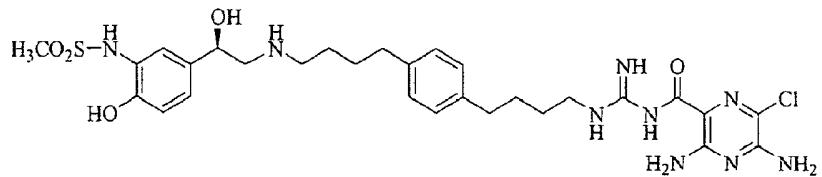
R^4 é hidrogénio;

no máximo um R^L é outro que não hidrogénio como descrito acima;

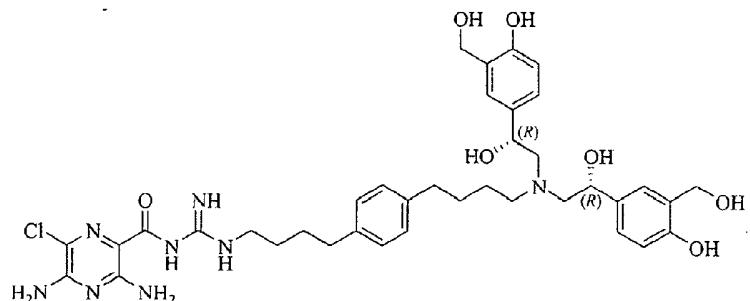
no máximo dois R^6 são outros que não hidrogénio como descrito acima; e

no máximo 1 Q é um átomo de azoto.

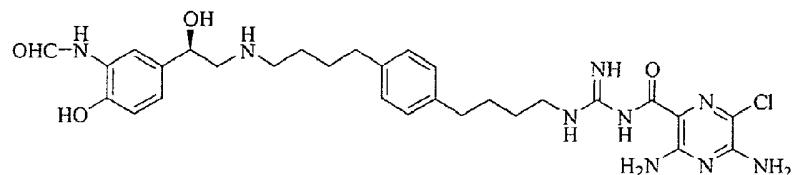
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula



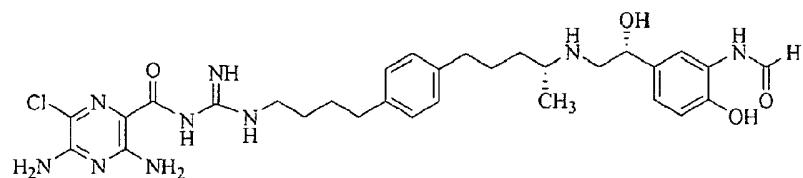
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



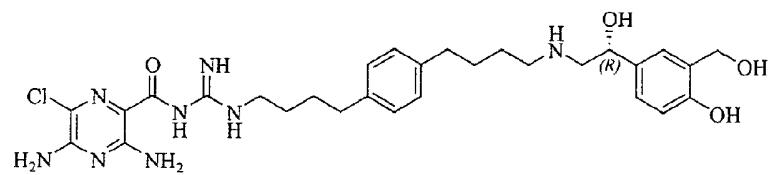
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



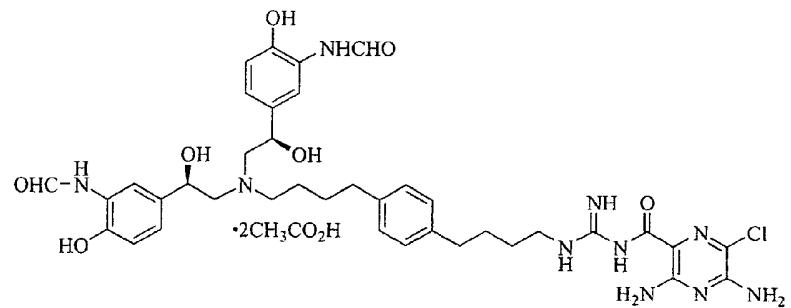
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



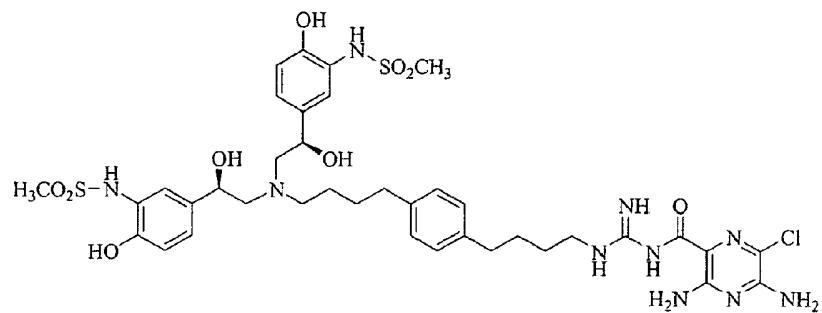
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



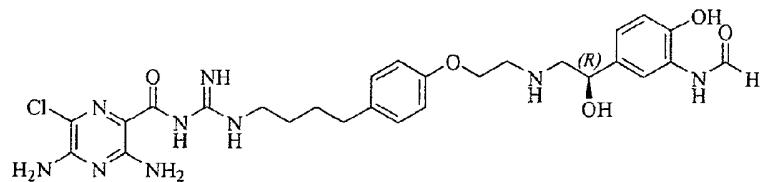
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



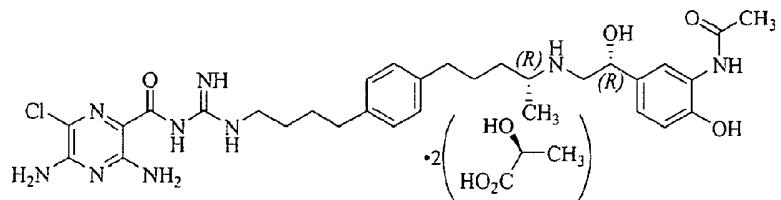
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



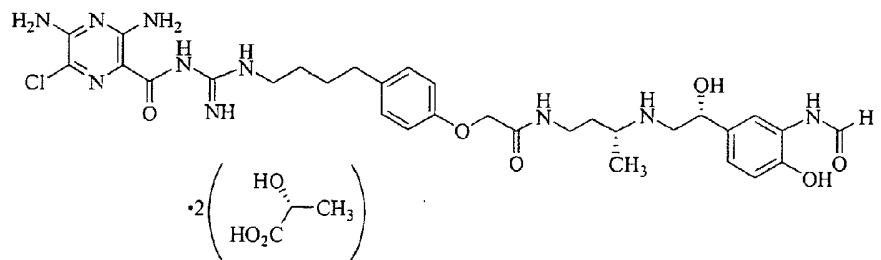
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



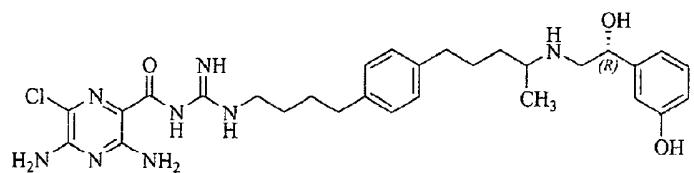
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



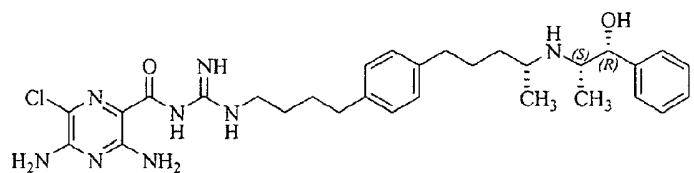
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



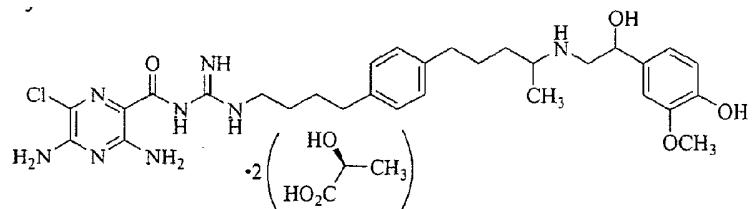
Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:

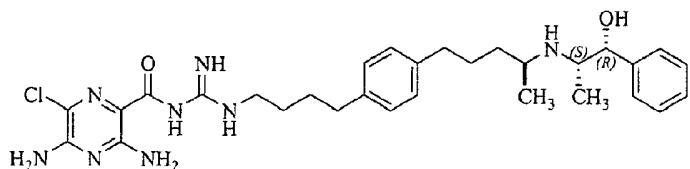


Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:

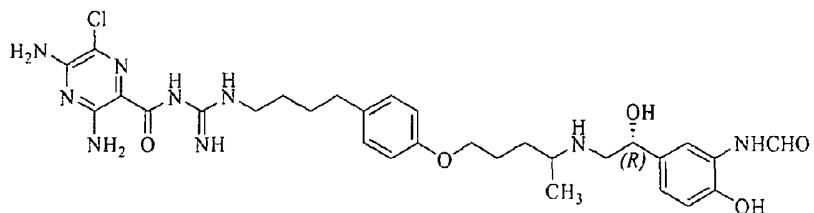


Noutra concretização preferida da presente invenção o

composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



Noutra concretização preferida da presente invenção o composto de fórmula (1) é representado pela fórmula:



Os compostos de fórmula (I) podem ser preparados e utilizados como a base livre. Em alternativa, os compostos podem ser preparados e utilizados como um sal farmaceuticamente aceitável. Os sais farmaceuticamente aceitáveis são sais que retêm ou aumentam a actividade biológica desejada do composto parente e não conferem efeitos toxicológicos indesejados. Exemplos desses sais são (a) sais de adição de ácidos formados com ácidos inorgânicos, por exemplo, ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico e semelhantes; (b) sais formados com ácidos orgânicos tais como, por exemplo, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzólico, ácido tânico, ácido palmítico, ácido algínico, ácido poliglutâmico, ácido naftalenossulfónico, ácido metanossulfónico, ácido p-toluenossulfónico, ácido naftalenodissulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfossalicílico, ácido glicólico, ácido 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico e semelhantes; e (c) sais formados a partir de aniões elementares, por exemplo, cloro, bromo e iodo.

Deve notar-se que todos os enantiómeros, diastereómeros, tautómeros e misturas racémicas dos compostos dentro do âmbito da fórmula (I) são abrangidos pela presente invenção.

Todas as misturas desses enantiómeros e diastereómeros estão dentro do âmbito da presente invenção.

Sem ficar limitado a qualquer teoria em particular, crê-se que os compostos de fórmula (1) actuam *in vivo* como bloqueadores de canais do sódio e como agonistas do receptor beta. Por bloqueio dos canais de sódio epiteliais assim como por activação dos receptores beta presentes nas superfícies de mucosas, os compostos de fórmula (I) reduzem a absorção de água pelas superfícies das mucosas. Este efeito aumenta o volume de líquidos protectores sobre as superfícies das mucosas, reequilibra o sistema e assim trata a doença.

A presente invenção proporciona também um composto representado pela fórmula (I) para utilização como medicamento.

Outro aspecto da presente invenção é a utilização de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) na produção de um medicamento para o tratamento de uma ou mais condições seleccionadas de entre o grupo constituído por bronquite crónica, fibrose quística, sinusite, secura vaginal, olho seco, doença de Sjogren, síndrome de obstrução intestinal na porção distal, pele seca, esofagite, boca seca (xerostomia), desidratação nasal, pneumonia induzida por ventilador, asma, disquinésia ciliar primária, otite média, doença pulmonar obstrutiva crónica, enfisema, pneumonia, obstipação, diverticulite crónica e rinossinusite.

A presente revelação descreve também métodos de tratamento que tiram vantagem das propriedades dos compostos de fórmula (I) discutidos acima. Assim, os sujeitos que podem ser tratados por compostos da presente invenção incluem pacientes aflagidos com fibrose quística, disquinésia ciliar primária, bronquite crónica, doença obstrutiva crónica das vias respiratórias, pacientes ventilados artificialmente, pacientes com pneumonia aguda. Os presentes compostos podem ser utilizados para obter uma amostra de expectoração de um paciente por administração dos compostos activos a pelo menos um pulmão de um paciente e em seguida induzindo ou recolhendo uma amostra de expectoração desse paciente. Tipicamente, os compostos serão administrados às superfícies das mucosas

respiratórias via aerossol (líquidos ou pós secos) ou lavagem.

Os sujeitos que podem ser tratados pelo método descrito na presente revelação incluem também pacientes aos quais esteja a ser administrado oxigénio suplementar nasalmente (um regime que tem tendência a secar as superfícies das vias respiratórias); pacientes afligidos com uma doença ou resposta alérgica (e.g., uma resposta alérgica ao pólen, pó, pelos ou partículas de animais, insectos ou partículas de insectos, etc.) que afecte as superfícies das vias respiratórias nasais; pacientes afligidos com uma infecção bacteriana, e.g., infecções por estafilococos, tais como infecções por *Staphylococcus aureus*, infecções por *Hemophilus influenza*, infecções por *Streptococcus pneumoniae*, infecções por *Pseudomonas aeurginosa*, etc.), das superfícies das vias respiratórias nasais; pacientes afligidos com uma doença inflamatória que afecte as superfícies das vias respiratórias nasais; ou pacientes afligidos com sinusite (em que o agente ou agentes activo(s) são administrados para promover drenagem das secreções mucosas congestionadas nos seios nasais por administração de uma quantidade efectiva para promover a drenagem de fluido congestionado nos seios nasais, ou Rinossinusite combinada. A invenção pode ser administrada a superfícies nasossinusais por administração tópica, incluindo aerossóis e gotas.

A presente invenção pode ser utilizada para hidratação de superfícies de mucosas que não as superfícies das vias respiratórias. Essas outras superfícies de mucosas incluem superfícies gastrointestinais, superfícies orais, superfícies genito-uretrais (vaginais), superfícies oculares ou superfícies do olho, do ouvido interno e do ouvido médio. Por exemplo, os compostos activos da presente invenção podem ser administrados por quaisquer meios adequados, incluindo localmente/topicamente, oralmente, ou rectalmente, numa quantidade efectiva.

A presente invenção refere-se também à utilização de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) na produção de um medicamento para o tratamento de uma ou mais condições seleccionadas de entre o grupo constituído por

bronquite crónica, fibrose quística, sinusite, secura vaginal, olho seco, doença de Sjogren, síndrome de obstrução intestinal na porção distal, pele seca, esofagite, boca seca (xerostomia), desidratação nasal, pneumonia induzida por ventilador, asma, disquinésia ciliar primária, otite média, doença pulmonar obstrutiva crónica, enfisema, pneumonia, obstipação, diverticulite crónica e rinossinusite; em que o dito tratamento compreende a administração de uma quantidade efectiva de um composto representado pela fórmula (I) a um sujeito necessitado.

A presente invenção refere-se principalmente ao tratamento de sujeitos humanos mas pode também ser empregue para o tratamento de outros sujeitos mamíferos, tais como cães e gatos para fins veterinários.

Tal como discutido acima, os compostos utilizados para preparar as composições da presente invenção podem estar na forma de uma base livre farmaceuticamente aceitável. Uma vez que a base livre do composto é geralmente menos solúvel em soluções aquosas do que o sal, as composições de base livre são empregues para providenciar uma libertação mais lenta do agente activo para os pulmões. Um agente activo presente nos pulmões em forma de partículas que não se dissolveu em solução serve ainda como depósito de droga que se torna gradualmente biodisponível à medida que se dissolve lentamente para a solução.

Outro aspecto da presente invenção é uma composição farmacêutica que compreende um composto de fórmula (I) num veículo farmaceuticamente aceitável (e.g., uma solução de veículo aquoso). Em geral, o composto de fórmula (I) é incluído na composição numa quantidade efectiva para inibir a reabsorção de água pelas superfícies das mucosas.

Os compostos da presente invenção podem também ser utilizados em conjunção com um agonista do receptor P2Y2 ou um seu sal farmaceuticamente aceitável (também por vezes aqui referido como "agente activo"). O agonista do receptor P2Y2 é incluído tipicamente numa quantidade efectiva para estimular a secreção de cloreto e de água pelas superfícies das vias respiratórias. Os agonistas do receptor P2Y2 adequados estão

descritos nas colunas 9-10 dos documentos E.U.A. 6 264 975, E.U.A. 5 656 256, e E.U.A. 5 292 498

Podem também ser utilizados broncodilatadores em combinação com os compostos da presente invenção. Estes broncodilatadores incluem, mas não estão limitados a, agentes anticolinérgicos incluindo mas não limitados a brometo de ipratrópio, assim como compostos tais como teofilina e aminofilina. Estes compostos podem ser administrados de acordo com técnicas conhecidas, quer antes quer concorrentemente com os compostos activos aqui descritos.

Podem também ser utilizados osmólitos iónicos e orgânicos em combinação com compostos da presente invenção. Os osmólitos iónicos úteis incluem qualquer sal que consista num anião farmaceuticamente aceitável e num catião farmaceuticamente aceitável. Os osmólitos orgânicos incluem, mas não estão limitados a, açúcares, açúcares álcool e osmólitos orgânicos. Exemplos detalhados de osmólitos iónicos e não iónicos são apresentados na Patente dos E.U.A. 6 926 911. Um osmólito iónico particularmente útil é cloreto de sódio hipertónico ou nitrito de sódio. Um osmólito orgânico particularmente útil é o açúcar reduzido manitol.

Outro aspecto da presente invenção é uma formulação farmacêutica que comprehende um composto activo como descrito acima num veículo farmaceuticamente aceitável (e.g., uma solução de veículo aquoso). Em geral, o composto activo é incluído na composição numa quantidade efectiva para tratar as superfícies das mucosas, tal como inibindo a reabsorção de água pelas superfícies das mucosas incluindo as vias respiratórias e outras superfícies.

Os compostos activos aqui revelados podem ser administrados a superfícies de mucosas por quaisquer meios adequados, incluindo topicamente, oralmente, rectalmente, vaginalmente, ocularmente e dermicamente, etc. Por exemplo, para o tratamento da obstipação, os compostos activos podem ser administrados oralmente ou rectalmente à superfície da mucosa gastrointestinal. O composto activo pode ser combinado com um veículo farmaceuticamente aceitável em qualquer forma adequada, tal como solução salina fisiológica ou diluída, ou

solução tópica estéril, tal como gotas, comprimidos ou semelhantes para administração oral, como um supositório para administração rectal ou genito-uretral, etc. Podem ser incluídos excipientes na formulação para aumentar a solubilidade dos compostos activos conforme desejado.

Os compostos activos aqui revelados podem ser administrados às superfícies das vias respiratórias de um paciente por quaisquer meios adequados, incluindo um spray, uma névoa ou gotículas dos compostos activos num veículo farmaceuticamente aceitável tal como soluções salinas fisiológicas ou diluídas ou água destilada. Por exemplo, os compostos activos podem ser preparados como formulações e administrados tal como descrito na Patente dos E.U.A. No. 5 789 391 de Jacobus.

Os agentes activos em partículas sólidas ou líquidas preparados para pôr em prática a presente invenção podem, como assinalado acima, incluir partículas de tamanho respirável ou não respirável; isto é, para as partículas respiráveis, partículas com um tamanho suficientemente pequeno para passar através da boca e da laringe por inalação e para os brônquios e alvéolos dos pulmões, e para partículas não respiráveis, partículas suficientemente grandes para serem retidas nas passagens respiratórias nasais em vez de passarem através da laringe e para os brônquios e alvéolos dos pulmões. Em geral, as partículas com um tamanho que varia entre cerca de 1 e 5 micra (mais particularmente, um tamanho de menos do que cerca de 4,7 micra) são respiráveis. As partículas de tamanho não respirável têm um tamanho maior do que cerca de 5 micra, até ao tamanho de gotículas visíveis. Assim, para administração nasal, um tamanho de partículas no intervalo de 10-500 μm pode ser utilizado para assegurar a retenção na cavidade nasal.

Na produção de uma formulação de acordo com a invenção, os agentes activos ou os seus sais ou bases livres fisiologicamente aceitáveis são tipicamente misturados com, *inter alia*, um veículo aceitável. Evidentemente, o veículo deve ser compatível com quaisquer outros ingredientes na formulação e não deve ser prejudicial para o paciente. O veículo deve ser sólido, ou líquido, ou ambos e é de

preferência formulado com o composto como uma formulação de dose unitária, por exemplo, uma cápsula, que pode conter 0,5% a 99% em peso do composto activo. Um ou mais compostos activos podem ser incorporados nas formulações da invenção, formulações essas que podem ser preparadas por qualquer uma das técnicas bem conhecidas de farmácia que consistem essencialmente na mistura dos componentes.

As composições que contêm partículas secas respiráveis ou não respiráveis de agente activo micronizado podem ser preparadas por moagem do componente activo seco com um almofariz e pilão e em seguida passando a composição micronizada através de um crivo de abertura de malha 400 mesh para desagregar ou separar os aglomerados volumosos.

O agente activo em partículas pode conter opcionalmente um dispersante que serve para facilitar a formulação de um aerossol. Um dispersante adequado é a lactose, que pode ser misturada com o agente activo em qualquer razão adequada (e.g., uma razão em peso de 1 para 1).

Os compostos activos aqui revelados podem ser administrados a superfícies de vias respiratórias incluindo as passagens nasais, seios nasais e pulmões de um sujeito por um meio adequado conhecido na técnica, tal como por meio de gotas nasais, névoas de pulverização, etc. Numa concretização da invenção, os compostos activos da presente invenção e administrados por lavagem transbroncoscópica. Numa concretização preferida da invenção, os compostos activos da presente invenção são depositados nas superfícies das vias respiratórias dos pulmões por administração de uma suspensão em aerossol de partículas respiráveis que compreendem o composto activo que o sujeito inala. As partículas respiráveis podem ser líquidas ou sólidas. São conhecidos numerosos inaladores para a administração de partículas em aerossol aos pulmões de um sujeito.

Podem ser empregues inaladores tais como os desenvolvidos por Nolctar Therapeutic Systems, Palo Alto, Califórnia, EUA, incluindo mas não estando limitados aos revelados nas Patentes dos E.U.A. Nos. 5 740 794; 5 654 007; 5 458 135; 5 775 320; e 5 785 049. A Requerente pretende

especificamente que as revelações de todas as referências de patentes aqui citadas sejam incorporadas por referência nesta descrição, na sua totalidade. Podem também ser empregues inaladores tais como os desenvolvidos por Dura Pharmaceuticals, Inc., San Diego, Califórnia, EUA, incluindo os revelados nas Patentes dos E.U.A. Nos. 5 622 166; 5 577 497; 5 645 051; e 5 492 112. Adicionalmente, podem ser empregues inaladores tais como os desenvolvidos por Aradigm Corp., Hayward, Califórnia, EUA, incluindo mas não estando limitados aos revelados nas Patentes dos E.U.A. Nos. 5 826 570; 5 813 397; 5 819 726; e 5 655 ,516. Estes dispositivos são particularmente adequados como inaladores de partículas secas.

Os aerossóis de partículas líquidas que compreendem o composto activo podem ser produzidos por quaisquer meios adequados, tais como com um nebulizador de aerossol accionado por pressão ou um nebulizador ultrassónico. Ver, e.g., Patente dos E.U.A. No. 4 501 729. Os nebulizadores são dispositivos disponíveis comercialmente que transformam soluções ou suspensões do ingrediente activo numa névoa de aerossol terapêutico, quer por meio da aceleração de gás comprimido, tipicamente ar ou oxigénio, através de um orifício venturi estreito, quer por meio de agitação ultrassónica. As formulações adequadas para utilização em nebulizadores consistem no ingrediente activo num veículo líquido, o ingrediente activo compreendendo até 40% p/p da formulação, mas de preferência menos do que 20% p/p. O veículo é tipicamente água (e com maior frequência água estéril isenta de pirogénios) ou uma solução alcoólica aquosa diluída. Podem também ser utilizados veículos de perfluorocarboneto. Os aditivos opcionais incluem conservantes se a formulação não for tornada estéril, por exemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, agentes aromatizantes, óleos voláteis, agentes tampão e tensioactivos.

Os aerossóis de partículas sólidas que compreendem o composto activo podem da mesma forma ser produzidos com qualquer gerador de aerossol de medicamentos de partículas sólidas. Os geradores de aerossol para a administração de medicamentos de partículas sólidas a um sujeito produzem

partículas que são respiráveis, tal como explicado acima, e geram um volume de aerossol que contém uma dose calibrada pré-determinada de medicamento a uma velocidade adequada para administração humana. Um tipo ilustrativo de gerador de aerossol de partículas é um insuflador. As formulações adequadas para administração por insuflação incluem pós finamente diminuídos que podem ser administrados por meio de um insuflador ou tomados para a cavidade nasal por meio de uma inalação. No insuflador, o pó (e.g., uma dose calibrada de pó efectiva para a realização dos tratamentos aqui descritos) está contido em cápsulas ou cartuchos, tipicamente feitos de gelatina ou plástico, que são punctionados ou abertos *in situ* e o pó é fornecido por ar arrastado através do dispositivo por inalação ou por meio de uma bomba operada manualmente. O pó empregue no insuflador consiste apenas no ingrediente activo ou numa mistura de pó que compreende o ingrediente activo, um diluente de pó adequado, tal como lactose e um tensioactivo opcional. O ingrediente activo compreende tipicamente de 0,1 a 100% p/p da formulação. Um segundo tipo de gerador de aerossol ilustrativo compreende um inalador de dose calibrada. Os inaladores de dose calibrada são dispensadores de aerossol pressurizados que contêm tipicamente uma formulação em suspensão ou solução de ingrediente activo num propulsor liquefeito. Durante a utilização, estes dispositivos descarregam a formulação através de uma válvula adaptada para fornecer um volume calibrado, tipicamente de 10 a 150 µl, para produzir um spray de partículas finas contendo o ingrediente activo. Os propulsores adequados incluem certos compostos clorofluorocarboneto, por exemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano e misturas destes. A formulação pode adicionalmente conter um ou mais co-solventes, por exemplo, etanol, tensioactivos tais como ácido oleico ou trioleato de sorbitano, antioxidantes e agentes aromatizantes adequados.

O aerossol, formado a partir de partículas sólidas ou líquidas, pode ser produzido pelo gerador de aerossol a uma velocidade de desde cerca de 10 a 150 litros por minuto, com maior preferência de 30 a 150 litros por minuto, e com muita preferência cerca de 60 litros por minuto. Aerossóis que contenham quantidades maiores de medicamento podem ser administrados mais rapidamente.

A dosagem dos compostos activos aqui revelados variará dependendo da condição a ser tratada e do estado do sujeito, mas em geral pode estar entre cerca de 0,01, 0,03, 0,05, 0,1 a 1, 5, 10 ou 20 mg do agente farmacêutico, depositada sobre as superfícies das vias respiratórias. A dose diária pode ser dividida entre uma ou múltiplas administrações de doses unitárias. O objectivo é alcançar uma concentração dos agentes farmacêuticos nas superfícies das vias respiratórias dos pulmões compreendida entre 10^{-9} - 10^4 M.

Noutra concretização, são administrados por administração de uma suspensão em aerossol de partículas respiráveis ou não respiráveis (de preferência partículas não respiráveis) constituído por composto activo que o sujeito inala através do nariz. As partículas respiráveis ou não respiráveis podem ser líquidas ou sólidas. A quantidade do agente activo incluído pode ser uma quantidade suficiente para alcançar concentrações dissolvidas de agente activo sobre as superfícies das vias respiratórias do sujeito desde cerca de 10^{-9} , 10^{-8} , ou 10^{-7} a cerca de 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} moles/litro, e com maior preferência desde cerca de 10^{-9} a cerca de 10^{-4} moles/litro.

A dosagem de composto activo variará dependendo da condição a ser tratada e do estado do sujeito, mas geralmente pode ser uma quantidade suficiente para alcançar concentrações dissolvidas do composto activo nas superfícies das vias respiratórias nasais do sujeito desde cerca de 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} a cerca de 10^{-3} , 10^{-2} , ou 10^{-1} moles/litro, e com maior preferência desde cerca de 10^{-7} a cerca de 10^{-4} moles/litro. Dependendo da solubilidade da formulação particular do composto activo administrado, a dose diária pode ser dividida entre uma ou várias administrações de doses unitárias. A dose diária em peso pode variar desde cerca de 0,01, 0,03, 0,1, 0,5 ou 1,0 a 10 ou 20 miligramas de partículas de agente activo para um sujeito humano, dependendo da idade e condição do sujeito. Uma dose unitária actualmente preferida é de cerca de 0,5 miligramas de agente activo administrado num regime de 2-10 administrações por dia. A dosagem por ser proporcionada como uma unidade pré-embalada por qualquer meio adequado (e.g., encapsulando numa cápsula de gelatina).

Numa concretização da invenção, a composição de agente activo em partículas pode conter uma base livre do agente activo e um sal farmaceuticamente aceitável para proporcionar uma libertação inicial e uma libertação retardada de agente activo para dissolução nas secreções mucosas do nariz. Essa composição serve para proporcionar um alívio inicial ao paciente e um alívio mantido ao longo do tempo. O alívio continuado, por diminuição do número de administrações diárias necessárias, espera-se que aumente o cumprimento pelo paciente do decurso dos tratamentos com agente activo.

As formulações farmacêuticas adequadas para administração às vias respiratórias incluem formulações de soluções, emulsões, suspensões e extractos. Ver, genericamente, J. Nairn, Solutions, Emulsions, Suspensions and Extracts, em Remington: The Science and Practice of Pharmacy, cap. 86 (19^a ed. 1995). As formulações farmacêuticas adequadas para administração nasal podem ser preparadas como descrito nas Patentes dos E.U.A Nos. 4 389 393 de Schor; 5 707 644 de Illum; 4 294 829 de Suzuki; e 4 835 142 de Suzuki,

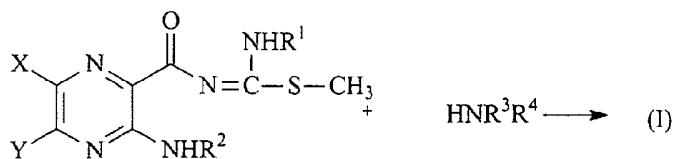
As névoas ou aerossóis de partículas líquidas que compreendem o composto activo podem ser produzidos por quaisquer meios adequados, tais como por um spray nasal simples com o agente activo num veículo aquoso farmaceuticamente aceitável, tal como solução salina estéril ou água estéril. A administração pode ser realizada com um nebulizador de aerossol accionado por pressão ou com um nebulizador ultrassónico. Ver, e.g. Patentes dos E.U.A No. 4 501 729 e 5 656 256. As formulações adequadas para utilização num frasco de gotas ou sprays nasais ou em nebulizadores, consistem no ingrediente activo num veículo líquido, o ingrediente activo compreendendo até 40% p/p da formulação, mas de preferência menos do que 20% p/p. Tipicamente, o veículo é água (e com maior preferência água estéril isenta de pirogénios) ou solução alcoólica aquosa diluída, de preferência preparada numa solução a 0,12% a 0,8% de cloreto de sódio. Aditivos opcionais incluem conservantes se a formulação não for tornada estéril, por exemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, agentes

aromatizantes, óleos voláteis, agentes tampão, agentes osmoticamente activos (e.g. manitol, xilitol, eritritol) e tensioactivos.

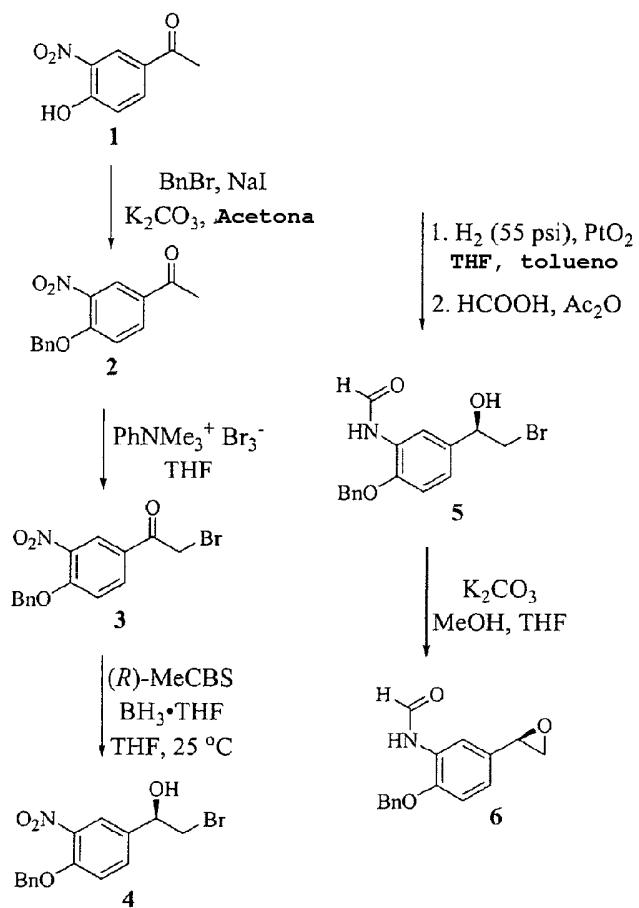
As composições que contêm partículas secas respiráveis e não respiráveis de agente activo micronizado podem ser preparadas por moagem do agente activo seco com um almofariz e pilão e em seguida passando a composição micronizada através de um crivo de abertura de malha 400 mesh para desagregar ou separar os aglomerados volumosos.

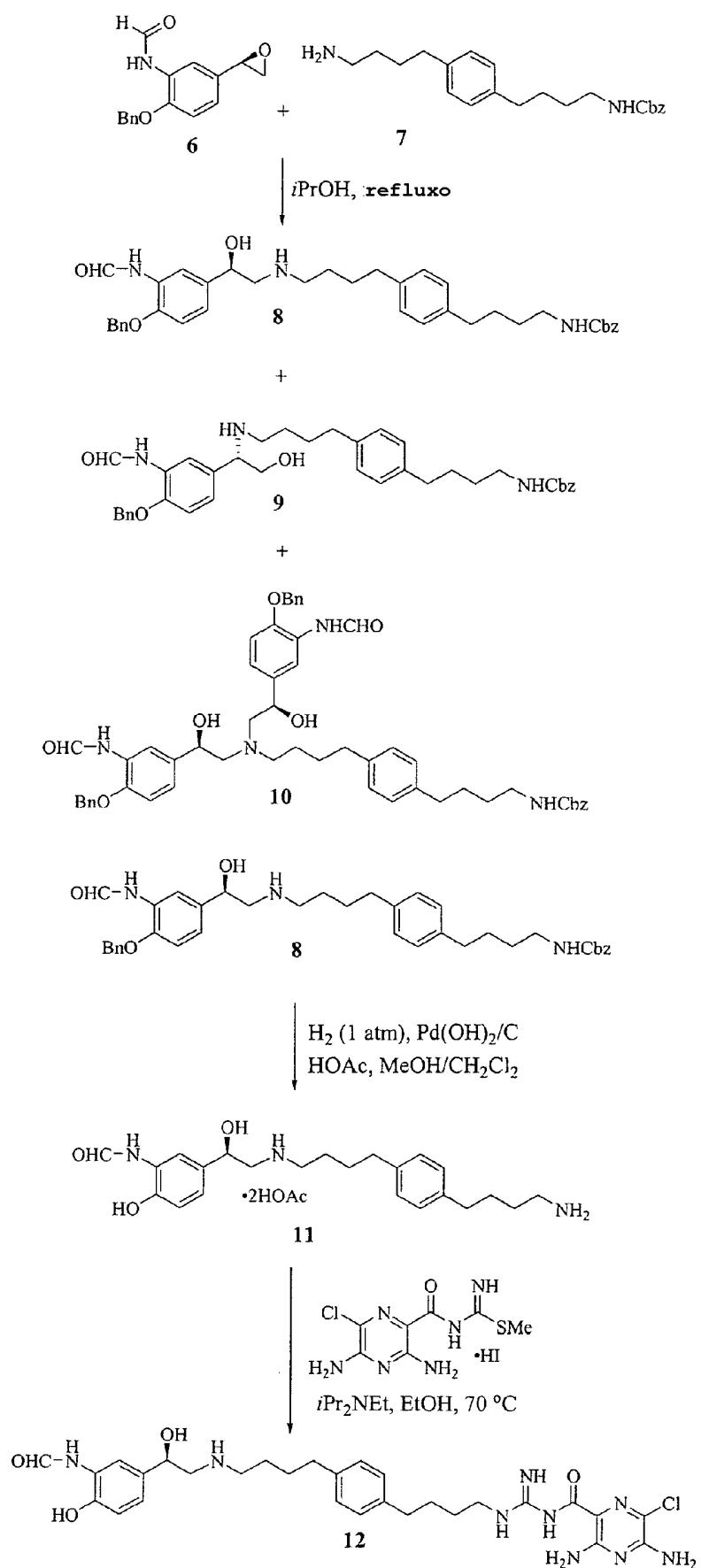
A composição em partículas pode conter opcionalmente um dispersante que serve para facilitar a formação de um aerossol. Um dispersante adequado é a lactose que pode ser misturada com o agente activo em qualquer razão adequada (e.g., uma razão em peso de 1 para 1).

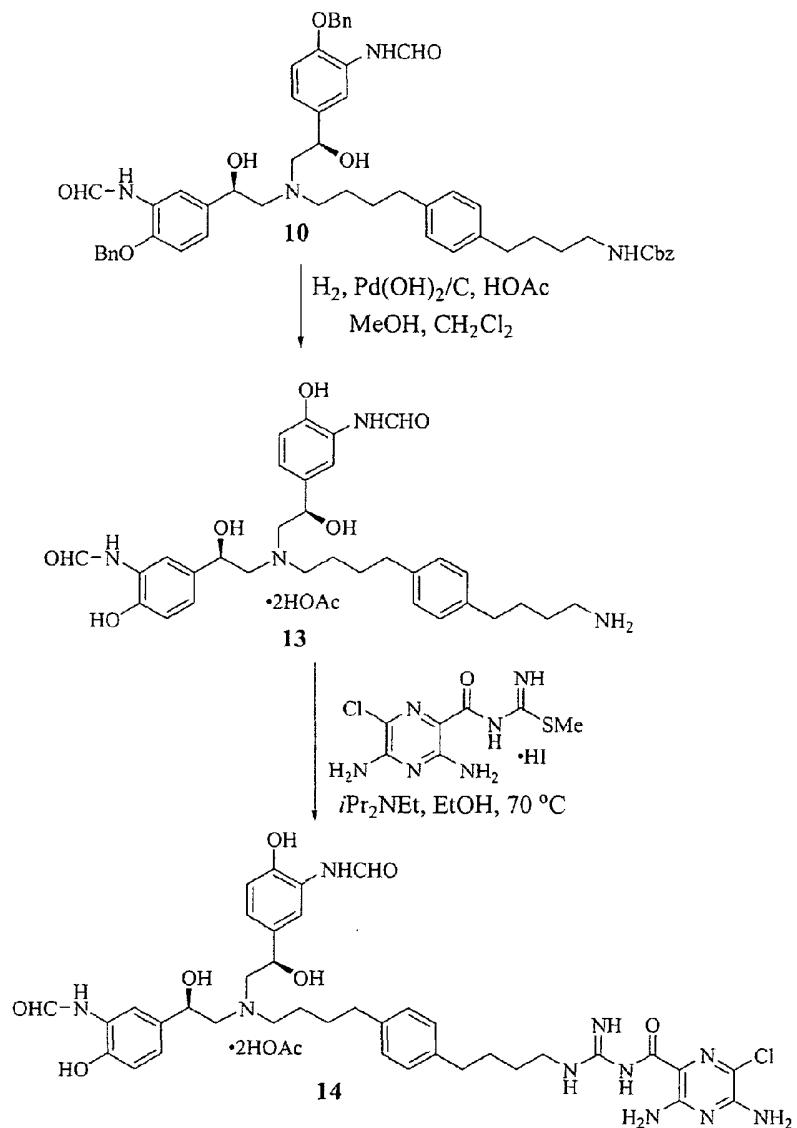
Os compostos de fórmula (I) podem ser sintetizados de acordo com procedimentos conhecidos na técnica. Um procedimento de síntese representativo é apresentado no esquema abaixo:



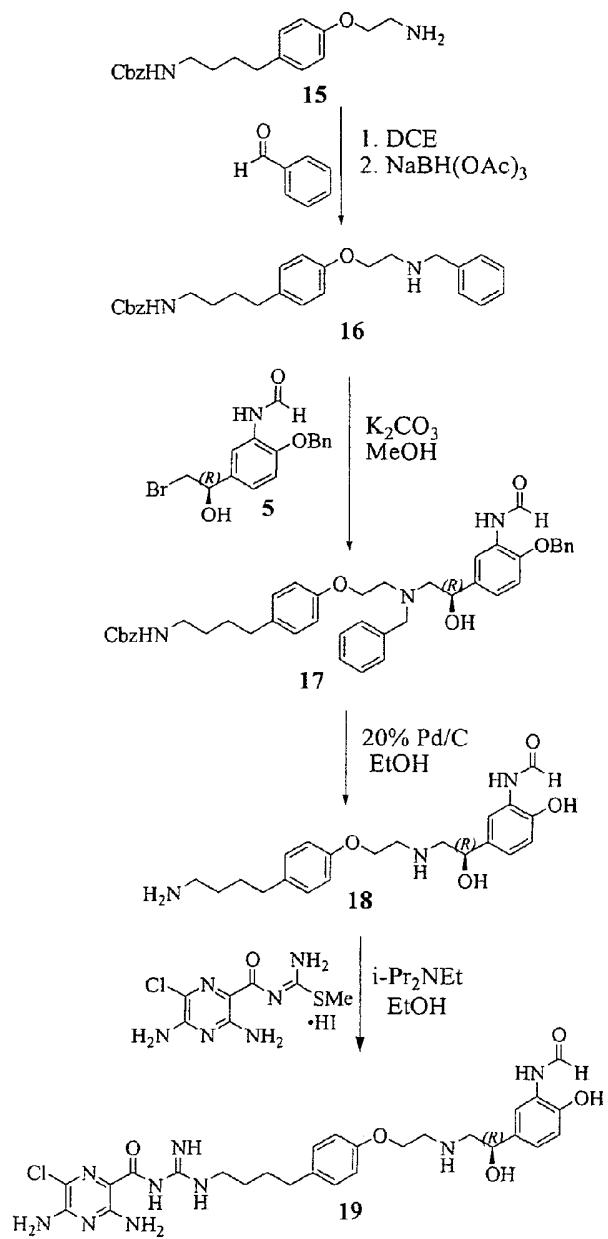
Estes procedimentos estão descritos em, por exemplo, E.J. Cragoe, "The Synthesis of Amilorida and Its Analogs" (Capítulo 3) em Amilorida and Its Analogs, pg. 25-36, incorporada aqui por referência. Outros métodos de preparação dos compostos estão descritos em, por exemplo, documento dos E.U.A. 3 313 813. Ver, em particular os Métodos A, B, C, e D descritos no documento dos E.U.A. 3 313 813. Outros métodos úteis para a preparação destes compostos, especialmente para a preparação do novo fragmento HNR^3R^4 estão descritos em, por exemplo, Patente dos E.U.A. 6 858 614, Patente dos E.U.A. 6 858 615, e Patente dos E.U.A. 6 903 105. Os Esquemas 1 a 9 são representativos de, mas não estão limitados a, procedimentos utilizados para a preparação de bloqueadores de canal de sódio/agonistas adrenérgicos beta descritos aqui.

Esquema 1. Síntese do Composto 12

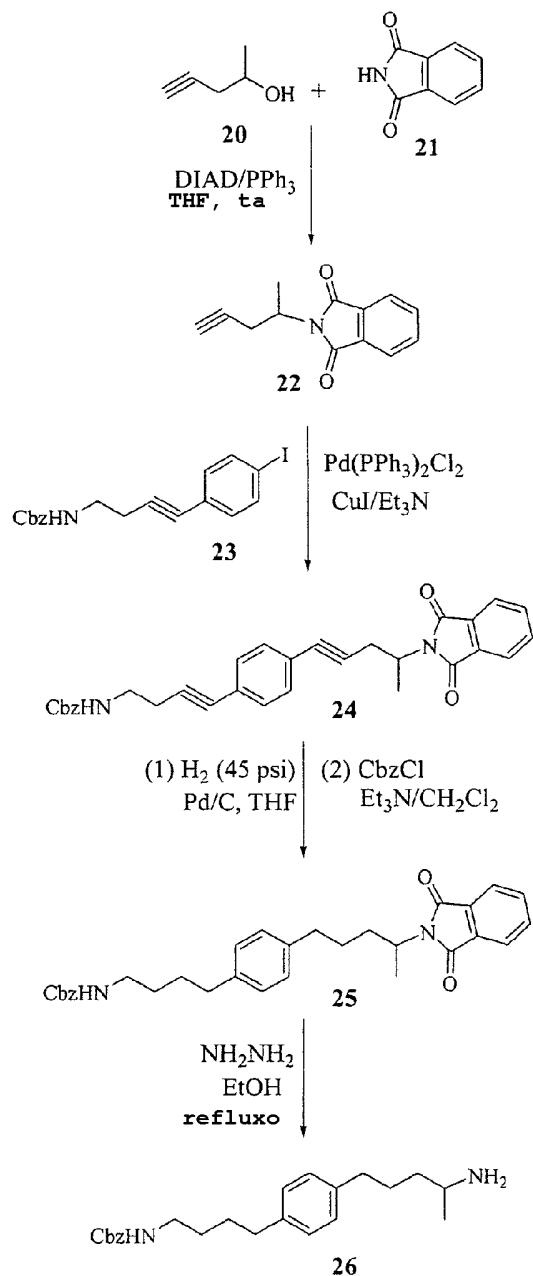


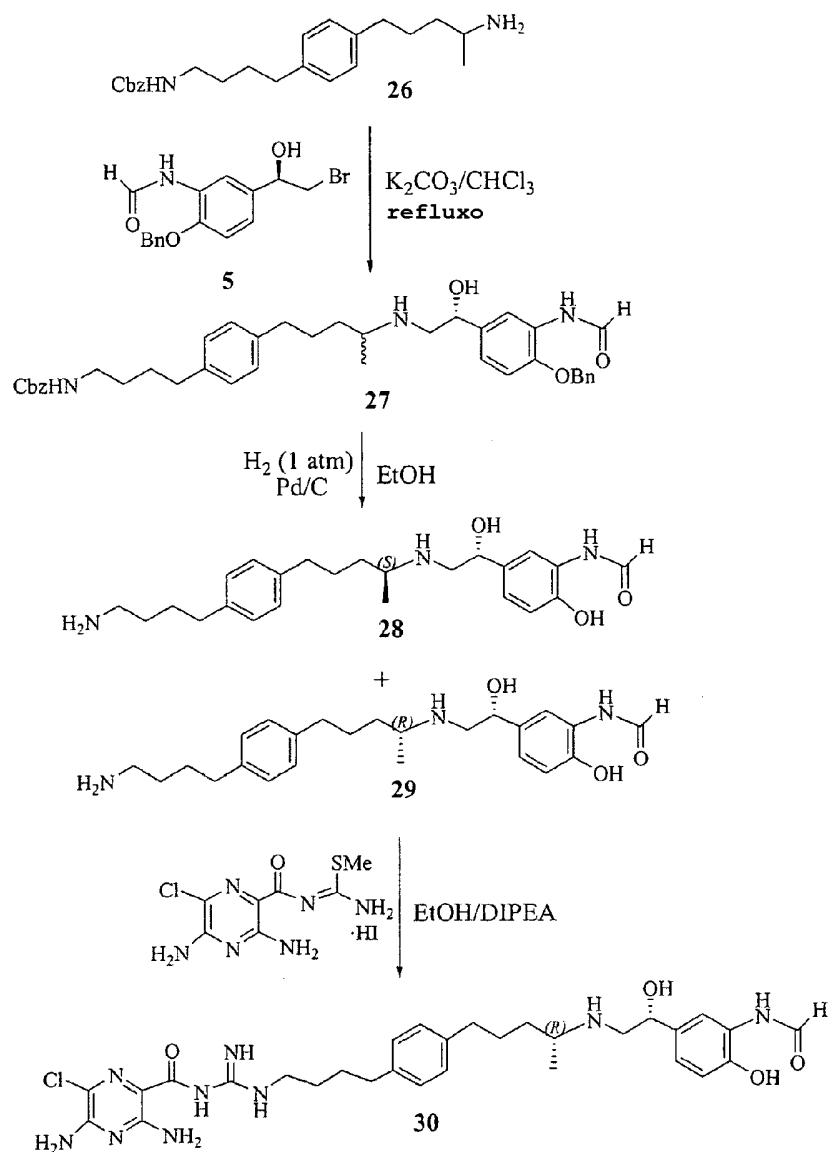
Esquema 2. Síntese do Composto 14

Esquema 3. Síntese do Composto 19

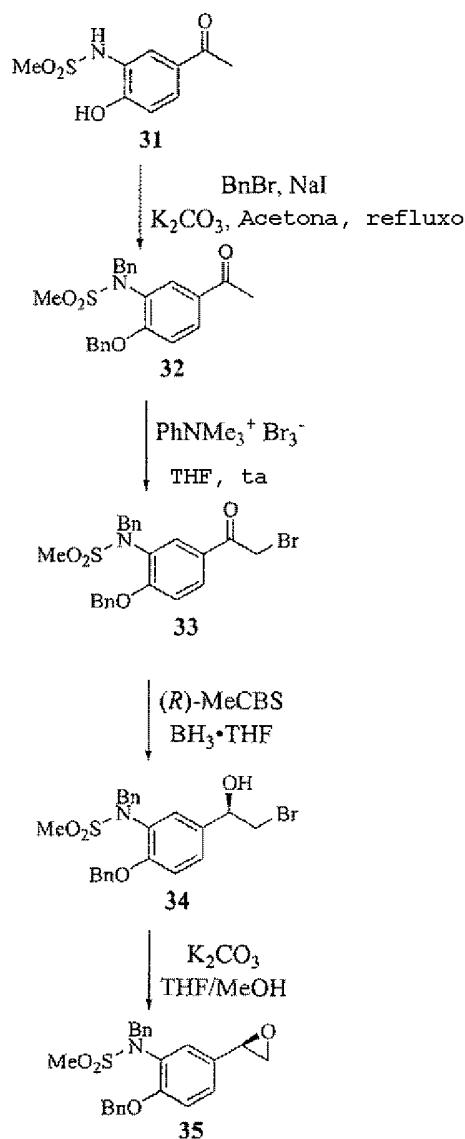


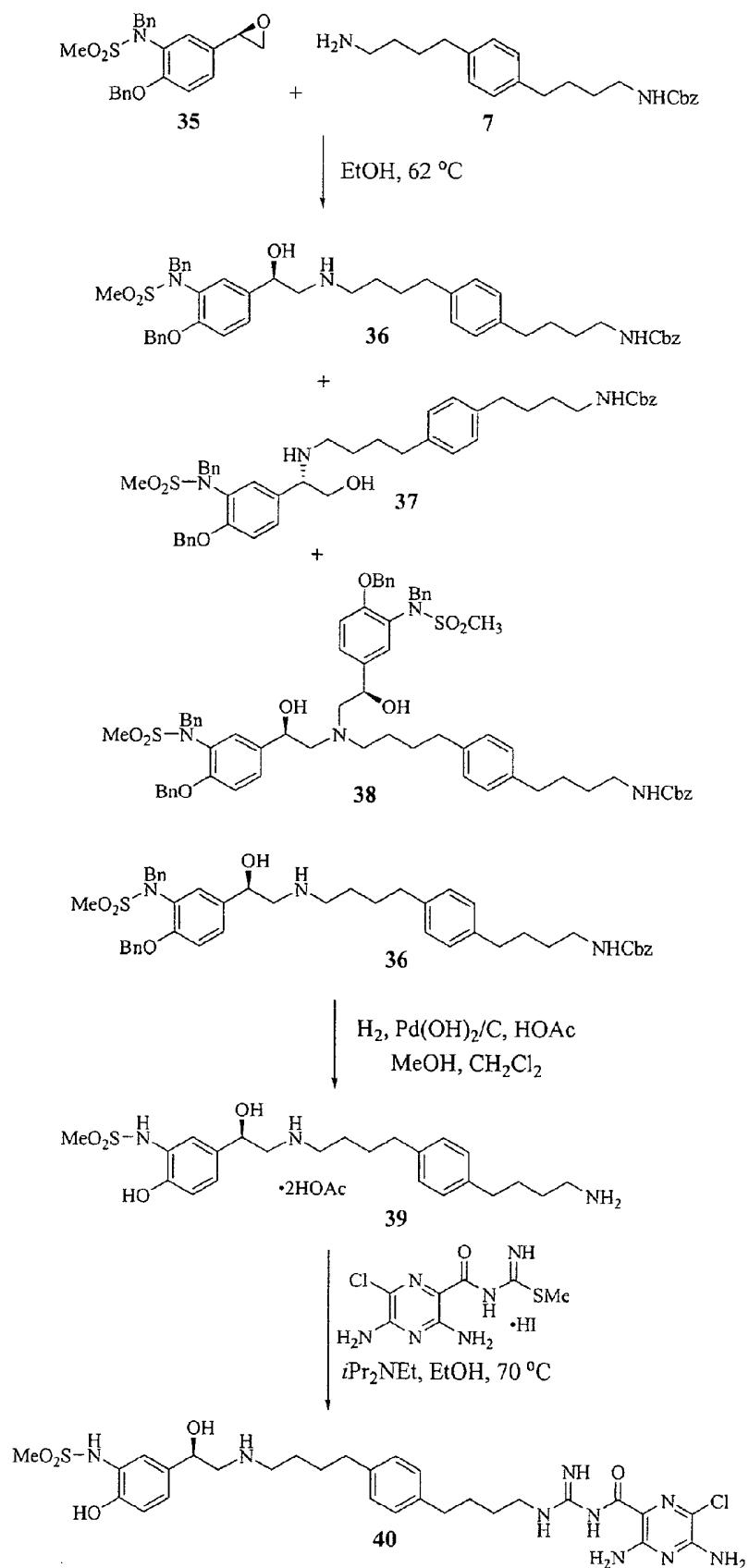
Esquema 4. Síntese do Composto 30



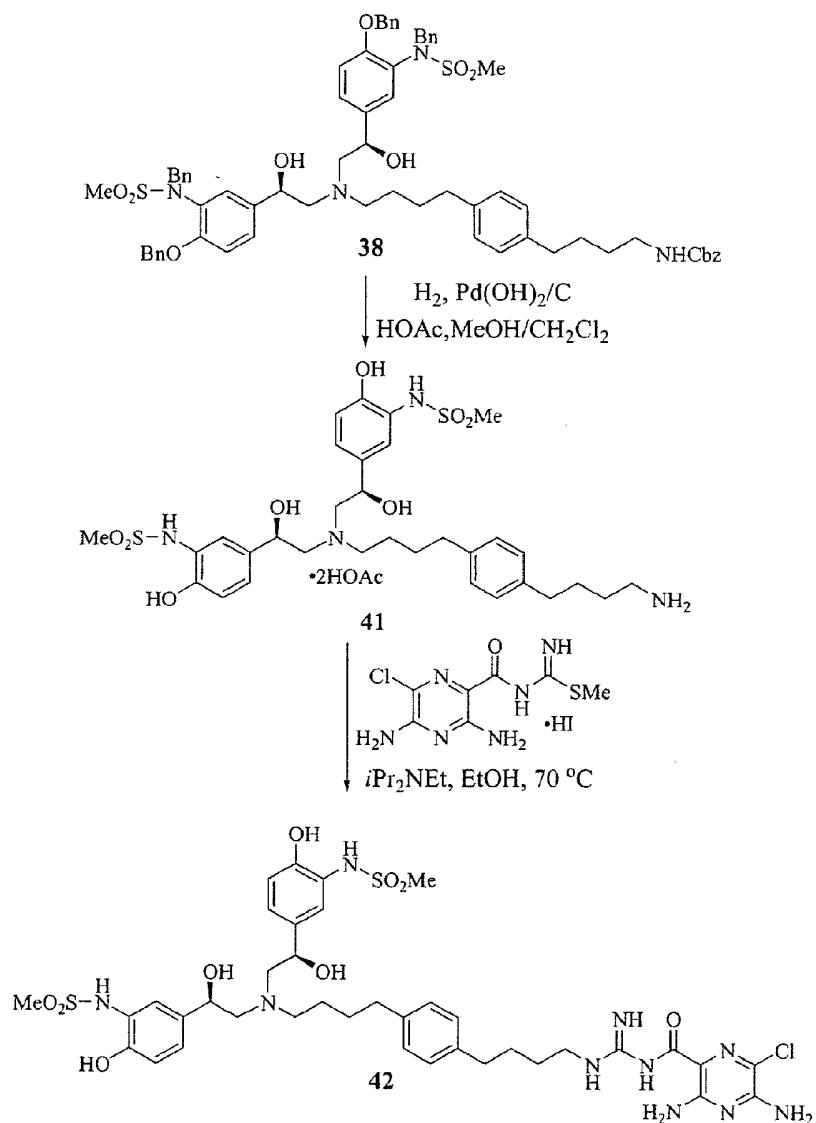


Esquema 5. Síntese do Composto 40

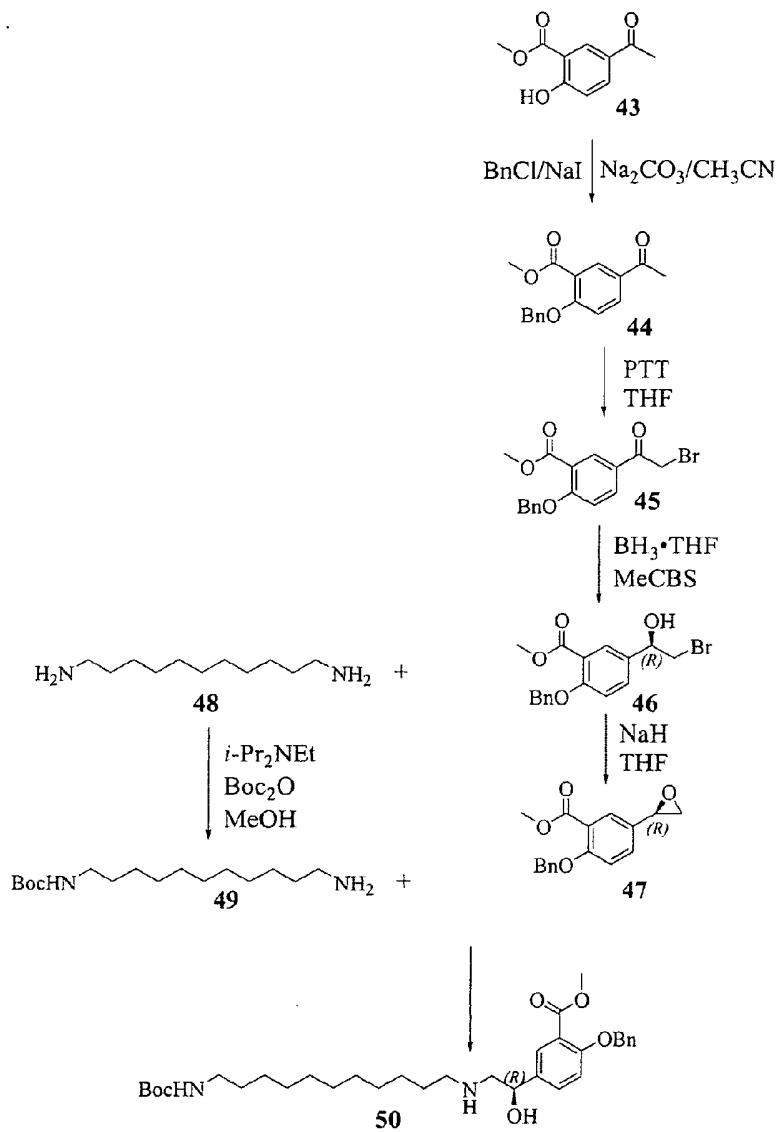


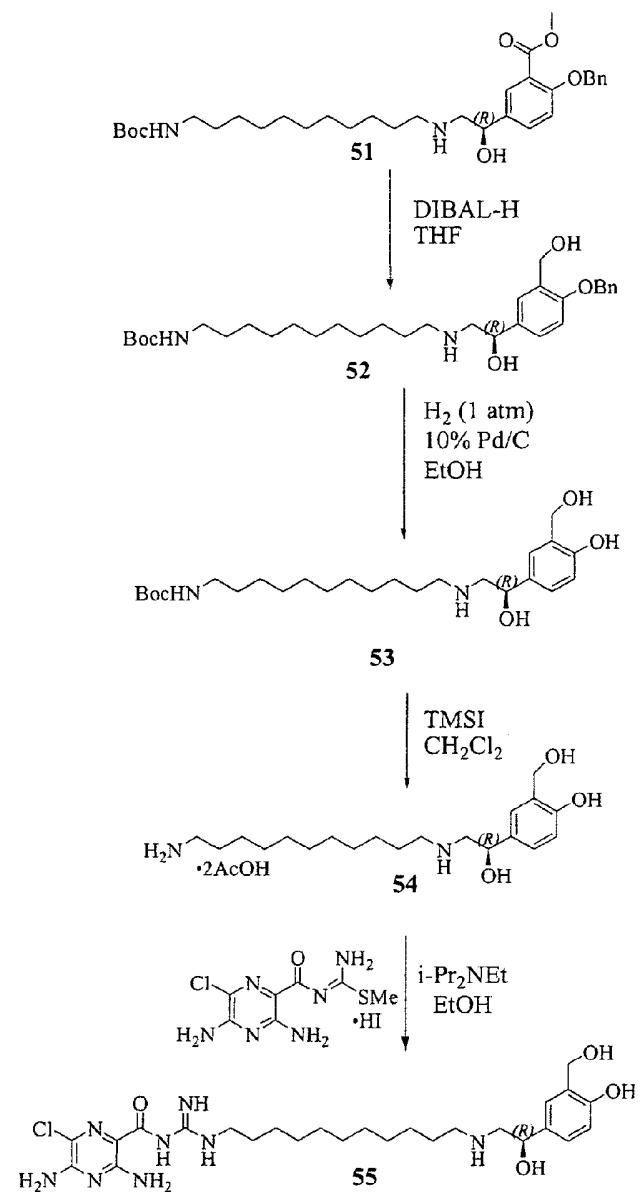


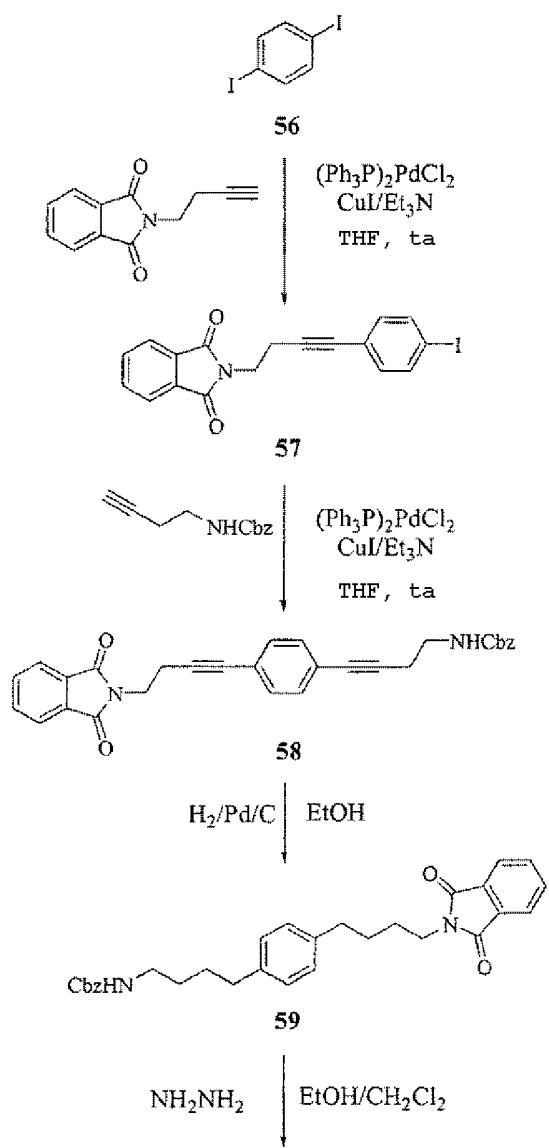
Esquema 6. Síntese do Composto 42

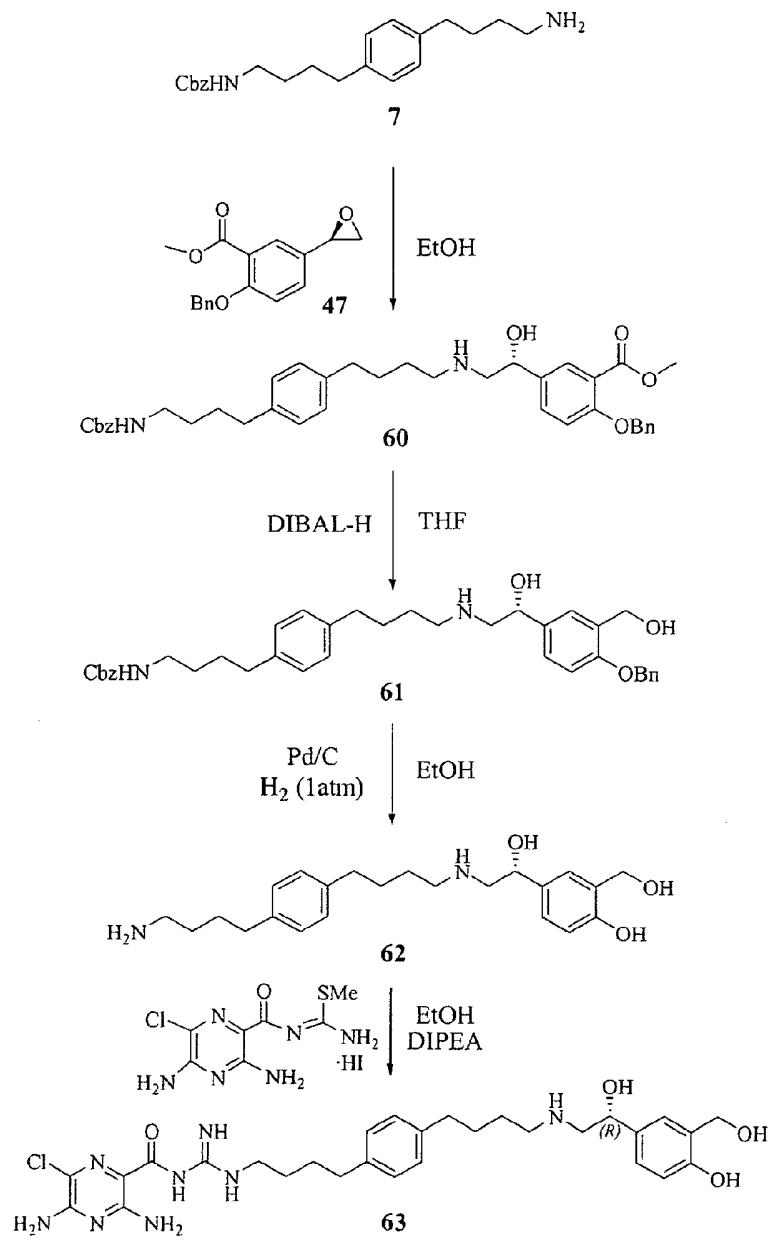


Esquema 7. Síntese do Composto 55

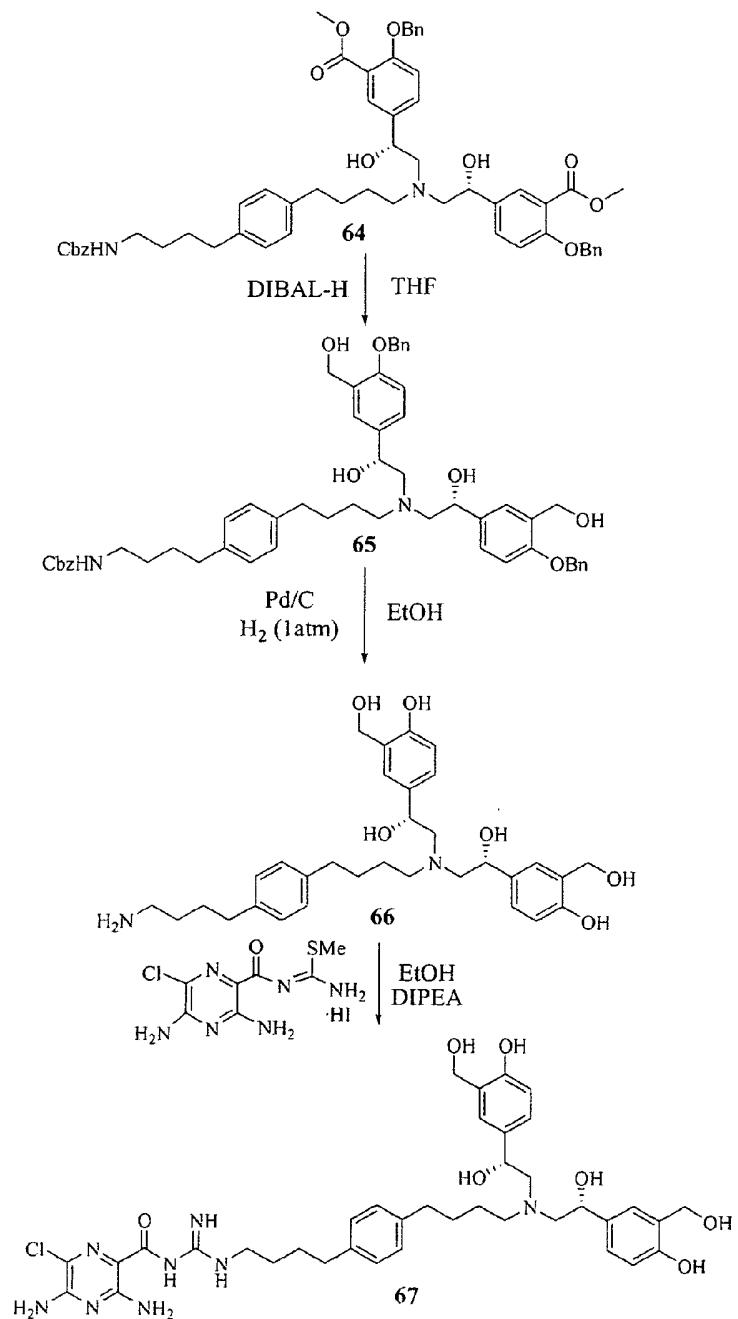




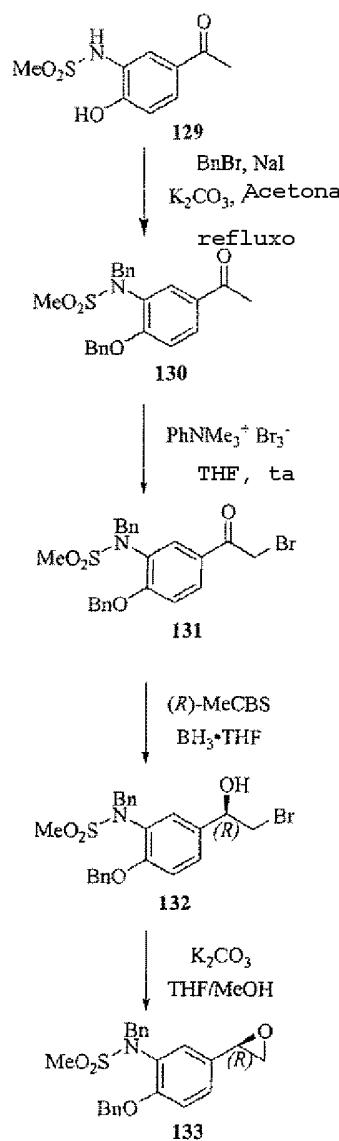
Esquema 8. Síntese do Composto 63

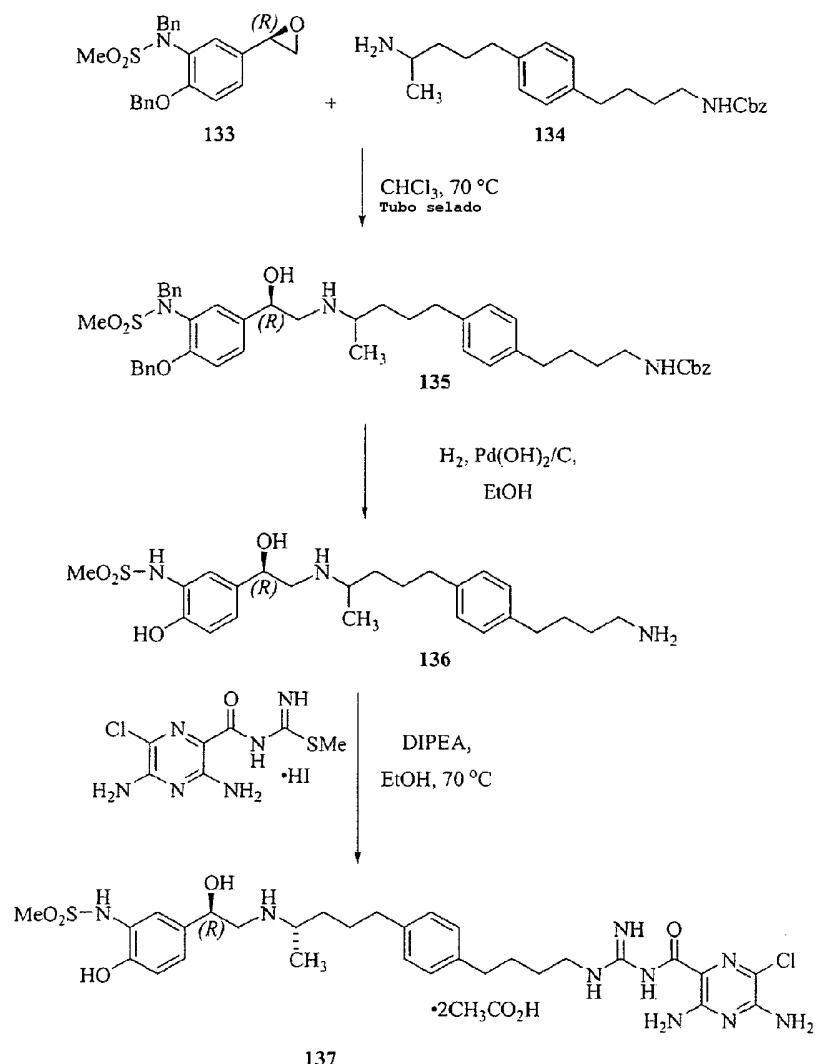


Esquema 9. Síntese do Composto

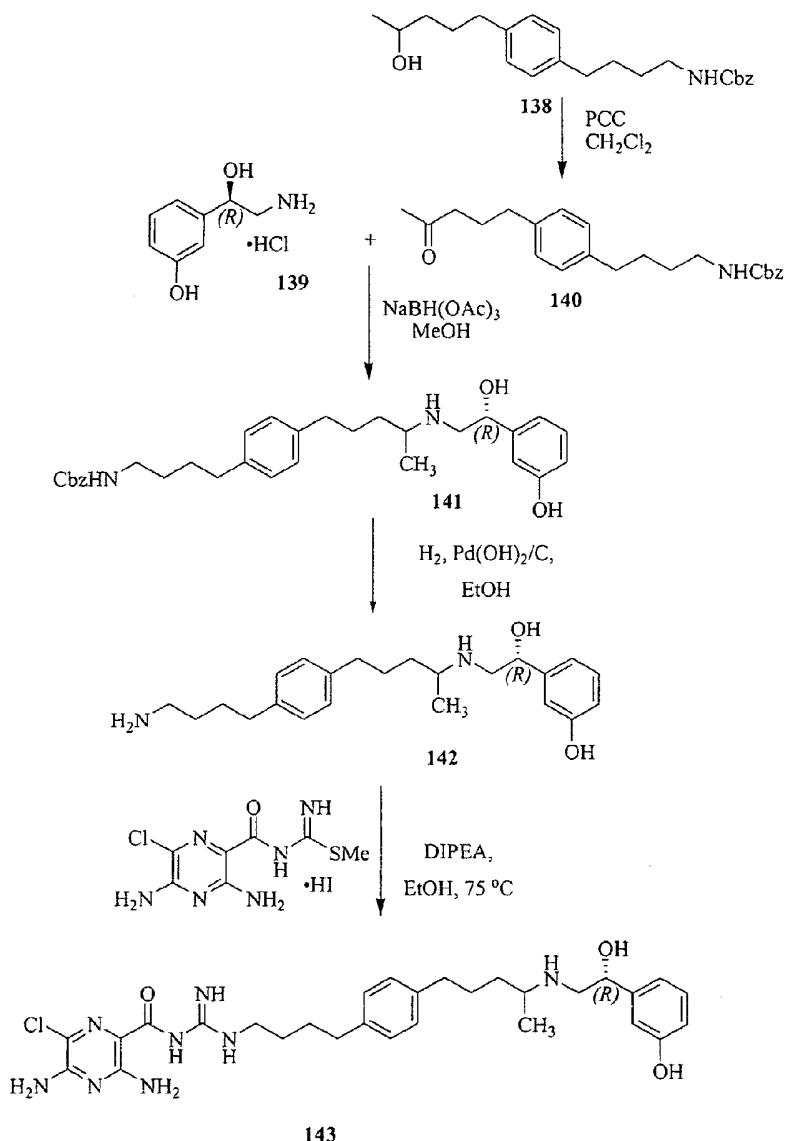


Esquema 10. Síntese de 137

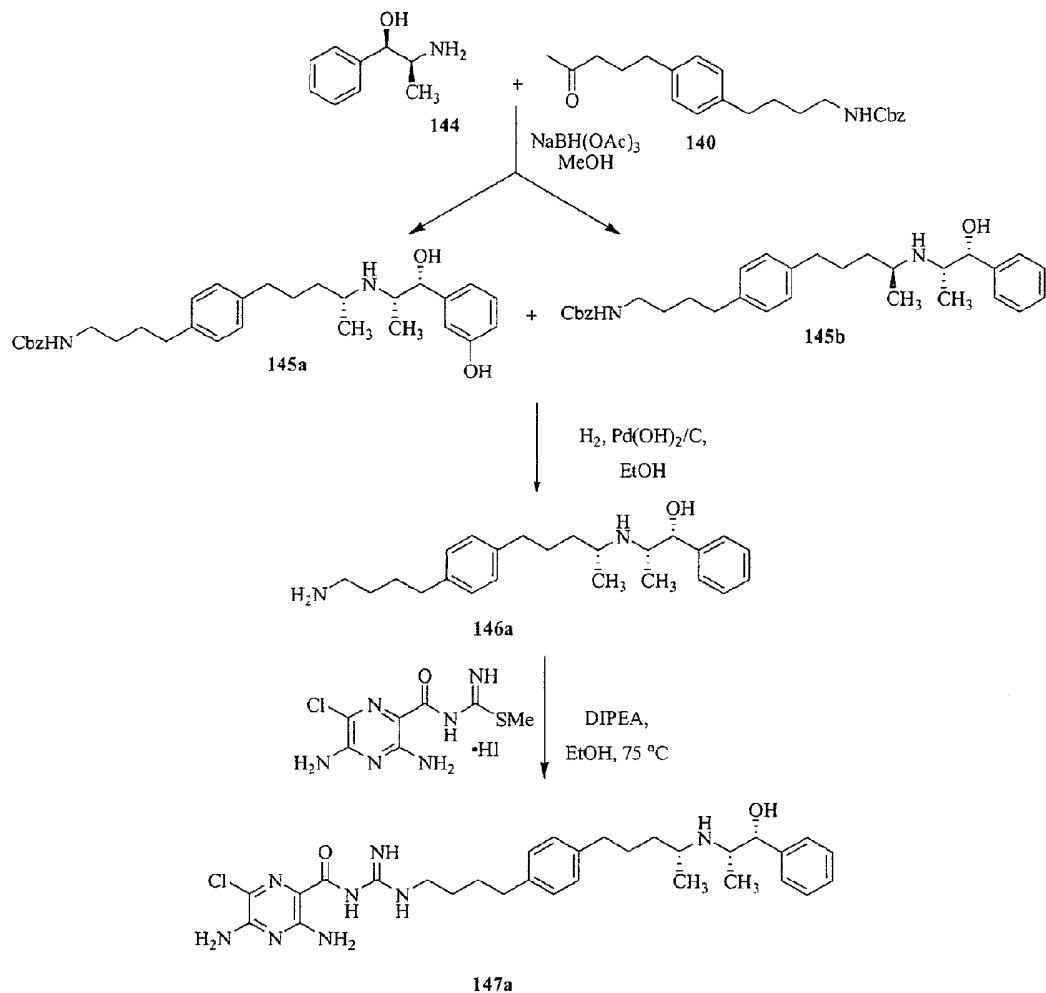


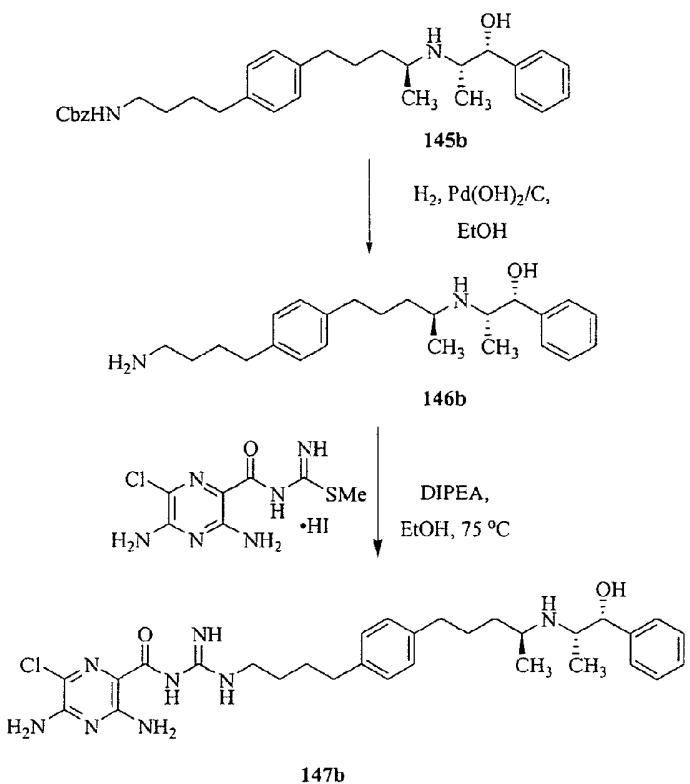


Esquema 11. Síntese de 143

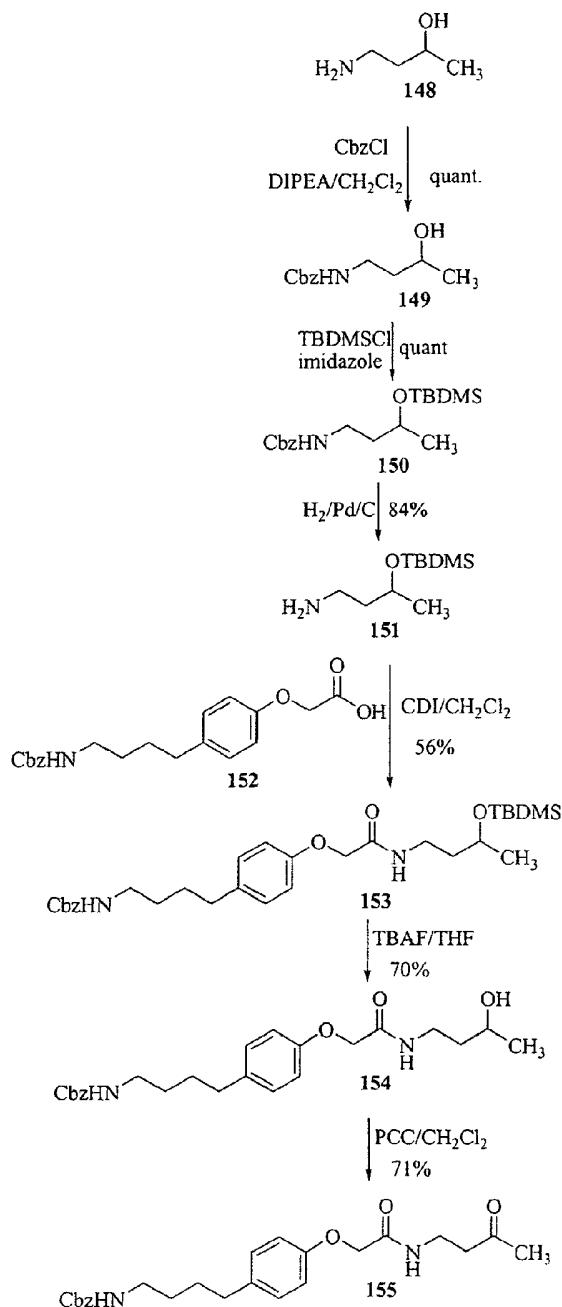


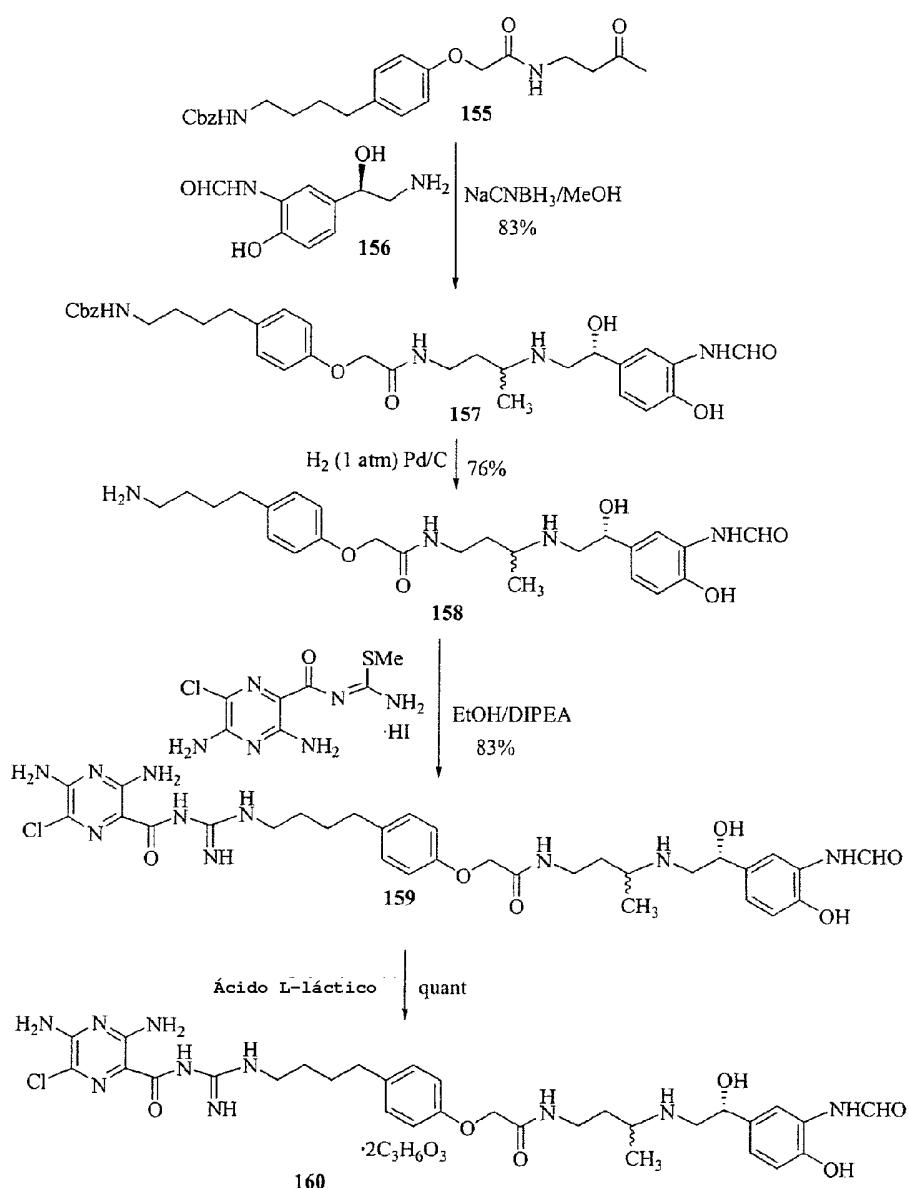
Esquema 12a. Síntese de 147a



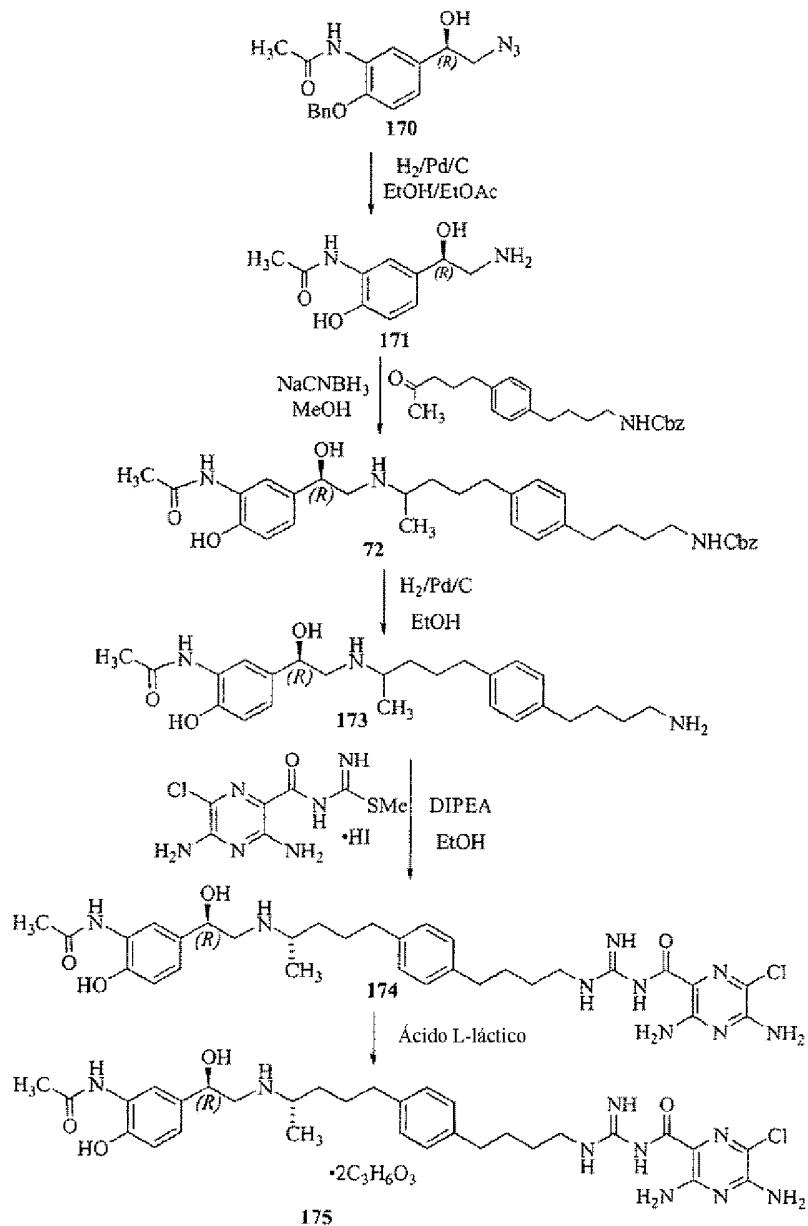
Esquema 12b. Síntese de ALB 147b

Esquema 13. Síntese de 160





Esquema 14. Síntese de ALB 175



Podem ser utilizados vários ensaios para caracterizar os compostos da presente invenção. Os ensaios representativos são descritos abaixo.

1. Medição In Vitro do bloqueio do Canal de Sódio Epitelial e da Actividade Agonista Beta

Para avaliar a potência do bloqueio do canal de sódio epitelial e da actividade agonista beta, cada composto foi

ensaiado utilizando dois procedimentos experimentais separados com metodologia semelhante.

A avaliação da potência de bloqueio do canal de sódio epitelial dos compostos da presente invenção envolve a determinação da inibição luminal pela droga de correntes de sódio epiteliais das vias respiratórias sob uma corrente de curto-circuito (I_{sc}) utilizando monocamadas epiteliais das vias respiratórias montadas em câmaras Ussing. Células obtidas de vias respiratórias excisadas de fresco de humanos, ou de cães, são semeadas em Suportes Permeáveis Transwell® porosos de 0,4 micra (combing Inc. Acton, MA), cultivadas em condições da interface ar-líquido (ALI) em meio hormonalmente definido e analisadas quanto à actividade de transporte de sódio (I_{sc}) enquanto banhadas em solução de bicarbonato Krebs Ringer (KBR) em câmaras Ussing. Todas as adições de droga são ao banho luminal com adições de aproximadamente meio-log de dose (de 1×10^{-11} M a 6×10^{-5} M), e a variação cumulativa em I_{sc} (diminuições) é registada. Todas as drogas são preparadas em dimetilsulfóxido como soluções concentradas, numa concentração de aproximadamente 1×10^{-2} e armazenadas a -20°C. Tipicamente são ensaiadas seis preparações em paralelo; uma preparação por ensaio incorpora 552-02 como controlo positivo. Antes do início da relação concentração-efeito, aplicou-se propanolol, um bloqueador agonista beta não selectivo ao banho luminal (10 µM) para inibir o componente agonista beta do ligando múltiplo projectado (DML). Todos os dados dos gramos de voltagem são recolhidos via uma interface de computador e analisados off-line.

As relações de concentração-efeito para todos os compostos são consideradas e analisadas utilizando GraphPad Prism versão 3.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego Califórnia EUA. Os valores de IC_{50} , concentrações eficazes máximas, são calculados e comparados com a potência de 552-02 como controlo positivo.

A avaliação da actividade agonista beta dos compostos da presente invenção envolve a determinação da adição de droga luminal para promover correntes aniónicas epiteliais nas vias respiratórias medidas sob corrente de curto-circuito (I_{sc}) utilizando monocamadas epiteliais de vias respiratórias montadas em câmaras Ussing. Células obtidas de vias respiratórias excisadas de fresco de humanos, de cães ou de

ovelhas são semeadas em Suportes Permeáveis Transwell® porosos de 0,4 micra (Coming), cultivadas em condições da interface ar-líquido (ALI) em meio hormonalmente definido e analisadas quanto à secreção de aníões (I_{sc}) enquanto banhadas em solução de bicarbonato Krebs Ringer (KBR) em câmaras Ussing. Todas as adições de droga são ao banho luminal com adições de aproximadamente meio-log de dose (de 8×10^{-11} M a $6,5 \times 10^{-5}$ M), e a variação cumulativa em I_{sc} (excitação) é registada. Todas as drogas são preparadas em dimetilsulfóxido como soluções concentradas, numa concentração de aproximadamente 1×10^{-1} a 1×10^{-2} M e armazenadas a -20°C. Tipicamente são ensaiadas seis preparações em paralelo; uma preparação por ensaio incorpora formoterol, salmeterol ou outros agonistas beta bem reconhecidos como controlo positivo, dependendo do análogo incorporado no composto em ensaio. Antes do início da relação concentração-efeito, aplicou-se 552-02, um bloqueador potente do canal do sódio à superfície apical (1 μ M) para eliminar variações em I_{sc} provocadas pela absorção de sódio. Todos os dados dos gramos de voltagem são recolhidos via uma interface de computador e analisados off-line.

As relações concentração-efeito para todos os compostos são consideradas e analisadas utilizando GraphPad Prism versão 3.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego Califórnia EUA. Os valores de EC₅₀, concentrações eficazes máximas, são calculados e comparados com formoterol ou salbutamol como controlo positivo.

2. Ensaio *in vitro* da Absorção e Biotransformação de Compostos pelo Epitélio das Vias Respiratórias

As células epiteliais das vias respiratórias têm a capacidade de metabolizar drogas durante o processo de absorção transepitelial. Além disso, apesar de menos provavelmente, é possível que as drogas possam ser metabolizadas sobre as superfícies epiteliais das vias respiratórias por actividades ectoenzimáticas específicas. Talvez mais provavelmente, como um evento ecto-superficial, os compostos possam ser metabolizados pelas secreções infectadas que ocupam o lúmen das vias respiratórias de pacientes com doenças de pulmões, e.g., fibrose quística.

Deste modo, é realizada uma série de ensaios para caracterizar qualquer biotransformação de compostos (metabolismo ou conjugação) que resulte da interacção de compostos de ensaio com o epitélio das vias respiratórias humanas e/ou produtos luminais do epitélio das vias respiratórias humanas.

Na primeira série de ensaios, a interacção dos compostos de ensaio em KBR como estimulante de "ASL" são aplicados à superfície apical de células epiteliais das vias respiratórias humanas crescidas nos Suportes Permeáveis Transwell® (Corning), sistema de inserção. Para a maior parte dos compostos, o metabolismo ou conjugação (geração de novas espécies) é analisado utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para resolver espécies químicas e as propriedades de fluorescência endógena destes compostos para estimar as quantidades relativas de compostos de ensaio e de novos metabolitos. Para um ensaio típico, uma solução de ensaio (1 mL de KBr, contendo 100 µM de composto de ensaio) é colocada na superfície luminal do epitélio. Obtêm-se amostras sequenciais de 5 a 600 µl dos compartimentos luminal e serosal respectivamente, para análise por HPLC da (1) massa de composto de ensaio que permeia do banho luminal para o seroso e (2) formação potencial de metabolitos a partir do composto parente. A partir dos resultados de HPLC, a velocidade de e/ou formação de novos metabolitos dos compostos sobre a superfície luminal e o surgimento de composto de ensaio e/ou de novo metabolito na solução basolateral é quantificada com base em padrões internos. Os resultados referentes à mobilidade cromatográfica de potenciais metabolitos novos com referência ao composto parente também são quantificados.

Para analisar o potencial metabolismo dos compostos de ensaio por expectoração de FQ, uma mistura "representativa" de expectoração de FQ obtida de 10 pacientes com FQ (sob aprovação IRB) foi recolhida. A expectoração foi solubilizada numa mistura 1:5 de solução de KBR com mistura por vórtex vigoroso, após o que a mistura foi dividida numa alíquota "pura" de expectoração e numa alíquota sujeita a ultracentrifugação de modo a obter uma alíquota de "sobrenadante" (pura=celular; sobrenadante=fase líquida).

Estudos típicos de metabolismo de compostos por expectoração de FQ envolvem a adição de massas conhecidas de composto de ensaio a expectoração "pura" de FQ e alíquotas de "sobrenadante" de expectoração de FQ incubadas a 37°C, seguida pela amostragem sequencial de alíquotas de cada tipo de expectoração para caracterização da estabilidade do composto/metabolismo por análise por HPLC como descrito acima. Tal como acima, a análise do desaparecimento do composto, das velocidades de formação de novos metabolitos e das mobilities em HPLC dos novos metabolitos foi então realizada.

EXEMPLOS

Tendo descrito de uma forma genérica esta invenção, uma melhor compreensão pode ser obtida por referência a certos exemplos específicos que são aqui providenciados para fins de ilustração.

Preparação de Bloqueadores de Canal de Sódio com Actividade Agonista Beta

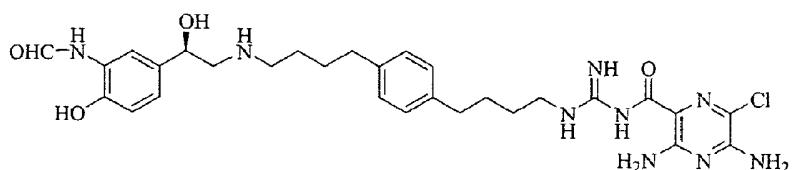
Materiais e métodos. Todos os reagentes e solventes foram adquiridos de Aldrich Chemical Corp. e utilizados sem mais purificação. Os espectros de RMN foram obtidos num Bruker WM 360 (¹H RMN a 360 MHz e ¹³C RMN a 90 MHz) ou num Bruker AC 300 (¹H RMN a 300 MHz e ¹³C RMN a 75 MHz). A cromatografia flash foi realizada num sistema Flash Elute[®] de Elution Solution (PO Box 5147, Charlottesville, Virgínia 22905) carregado com um cartucho de sílica gel de 90 g (40M FSO-0110-040155, 32-63 µm) a 20 psi (N₂). A análise por CG foi realizada num equipamento Shimadzu GC-17 equipado com uma Coluna Capilar Heliflex (Alltech); Fase: AT-1, Comprimento: 10 metros, DI: 0,53 mm, Filme: 0,25 micra. Parâmetros da CG: Injector a 320°C, Detector a 320°C, caudal de gás do FID: H₂ a 40 ml/min., Ar a 400 ml/min. Gás eluente: Razão de Split 16:1, caudal de N₂ a 15 ml/min., velocidade de N₂ a 18 cm/sec. O programa de temperatura é 70°C durante 0-3 min, 70-300°C de 3-10 min, 300°C de 10-15 min.

A análise por HPLC foi realizada com uma Bomba Gilson 322, detector UV/Vis-156 a 360 nm, equipado com uma coluna

Microsorb MV C8, 100 Å, 25 cm. Fase móvel: A = acetonitrilo com 0,1% de TFA, B = água com 0,1% de TFA. Programa de gradiente: 95:5 B:A durante 1 min, em seguida para 20:80 B:A durante 7 min, depois para 100% de A durante 1 min, seguido por lavagem com 100% de A durante 11 min, caudal: 1 ml/min.

Exemplo 1

Síntese de N-(5-{2-[4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)butilamino]-1-(R)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)formamida (12) (Esquema 1)



12

1-(4-Benziloxi-3-nitrofenil)etanona (2)

Uma mistura de 1-(4-hidroxi-3-nitrofenil)etanona (5,92 g, 32,70 mmol), iodeto de sódio (4,90 g, 32,70 mmol), carbonato de potássio (13,55 g, 98,00 mmol) e brometo de benzilo (5,04 mL, 42,50 mmol) em acetona (120 mL) foi agitada sob refluxo durante 66 h. Após remoção do solvente por evaporação rotativa, o resíduo resultante foi diluído com diclorometano e os inorgânicos insolúveis foram removidos por filtração. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia flash em coluna de sílica gel eluindo com diclorometano para dar o éter benzílico 2 como um sólido branco (8,24 g, 93%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,60 (s, 3H), 5,32 (s, 2H), 7,18 (d, 1H), 7,41 (m, 5H), 8,12 (dd, 1H), 8,44 (d, 1H).

1-(4-Benziloxi-3-nitrofenil)-2-bromoetanona (3)

Adicionou-se tribrometo de feniltrimetilamônio (1,46 g, 3,90 mmol) a uma solução de 1-(4-benziloxi-3-nitrofenil)etanona (2) (1,04 g, 3,82 mmol) em THF anidro (15 mL) em três porções. A mistura de reacção foi agitada à ta durante 12 h. Em seguida, adicionaram-se uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (5%, 10 mL) e uma solução aquosa de

tiosulfato de sódio (10%, 5 mL). A mistura foi extraída com diclorometano e os orgânicos combinados foram concentrados por evaporação rotativa. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage, eluindo com diclorometano para dar a bromocetona 3 como um sólido branco (1,08 g, 81% de rendimento): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 4,49 (s, 3H), 5,35 (s, 2H), 7,21 (d, 1H), 7,40 (m, 5H), 8,15 (dd, 1H), 8,49 (d, 1H).

1-(4-Benziloxi-3-nitrofenil)-2-bromo-1-(R)-etanol (4)

Uma solução de $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ em THF (1 M, 3,70 mL, 3,70 mmol) foi adicionada a uma solução de 1-(4-benziloxi-3-nitrofenil)-2-bromoetanona (3) (1,08 g, 3,08 mmol) e R-metil-CBS-oxazoborolidina (1 M em tolueno, 0,61 mL, 0,61 mmol) em THF anidro (15 mL). A mistura de reacção resultante foi agitada à ta durante 16 h. Adicionou-se lentamente metanol (5 mL) para neutralizar a reacção. Após remoção do solvente por evaporação rotativa, o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage eluindo com diclorometano para dar o bromo álcool 4 desejado como um óleo viscoso amarelo (0,72 g, 66%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,82 (d, 1H), 3,48 (dd, 1H), 3,59 (dd, 1H), 4,89 (m, 1H), 5,21 (s, 2H), 7,11 (d, 1H), 7,39 (m, 5H), 7,50 (dd, 1H), 7,87 (d, 1H).

N-[2-Benziloxi-5-(2-bromo-1-(R)-hidroxietil)fenil]formamida (5).

Um hidrogenador Parr foi carregado com PtO_2 e 1-(4-benziloxi-3-nitro-fenil)-2-bromo-1-(R)-etanol (4) (0,72 g, 2,04 mmol) dissolvido num solvente misto de THF (8 mL) e tolueno (8 mL). A mistura foi hidrogenada a 55 psi à ta durante 16 h. Em seguida, adicionou-se uma mistura de ácido fórmico (0,13 mL, 3,45 mmol) e anidrido acético (0,22 mL, 2,33 mmol) e a agitação foi continuada à ta durante 66 h. O catalisador foi filtrado através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage eluindo com acetato de etilo/diclorometano (gradiente 0% a 10%) para dar a formamida 5 desejada como um sólido branco (0,45 g, 63%): ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 2,95 (s, 1H), 3,52 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 4,85 (m, 1H), 5,08 (s,

2H), 6,96 (d, 1H), 7,13 (dd, 1H), 7,39 (m, 5H), 7,88 (largo, 1H), 8,37 (dd, 1H).

N-(2-Benziloxi-5-(R)-oxiranilfenil)formamida (6)

Adicionou-se carbonato de potássio (0,19 g, 1,37 mmol) a uma solução de N-[2-benziloxi-S-(2-bromo-1-(R)-hidroxietil)fenil]formamida (5) (0,37 g, 1,05 mmol) dissolvida num solvente misto de THF (3 mL) e metanol (5 mL). A mistura de reacção foi agitada à ta durante 3 h. Após remoção dos solventes por evaporação rotativa, o resíduo foi tomado em diclorometano e filtrado por sucção para remover os inorgânicos. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e ainda co-evaporado com tolueno e seco sob alto vácuo. O epóxido desejado 6 foi obtido como um sólido branco (0,21 g, 72%) e utilizado directamente para o passo seguinte sem purificação: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,78 (dd, 1H), 3,07 (dd, 1H), 3,79 (dd, 1H), 5,06 (s, 2H), 6,92 (d, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,38 (m, 5H), 7,90 (s, 1H), 8,36 (s, 1H).

Éster benzílico de ácido [4-(4-{4-[2-(4-benziloxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietilamino]-butil}fenil)butil]carbâmico (8)

Uma mistura de N-(2-benziloxi-5-(R)-oxiranilfenil)formamida (6) (0,21 g, 0,76 mmol) e éster benzílico de ácido {4-[4-(4-aminobutil)fenil]butil}carbâmico (7) (0,40 g, 1,14 mmol. Ver Esquema 8 para a sua síntese) em *iPrOH* (6 mL) foi agitada sob refluxo durante 16 h. O solvente foi então removido por evaporação rotativa e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage eluindo com metanol/diclorometano (gradiente, 0 a 7%), e em seguida por TLC preparativa eluindo com diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado (200:10:1, v/v). O aducto desejado 8 foi isolado como um sólido (0,14 g, 30%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,50 (m, 2H), 1,62 (m, 6H), 2,55 (m, 4H), 2,76 (m, 3H), 2,94 (dd, 1H), 3,18 (m, 2H), 3,96 (largo, 2H), 4,82 (m, 2H), 5,06 (m, 4H), 6,92 (d, 1H), 7,05 (m, 4H), 7,13 (dd, 1H), 7,34 (m, 5H), 7,39 (m, 5H), 7,86 (largo, 1H), 8,34 (dd, 1H); m/z (ESI) 624 [$\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_5 + \text{H}]^+$. Adicionalmente, obtiveram-se dois produtos secundários. O aducto isomérico 9 (78 mg, 16%): ^1H RMN (500

MHz, CDCl₃) δ 1,58 (m, 8H), 2,52 (m, 8H), 3,19 (m, 2H), 3,53 (dd, 1H), 3,69 (m, 2H), 4,78 (largo, 1H), 5,08 (m, 4H), 6,95 (d, 1H), 7,05 (m, 5H), 7,32 (m, 5H), 7,40 (m, 5H), 7,82 (largo, 1H), 8,35 (d, 1H); m/z (ESI) 624 [C₃₈H₄₅N₃O₅ + H]⁺, e o bis-aducto 10 (0,17 g, 24%): ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 1,55 (m, 8H), 2,60 (m, 10H), 3,16 (m, 2H), 4,62 (m, 2H), 4,82 (largo, 1H), 5,05 (m, 6H), 6,90 (m, 2H), 7,08 (m, 6H), 7,35 (m, 15H), 7,80 (m, 2H), 8,31 (m, 2H); m/z (ESI) 893 [C₅₄H₆₀N₄O₈ + H]⁺.

Sal de ácido N-[5-(2-{4-[4-(4-aminobutil)fenil]butilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamidadiacético (11)

Uma mistura de éster benzílico de ácido [4-(4-{2-(4-benziloxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietil-amino}butil)fenil]butilcarbâmico (8) (84 mg, 0,14 mmol), dihidróxido de paládio (28 mg, 10% Pd(OH)₂ sobre carbono, 50% húmido), três gotas de ácido acético, metanol (5 mL), e diclorometano (5 mL) foi agitada à ta durante 16 h sob pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi filtrado através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa e ainda seco sob alto vácuo para dar o sal de ácido aminadiacético desejado 11 como um sólido amarelo (69 mg, 99%): ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,68 (m, 8H), 1,93 (s, 6H), 2,63 (m, 4H), 2,91 (m, 2H), 3,08 (m, 4H), 4,83 (m, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,05 (d, 1H), 7,11 (s, 4H), 8,10 (s, 1H), 8,30 (s, 1H); m/z (ESI) 400 [C₂₃H₃₃N₃O₃ + H]⁺.

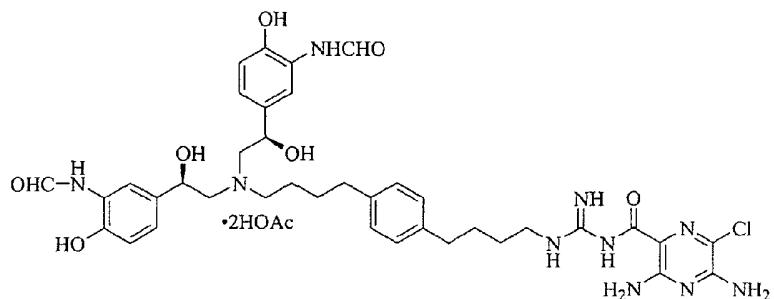
N-(5-{2-[4-(4-{4-(N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil)fenil]butilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamida (12)

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,13 mL, 0,72 mmol) a uma solução de sal de ácido N-[5-(2-{4-[4-(4-aminobutil)fenil]butilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamidadiacético (11) (65 mg, 0,13 mmol) e etanol absoluto (5 mL). A mistura foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 10 min, após o que se adicionou iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (53 mg, 0,14 mmol) em duas porções ao longo de 45 min. A mistura de reacção foi agitada a essa temperatura durante 3 h e arrefecida para a rt. O solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em

coluna de sílica gel Biotage (A = diclorometano, B = 10% hidróxido de amónio aquoso concentrado em metanol, gradiente B/A 1% a 15%), e ainda purificado por HPLC semi-preparativa eluindo com um gradiente de acetonitrilo e água, cada um contendo 0,05% de hidróxido de amónio concentrado, para dar N-(5-{2-[4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]butil}fenil)butilamino]-1-(R)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)formamida (12) como um sólido amarelo esverdeado (35 mg, 46%): ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1,50 (m, 8H), 2,51 (m, 4H), 3,15 (m, 6H), 4,42 (m, 1H), 5,00 (largo, 1H), 6,58 (largo, 2H), 6,72 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 7,08 (m, 4H), 8,00 (s, 1H), 8,25 (s, 1H); m/z (ESI) 612 [C₂₉H₃₈ClN₉O₄ +H]⁺; $[\alpha]_D^{25}$ -3,3° (c 0,15, MeOH); pf 138-140 °C.

Exemplo 2

Síntese de sal de ácido N-{4-[4-(4-{bis-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-formilaminofenil)-etil]amino}butil)fenil]butil}-N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidinadiacético (14) (Esquema 2)



14

Sal de ácido {4-[4-(4-{Bis-[2-(4-hidroxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietil]amino}-butil)fenil]butil}aminadiacético (13).

Uma mistura de éster benzílico de ácido {4-[4-(4-{bis-[2-(4-benziloxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietil]-amino}butil)fenil]butil}carbâmico (10) (0,17 g, 0,19 mmol), dihidróxido de paládio (50 mg, 10% Pd(OH)₂ sobre carbono, 50% húmido), oito gotas de ácido acético, metanol (10 mL), e diclorometano (5 mL) foi agitada à ta durante 18 h sob pressão atmosférica de hidrogénio. O catalisador foi filtrado através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa e ainda seco sob alto

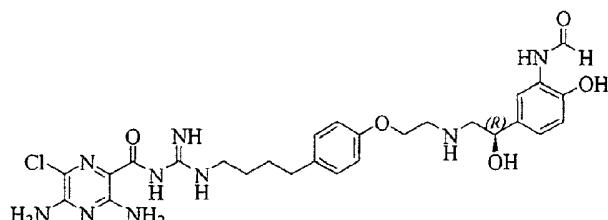
vácuo para dar o sal de ácido aminadiacético desejado 13 como um sólido branco (0,10 mg, 98%): m/z (ESI) 579 [$C_{32}H_{42}N_4O_6 + H$]⁺.

Sal de ácido N -{4-[4-(4-{Bis-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-formilaminofenil)etil]amino}butil)fenil]butil}- N' -(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidinadiacético (14)

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,16 mL, 0,92 mmol) a uma solução de sal de ácido {4-[4-(4-{bis-[2-(4-hidroxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietil]amino}butil)fenil]butil}-aminadiacético (13) (129 mg, 0,19 mmol) em etanol absoluto (4 mL). A mistura foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 10 min, após o que se adicionou iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (79 mg, 0,20 mmol) numa porção. A mistura de reacção foi agitada a essa temperatura durante 3 h e arrefecida para a ta. O solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage (A = diclorometano, B = 10% hidróxido de amónio aquoso concentrado em metanol, gradiente B/A 1% a 25%) para dar o aducto desejado 14 como um sólido amarelo esverdeado (44 mg, 26%): 1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 1,50 (m, 8H), 1,98 (s, 6H), 2,58 (m, 4H), 3,20 (m, 8H), 4,45 (m, 2H), 6,60 (largo, 2H), 6,80 (m, 4H), 7,08 (m, 4H), 8,00 (s, 2H), 8,28 (s, 2H), 9,56 (largo, 2H); m/z (ESI) 791 [$C_{38}H_{47}ClN_{10}O_7 + H$]⁺; $[\alpha]_D^{25}$ -4,0° (c 0,35, MeOH); pf 128-130 °C.

Exemplo 3

Síntese de N -(5-{2-[2-(4-{4-[N' -(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina]butil}fenoxi)etilamino]-1-(R)-hidroxiletil}-2-hidroxifenil)formamida (19) (Esquema 3)



Éster benzílico de ácido {4-[4-(2-benzilaminoetoxi)-fenil]butil}carbâmico (16)

Adicionou-se benzaldeído (0,74 ml, 7,31 mmol) a uma solução de éster benzílico de ácido 4-[4-(2-aminoetoxi)fenil]butilcarbâmico (15) (5,00 g (~50% de pureza por RMN), 7,30 mmol) dissolvido em dicloroetano anidro (50 mL). A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 7 h. Adicionou-se triacetoxiborohidreto de sódio (4,10 g, 19,35 mmol) lentamente e a redução continuou durante 60 h. A reacção foi neutralizada com bicarbonato de sódio aquoso (50 mL) e em seguida extraída com acetato de etilo (3 X 25 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados sequencialmente com água e salmoura e secos sobre sulfato de sódio anidro. Separou-se um sólido branco por precipitação durante a secagem e recolheu-se por meio da sua dissolução em diclorometano e separação por filtração do sulfato de sódio sólido. O filtrado foi concentrado e seco sob vácuo para dar 16 (1,35 g, 43%) como um sólido branco: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,45-1,62 (m, 4H), 2,54 (t, 2H), 3,07-3,22 (m, 4H), 3,88 (s, 2H), 4,10 (t, 2H), 4,73 (largo, 1H), 5,09 (s, 2H), 6,79 (d, 2H), 7,04 (d, 2H), 7,28-7,39 (m, 10H); m/z (ESI) 433 [$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}]^+$.

Éster benzílico de ácido {4-[4-(2-{benzil-[2-(4-benziloxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietil]amino}-etoxi)fenil]butil}carbâmico (17)

Adicionou-se benzilamina 16 (619 mg, 1,43 mmol) a uma suspensão de bromoálcool 5 (500 mg, 1,43 mmol) e K_2CO_3 (495 mg, 3,58 mmol) em metanol (10 mL) e tetrahidrofurano (5 mL). A suspensão foi agitada à temperatura ambiente durante 15 h, depois aquecida para 55°C durante 75 h. O sólido foi filtrado em vácuo e o filtrado foi concentrado sob vácuo. O óleo resultante foi sujeito a cromatografia em coluna eluindo com 5-50% de acetato de etilo em hexanos para dar o produto desejado 17 (508 mg, 51%) como um sólido esbranquiçado: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,45-1,62 (m, 4H), 2,54 (t, 2H), 2,65-2,71 (m, 1H), 3,14-3,23 (m, 3H), 3,58-3,74 (m, 1H), 3,88-4,09 (m, 3H), 4,71 (largo, 2H), 5,04-5,21 (m, 4H), 6,79-7,25 (m, 6H), 7,34-7,52 (m, 16H), 7,65-7,87 (m, 1H), 8,32-8,49 (m, 1H); m/z (ESI) 702 [$\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}]^+$.

N-[5-(2-{2-[4-(4-Aminobutil)fenoxi]etilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamida (18)

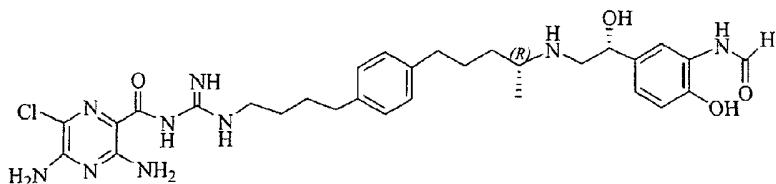
Dissolveu-se α -aminoálcool 17 (500 mg, 0,71 mmol) em etanol (20 mL). Segundo o procedimento de hidrogenação padrão, adicionou-se dihidróxido de paládio (20% sobre carbono, 50% de humidade). A mistura de reacção foi agitada durante 15 h à temperatura ambiente sob pressão de H₂ atmosférica. O catalisador foi removido por filtração através de terra de diatomáceas e o filtrado foi concentrado a um sólido amarelo. A purificação do sólido bruto por cromatografia em coluna eluindo com 10-30% de (hidróxido de amónio concentrado a 20% em metanol) em diclorometano deu 18 (146 mg, 53%) como um sólido amarelo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,29-1,72 (m, 5H), 1,93 (s, 3H), 2,58 (t, 2H), 2,71-2,90 (m, 4H), 2,99 (t, 2H), 4,05 (t, 2H), 4,66-4,72 (m, 1H), 6,78-6,85 (m, 3H), 6,97-7,16 (m, 3H), 7,82-8,04 (m, 1H), 8,29 (s, 1H).

N-(5-{2-[2-(4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidina]butil}fenoxi]etilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamida (19)

Diisopropiletamina (0,10 mL, 0,57 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (146 mg, 0,38 mmol) foram adicionados sequencialmente a uma solução de amina 18 (146 mg, 0,38 mmol) em etanol (5 mL). A mistura de reacção foi aquecida a 75°C durante 5 h, tempo após o qual foi arrefecida e concentrada sob vácuo. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com 1-30% de (hidróxido de amónio concentrado/metanol 20:80) em diclorometano originando o produto desejado 19 (100 mg, 44%) como um sólido amarelo: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,46-1,64 (m, 4H), 2,51-2,58 (m, 2H), 2,66 (t, 2H), 2,90 (t, 2H), 3,16 (largo, 2H), 3,91-4,11 (m, 4H), 4,51 (t, 1H), 5,18 (largo, 1H), 6,75-6,99 (m, 7H), 7,05-7,09 (m, 2H), 8,02-8,06 (m, 1H), 8,19 (largo, 1H), 9,53 (largo, 1H); pf 120-124 °C (dec); m/z (ESI) 600 [C₂₇H₃₄ClN₉O₅ + H]⁺; [α]²⁵ p-7,5° (c 0,35, CH₃OH).

Exemplo 4

Síntese de *N*-(5-{2-[4-(4-{4-(*N,N*-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-1-metilbutilamino]-1-(*R*)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)formamida (30) (Esquema 4)



30

2-(1-Metilbut-3-inil)isoindole-1,3-diona (22)

Uma solução composta por ftalimida 21 (13,12 g, 89,16 mmol), PPh₃ (23,38 g, 89,16 mmol) e THF (anidro, 250 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 1h. À solução adicionou-se 4-hidroxipentino 20 (5,00 g, 59,44 mmol) numa porção, seguido por uma solução de DIAD (17,27 mL, 89,16 mmol) dissolvido em THF (anidro, 50 mL), que foi adicionada gota a gota ao longo de 2 h. Após a adição de DIAD a temperatura foi elevada para 60°C e a mistura de reacção foi ainda agitada a essa temperatura durante a noite. A mistura foi arrefecida para a temperatura ambiente e concentrada sob vácuo. Ao resíduo adicionou-se diclorometano (100 mL). O precipitado formado foi filtrado em vácuo e lavado com diclorometano. O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados sob vácuo. O resíduo foi submetido a cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de acetato de etilo e hexanos (0-75%, v/v) para dar o produto desejado 22 (4,47 g, 35%) como um sólido esbranquiçado: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,54 (d, 3H), 1,92 (s, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,96 (m, 1H), 4,59 (m, 1H), 7,72 (dd, 2H), 7,85 (dd, 3,0 Hz, 1H); m/z (ESI) 214 [C₁₃H₁₁NO₂ + H]⁺.

Éster benzílico de ácido (4-[4-[4-(1,3-dioxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)pent-1-inil]fenil]but-3-inil)carbâmico (24)

Um balão de fundo redondo de 100 mL contendo uma mistura de éster benzílico de ácido [4-(4-iodofenil)but-3-inil]carbâmico 23 (2,33 g, 5,75 mmol), CuI (0,22 g, 1,15

mmol), Et₃N (10 mL) e THF (amidro, 15 mL) foi colocado sob vácuo e repreenchido com azoto. O procedimento foi repetido mais três vezes. À suspensão, adicionou-se Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,40 g, 0,58 mmol) numa porção, seguida por uma solução de composto 22 (1,35 g, 6,32 mmol) dissolvida em THF (anidro, 10 mL), que foi adicionada gota a gota ao longo de 2 h. A agitação foi prosseguida durante a noite. A mistura de reacção foi concentrada sob vácuo. O resíduo foi submetido a cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-25%) e hexanos para dar o produto desejado 24 (2,60 g, 92%) como um sólido amarelado, ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 1,71 (d, 3H), 2,61 (t, 2H), 2,92 (m, 1H), 3,14 (m, 1H), 3,43 (t, 2H), 4,67 (m, 1H), 5,07 (larco, 1H), 5,11 (s, 2H), 7,12-7,33 (m, 9H), 7,71 (dd, 2H), 7,92 (dd, 1H); m/z (ESI) 491 [C₃₁H₂₆N₂O₄ + H]⁺.

Éster benzílico de ácido (4-{4-[4-(1,3-Dioxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)pentil]fenil}butil)carbâmico (25)

Uma solução contendo o composto 24 (2,53 g, 5,15 mmol) dissolvido em THF (100 mL) foi colocada sob vácuo e repreenchida com azoto. O procedimento foi repetido cinco vezes. À solução adicionou-se catalisador de paládio (0,5 g, 10% de Pd sobre carbono, 50% de humidade). O balão foi então pressurizado com hidrogénio gasoso para 45 psi. A mistura foi então agitada durante a noite à temperatura ambiente. O catalisador foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol (3 x 20 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados sob vácuo. O resíduo foi tomado em diclorometano (25 mL). À solução formada de novo adicionou-se Et₃N (2,32 mL, 15,45 mmol). A solução foi então arrefecida para 0°C num banho de gelo. Adicionou-se CbzCl (1,32 g, 7,730 mmol) gota a gota ao longo de 10 min à solução, a qual após a adição de CbzCl, foi deixada aquecer lentamente para a temperatura ambiente ao longo de 3 h e agitada continuamente durante a noite. A reacção foi neutralizada com água (30 mL). Separaram-se duas camadas. A camada orgânica foi lavada com salmoura (3 x 30 mL), seca sobre Na₂SO₄ anidro e concentrada. O resíduo resultante foi submetido a cromatografia em coluna eluindo com 0-30% de acetato de etilo em hexanos para dar o produto desejado 25 (0,90 g, 35%) como um óleo viscoso incolor: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,45 (d, 3H), 1,45-1,66

(m, 6H), 1,72-1,86 (m, 2H), 2,06-2,16 (m, 2H), 2,55 (m, 4H), 3,20 (m, 2H), 4,38 (m, 1H), 4,80 (largo, 1H), 5,08 (s, 2H), 7,04 (s, 4H), 7,34 (m, 5H), 7,69 (dd, 2H), 7,81 (dd, 1H); m/z (ESI) 499 [$C_{31}H_{34}N_2O_4 + H$]⁺.

Éster benzílico de ácido {4-[4-(4-aminopentil)fenil]-butil}carbâmico (26)

Uma solução contendo o composto 25 (0,90 g, 1,81 mmol), hidrazina (0,26 mL, 5,42 mmol) e etanol (10 mL) foi aquecida a 75°C durante 3 h e em seguida arrefecida para a temperatura ambiente. O precipitado branco foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol (3 x 5 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados. O resíduo foi submetido a cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de metanol (0-15%), hidróxido de amónio concentrado (0-1,5%) e diclorometano para dar o produto desejado 26 (0,59 g, 88%) como um sólido ceroso branco: ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,08 (d, 3H), 1,36-1,80 (m, 8H), 2,55 (m, 4H), 2,88 (m, 1H), 3,10 (t, 2H), 5,08 (s, 2H), 7,08 (s, 4H), 7,34 (m, 5H); m/z (ESI) 369 [$C_{23}H_{32}N_2O_2 + H$]⁺.

Éster benzílico de ácido [4-(4-{4-[2-(4-benziloxi-3-formilaminofenil)-2-(R)-hidroxietilamino]pentil}-fenil)-butil]carbâmico (27)

Uma suspensão composta pelo composto 26 (0,59 g, 1,60 mmol), composto 5 (0,42 g, 1,19 mmol), K₂CO₃ (0,23 g, 1,68 mmol) e clorofórmio (25 mL) foi aquecida a refluxo durante 72 h, e em seguida arrefecida para a temperatura ambiente. O sólido foi filtrado em vácuo e lavado com clorofórmio (3 x 10 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados. O resíduo foi sujeito a cromatografia em coluna eluindo com 0-10% de metanol em diclorometano. O material de partida não reagido 26 (0,39 g, 66% de recuperação) foi recuperado na separação. Foi obtida uma mistura de dois diastereómeros dos produtos desejados 27, que não eram separáveis neste passo (0,29 g, 28%), na forma de um óleo viscoso incolor: ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 1,08 (d, 3H), 1,37 (m, 2H), 1,48-1,68 (m, 6H), 2,55 (m, 4H), 2,74 (largo, 2H), 2,92 (m, 1H), 3,18 (m, 2H), 3,58 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 4,70 (m, 1H), 4,80 (largo, 1H), 5,08 (m, 4H), 6,92 (m, 1H), 7,08

(m, 5H), 7,22 (t, 1H), 7,34 (m, 10H), 7,92 (s, 1H), 8,31 (s, 1H); *m/z* (ESI) 638 [C₃₉H₄₇N₃O₅ + H]⁺.

N-[5-(2-{4-[4-(4-Aminobutil)fenil]-1-metilbutilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamida (28)

Uma mistura dos compostos 27 (0,29 g, 0,45 mmol), catalisador de paládio (0,2 g, 10% de Pd sobre carbono, 50% húmido), etanol (10 mL) e metanol (5 mL) sofreu hidrogenação à temperatura ambiente durante 4 h sob uma pressão de hidrogénio. O catalisador foi filtrado em vácuo e lavado com etanol (3 x 5 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados. O resíduo foi sujeito a cromatografia em coluna, eluindo com uma mistura de metanol (0-22%), hidróxido de amónio concentrado (0-2,2%) e diclorometano (100-75,6%), para dar o produto desejado 28 (0,10 g, 54%) como um sólido vítreo incolor: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,08 (d, 3H), 1,32 (m, 2H), 1,48-1,78 (m, 6H), 2,59 (m, 4H), 2,78 (m, 5H), 3,44 (m, 2H), 4,75 (m, 1H), 6,82 (m, 1H), 7,00 (m, 1H), 7,08 (m, 5H), 8,06 (s, 1H), 8,31 (s, 1H); *m/z* (ESI) 414 [C₃₁H₄₁N₃O₃ + H]⁺. O diastereoisómero 29 (13 mg, 7%) foi também isolado como um sólido amarelo claro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,26 (d, 3H), 1,48-1,90 (m, 8H), 2,50 (m, 4H), 2,82-3,08 (m, 3H), 3,50 (m, 2H), 4,60 (m, 1H), 6,82-6,82 (m, 2H), 7,10 (m, 5H), 8,00 (s, 1H), 8,28 (s, 1H); *m/z* (ESI) 414 [C₃₁H₄₁N₃O₃ + H]⁺.

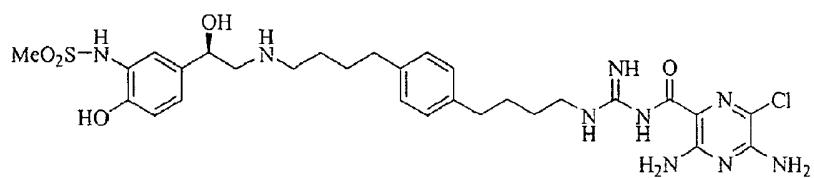
N-(5-{2-[4-(4-{4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-1-metilbutilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]formamida (30)

Uma solução composta pelo composto 28 (0,10 g, 0,25 mmol), base de Hunig (0,21 mL, 1,23 mmol) e etanol (5 mL) foi aquecida a 70°C durante 30 min antes da adição de iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboni)-2-metil-isotioureia (0,11 g, 0,27 mmol). A solução resultante foi agitada continuamente àquela temperatura durante um período adicional de 3 h antes de ser arrefecida para a temperatura ambiente. O solvente foi removido por evaporação. O resíduo resultante foi sujeito a cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de metanol (0-28%), hidróxido de amónio concentrado (0-2,8%) e diclorometano (100-69,2%) para dar 30 (87 mg, 56%) como um sólido amarelo: p.f. 120-121°C

(decomposição); $[\alpha]_D^{25} = -6,65^\circ$ (*c* 0,20, metanol); ^1H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,08 (d, 3H), 1,32 (m, 2H), 1,48–1,72 (m, 6H), 2,55 (m, 4H), 2,64–2,92 (m, 3H), 3,16 (m, 2H), 4,56 (m, 1H), 6,76 (m, 1H), 6,82 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 7,10 (m, 4H), 8,07 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 9,30 (s, 1H), 9,59 (s 1H); *m/z* (ESI) 626 [C₃₀H₄₀ClN₉O₄ + H]⁺.

Exemplo 5

Síntese de *N*-(5-{2-[4-(4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)butilamino]-1-(*R*)-hidroxi-etyl}-2-hidroxifenil)metanossulfonamida (40) (Esquema 5)



40

$$N-(5\text{-Acetil}-2\text{-benziloxifenil})-N\text{-benzilmetanossulfonamida \quad (32)}$$

Uma mistura de N-(5-acetil-2-hidroxifenil)-metanossulfonamida (31) (0,30 g, 1,32 mmol), iodeto de sódio (0,20 g, 1,32 mmol), carbonato de potássio (0,91 g, 6,58 mmol), e brometo de benzílico (0,39 mL, 3,28 mmol) em acetona (10 mL) foi agitada sob refluxo durante 66 h. Após remoção do solvente por evaporação rotativa, o resíduo resultante foi diluído com diclorometano e os inorgânicos insolúveis foram filtrados sob vácuo. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia flash em coluna de sílica gel eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-3%) em diclorometano para dar o éter benzílico 32 como um sólido amarelo (0,54 g, 99%): ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 2,38 (s, 3H), 2,85 (s, 3H), 4,75 (larco, 2H), 5,18 (s, 2H), 7,05 (d, 1H), 7,23 (m, 5H), 7,42 (m, 5H), 7,62 (d, 1H), 7,89 (dd, 1H); m/z (ESI) 410 [$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{S} + \text{H}^+$].

N-Benzil-*N*-[2-benziloxi-5-(2-bromoacetyl)fenil]-metanossulfonamida (33)

Adicionou-se tribrometo de feniltrimetilamônio ($1,19\text{ g}$, $3,16\text{ mmol}$) a uma solução de N -(5-acetil-2-benziloxifenil)- N -

benzilmetanossulfonamida (32) (1,23 g, 3,01 mmol) em THF anidro (15 mL) em três porções. A mistura de reacção foi agitada à ta durante 16 h. Adicionou-se então uma solução aquosa de bicarbonato de sódio (5%, 15 mL). A mistura foi extraída com diclorometano e os orgânicos combinados foram concentrados por evaporação rotativa. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage eluindo com diclorometano para dar a bromocetona 33 como um sólido (1,25 g, 85% de rendimento): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,85 (s, 3H), 4,21 (s, 2H), 4,75 (larco, 2H), 5,19 (s, 2H), 7,08 (d, 1H), 7,22 (m, 5H), 7,43 (m, 5H), 7,65 (d, 1H), 7,92 (dd, 1H).

N-Benzil-N-[2-benziloxi-5-(2-bromo-1-(R)-hidroxietil)fenil]-metanossulfonamida (34)

Uma solução de $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ em THF (1 M, 2,80 mL, 2,80 mmol) foi adicionada a uma mistura de *N*-benzil-*N*-[2-benziloxi-5-(2-bromoacetil)fenil]metanossulfonamida (33) (1,09 g, 2,23 mmol) e R-metil-CBS-oxazoborolidina (1 M em tolueno, 0,45 mL, 0,45 mmol) em THF anidro (10 mL). A mistura de reacção foi agitada a 0°C durante 15 min e em seguida à ta durante 16 h. Adicionou-se lentamente metanol (5 mL) para neutralizar a reacção. Após remoção do solvente por evaporação rotativa, o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-3%) em diclorometano para dar o bromoálcool desejado 34 como um sólido branco (0,92 g, 84%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,60 (s, 1H), 2,85 (s, 3H), 3,30 (m, 1H), 3,38 (m, 1H), 4,70 (m, 3H), 5,11 (s, 2H), 7,00 (m, 2H), 7,21 (m, 5H), 7,28 (d, 1H), 7,42 (m, 5H).

N-Benzil-N-(2-benziloxi-5-(R)-oxiranilfenil)-metanossulfonamida (35)

Adicionou-se carbonato de potássio (0,52 g, 3,76 mmol) a uma solução de *N*-benzil-*N*-[2-benziloxi-5-(2-bromo-1-hidroxietil)fenil]metanossulfonamida (34) (0,92 g, 1,88 mmol) dissolvida num solvente misto de THF (8 mL) e metanol (10 mL). A mistura de reacção foi agitada à ta durante 20 h. Após remoção dos solventes por evaporação rotativa, o resíduo foi tomado em diclorometano e filtrado por succão para remover os

inorgânicos. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e ainda coevaporado com tolueno e seco sob alto vácuo. O epóxido desejado 35 foi obtido como um sólido branco (0,69 g, 90%) e utilizado directamente para o passo seguinte sem purificação: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,60 (m, 1H), 2,84 (s, 3H), 3,02 (dd, 1H), 3,66 (dd, 1H), 4,75 (largo, 2H), 5,10 (s, 2H), 6,97 (d, 1H), 7,01 (d, 1H), 7,12 (dd, 1H), 7,22 (m, 5H), 7,41 (m, 5H).

Éster benzílico de ácido {4-[4-(4-{2-[3-(benzilmetano-sulfonilamino)-4-benziloxifenil]-2-(R)-hidroxietilamino}-butil)fenil]butil}carbâmico (36)

Uma mistura de *N*-benzil-*N*-(2-benziloxi-5-(R)-oxiranilfenil)metanossulfonamida (35) (0,69 g, 1,70 mmol) e éster benzílico de ácido {4-[4-(4-aminobutil)fenil]butil}carbâmico (7) (0,77 g, 2,16 mmol) em etanol (4 mL) foi agitada sob refluxo durante 24 h. O solvente foi removido por evaporação rotativa e o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage eluindo com uma mistura de metanol (0-8%) em diclorometano, e em seguida por TLC preparativa eluindo com uma mistura de metanol (4%) em diclorometano. O aducto desejado 36 foi isolado como um sólido (0,41 g, 32%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,50 (m, 4H), 1,61 (m, 4H), 2,57 (m, 8H), 2,75 (largo, 1H), 2,83 (s, 3H), 3,19 (m, 2H), 4,51 (dd, 1H), 4,77 (largo, 3H), 5,07 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,96 (d, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,06 (m, 4H), 7,19 (m, 5H), 7,27 (dd, 1H), 7,33 (m, 5H), 7,41 (m, 5H); m/z (ESI) 764 [$\text{C}_{45}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_6\text{S} + \text{H}]^+$. Adicionalmente, obtiveram-se dois produtos secundários. O aducto isomérico 37 (0,23 g, 18%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,40 (m, 2H), 1,58 (m, 6H), 2,15 (largo, 2H), 2,29 (m, 2H), 2,52 (m, 2H), 2,58 (t, 2H), 2,86 (s, 3H), 3,19 (m, 2H), 3,32 (dd, 1H), 3,50 (m, 2H), 4,76 (largo, 2H), 5,08 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 6,88 (d, 1H), 6,96 (d, 1H); 7,06 (m, 4H), 7,16 (m, 6H), 7,33 (m, 5H), 7,43 (m, 5H); m/z (ESI) 764 [$\text{C}_{45}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_6\text{S} + \text{H}]^+$. E o bis-aducto 38 (0,45 g, 23%): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,55 (m, 8H), 2,38 (m, 2H), 2,58 (m, 4H), 2,84 (s, 6H), 3,18 (m, 2H), 4,46 (m, 2H), 4,78 (largo, 4H), 5,10 (m, 6H), 6,96 (m, 4H), 7,08 (m, 4H), 7,20 (m, 12H), 7,33 (m, 5H), 7,42 (m, 10H); m/z (ESI) 1173 [$\text{C}_{68}\text{H}_{76}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{S}_2 + \text{H}]^+$.

Sal de ácido *N*-[5-(2-{4-[4-(4-aminobutil)fenil]butilamino}-1-(*R*)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamidaciacético (39)

Uma mistura de éster benzílico de ácido {4-[4-{2-[3-(benzilmetanossulfonilamino)-4-benziloxifenil]-2-(*R*)-hidroxietilamino}butil}fenil]butil}carbâmico (36) (0,41 g, 0,54 mmol), dihidróxido de paládio (0,12 g, 10% Pd(OH)₂ sobre carbono, 50% húmido), dez gotas de ácido acético, metanol (9 mL), e diclorometano (6 mL) foi agitada à ta durante 16 h sob pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi removido por filtração através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa e ainda seco sob alto vácuo para dar o sal de ácido aminaciacético desejado 39 como um sólido branco (0,30 g, 96%): *m/z* (ESI) 450 [C₂₃H₃₅N₃O₄S + H]⁺.

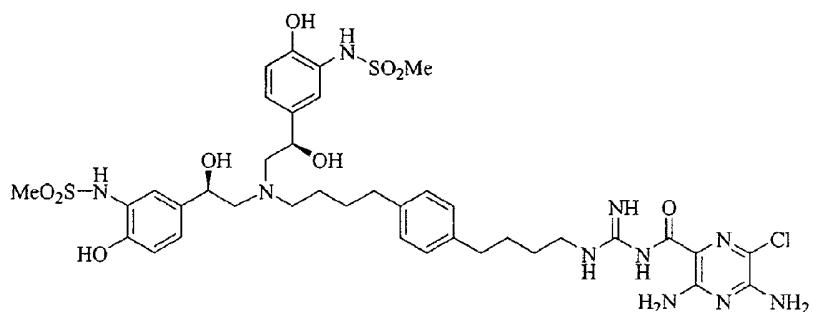
***N*-(5-{2-[4-{4-[4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil]butilamino}-1-(*R*)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamida (40)**

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,54 mL, 3,11 mmol) a uma solução de sal de ácido *N*-[5-(2-{4-[4-(4-aminobutil)-fenil]butilamino}-1-(*R*)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]-metanossulfonamidaciacético (39) (0,30 g, 0,52 mmol) em etanol absoluto (8 mL). A mistura foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 10 min, após o que foi adicionado iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,21 g, 0,54 mmol) numa porção. A mistura de reacção foi agitada àquela temperatura durante 3 h e arrefecida para a ta. O solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage (A = diclorometano, B = 10% de hidróxido de amónio aquoso concentrado em metanol, gradiente B/A 0% a 15%), e ainda purificado por HPLC semi-preparativa eluindo com um gradiente de acetonitrilo e água, cada contendo 0,01% de hidróxido de amónio concentrado, para dar *N*-(5-{2-[4-{4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]butil}fenil]butilamino}-1-(*R*)-hidroxietil)-2-hidroxifenil)metanossulfonamida (40) como um sólido amarelo esverdeado (0,17 g, 48%): ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,60 (m, 8H), 2,60 (m, 6H), 2,72 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,88 (s, 3H), 3,23 (m, 2H), 4,65 (m, 1H), 6,80 (d, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,06

(m, 4H), 7,30 (s, 1H); m/z (ESI) 662 [$C_{29}H_{40}ClN_9O_5S + H]^+$; $[\alpha]D^{25} -7,5^\circ$ (c 0,60, MeOH); pf 108–110°C.

Exemplo 6

Síntese de N -[5-(2-{[4-[4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil]butil}-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metanossulfonil-aminofenil)etil]-amino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamida (42) (Esquema 6)



42

Sal de ácido N -[5-(2-{[4-(4-aminobutil)fenil]butil}-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metanossulfonilaminofenil)-etil]amino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]-metanossulfonamidacético (41)

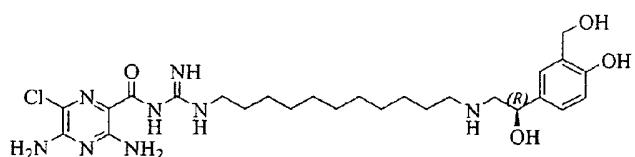
Uma mistura de éster benzílico de ácido (4-{4-[4-(bis-{2-[3-(benzilmetanossulfonilamino)-4-benziloxifenil]-2-(R)-hidroxietil}amino)butil}fenil]butil)carbâmico (38) (0,45 g, 0,383 mmol), dihidróxido de paládio (0,12 g, 10% de $Pd(OH)_2$ sobre carbono, 50% húmido), dez gotas de ácido acético, metanol (12 mL) e diclorometano (6 mL), foi agitada à temperatura durante 18 h sob pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi removido por filtração em vácuo através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa e ainda seco sob alto vácuo para dar o sal de ácido aminadiacético desejado 41 como um sólido branco (0,30 g, 98%): m/z (ESI) 679 [$C_{32}H_{42}N_4O_6 + H]^+$.

N-[5-(2-{{4-[4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil}butil]-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metanossulfonilaminofenil)etil]amino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamida (42)

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,33 mL, 1,89 mmol) a uma solução de sal de ácido N-[5-(2-{{4-[4-(4-aminobutil)fenil]butil}-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metanossulfonilaminofenil)etil]amino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamidacético (41) (0,30 g, 0,375 mmol) em etanol absoluto (5 mL). A mistura foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 15 min, após o que se adicionou iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,16 g, 0,41 mmol) numa porção. A mistura de reacção foi agitada àquela temperatura durante 3 h e arrefecida para a ta. O solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel Biotage (A = diclorometano, B = 10% de hidróxido de amónio aquoso concentrado em metanol, gradiente B/A 0% a 25%), e ainda purificado por HPLC preparativa eluindo com um gradiente de acetonitrilo e água, cada contendo 0,01% de hidróxido de amónio concentrado, para dar o aducto desejado 42 como um sólido amarelo esverdeado (78 mg, 23%): ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1,50 (m, 8H), 2,58 (m, 4H), 2,88 (s, 6H), 3,20 (m, 8H), 4,48 (m, 2H), 6,60 (largo, 2H), 6,78 (d, 2H), 6,90 (d, 2H), 7,10 (s, 4H), 7,18 (s, 2H); m/z (ESI) 891 [C₃₈H₅₁ClN₁₀O₉S₂ + H]⁺; $[\alpha]_D^{25}$ -23,0° (c 0,40, MeOH); pf 148-150°C.

Exemplo 7

Síntese de N-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-(11-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-hidroximetilfenil)etilamino]-undecil)guanidina (55) (Esquema 7)



55

Éster metílico de 5-acetyl-2-benziloxibenzóico (44)

Adicionou-se cloreto de (3,85 mL, 33,45 mmol) lentamente a uma solução a 60°C de salicilato 43 (5,00 g, 25,75 mmol), iodeto de sódio (386 mg, 2,57 mmol) e bicarbonato de sódio (2,50 g, 29,75 mmol) em acetonitrilo (50 mL). A reacção foi aquecida em refluxo durante 16 h. O solvente foi removido sob vácuo. O resíduo foi tomado em acetato de etilo (50 mL) e lavado sequencialmente com HCl 0,5 N (25 mL), água (25 mL), cloreto de amónio a 5% (25 mL) e depois salmoura (25 mL). A porção orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada a um óleo. A filtração em vácuo do precipitado que ocorreu por adição de éter dietílico e hexanos deu o éster 44 (3,98 g, 55%) como um sólido esbranquiçado: ^1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 2,55 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 5,33 (s, 2H), 7,31–7,51 (m, 6H), 8,17–8,31 (m, 2H).

Éster metílico de ácido 2-benziloxi-5-(2-bromoacetil)benzóico (45)

Adicionou-se tribrometo de feniltrimetilamónio (10,60 g, 28,20 mmol) em 7 porções a uma solução agitada de acetofenona 44 (8,00 g, 28,10 mmol) em tetrahidrofurano anidro (50 mL). Após 18 h, a mistura de reacção foi vertida em água (250 mL) e agitada durante 1 h. O precipitado formado foi recolhido por filtração em vácuo. A recristalização do sólido recolhido a partir de etanol deu o α-brometo 45 (7,35 g, 72%) como um sólido na forma de agulhas brancas: ^1H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 3,85 (s, 3H), 4,89 (s, 1H), 5,38 (s, 2H), 7,22 (d, 1H), 7,31–7,51 (m, 6H), 8,17–8,31 (m, 2H).

Éster metílico de ácido 2-benziloxi-5-(2-bromo-1-(R)-hidroxietil)benzóico (46)

Adicionou-se (R)-2-metil-CBS-oxazoborolidina (1,38 mL de uma solução 1,0 M em tolueno) a uma solução de α-bromocetona 45 (5,00 g, 13,80 mmol) em tetrahidrofurano (80 mL). Após agitação durante 15 min, adicionou-se gota a gota complexo de borano e tetrahidrofurano (8,5 mL de uma solução 1 M em tetrahidrofurano) ao longo de um período de 15 min. Após agitação à temperatura ambiente durante 1,5 h, a reacção foi neutralizada pela adição lenta de metanol (8,5 mL). O solvente foi removido sob vácuo. O resíduo foi tomado num

solvente misto de hexanos e acetato de etilo (2:1). O sólido foi filtrado em vácuo através de uma almofada de sílica gel. A concentração do filtrado e secagem sob vácuo deu 46 (4,86 g, 97%) como um sólido branco: ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 3,32-3,58 (m, 1H), 3,64-3,68 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,78-4,80 (m, 1H), 5,21 (s, 2H), 5,83 (d, 1H), 7,22 (d, 1H), 7,31-7,33 (m, 1H), 7,38-7,49 (m, 5H), 7,61 (s, 1H).

Éster metílico de ácido 2-benziloxi-5-(R)-oxiranilbenzóico (47)

Agitou-se hidreto de sódio (531 mg de 60% em óleo mineral, 13,30 mmol) em hexanos sob uma atmosfera de azoto. Os hexanos foram decantados para remover o óleo mineral. O procedimento foi repetido duas vezes. O hidreto de sódio foi então suspenso em tetrahidrofurano anidro (40 mL) e arrefecido para -20°C. Uma solução de bromohidrina 46 (4,85 g, 13,28 mmol) em tetrahidrofurano anidro (40 mL) foi adicionada gota a gota à suspensão de hidreto de sódio. Após 3 h de agitação, a reacção foi neutralizada com a adição lenta de água (5 mL), mais diluída com água (15 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 25 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água (25 mL) e salmoura (25 mL), secos sobre sulfato de sódio anidro e concentrados a um óleo amarelo. Após secagem sob vácuo, o epóxido 47 (3,68 g, 97%) foi obtido como um óleo amarelo: ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 2,85-2,88 (m, 1H), 3,08-3,10 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,93-3,95 (m, 1H), 5,21 (s, 2H), 7,22 (d, 1H), 7,31-7,33 (m, 1H), 7,38-7,49 (m, 5H), 7,61 (s, 1H).

Éster terc-butílico de ácido (11-aminoundecil)carbâmico (49)

Utilizando uma bomba de seringa, adicionou-se uma solução de dicarbonato de terc-butilo (3,34 g, 15,30 mmol) em metanol (50 mL) ao longo de 10 h a uma solução agitada de diamina 48 (3,00 g, 16,10 mmol) e diisopropiletilamina (2,80 mL, 16,00 mmol) em metanol (100 mL). A reacção foi agitada durante mais 12 h. O solvente foi então removido sob vácuo. A purificação por cromatografia em coluna eluindo com 5-30% de (hidróxido de amónio/metanol 10:90) em diclorometano deu a amina monoprotegida 49 (2,60 g, 56%) como um sólido esbranquiçado: ^1H RMN (500 MHz, Acetona- d_6) δ 1,31-1,55 (m,

2,7H), 2,80 (largo, 2H), 3,01-3,07 (m, 2H), 3,13-3,17 (m, 2H), 5,88 (largo, 1H); m/z (ESI) 287 [$C_{16}H_{34}N_2O_2 + H$]⁺.

Éster metílico de ácido 2-benziloxi-5-[2-(11-terc-butoxicarbonilaminoundecilamino)-1-(R)-hidroxietil]benzóico (50)

Uma solução de epóxido 47 (1,50 g, 5,28 mmol) em etanol (50 mL) foi adicionada lentamente a uma solução a 60°C da diamina monoprotegida 49 em etanol (150 mL) ao longo de um período de 3 h. Após agitação durante 15 h, a reacção foi concentrada a um óleo e purificada por cromatografia em coluna eluindo com 0 a 5% de metanol em diclorometano para dar 50 (515 mg, 17%) como um óleo claro: 1H RMN (500 MHz, Acetona- d_6) δ 1,26-1,49 (m, 27H), 2,46-2,49 (m, 2H), 2,80 (largo, 3H), 3,02-3,05 (m, 2H), 3,43-3,74 (m, 3H), 3,84 (s, 3H), 5,22 (s, 2H), 5,88 (largo, 1H), 5,16 (d, 1H), 7,31-7,42 (m, 3H), 7,51-7,57 (m, 3H), 7,75 (s, 1H); m/z (ESI) 571 [$C_{33}H_{50}N_2O_6 + H$]⁺.

Éster terc-butílico de ácido {11-[2-(4-benziloxi-3-hidroximetilfenil)-2-(R)-hidroxietilamino]undecil}carbâmico (52)

Adicionou-se lentamente hidreto de diisobutilalumínio (6,15 mL de uma solução 1,0 M em hexanos, 6,15 mmol) a uma solução de éster fenílico 51 (702 mg, 1,23 mmol) em tetrahidrofurano (25 mL) com agitação a 0°C. A reacção foi agitada durante 15 min a 0°C, em seguida aquecida para a temperatura ambiente. Após 4,5 h, a reacção foi arrefecida para 0°C e neutralizada pela adição gota a gota de metanol (10 mL). A reacção foi concentrada até à secura e o resíduo foi tomado em acetato de etilo. Adicionou-se uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio à solução. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (2 X 50 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados sequencialmente com água e salmoura, secos sobre sulfato de sódio anidro e concentrados a um óleo. A purificação do óleo bruto por cromatografia em coluna eluindo com 0 a 10% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) em diclorometano deu o álcool benzílico 52 (507 mg,

76%) como um óleo: ^1H RMN (500 MHz, Acetona- d_6) δ 1,26-1,49 (m, 27H), 2,46-2,49 (m, 2H), 2,80 (largo, 3H), 3,02-3,05 (m, 2H), 3,43-4,05 (m, 3H), 4,72 (s, 2H), 5,14 (s, 2H), 5,88 (largo, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,27-7,99 (m, 7H); m/z (ESI) 543 [$\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_5 + \text{H}]^+$.

Éster terc-butílico de ácido {11-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroximetilfenil)-2-etilamino]undecil}carbâmico (53)

O álcool benzílico 52 (507 mg, 0,93 mmol) foi dissolvido em etanol (20 mL). Segundo o protocolo padrão de hidrogenação, o catalisador de paládio (10% de paládio sobre carbono, 50% húmido) foi adicionado à reacção. A hidrogenação foi levada a cabo durante 15 h à temperatura ambiente sob uma pressão de H_2 . A filtração do catalisador através de terra de diatomáceas e concentração do filtrado deu um óleo amarelo. A purificação do óleo bruto por cromatografia eluindo com 5% de metanol em diclorometano, depois 10 a 20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) em diclorometano deu o fenol 53 (119 mg, 28%) como um óleo claro: ^1H RMN (500 MHz, Acetona- d_6) δ 1,26-1,49 (m, 27H), 2,46-2,49 (m, 2H), 2,80 (largo, 4H), 3,02-3,05 (m, 2H), 3,43-4,05 (m, 3H), 4,72 (s, 2H), 5,88 (largo, 1H), 6,77 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 7,48 (d, 1H); m/z (ESI) 453 [$\text{C}_{25}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_5 + \text{H}]^+$.

Sal de ácido 4-[2-(11-aminoundecilamino)-1-(R)-hidroxietil]-2-hidroximetilfenolacético (54)

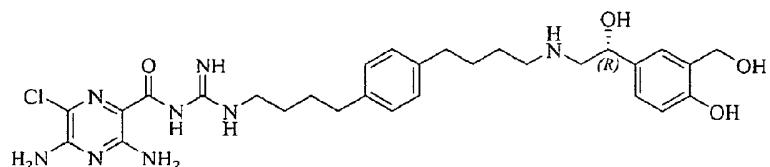
Adicionou-se iodo-trimetilsilano (30 μL , 0,21 mmol) gota a gota a uma solução de amina 53 (60 mg, 0,13 mmol) em diclorometano (1 mL). Após 0,5 h, adicionou-se metanol (1 mL) para neutralizar a reacção. O solvente foi removido sob vácuo e o resíduo foi dissolvido numa mistura 1:1 de ácido acético aquoso a 30% e éter dietílico (20 mL). As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com éter dietílico (2 X 10 mL). A solução aquosa foi concentrada sob vácuo para dar o sal de ácido acético 54 (71 mg, rendimento quant). Este composto foi utilizado directamente na reacção subsequente sem mais purificação.

N-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-(11-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-hidroximetilfeniletilamino]undecil)guanidina (55)

Diisopropiletilamina (0,10 mL, 0,57 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (50 mg, 0,13 mmol) foram adicionados sequencialmente a uma solução de 54 (61 mg, 0,13 mmol) em etanol (4 mL). A mistura de reacção foi aquecida a 70°C durante 6,5 h tempo após o qual foi arrefecida e concentrada sob vácuo. O resíduo resultante foi purificado primeiro por cromatografia em coluna, eluindo com 1-20% de (hidróxido de amónio concentrado/metanol 30:70) em diclorometano, depois por HPLC prep, originando o produto desejado 55 (4 mg, 5%) como um sólido amarelo: ^1H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,26-1,67 (m, 18H), 2,19-2,24 (m, 2H), 2,51-2,58 (m, 2H), 3,25-3,30 (m, 2H), 4,57-4,64 (m, 3H), 6,75 (d, 1H), 7,07 (dd, 1H), 7,23 (d, 1H); m/z (ESI) 565 [C₂₇H₄₁ClN₈O₄ + H]⁺.

Exemplo 8

Síntese de N-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-(4-(4-{4-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-hidroximetilfeniletilamino]butil}butil)feniletilamino]butil)guanidina (63) (Esquema 8)



63

2-[4-(4-Iodofenil)but-3-inil]isoindole-1,3-diona (57)

Uma solução contendo trietilamina (250 mL), iodeto de cobre (I) (1,72 g, 9,09 mmol) e diiodobenzeno (56) (20,00 g, 60,60 mmol) dissolvida em tetrahidrofurano (250 mL) foi agitada à temperatura ambiente. O balão de reacção foi evacuado e purgado com azoto três vezes. A solução foi tratada com dicloreto de bis(trifenilfosfins)paládio (II) (4,20 g, 6,06 mmol) e continuada a agitar à temperatura ambiente durante 30 min. Uma solução contendo trietilamina

(250 mL) e 2-but-3-inilisoindole-1,3-diona (12,06 g, 60,06 mmol) dissolvida em tetrahidrofurano anidro (250 mL) foi adicionada gota a gota através de uma ampola de adição ao longo de 12 horas. A reacção foi deixada agitar à temperatura ambiente durante 48 h. A solução foi filtrada e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com 0-100% de acetato de etilo em hexanos para dar o produto desejado 57 (12,5 g, 51 %) como um sólido castanho: ^1H RMN (500 MHz, CD_2Cl_2) δ 7,85 (dd, 2H), 7,74 (dd, 2H), 7,60 (d, 2H), 7,04 (d, 2H), 3,92 (t, 2H), 2,79 (t, 2H); m/z (ESI) 402 [$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{INO}_2 + \text{H}]^+$.

Éster benzílico de ácido (4-[4-(1,3-dioxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)but-1-inil]fenil}but-3-inil)carbâmico (58)

Uma solução contendo trietilamina (100 mL), iodeto de cobre (I) (0,50 g, 2,60 mmol) e 57 (7,00 g, 17,40 mmol) dissolvida em tetrahidrofurano anidro (100 mL) foi agitada à temperatura ambiente. O balão de reacção foi submetido a vácuo e em seguida purgado com azoto três vezes. A solução foi tratada com dicloreto de bis(trifenilfosfina) paládio (II) (1,20 g, 1,70 mmol) e continuada a agitar à temperatura ambiente durante 30 min. A mistura de reacção foi então tratada com éster benzílico de ácido but-3-inilcarbâmico (4,25 g, 20,90 mmol). A reacção foi deixada agitar à temperatura ambiente durante 16 h. A solução foi filtrada e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com 0-100% de acetato de etilo em hexanos para dar o produto desejado 58 (6,0 g, 72%) como um sólido castanho: ^1H RMN (500 MHz, CD_2Cl_2) δ 7,85 (dd, 2H), 7,74 (dd, 2H), 7,35-7,32 (m, 5H), 7,27 (d, 2H), 7,22 (d, 2H), 5,08 (s, 2H), 3,93 (t, 2H), 3,39 (t, 2H), 2,81 (t, 2H), 2,62 (t, 2H); m/z (ESI) 477 [$\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4 + \text{H}]^+$.

Éster benzílico de ácido (4-[4-[4-(1,3-dioxo-1,3-dihidroisoindol-2-il)butil]fenil}butil)carbâmico (59)

Uma suspensão contendo 58 (6,0 g, 12,59 mmol) e dihidróxido de paládio (20% $\text{Pd}(\text{OH})_2$ sobre carbono, 50% húmido, 3,0 g, 21,43 mmol) dissolvida em tetrahidrofurano anidro (75 mL) foi borbulhada com azoto durante 20 min. A mistura de reacção foi submetida a vácuo, depois carregada

com H₂ gás (45 psi) e deixada agitar à ta durante 24 h. A solução foi filtrada e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com 0-100% de acetato de etilo em hexanos para dar o produto desejado 59 (4,88 g, 80%) como um óleo castanho espesso: ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (dd, 2H), 7,74 (dd, 2H), 7,35-7,28 (m, 6H), 7,06 (d, 4H), 3,70 (t, 2H), 3,19 (t, 2H), 2,63-2,56 (m, 4H), 2,00 (d, 2H), 1,73-1,50 (m, 8H); *m/z* (ESI) 485 [C₃₀H₃₂N₂O₄ + H]⁺.

Éster benzílico de ácido {4-[4-(4-aminobutil)fenil]-butil}carbâmico (7)

Uma solução contendo 59 (4,0 g, 8,20 mmol) e hidrazina (2,06 g, 41,20 mmol) dissolvida em etanol (50 mL) e cloreto de metileno (10 mL) foi aquecida a refluxo. A mistura de reacção foi deixada agitar durante 16 h sob atmosfera de N₂. A solução foi filtrada e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano para dar o produto desejado 7 (6,00 g, 72%) como um sólido esbranquiçado: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,34 (s, 4H), 7,07 (s, 4H), 5,08 (s, 2H), 3,18 (t, 2H), 2,94 (s, 2H), 2,70 (t, 2H), 2,59 (t, 4H), 1,65-1,47 (m, 8H); *m/z* (ESI) 355 [C₂₂H₃₀N₂O₂ + H]⁺.

Éster metílico de ácido 2-benziloxi-5-(2-{4-[4-(4-benziloxicarbonilaminobutil)fenil]butilamino}-1-(R)-hidroxietil)benzóico (60)

Uma solução contendo 7 (1,30 g, 3,67 mmol) e éster metílico de ácido 2-benziloxi-5-(*R*)-oxiranilbenzóico 47 (1,14 g, 4,04 mmol) dissolvidos em etanol (30 mL) foi aquecida a 60°C. A solução foi agitada àquela temperatura durante 48 h sob atmosfera de N₂. A solução foi concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano para dar o produto desejado 60 (0,76 g, 33%) como um sólido esbranquiçado: ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 7,80 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,44 (d, 2H), 7,34 (d, 10H), 7,05 (d, 4H), 7,00 (dd,

1H), 5,17 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,89 (dd, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,19 (t, 2H), 2,90 (dd, 2H), 2,91-2,46 (m, 8H), 1,61-1,50 (m, 8H); m/z (ESI) 639 [$C_{39}H_{46}N_2O_6 + H$]⁺. Como produto secundário desta reacção, 64 (ver Esquema 9) (0,57 g, 18%) foi também isolado como um sólido esbranquiçado: m/z (ESI) 924 [$C_{56}H_{62}N_2O_{10} + H$]⁺.

Éster benzílico de ácido [4-(4-{4-[2-(4-benziloxi-3-hidroximetilfenil)-2-(R)-hidroxietilamino]butil}-fenil)butil]carbâmico (61)

Uma solução de 60 (0,62 g, 0,97 mmol) dissolvido em tetrahidrofurano anidro (6 mL) foi arrefecida para 0°C. A solução foi tratada com hidreto de diisobutilalumínio (4,8 mL, 1M em hexanos). A mistura de reacção foi deixada aquecer lentamente para a temperatura ambiente ao longo de 16 h. A solução foi concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano para dar o produto desejado 61 (0,38 g, 64%) como um sólido esbranquiçado: 1H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 7,43 (s, 4H), 7,40-7,17 (m, 10H), 7,07 (s, 2H), 6,97 (dd, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,78 (dd, 1H), 4,69 (d, 2H), 3,63 (t, 2H), 3,11 (t, 2H), 2,62-2,46 (m, 6H), 1,61 (larco, 4H), 1,51 (larco, 2H); m/z (ESI) 611 [$C_{38}H_{46}N_2O_5 + H$]⁺.

4-(2-{4-[4-(4-Aminobutil)fenil]butilamino}-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroximetilfenol (62)

Uma suspensão contendo 61 (0,38 g, 0,62 mmol) e catalisador de paládio (10% de Pd sobre carbono, 50% húmido, 0,50 g, 4,69 mmol) em etanol (15 mL) foi borbulhada com azoto durante 20 min. A mistura de reacção foi submetida a vácuo, em seguida carregada com H₂ gasoso (1 atm), e deixada agitar à temperatura ambiente durante 24 h. O catalisador foi filtrado em vácuo e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano para dar o produto desejado 62 (0,24 g, 98%) como um sólido esbranquiçado: 1H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 7,21 (d, 1H), 7,09-7,04 (m, 4H), 7,08 (dd, 2H), 4,63 (d, 2H), 3,65 (t, 2H),

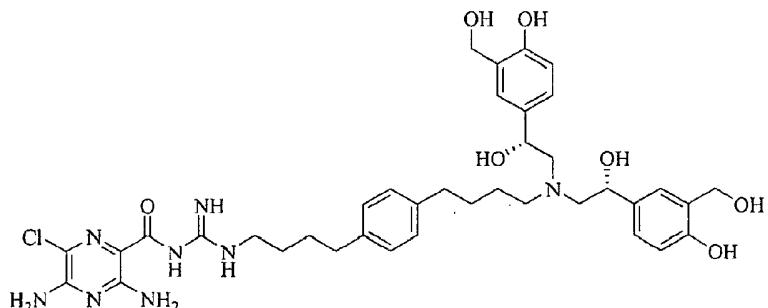
3,59-3,54 (m, 2H), 2,77-2,43 (m, 11H), 1,64 (t, 2H), 1,58 (t, 2H); m/z (ESI) 387 [C₂₃H₃₄N₂O₃ + H]⁺.

N-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-(4-(4-{4-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-hidroximetilfenil)etilamino]butil}fenil)butil)guanidina (63)

Uma solução contendo 62 (0,24 g, 0,62 mmol) dissolvida em etanol (8 mL) foi aquecida para 65°C. A mistura de reacção foi tratada com iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,24 mg, 0,62 mmol) e diisopropiletilamina (0,47 mL). A mistura de reacção foi agitada àquela temperatura durante 5 h sob atmosfera de N₂. A solução foi concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi primeiro purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano e em seguida purificada adicionalmente por TLC preparativa utilizando o mesmo sistema solvente para dar o produto desejado 63 (15 mg, 5%) como um sólido amarelo pálido: ¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ 7,22 (d, 1H), 7,08 (d, 4H), 6,97 (d, 1H), 6,68 (d, 4H), 6,57 (larco, 1H), 4,45 (s, 2H), 3,15 (d, 2H), 2,33 (t, 1H), 1,59-1,52 (m, 6H), 1,39 (s, 2H), 1,23 (s, 1H); m/z (ESI) 600 [C₂₉H₃₉ClN₈O₄ + H]⁺.

Exemplo 9

Síntese de N-{4-[4-(4-{bis-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-hidroximetilfenil)etil]amino}butil}fenil]butil}-N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (67) (Esquema 9)



67

Éster benzílico de ácido {4-[4-(4-{Bis-[2-(4-benziloxi-3-hidroximetilfenil)-2-(R)-hidroxietil]amino}-butil)fenil]-butil}carbâmico (65)

Uma solução de 64 (567 mg, 0,61 mmol) dissolvido em tetrahidrofurano anidro (5 mL) foi arrefecida para 0°C. A solução foi tratada com hidreto de diisobutilalumínio (3,0 mL, 1 M em hexanos). A mistura de reacção foi deixada aquecer lentamente para a temperatura ambiente ao longo de 16 h. A solução foi concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano para dar o produto desejado 65 (0,25 g, 47%) como um sólido esbranquiçado: *m/z* (ESI) 868 [C₅₄H₆₂N₂O₈ + H]⁺.

{4-[4-(4-{Bis-[2-(4-hidroxi-3-hidroximetilfenil)-2-(R)-hidroxietil]amino}butil)fenil]butil}amina (66)

Uma suspensão contendo 65 (250 mg, 0,28 mmol) e catalisador de paládio (10% de Pd sobre carbono, 50% húmido, 100 mg, 0,94 mmol) em etanol (10 mL) foi borbulhada com azoto durante 20 min. A mistura de reacção foi submetida a vácuo, em seguida carregada com H₂ gasoso (1 atm) e deixada em agitação à temperatura ambiente durante 24 h. A suspensão foi filtrada e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol) e diclorometano para dar o produto desejado 66 (45 mg, 28%) como um sólido esbranquiçado: *m/z* (ESI) 553 [C₃₂H₄₄N₂O₆ + H]⁺.

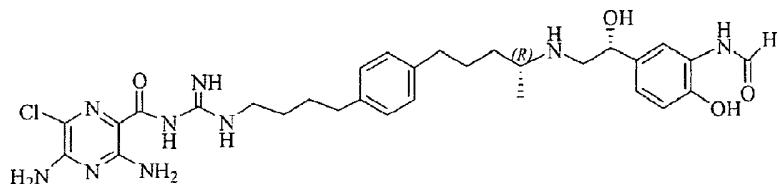
N-{4-[4-(4-{Bis-[2-(R)-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-hidroxi-metilfenil)etil]amino}butil)fenil]butil}-N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (67)

Uma solução contendo 66 (45 mg, 0,08 mmol) dissolvido em etanol (4 mL) foi aquecida para 65°C. A mistura de reacção foi tratada com iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (32 mg, 0,12 mmol) e diisopropiletilamina (0,40 µL). A mistura de reacção foi agitada a essa temperatura durante 5 h sob atmosfera de N₂. A solução foi concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi primeiro purificado por cromatografia em coluna eluindo com uma mistura de 0-20% de (hidróxido de amónio concentrado a

10% em metanol) e diclorometano e em seguida purificado por TLC preparativa utilizando o mesmo sistema solvente para dar o produto desejado 67 (18 mg, 30%) como um sólido amarelo pálido: ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 7,26 (s, 1H), 7,10 (s, 2H), 6,97 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,88 (larco, 1H), 4,46 (s, 3H), 3,16 (s, 2H), 1,58-1,23 (m, 6H); m/z (ESI) 766 [C₃₉H₅₃ClN₈O₇ + H]⁺.

Exemplo 10

Síntese de Sal Bis-Lactato Di-Hidrato de N-(5-{2-[4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-1-metilbutilamino]-1-(R)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)formamida (30)



A uma solução de 160 mg de N-(5-{2-[4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-1-metilbutilamino]-1-(R)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)formamida (30) em etanol adicionaram-se 2,0 equivalentes de ácido láctico e agitou-se à temperatura ambiente durante 1 hora. O etanol foi removido por evaporação rotativa para dar 202 mg da desejada N-(5-{2-[4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-1-metilbutilamino]-1-(R)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)formamida (Sal Bis-Lactato Di-Hidrato), $[\alpha]_D^{25} -25,3^\circ$ (c 0.25, MeOH); pf 116-119 °C, $m/z=626$, análise elementar C, H, N dentro de .3%.

Actividade Biológica

Os compostos nos exemplos abaixo foram analisados quanto à sua potência no epitélio brônquico canino utilizando os ensaios *in vitro* descritos acima.

Exemplo 11

Composto 30 Actividade Bloqueadora de ENaC, IC50 (nM)= 8,4 (93x Amilorida)

Actividade (fomoterol=13,1)	Agonista	Beta,	EC50	(nM)=71,6
---------------------------------------	----------	-------	-------------	------------------

Exemplo 12

Composto 67 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 22,2 (29x Amilorida)**

Exemplo 13

Composto 14 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 17,7 (66x Amilorida)**

Exemplo 14

Composto 42 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 21,6 (54x Amilorida)**

Exemplo 15

Composto 19 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 10 (120x Amilorida)**

Exemplo 16

Composto 12 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 5,7 (132x Amilorida)**

Actividade Agonista Beta, **EC50 (nM)=151 (fomoterol=5.3)**

Exemplo 17

Composto 63 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 6,5 (154x Amilorida)**

Exemplo 18

Composto 40 Actividade Bloqueadora de ENaC, **IC50 (nM)= 9,2 (91x Amilorida)**

Actividade Agonista Beta, **EC50 (nM)=1576 (fomoterol=9,3)**

Exemplo 19

Síntese de diacetato de *N*-(5-{2-[4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil]butilamino]-1-(R)-hidroxietil}-2-hidroxifenil)metanossulfonamida 137
(Esquema 10)



137

***N*-(5-Acetyl-2-benziloxifenil)-*N*-benzilmetanossulfonamida (130)**

Uma mistura de *N*-(5-acetyl-2-hidroxifenil)-metanossulfonamida (129) (20,00 g, 87,10 mmol), iodeto de sódio (13,00 g, 86,70 mmol), carbonato de potássio (60,00 g, 434,10 mmol) e brometo de benzilo (26,00 mL, 218,90 mmol) em acetona (670 mL) foi agitada sob refluxo durante 15 h. A mistura de reacção foi então arrefecida para a temperatura ambiente, o sólido foi removido por filtração e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. A purificação por cromatografia flash em coluna (sílica gel, um gradiente de 0:100 a 30:70 acetato de etilo/diclorometano) deu o éter benzílico 30 como um sólido amarelo (29,60 g, 77% de rendimento): ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 2,38 (s, 3H), 2,85 (s, 3H), 4,75 (s largo, 2H), 5,18 (s, 2H), 7,05 (d, 1H), 7,23 (m, 5H), 7,42 (m, 5H), 7,62 (d, 1H), 7,89 (dd, 1H); m/z (ESI) 410 [$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_4\text{S} + \text{H}]^+$.

***N*-Benzil-*N*-(2-benziloxi-5-(2-bromoacetil)fenil)-metanossulfonamida (131)**

Adicionou-se tribrometo de feniltrimetilamónio (28,60 g, 76,10 mmol) a uma solução de *N*-(5-acetyl-2-benziloxifenil)-*N*-benzilmetanossulfonamida (130) (29,60 g, 72,30 mmol) em THF anidro (150 mL) em quatro porções. A mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 14 h. Os sólidos foram removidos por filtração em vácuo e o filtrado concentrado por evaporação rotativa. O resíduo resultante foi purificado

por cromatografia em coluna (sílica gel, diclorometano apenas) para dar a bromocetona 131 como um sólido esbranquiçado (25,10 g, 71% de rendimento): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,85 (s, 3H), 4,21 (s, 2H), 4,75 (larco, 2H), 5,19 (s, 2H), 7,08 (d, 1H), 7,22 (m, 5H), 7,43 (m, 5H), 7,65 (d, 1H), 7,92 (dd, 1H).

N-Benzil-N-[2-benziloxi-5-(2-bromo-1-(R)-hidroxietil)fenil]-metanossulfonamida (132)

Uma solução de $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ em THF (1 M, 30,70 mL, 30,70 mmol) foi adicionada a uma mistura de N-benzil-N-[2-benziloxi-5-(2-bromoacetil)fenil]metanossulfonamida (131) (25,00 g, 51,20 mmol) e R-metil-CBS-oxazaborolidina (1 M em tolueno, 5,10 mL, 5,10 mmol) em THF anidro (150 mL). A mistura de reacção foi agitada a 0°C durante 15 min e em seguida à ta durante 16 h. Adicionou-se então metanol (100 mL) lentamente, para neutralizar a reacção. Após remoção do solvente por evaporação rotativa, o resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, diclorometano apenas) para dar o bromoálcool desejado 132 como um óleo laranja (23,80 g, 95% de rendimento): ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,86 (s, 3H), 3,30-3,38 (m, 2H), 4,70 (m, 3H), 5,11 (s, 2H), 7,00 (m, 2H), 7,21 (m, 5H), 7,28 (d, 1H), 7,42 (m, 5H).

N-Benzil-N-(2-benziloxi-5-(R)-oxiranilfenil)-metanossulfonamida (133)

Adicionou-se carbonato de potássio (0,50 g, 3,58 mmol) a uma solução de N-benzil-N-[2-benziloxi-5-(2-bromo-1-hidroxietil)fenil]metanossulfonamida (132) (1,00 g, 2,04 mmol) dissolvida numa mistura solvente de THF (8 mL) e metanol (8 mL) e a mistura de reacção foi agitada à ta durante 2 h. Após remoção dos solventes por evaporação rotativa, o resíduo foi tomado em diclorometano e filtrado por sucção para remover os inorgânicos. O filtrado foi concentrado *in vacuo* e ainda co-evaporado com tolueno e seco sob alto vácuo. O epóxido desejado 133 foi obtido como um sólido branco (1,01 g, >99% de rendimento) e utilizado directamente para o passo seguinte sem purificação: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 2,60 (m, 1H), 2,84 (s, 3H), 3,02 (dd, 1H),

3,66 (dd, 1H), 4,75 (s largo, 2H), 5,10 (s, 2H), 6,97 (d, 1H), 7,01 (d, 1H), 7,12 (dd, 1H), 7,22 (m, 5H), 7,41 (m, 5H).

{4-[4-(4-{2-[3-(N-benzilmetanossulfonilamino)-4-benziloxi]-fenil}-2-hidroxietilamino)butil]-fenil}butilcarbamato de (R)-benzilo (135)

Uma mistura de N-benzil-N-(2-benziloxi-5-(R)-oxiranilfenil)metanossulfonamida (133) (1,25 g, 3,05 mmol) e 4-[4-(4-aminopentil)fenil]butilcarbamato de benzilo (134) (1,25 g, 3,39 mmol) em clorofórmio anidro (15 mL) foi aquecida para 68°C num tubo selado durante 96 h. Após este tempo, a mistura foi arrefecida para a temperatura ambiente e o solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, 5:95 metanol/diclorometano). O aducto desejado 135 (0,35 g, 15% de rendimento) foi isolado como uma espuma branca: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 0,88-0,94 (m, 3H), 1,21-1,61 (m, 10H), 2,34-2,57 (m, 5H), 2,86 (m, 3H), 3,19 (m, 2H), 3,43-3,69 (m, 2H), 4,77 (s largo, 3H), 5,07 (m, 2H), 5,30 (s, 2H), 6,86 - 7,43 (m, 22H); m/z (ESI) 778 [$\text{C}_{46}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_6\text{S} + \text{H}]^+$.

N-[5-((1R)-2-{5-[4-(4-Aminobutil)fenil]pentan-2-ilamino}-1-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamida (136)

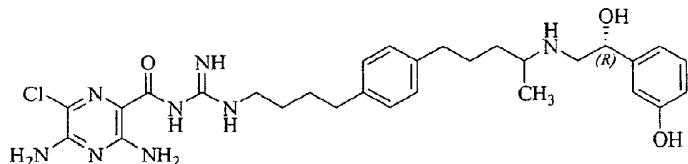
Uma mistura de {4-[4-(4-{2-[3-(N-benzilmetanossulfonilamino)-4-benziloxi]fenil}-2-hidroxietilamino)-butil]fenil}butilcarbamato de (R)-benzilo (135) (0,35 g, 0,46 mmol), dihidróxido de paládio (50 mg, 10% de Pd(OH)_2 sobre carbono, 50% húmido) e etanol (15 mL) foi agitada à temperatura de 16 h à pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi removido por filtração através de terra de diatomáceas e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa, depois ainda seco sob alto vácuo para dar a amina desejada 136 como um sólido dourado (0,21 g, 97% de rendimento): ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 1,08-1,11 (m, 3H), 1,21-1,61 (m, 10H), 2,34-2,57 (m, 5H), 2,71-2,92 (m, 8H), 4,63 (m, 1H), 6,84 - 6,88 (m, 1H), 7,01-7,12 (m, 5H), 7,36 (s, 1H); m/z (ESI) 464 [$\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4\text{S} + \text{H}]^+$.

Diacetato de N-(5-{2-[4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil]butilamino]-1-(R)-hidroxietil)-2-hidroxifenil)metanossulfonamida (137)

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,10 mL, 0,57 mmol) a uma mistura de *N*-[5-((1*R*)-2-{5-[4-(4-aminobutil)fenil]pentan-2-ilamino}-1-hidroxietil)-2-hidroxifenil]metanossulfonamida (136) (0,21 g, 0,45 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (5) (0,18 g, 0,45 mmol) em etanol absoluto (8 mL). A mistura foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 2 h. Após este tempo a mistura foi arrefecida para a ta e o solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, um gradiente de 10:90 a 30:70 (hidróxido de amónio aquoso concentrado a 10% em metanol/em diclorometano) e ainda purificado por HPLC semi-preparativa (um gradiente de 10:90 a 90:10 de acetonitrilo/água, cada contendo 0,01% de ácido acético concentrado) para dar o derivado de sulfonamida (137) como um sólido dourado (25,0 mg, 8% de rendimento): pf 76–80°C; ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 0,94–0,97 (m, 3H), 1,24 (s largo, 1H), 1,40 (s largo, 1H), 1,51–1,60 (m, 6H), 1,90 (s, 6H), 2,49–2,66 (m, 6H), 2,89 (s, 3H), 3,11–3,19 (m, 2H), 4,63 (m, 1H), 6,63 (largo, 2H), 6,80 (d, 1H), 6,98 (d, 1H), 7,06 (m, 4H), 7,16 (s, 1H); m/z (ESI) 676 [C₃₀H₄₂ClN₉O₅S + H]⁺.

Exemplo 20

Síntese de 3,5-diamino-6-cloro-N-[4-{4-[4-[(R)-2-hidroxietil]-2-(3-hidroxifenil)etilamino]pentil}fenil]butilcarbamimidoil}pirazina-2-carboxamida 143 (Esquema 11)



143

4-[4-(4-oxopentil)fenil]butilcarbamato de benzilo (140)

Adicionou-se clorocromato de piridínio (7,32 g, 34,00 mmol) a uma mistura de 4-[4-(4-hidroxipentil)-

fenil]butilcarbamato de benzilo (138) (6,27 g, 17,00 mmol) e crivos moleculares de 4Å em diclorometano (250 mL) em três porções e agitou-se à ta durante 6 h. A mistura de reacção foi então filtrada através de terra de diatomáceas e o filtrado foi concentrado a um óleo preto. A purificação por cromatografia em coluna (sílica, acetato de etilo/hexanos 30:70) deu a cetona 140 (6,58 g, >99% de rendimento) como um sólido branco: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,50–1,56 (m, 2H), 1,60–1,66 (m, 2H), 1,85–1,90 (m, 2H), 2,11 (s, 3H), 2,42 (t, 2H), 2,56–2,60 (m, 4H), 3,19–3,23 (m, 2H), 4,70 (s largo, 1H), 5,08 (s, 2H), 7,07 (s, 4H), 7,29–7,36 (m, 5H).

4-(4-{(R)-2-hidroxi-2-(3-hidroxifenil)etilamino}pentil}-fenil)butilcarbamato de benzilo (141)

Uma solução de sal de aminoálcool disponível comercialmente 139 (0,39 g, 2,06 mmol) e cetona 140 (0,75 g, 2,04 mmol) em metanol (10 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 5 h. Adicionou-se então triacetoxiborohidreto de sódio (1,30 g, 6,13 mmol em quatro porções e agitou-se durante um período adicional de 14 h. A mistura de reacção foi então filtrada e o filtrado foi concentrado. A purificação por cromatografia (coluna de sílica, acetato de etilo/hexanos 30:70, seguida por (hidróxido de amónio concentrado a 10%/metanol)/diclorometano) 10:90 deu carbamato de butilo 141 (1,01 g, >99% de rendimento) como uma espuma branca, pegajosa: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,21 (s largo, 3H), 1,48–1,74 (m, 10H), 2,00 (s, 3H), 2,50–2,60 (m, 5H), 2,92–3,30 (m, 5H), 4,88 (s largo, 1H), 4,97 (s largo, 1H), 5,08 (s, 2H), 6,75 (s largo, 2H), 6,89 (s largo, 1H), 7,00–7,11 (m, 5H), 7,29–7,36 (m, 5H); m/z (ESI) 505 [$\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_4 + \text{H}]^+$.

3-((R)-2-{5-[4-(4-Aminobutil)fenil]pentan-2-ilamino}-1-hidroxietil)fenol (142)

Uma mistura de carbamato de butilo 141 (1,04 g, 2,06 mmol), dihidróxido de paládio (0,20 g, 10% de $\text{Pd}(\text{OH})_2$ sobre carbono, 50% humidot) e etanol (10 mL) foi agitada à ta durante 94 h sob pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi removido por filtração através de terra de diatomáceas e o filtrado foi concentrado por evaporação

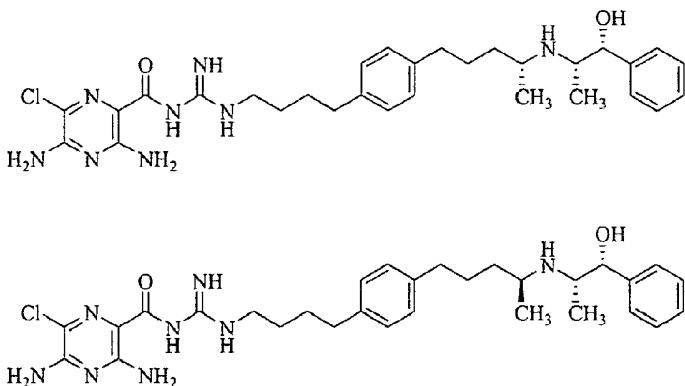
rotativa. A purificação por cromatografia em coluna (sílica, um gradiente de 0:100 a 10:90 de (hidróxido de amónio concentrado a 10%/metanol)/diclorometano) deu a amina desejada 142 (0,63 g, 83% de rendimento) como um sólido dourado: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,16–1,29 (m, 3H), 1,48–1,74 (m, 8H), 2,50–2,60 (m, 4H), 2,92–3,30 (m, 5H), 4,83 (s largo, 1H), 6,71–6,72 (m, 1H), 6,83–6,85 (m, 2H), 7,00–7,15 (m, 5H); m/z (ESI) 371 [$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2 + \text{H}]^+$.

3,5-Diamino-6-cloro-N-[N-[4-(4-{4-[(R)-2-hidroxi-2-(3-hidroxifenil)etilamino]pentil}fenil]butil]carbamimidoil]pirazina-2-carboxamida (143)

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,45 mL, 2,58 mmol) a uma mistura de aminoálcool 142 (0,63 g, 1,69 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,66 g, 2,58 mmol) em etanol absoluto (10 mL). A mistura foi agitada a 75°C (banho de óleo) durante 4,5 h. Após este tempo, a mistura foi arrefecida para a tala e o solvente foi removido por evaporação rotativa. A purificação por cromatografia em coluna (sílica gel, um gradiente de 5:95 a 10:90 de metanol/diclorometano, seguido por um gradiente de 5:95 a 10:90 de (hidróxido de amónio aquoso concentrado a 10%/metanol)/diclorometano) e secagem subsequente numa estufa de vácuo a 40°C durante 88 h originaram o derivado fenol 143 (0,30 g, 30% de rendimento) como um sólido amarelo: pf 82–86°C; ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,93 (dd, 3H, $J = 6,0, 3,5$ Hz), 1,21–1,28 (m, 1H), 1,32–1,40 (m, 1H), 1,49–1,60 (m, 6H), 1,75 (s, 1H), 2,49–2,66 (m, 5H), 3,11–3,19 (m, 2H), 4,44–4,48 (m, 1H), 5,17 (s largo, 1H), 6,59–6,72 (m, 6H), 7,06–7,11 (m, 5H), 9,09 (s largo, 1H); m/z (ESI) 583 [$\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{ClN}_8\text{O}_3 + \text{H}]^+$.

Exemplo 21

Síntese de 3,5-diamino-6-cloro-N-[N-(4-{4-[(R)-4-((1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ilamino)pentil}fenil]butil]carbamimidoil]pirazina-2-carboxamida (ALB 116995) (Esquema 6) e 3,5-diamino-6-cloro-N-[N-(4-{4-[(S)-4-((1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ilamino)pentil}fenil]butil]carbamimidoil]pirazina-2-carboxamida (147a) (Esquema 12)



4-[{(R)-4-((1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ilamino)-pentil}fenil]butilcarbamato de benzilo (145a) e 4-[{(R)-4-((1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ilamino)pentil]-fenil]-butilcarbamato de benzilo (145b)

Uma solução de sal de aminoálcool disponível comercialmente 144 (0,22 g, 1,42 mmol), cetona 140 (0,50 g, 1,36 mmol) e ácido acético (0,08 mL) em metanol (8 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 1,5 h. Adicionou-se então cianoborohidreto de sódio (0,13 g, 2,06 mmol) e a reacção foi agitada durante um período adicional de 14 h. A mistura de reacção foi então filtrada e o filtrado concentrado. A purificação por cromatografia em coluna (silica, diclorometano, em seguida (hidróxido de amónio concentrado a 10%/metanol)/diclorometano) 10:90 deu o carbamato de butilo 145a (0,19 g, 35% de rendimento) como um óleo incolor claro: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,01 (d, 3H), 1,32-1,37 (m, 3H), 1,48-1,74 (m, 9H), 2,52-2,62 (m, 4H), 3,11-3,30 (m, 4H), 4,75 (s largo, 1H), 5,08 (m, 2H), 7,08 (m, 4H), 7,28-7,37 (m, 10H); m/z (ESI) 503 [$\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}]^+$ e 145b (187 mg, 36%) como um óleo incolor claro: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 0,87-0,94 (m, 3H), 1,21-1,27 (m, 3H), 1,48-1,74 (m, 9H), 2,52-2,62 (m, 4H), 2,99 (s largo, 1H), 3,11-3,30 (m, 3H), 4,73 (s largo, 1H), 4,85-4,95 (m, 1H), 5,08 (m, 2H), 7,08 (m, 4H), 7,28-7,37 (m, 10H); m/z (ESI) 503 [$\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_3 + \text{H}]^+$

(1R,2S)-2-{(R)-5-[4-(4-Aminobutil)fenil]pentan-2-ilamino}-1-fenilpropan-1-ol (46a) e (1R,2S)-2-{(S)-5-[4-(4-Aminobutil)-fenil]pentan-2-ilamino}-1-fenilpropan-1-ol (146b)

Uma mistura de carbamato de butilo 145a (0,19 g, 0,37 mmol), dihidróxido de paládio (0,15 g, 10% de $\text{Pd}(\text{OH})_2$ sobre

carbono, 50% húmido) e etanol (6 mL) foi agitada à ta durante 66 h sob pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi removido por filtração através de terra de diatomáceas e o filtrado foi concentrado por evaporação rotativa para dar a amina desejada 146a (0,11 g, 77% de rendimento) como um óleo castanho: ^1H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 0,89–0,94 (m, 3H), 1,00–1,09 (m, 3H), 1,32–1,72 (m, 8H), 2,52–2,92 (m, 7H), 4,75 (s largo, 1H), 7,08 (m, 4H), 7,28–7,37 (m, 5H). Seguindo o mesmo procedimento, utilizando carbamato de butilo 145b (0,19 g, 0,37 mmol), dihidróxido de paládio (150 mg, 10% de Pd(OH)₂ sobre carbono, 50% húmido) e etanol (6 mL), a amina 146b (0,13 g, 99% de rendimento) foi obtida como um óleo castanho: ^1H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 0,87–0,96 (m, 3H), 1,01–1,09 (m, 3H), 1,32–1,72 (m, 8H), 2,52–2,92 (m, 7H), 4,75 (s largo, 1H), 7,08 (m, 4H), 7,28–7,37 (m, 5H).

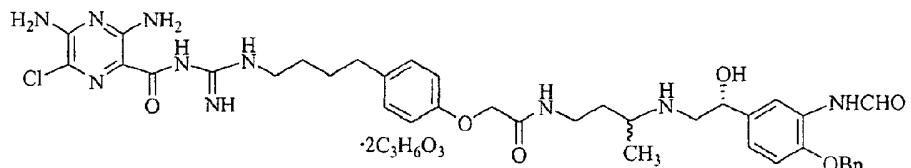
3,5-Diamino-6-cloro-N-[N-(4-{4-[(R)-4-((1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ilamino)pentil]fenil}butil)carbamimidoil]-pirazina-2-carboxamida (147a) e 3,5-Diamino-6-cloro-N-[N-(4-{4-[(S)-4-((1R,2S)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-ilamino)pentil]fenil}butil)carbamimidoil]pirazina-2-carboxamida (147b)

Adicionou-se diisopropiletilamina (0,08 mL, 0,46 mmol) a uma mistura de aminoálcool 146a (0,11 g, 0,28 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (5) (0,11 g, 0,28 mmol) em etanol absoluto (3 mL). A mistura foi agitada a 75°C (banho de óleo) durante 5,5 h. Após este tempo a mistura foi arrefecida para a ta e o solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, um gradiente de 5:95 a 10:90 de metanol/diclorometano, seguido por 10:90 de (hidróxido de amónio aquoso concentrado a 10% /metanol)/diclorometano. A purificação adicional por TLC preparativa (sílica, (hidróxido de amónio aquoso concentrado a 10%/metanol)/diclorometano) 10:90 deu o derivado de carboxamida 147a (0,04 g, 25% de rendimento) como um sólido amarelo: pf 60–64°C; ^1H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0,78 (m, 3H), 0,91–1,03 (m, 3H), 1,22–1,63 (m, 9H), 2,59–2,66 (m, 2H), 2,71–2,92 (s largo, 2H), 3,11–3,19 (m, 2H), 3,28–3,30 (m, 1H), 4,58 (s largo, 1H), 6,68 (s largo, 2H), 7,06–7,11 (m, 4H), 7,20–7,32 (m, 5H), 9,09 (s largo, 1H); *m/z* (ESI) 583 [C₃₀H₄₁ClN₈O₂ + H]⁺. Seguindo o mesmo procedimento, utilizando

a amina 146b (0,13 g, 0,36 mmol), tioureia 5 (0,14 g, 0,37 mmol), e diisopropiletilamina (0,10 mL, 0,57 mmol) em etanol (4 mL), obteve-se 147b (0,03 g, 13% de rendimento) como um sólido amarelo: pf 58–62°C; ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0,81 (s largo, 3H), 0,99–1,18 (m, 3H), 1,29–1,63 (m, 8H), 2,59–2,66 (m, 3H), 2,81–3,19 (m, 4H), 4,70 (s largo, 1H), 6,50–7,11 (m, 7H), 7,20–7,32 (m, 5H), 9,09 (s largo, 1H); m/z (ESI) 583 [$\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{ClN}_8\text{O}_2 + \text{H}]^+$.

Exemplo 22

Síntese de di-L-lactato de (*R*)-3,5-diamino-N-(N-4-(4-(2-(3-(2-(4-(benziloxi)-3-formamidofenil)-2-hidroxietilamino)-butilamino)-2-oxoetoxi)fenil)butil)carbamimidoil)-6-cloropirazina-2-carboxamida 160 (Esquema 13)



160

3-hidroxibutilcarbamato de benzilo (149)

Uma solução de 4-aminobutan-2-ol (3,00 g, 33,65 mmol) e diisopropiletilamina (DIPEA, 8,79 mL, 50,48 mmol) em diclorometano (anidro, 100 mL) foi arrefecida num banho de gelo/água durante 15 min. A esta solução adicionou-se CbzCl (5,74 mL, diluídos com 20 mL de diclorometano anidro) gota a gota ao longo de 30 min. O banho de gelo foi removido e a mistura de reacção resultante foi agitada à temperatura ambiente durante um período adicional de 3 h. Após este tempo a mistura foi concentrada e o resíduo resultante foi cromatografado (silica gel, um gradiente de 1:99 a 3:97 de metanol/diclorometano), originando 149 (8,91 g, rendimento quant) como um óleo viscoso castanho claro: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,20 (d, 3H), 1,58 (m, 2H), 3,22 (m, 2H), 3,90 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,28 (s largo, 1H), 7,34 (m, 5H); m/z (ESI) 224 [$\text{M} + \text{H}]^+$.

3-(terc-butildimetilsililoxi)butilcarbamato de benzilo (150)

Uma solução de 149 (4,49 g, 20,13 mmol) e imidazole (2,05 g, 30,20 mmol) em diclorometano (anidro, 60 mL) foi arrefecida num banho de gelo/água. À solução adicionou-se TBDMSCl (3,34 g, 22,14 mmol) numa porção e a mistura foi agitada durante a noite deixando a temperatura subir naturalmente para a temperatura ambiente. Após este tempo o precipitado sólido foi removido por filtração. O filtrado foi carregado numa almofada pequena de sílica gel e eluído com acetato de etilo/hexanos 12:88, originando 7,10 g (rendimento quant) do produto desejado 150 como um líquido incolor: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 0,49 (s, 3H), 0,51 (s, 3H), 0,85 (s, 9H), 1,09 (d, 3H), 1,69 (m, 2H), 3,20 (m, 2H), 3,88 (m, 1H), 4,67 (m, 1H), 5,0 (s, 2H), 5,15 (s largo, 1H), 7,28 (m, 5H); m/z (ESI) 338 [$\text{M} + \text{H}]^+$.

3-(terc-Butildimetilsililoxi)butan-1-amina (151)

Uma suspensão do composto 150 (7,10 g, 21,06 mmol) dissolvido em etanol (50 mL) e catalisador de paládio (1,50 g, 10% de Pd sobre carbono, 50% húmido) foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio durante 5 h. O catalisador foi removido por filtração e lavado com etanol (3x15 mL). O filtrado e lavagens foram combinados e concentrados sob vácuo para completar a secura, originando 151 (3,60 g, 84% de rendimento) como um óleo viscoso incolor: ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 0,48 (s, 3H), 0,53 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 1,10 (s, 3H), 1,55 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 3,88 (m, 1H); m/z (ESI) 204 [$\text{M} + \text{H}]^+$.

4-(4-(2-(3-(terc-butildimetilsililoxi)butilamino)-2-oxoetoxi)fenil)butilcarbamato de benzilo (153)

A uma suspensão contendo ácido 2-(4-(4-(benziloxicarbonilamino)butil)fenoxi)acético 152 (5,07 g, 14,18 mmol) e carbonildiimidazole (CDI, 2,87 g, 17,73 mmol) em THF hidrazina (anidro, 50 mL) adicionou-se o composto 151 (3,61 g, 17,73 mmol, dissolvido em 5 mL de THF anidro) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. O sólido foi removido por filtração e lavado com THF (3 x 20 mL). O filtrado e lavagens foram combinados e concentrados. O

resíduo foi sujeito a cromatografia em coluna (um gradiente de 0:100 a 50:50 de acetato de etilo/hexanos), originando o produto desejado 153 (4,33 g, 56% de rendimento) como um óleo viscoso incolor: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 0,48 (s, 3H), 0,53 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 1,18 (s, 3H), 1,53–1,75 (m, 6H), 2,62 (m, 2H), 3,24 (m, 2H), 3,44 (m, 2H), 3,93 (m, 1H), 4,18 (s largo, 1H), 4,46 (s, 2H), 4,78 (s largo, 1H), 5,12 (s, 2H), 6,83 (d, 2H), 7,08 (d, 2H), 7,36 (m, 5H); m/z (ESI) 534 [M + H] $^+$.

4-(4-(2-(3-(hidroxibutilamino)-2-oxoetoxi)fenil)-butilcarbamato de benzilo (154)

Uma solução de composto 153 (4,33 g, 7,97 mmol) e TBAF (solução 1 M em THF, 24 mL) em THF (20 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 72 h e em seguida concentrada. O resíduo foi sujeito a cromatografia em coluna (um gradiente de 50:50 a 10:90 de acetato de etilo/hexanos), originando 2,32 g (67% de rendimento) do produto desejado 54: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,22 (s, 3H), 1,33 (m, 1H), 1,43 (m, 1H), 1,53–1,77 (m, 4H), 2,41 (m, 2H), 2,62 (t, 2H), 2,92 (s largo, 1H), 3,24 (m, 2H), 3,78 (m, 2H), 4,40 (s, 2H), 4,75 (s largo, 1H), 5,12 (s, 2H), 6,8 (d, 2H), 7,12 (d, 2H), 7,36 (m, 5H); m/z (ESI) 429 [M + H] $^+$.

4-(4-(2-oxo-2-(3-(oxobutilamino)etioxo)fenil)butilcarbamato de benzilo (155)

Uma mistura de composto 154 (1,21 g, 2,82 mmol) e PCC (1,83 g, 8,46 mmol) em diclorometano (20 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. Após este tempo, a mistura foi sujeita a cromatografia em coluna (um gradiente de 50:50 a 80:20 de acetato de etilo/hexanos) para dar o produto desejado 55 (0,85 g, 71% de rendimento) como um sólido esbranquiçado: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,53–1,70 (m, 4H), 2,12 (s, 3H), 2,57 (t, 2H), 2,72 (t, 2H), 3,22 (m, 2H), 3,64 (m, 2H), 4,40 (s, 2H), 4,75 (s largo, 1H), 5,12 (s, 2H), 6,81 (d, 2H), 7,12 (d, 2H), 7,36 (m, 5H); m/z (ESI) 427 [M + H] $^+$.

4-(4-(2-(3-(2-(4-(benziloxi)-3-formamidofenil)-2-hidroxietilamino)butilamino)-2-oxoetoxi)fenil)butilcarbamato de (R)-benzilo (157)

Uma solução contendo o composto 55 (0,86 g, 2,01 mmol) e (R)-N-(5-(2-amino-1-hidroxietil)-2-benziloxi)fenil)formamida 56 (0,41 g, 2,12 mmol) em metanol (anidro, 10 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h. À solução foi então adicionado NaCNBH₃ (0,38 g, 6,05 mmol) numa porção e a mistura foi agitada continuamente à temperatura ambiente durante a noite. Após este tempo, a mistura foi concentrada e o resíduo foi sujeito a cromatografia (um gradiente de 0:100 a 9:91 de metanol/diclorometano) para dar o produto desejado 57 (1,01 g, 83% de rendimento): ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,33 (m, 3H), 1,47–1,68 (m, 4H), 1,77 (m 1H), 2,02(m, 1H), 2,54 (m, 2H), 3,02–3,26 (m, 5H), 3,56 (m, 2H), 4,54 (d, 2H), 4,84 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 6,90 (m, 3H), 7,12 (m, 3H), 7,35 (m, 5H), 8,13 (s, 1H), 8,33(s, 1H); m/z (ESI) 607 [M + H]⁺.

(R)-2-(4-(4-Aminobutil)fenoxi)-N-(3-(2-(4-(benziloxi)-3-formamidofenil)-2-hidroxietilamino)butil)acetamida (158)

Uma mistura de composto 57 (1,01 g, 1,66 mmol) dissolvido em metanol (50 mL) e catalisador de paládio (0,30 g, 10% de Pd sobre carbono, 50% húmido) foi agitada durante a noite à temperatura ambiente sob uma pressão de hidrogénio atmosférica. O catalisador foi removido por filtração e lavado com metanol (3x15 mL). O filtrado e lavagens foram combinados e concentrados sob vácuo até à secura completa, originando 158 (0,71 g, 91 % de rendimento) como uma espuma esbranquiçada: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,14 (m, 3H), 1,50–1,82 (m, 6H), 2,60 (m, 2H), 2,78 (m, 4H), 3,34 (m, 3H), 4,50 (s, 2H), 4,65 (m, 1H), 6,84 (m, 3H), 7,14 (m, 3H), 8,13 (s, 1H), 8,33 (s, 1H); m/z (ESI) 473 [M + H]⁺.

(R)-3,5-Diamino-N-(N-4-(4-(2-(3-(2-(4-(benziloxi)-3-formamidofenil)-2-hidroxietilamino)butilamino)-2-oxoetoxi)-fenil)butil)carbamimidoil)-6-cloropirazina-2-carboxamida (159)

Uma suspensão do composto 158 (0,65 g, 1,37 mmol), base de Hunig (0,96 mL, 5,50 mmol) e etanol (5 mL) foi aquecida a 70°C durante 30 min, e em seguida adicionou-se iodidrato de

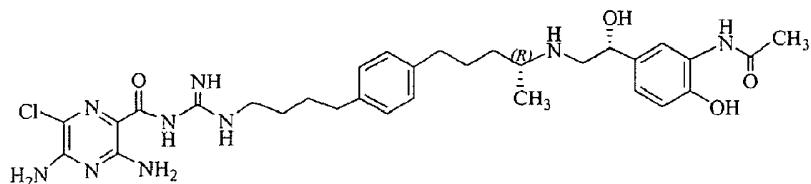
1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboni)-2-metilisotioureia (0,59 g, 1,51 mmol). A solução resultante foi agitada continuamente a essa temperatura durante um período adicional de 3 h antes de ser arrefecida para a temperatura ambiente. O sólido não dissolvido foi removido por filtração. O filtrado foi concentrado. O resíduo resultante foi sujeito a cromatografia em coluna (um gradiente de 0:100 a 16:84 (hidróxido de amónio concentrado a 10% em metanol)/diclorometano) para dar 159 (0,103 g, 27% de rendimento) como um sólido amarelo: ^1H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,12 (m, 3H), 1,58 (m, 2H), 1,68 (m, 4H), 2,58 (m, 2H), 2,75 (m, 3H), 3,28 (m, 4H), 4,48 (s, 2H), 4,67 (m, 1H), 6,87 (d, 1H), 6,93 (d, 2H), 7,01 (d, 1H), 7,18 (d, 2H), 8,06 (s, 1H), 8,33 (s, 1H); m/z (ESI) 685 [M + H]⁺.

Di-L-Lactato de (R)-3,5-diamino-N-(N-4-(4-(2-(3-(2-(4-(benziloxi)-3-formamidofenil)-2-hidroxietilamino)butilamino)-2-oxoetoxi)fenil)butil)carbamimidoil)-6-cloropirazina-2-carboxamida [160]

Adicionou-se ácido L-láctico (0,027 g, 0,30 mmol) a uma suspensão de composto 159 (0,103 g, 0,15 mmol) em etanol (10 mL) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A solução foi então concentrada sob vácuo e completamente seca para originar 160 (0,129 g, rendimento quant) como um sólido amarelo claro: pf 82-86°C; $[\alpha]_D^{25} -3,01^\circ$; ^1H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,12 (m, 3H), 1,22 (d, 6H), 1,56 (m, 5H), 1,74 (m, 1H), 2,80 (m, 2H), 2,94 (m, 1H), 3,20 (m, 4H), 3,98 (q, 2H), 4,40 (s, 2H), 4,65 (m, 1H), 6,88 (m, 4H), 7,14 (d, 2H), 8,10 (s, 1H), 8,30 (s, 1H); m/z (ESI) 685 [M + H]⁺.

Exemplo 23

Síntese de Di-L-Lactato de N-(N-(4-(4-((S)-4-((R)-2-(3-acetamido-4-hidroxifenil)-2-hidroxietilamino)pentil)fenil)butil)carbamimidoil)-3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboxamida [175]) (Esquema 14)



**(R)-N-5-(2-Amino-1-hidroxietil)-2-(benziloxi)fenil)acetamida
(171)**

Uma suspensão do composto 170 (300 mg, 0,93 mmol) e catalisador de paládio (50 mg, 10% de Pd sobre carvão, 50% húmido) num solvente misto de EtOH e EtOAc (6 mL, 1/1) foi sujeita a hidrogenação durante 3,5 h sob uma pressão de hidrogénio de 50 psi e à ta. O catalisador foi filtrado através de Celite e lavado com EtOH (3 x 5 mL). O filtrado combinado e as lavagens foram concentrados e ainda secos sob alto vácuo para dar o produto desejado 171 (124 mg, 54% de rendimento) como um sólido amarelo claro que foi utilizado directamente sem mais purificação. ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 2,16 (s, 3H), 2,81 (d, 2H), 4,55 (m, 1H), 6,82 (m, 1H), 6,99 (m, 1H), 7,64 (s, 1H); m/z (ESI) 211 [$\text{M} + \text{H}]^+$.

4-(4-(4-(R)-2-(3-acetamido-4-benziloxi)fenil)-2-hidroxietilamino)pentil)fenilbutilcarbamato de benzilo (172)

Uma solução de compostos 171 (124 mg, 0,59 mmol) e 40 (217 mg, 0,59 mmol) em metanol (anidro, 5 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 2,5 h. A esta solução foi então adicionado NaCnBH_3 (100 mg, 1,59 mmol) numa porção e a mistura foi agitada continuamente à temperatura ambiente durante a noite. Após este tempo, a mistura foi concentrada e o resíduo foi sujeito a cromatografia (um gradiente de 5:95 a 10:90 de metanol/diclorometano) para dar o produto desejado 172 (183 mg, 55% de rendimento) como um sólido amarelo claro: ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) δ 1,21 (m, 3H), 1,50-1,65 (m, 8H), 2,16 (s, 3H), 2,54 (m, 4H), 2,72-3,12 (m, 3H), 3,18 (m, 2H), 3,58 (m, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,80 (largo, s, 1H), 5,07 (m, 2H), 6,88 (m, 1H), 6,94 (m, 1H), 7,04 (s, 4H), 7,34 (s largo, 5H), 8,45 (s, 1H); m/z (ESI) 562 [$\text{M} + \text{H}]^+$.

N-(5-((1R)-2-(5-(4-Aminobutil)fenil)pentan-2-ilamino)-1-hidroxietil)-2-benziloxifenil)acetamida (173)

Uma mistura de composto 172 (180 mg, 0,32 mmol) e catalisador de paládio (100 mg, 10% de Pd sobre carbono, 50% húmido) em etanol (5 mL) foi submetida a hidrogenação durante a noite sob temperatura ambiente e uma pressão de H₂. O catalisador foi filtrado em vácuo e lavado com etanol (3 x 5 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados para dar o produto desejado 173 (119 mg, 87% de rendimento) como um sólido vítreo incolor que foi utilizado directamente sem mais purificação: ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,13 (m, 3H), 1,35-1,76 (m, 8H), 2,17 (s, 3H), 2,60 (m, 4H), 2,83 (m, 5H), 4,65 (m, 1H), 6,83 (m, 1H), 7,03 (m, 1H), 7,10 (m, 4H), 7,70 (s, 1H); m/z (ESI) 428 [M + H]⁺.

N-(N-(4-(4-((S)-4-((R)-2-(3-Aacetamido-4-hidroxifenil)-2-hidroxietilamino)pentil)fenil)butil)carbamimidoil)-3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboxamida (174)

Uma solução de composto 173 (115 mg, 0,27 mmol), base de Hunig (0,07 mL, 0,40 mmol) e etanol (3 mL) foi aquecida a 75°C durante 30 min. À solução foi então adicionado iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboni)-2-metilisotioureia (105 mg, 0.27 mmol). A solução resultante foi agitada continuamente a essa temperatura durante um período adicional de 6 h antes de ser arrefecida para a temperatura ambiente. O solvente foi removido por evaporação. O resíduo resultante foi sujeito a cromatografia em coluna (sílica, um gradiente de 1 a 15 (hidróxido de amónio a 10% em metanol)/diclorometano) para dar 174 (51 mg, 30% de rendimento) como um sólido amarelo: [α]_D²⁵ -9,1° (c 0,25, metanol); ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 1,05 (m, 3H), 1,32 (m, 2H), 1,50-1,80 (m, 6H), 2,17 (s, 3H), 2,53 (m, 4H), 2,66-2,86 (m, 3H), 3,25 (m, 2H), 4,66 (m, 1H), 6,83 (m, 1H), 6,98 (m, 1H), 7,10 (m, 4H), 7,72 (s, 1H); m/z (ESI) 640 [M + H]⁺.

Di-L-Lactato de N-(N-(4-(4-((S)-4-((R)-2-(3-acetamido-4-hidroxifenil)-2-hidroxietilamino)-pentil)fenil)butil)-carbamimidoil)-3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carboxamida [175]

O composto 175 (54 mg, rendimento quant), um sólido amarelo, foi preparado a partir de 174 por um método semelhante a 168a: pf 46-50 °C (decomposição); ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1,05 (m, 3H), 1,17 (s, 6H), 1,32 (m, 2H), 1,50-1,80 (m, 6H), 2,08 (s, 3H), 2,53 (m, 4H), 2,60-2,82 (m, 2H), 2,94 (m, 1H), 3,20 (m, 2H), 3,43 (m, 2H), 3,87 (m, 2H), 4,63 (m, 1H), 6,68 (s largo, 1H), 6,81 (m, 1H), 6,92 (m, 1H), 7,10 (m, 4H), 7,28 (s largo, 1H), 7,71 (s, 1H), 9,34 (s, 1H); m/z (ESI) 640 [M + H] $^+$.

Métodos

Efeitos Farmacológicos e Mecanismo de Acção da Droga em Animais

O efeito dos compostos para melhorar a eliminação mucociliar (EMC) pode ser medido utilizando um modelo *in vivo* descrito por Sabater et al., Journal of Applied Physiology, 1999, 87(6) pp. 2191-2196, incorporado aqui por referência.

Preparação dos Animais: Ovelhas adultas com até 75 Kg foram colocadas num local confinado e posicionadas de pé utilizando um arnês corporal especializado. As cabeças dos animais foram imobilizadas e foi providenciada anestesia local da passagem nasal (lidocaína a 2%) antes da intubação nasal (tubo endotraqueal de 7,5 mm-D.I. (TET) (Mallinckrodt Medical, St. Louis, MO)). O balonete do TET foi colocado imediatamente abaixo das cordas vocais. Após a intubação, os animais foram deixados equilibrar durante aproximadamente 20 min antes de iniciar a medição da EMC.

Medição in vivo da EMC em Ovelhas: Geraram-se aerossóis de enxofre coloidal radiomarcado com tecnécio (99 mTc-SC 3,1 mg/mL, ~10-15 mCi) por meio de um Nebulizador Raindrop (Nellcor Puritan Bennett, Pleasanton, CA) que produz um diâmetro de gotícula aerodinâmica mediano de 3,6 μm . O nebulizador foi ligado a um sistema dosimétrico constituído por uma válvula de solenóide e uma fonte de ar comprimido (20 psi). A saída do nebulizador foi dirigida para uma peça em T com uma extremidade ligada a um respirador (dispositivo Harvard, South Natick, MA). O sistema foi activado durante 1 segundo no início do ciclo inspiratório do respirador. O

volume corrente foi regulado a 300 mL, com uma razão inspiratória/expiratória de 1:1, e uma velocidade de 20 respirações/min, para maximizar a deposição nas vias respiratórias centrais. As ovelhas respiraram o aerossol de $^{99m}\text{Tc-SC}$ durante até 5 min. Após a deposição do marcador, foi utilizada uma câmara gama para medir a eliminação do $^{99m}\text{Tc-SC}$ das vias respiratórias. A câmara foi posicionada em cima do dorso do animal com as ovelhas na sua posição natural em pé no arnês. O campo da imagem era perpendicular à medula espinal do animal. Colocaram-se marcadores radiomarcados sobre as ovelhas para facilitar o alinhamento apropriado da câmara gama. Traçou-se uma região de interesse sobre a imagem correspondente ao pulmão direito da ovelha e registaram-se as contagens. As contagens foram corrigidas durante o decaimento e expressas como percentagem de radioactividade presente na imagem da linha de base. O pulmão esquerdo foi excluído da análise porque a delimitação do pulmão estava sobreposta com o estômago e as contagens podiam ser afectadas pelo muco marcado com $^{99m}\text{Tc-SC}$ engolido. Todas as imagens de deposição foram armazenadas num computador ligado à câmara gama. O protocolo incluía uma imagem de deposição de linha de base obtida imediatamente após a administração do radio-aerossol. Após aquisição de imagens da linha de base, administraram-se por meio de aerossol 4 mL de H_2O (veículo), formoterol (3 mM) ou nova entidade química (3 mM), utilizando o nebulizador Pari LC JetPlus para ovelhas a respirar livremente, utilizando dois protocolos separados. O protocolo 1, adquiriu os dados imediatamente após o doseamento (do tempo 0 a 1 hora), e indicou a resposta fisiológica imediata 'eficácia de curto prazo', o protocolo 2, adquiriu dados 4 horas após o doseamento, indicou a durabilidade do composto e a 'eficácia a longo-termo'. O nebulizador tinha um caudal de 8 L/min e o tempo para administrar a solução foi de 10 - 12 min. Ao terminar a administração do composto, o animal foi imediatamente extubado para prevenir falsas elevações nas contagens devido à aspiração de excesso de muco marcado com $^{99m}\text{Tc-SC}$ do TET. Obtiveram-se medições em série do $^{99m}\text{Tc-SC}$ retido no pulmão durante um período de 1 hora, a intervalos de 5 min. Um período de recuperação de pelo menos 7 dias (meia vida de $^{99m}\text{TC} = 6$ h) separou os estudos com os diferentes agentes.

Análise Estatística: Os resultados dos ensaios *in vivo* da EMC de ovelhas foram analisados utilizando ANOVA de duas vias com medições repetidas, seguida por análise do declive da regressão linear do gráfico de retenção vs tempo utilizando uma ANOCOVA para comparar declives e se necessário um ensaio de comparação múltipla (Newman-Keuls). A percentagem de actividade retida (pós 4 horas) foi calculada dividindo o valor do declive do protocolo 2 pelo valor do declive obtido no protocolo 1 e multiplicando por 100%.

Preparação dos Animais: Ovelhas adultas (com peso variável entre 25 e 35 kg) foram confinadas numa posição em pé num arnês corporal especializado adaptado a um carrinho de compras modificado. As cabeças dos animais foram imobilizadas e a anestesia local da passagem nasal foi induzida com lidocaína a 2%. Os animais foram então intubados nasalmente com um tubo endotraqueal de 7,5 mm de diâmetro interno (TET). O balonete do TET foi colocado imediatamente abaixo das cordas vocais e a sua posição foi verificada com um broncoscópio flexível. Após intubação, os animais foram deixados equilibrar durante aproximadamente 20 minutos antes da iniciar as medições de eliminação mucociliar.

Administração de Radio-aerossol: Geraram-se aerossóis de ^{99m}Tc-albumina de soro humano (3,1 mg/ml; contendo aproximadamente 20 mCi) utilizando um Nebulizador Raindrop que produz uma gotícula com um diâmetro aerodinâmico mediano de 3,6 µm. O nebulizador foi ligado a um sistema dosimétrico constituído por uma válvula de solenóide e uma fonte de ar comprimido (20 psi). A saída do nebulizador foi dirigida para uma conexão plástica em T; uma extremidade desta foi ligada ao tubo endotraqueal, a outra foi ligada a um respirador de pistão. O sistema foi activado durante um segundo no início do ciclo inspiratório do respirador. O respirador foi regulado a um volume corrente de 500 mL, uma razão inspiratória/expiratória de 1:1, e a uma velocidade de 20 respirações por minuto para maximizar a deposição nas vias respiratórias centrais. As ovelhas respiraram o aerossol radio-marcado durante 5 minutos. Foi utilizada uma câmara gama para medir a eliminação de ^{99m}Tc-albumina de soro humano das vias respiratórias. A câmara foi posicionada em cima do dorso do animal com a ovelha numa posição natural em pé

suportada num carrinho, de tal forma que o campo de imagem era perpendicular à medula espinal do animal. Colocaram-se marcadores radio-marcados sobre a ovelha para assegurar o alinhamento apropriado sob a câmara gama. Todas as imagens foram armazenadas num computador integrado com a câmara gama. Traçou-se uma região de interesse sobre a imagem correspondente ao pulmão direito da ovelha e as contagens foram registadas. As contagens foram corrigidas durante o decaimento e expressas como percentagem de radioactividade presente na imagem de linha de base inicial. O pulmão esquerdo foi excluído da análise porque a sua delimitação está sobreposta com o estômago e as contagens podem ser engolidas e entrar no estômago como muco radio-marcado.

Protocolo de Tratamento (Avaliação da actividade a t-zero): Obteve-se uma imagem de deposição de linha de base imediatamente após a administração do radio-aerossol. Ao tempo zero, após aquisição da imagem de linha de base, o controlo de veículo (água destilada), controlo positivo (amilorida), ou compostos experimentais foram administrados por aerossol a partir de um volume de 4 ml utilizando um nebulizador Pari LC JetPlus a animais a respirar livremente. O nebulizador foi accionado por ar comprimido com um caudal de 8 litros por minuto. O tempo para a administração da solução foi 10 a 12 minutos. Os animais foram extubados imediatamente após a administração da dose total de modo a prevenir falsas elevações nas contagens provocadas por aspiração do excesso de radio-traçador do TET. Obtiveram-se imagens em série do pulmão a intervalos de 15 minutos durante as primeiras 2 horas após o doseamento e hora a hora durante as 6 horas seguintes após o doseamento para um período total de observação de 8 horas. Um período de recuperação de pelo menos 7 dias separou as sessões de doseamento com diferentes agentes experimentais.

Protocolo de Tratamento (Avaliação da Actividade a t-4 horas): Utilizou-se a seguinte variação do protocolo padrão para avaliar a durabilidade da resposta na sequência de uma única exposição a controlo de veículo (água destilada), compostos de controlo positivo (amilorida ou benzamil), ou agentes sob investigação. Ao tempo zero, o controlo de veículo (água destilada), controlo positivo (amilorida), ou

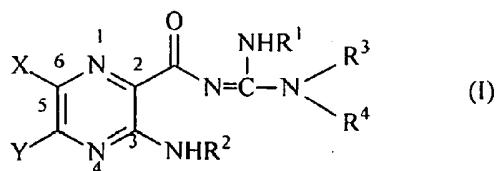
compostos em investigação foram administrados por aerossol a partir de um volume de 4 ml utilizando um nebulizador Pari LC JetPlus para animais a respirar livremente. O nebulizador era accionado por ar comprimido com um caudal de 8 litros por minuto. O tempo para administração da solução foi 10 a 12 minutos. Os animais foram confinados na posição em pé num arnês corporal especializado durante 4 horas. No final do período de 4 horas, os animais receberam uma dose única por meio de aerossol de ^{99m}Tc -albumina de soro humano (3,1 mg/ml; contendo aproximadamente 20 mCi) a partir de um Nebulizador Raindrop. Os animais foram extubados imediatamente a seguir à administração da dose total do radio-traçador. Obteve-se imediatamente uma imagem de deposição de linha de base após administração do radio-aerossol. Obtiveram-se imagens em série do pulmão a intervalos de 15 minutos durante as primeiras 2 horas após administração do radio-traçador (representando as horas 4 a 6 após administração da droga) e hora a hora durante as 2 horas seguintes após o doseamento para um período total de observação de 4 horas. Um período de recuperação de pelo menos 7 dias separou as sessões de doseamento com diferentes agentes experimentais.

Estatística: Os resultados foram analisados utilizando SYSTAT para Windows, versão 5. Os resultados foram analisados utilizando uma ANOVA de duas vias repetida (para avaliar os efeitos globais), seguida por um teste-t emparelhado para identificar diferenças entre pares específicos. A significância foi aceite quando P era inferior ou igual a 0,05. Os valores do declive (calculados a partir dos resultados recolhidos durante os 45 minutos iniciais após o doseamento na avaliação a t-zero) para curvas médias de EMC foram calculados utilizando a regressão dos mínimos quadrados para avaliar diferenças nas velocidades iniciais durante a fase de eliminação rápida.

Lisboa, 2012-11-08

REIVINDICAÇÕES

1. Composto representado pela fórmula (I):



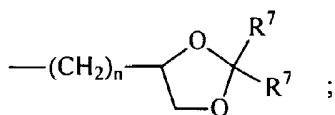
em que

X é hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, alquilo C₁-C₇, fenilo não substituído ou substituído, alquil C₁-C₇-tio, fenil-alquil C₁-C₇-tio, alquil C₁-C₇-sulfônico, ou fenil-alquil C₁-C₇-sulfônico;

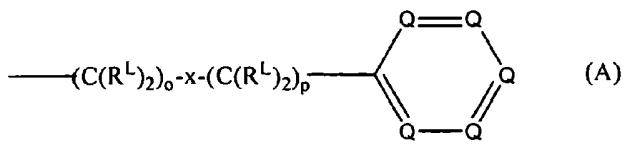
Y é hidrogénio, hidroxilo, mercapto, alcoxi C₁-C₇, alquil C₁-C₇-tio, halogéneo, alquilo C₁-C₇, grupo fenilo não substituído ou substituído, ou -N(R²)₂;

R¹ é hidrogénio ou alquilo C₁-C₇;

cada R² é, independentemente, -R⁷, -(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z_g-R⁷, -(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, ou

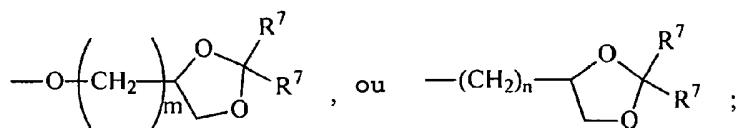


R³ e R⁴ são cada um, independentemente, hidrogénio, um grupo representado pela Fórmula (A), alquilo C₁-C₇, hidroxi-alquilo C₁-C₇, fenilo, fenil-alquilo C₁-C₇, (halofenil)-alquilo C₁-C₇, (alquilfenilalquilo)-C₁-C₇, (alcoxifenil) C₁-C₇-alquilo C₁-C₇, naftil-alquilo C₁-C₇, ou piridil-alquilo C₁-C₇, com a condição de pelo menos um de R³ e R⁴ ser um grupo representado pela Fórmula (A) :



em que

cada R^L é, independentemente, $-R^7$, $-(CH_2)_n-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$,
 $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$,
 $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$,
 $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$,
 $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$,
 $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$,
 $-O-(CH_2)_mNR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$,
 $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónido,
 $-O$ -glucose,



cada o é, independentemente, um inteiro de 0 a 10;

cada p é um inteiro de 0 a 10;

com a condição de a soma de o e p em cada cadeia contígua ser de 1 a 10;

cada x é, independentemente, O , NR^{10} , $C(=O)$, $CHOH$, $C(=N-R^{10})$, $CHNR^7R^{10}$, ou representa uma ligação simples;

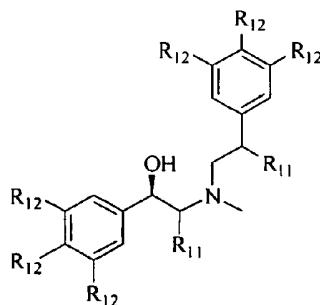
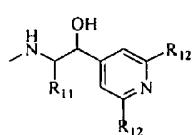
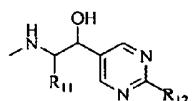
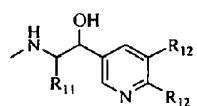
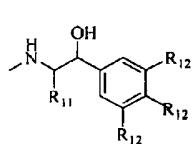
cada R^5 é, independentemente,

Link- $(CH_2)_n-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 Link- $(CH_2CH_2O)_m-CH_2-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 Link- $(CH_2)_n-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2)_n(Z)_g-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 Link- $(CH_2)_n-NR^{13}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2)_n-(CHOR^8)_m-CH_2-NR^{13}-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 Link- $(CH_2)_m(CHOR^8)_n-CH_2NR^{13}-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$,
 Link- $NH-C(=O)-NH-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2)_m-$

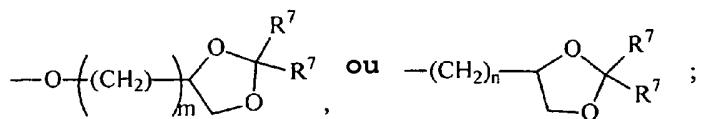
$C(=O)NR^{13}-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-(Z)_g-CR^{11}R^{11}-CAP$, Link- $Z_g-(CH_2)_m-Het-(CH_2)_m-CR^{11}R^{11}-CAP$;

cada Link é, independentemente, $-O-$, $-(CH_2)_n-$, $-O(CH_2)_m-$, $-NR^{13}-C(=O)-NR^{13}-$, $-NR^{11}-C(=O)-(CH_2)_m-$, $-C(=O)NR^{13}-(CH_2)_m-$, $-(CH_2)_n-Z_g-(CH_2)_n-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-SO_2NR^7-$, $-SO_2NR^{10}-$, ou $-Het-$;

cada CAP é, independentemente,



cada R^6 é, independentemente, $-R^7$, $-OR^7$, $-OR^{11}$, $-N(R^7)_2$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_m-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónido, $-O$ -glucose,

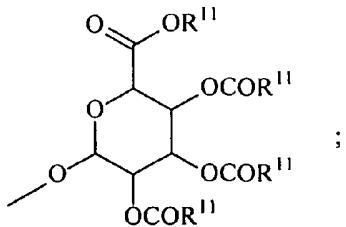


em que quando dois R⁶ são -OR¹¹ e estão localizados adjacentes um ao outro sobre um anel fenilo, as porções alquilo dos dois R⁶ podem estar ligadas para formar um grupo metilenodioxi;

com a condição de quando pelo menos dois -CH₂OR⁸ estiverem localizados adjacentes um ao outro, os grupos R⁸ poderem estar ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou dissustituído

cada R⁷ é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, fenilo, ou fenilo substituído;

cada R⁸ é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, -C(=O)-R¹¹, glucurónido, 2-tetrahidropiranilo, ou



cada R⁹ é, independentemente, -CO₂R¹³, -CON(R¹³)₂, -SO₂CH₂R¹³, ou -C(=O)R¹³;

cada R¹⁰ é, independentemente, -H, -SO₂CH₃, -CO₂R⁷, -C(=O)NR⁷R⁹, -C(=O)R⁷, ou -(CH₂)_m-(CHOH)_n-CH₂OH;

cada Z é, independentemente, CHO_H, C(=O), -(CH₂)_n-, CHNR¹³R¹³, C=NR¹³, ou NR¹³;

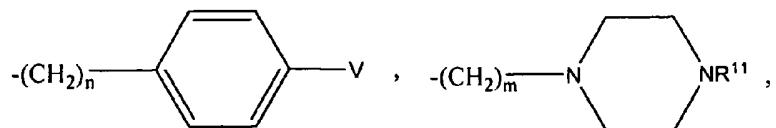
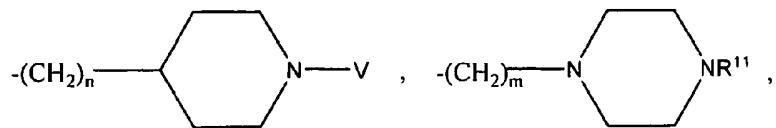
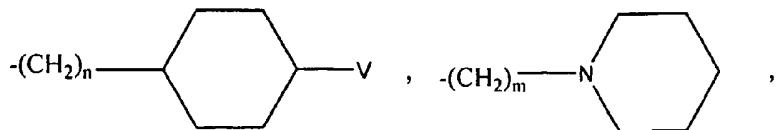
cada R¹¹ é, independentemente, hidrogénio, alquilo C₁-C₇, fenil-alquilo C₁-C₇ ou fenilo substituído-alquilo C₁-C₇;

cada R¹² é independentemente, -(CH₂)_n-SO₂CH₃, -(CH₂)_n-CO₂R¹³, -(CH₂)_n-C(=O)NR¹³R¹³, -(CH₂)_n-C(=O)R¹³, -(CH₂)_n-(CHOH)_n-CH₂OH,

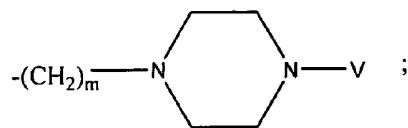
-NH-(CH₂)_n-SO₂CH₃, NH-(CH₂)_n-C(=O)R¹¹, -NH-C(=O)-NH-C(=O)R¹¹, -C(=O)NR¹³R¹³, -OR¹¹, -NH-(CH₂)_n-R¹⁰, -Br, -Cl, -F, -I,

$-\text{SO}_2\text{NHR}^{11}$, $-\text{NHR}^{13}$, $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$, $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{11}$, $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{11}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$, $-\text{OR}^{11}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NHR}^{13}$, $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$, ou $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{13}$;

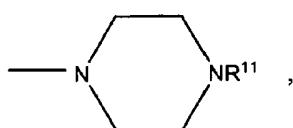
cada R^{13} é, independentemente, hidrogénio, alquilo C_1-C_7 , fenilo, fenilo substituído, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7-\text{C}(=\text{O})\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_m-\text{N}^+\text{R}^7\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_m-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^7\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_m-(\text{CH}_2)_m\text{N}^+\text{R}^7\text{R}^7$,

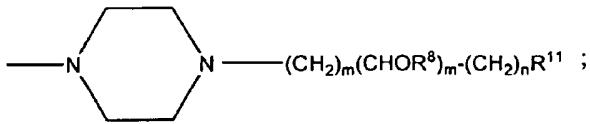
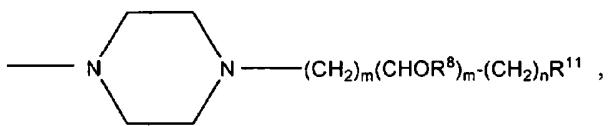


ou



com a condição de $\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$ poder estar ligado a si próprio para formar um grupo representado por um dos seguintes:





cada Het é independentemente, $-NR^{13}-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$,
 $-O-$, $-SO_2NR^{13}-$, $-NHSO_2-$, $-NR^{13}CO-$, ou $-CONR^{13}-$;

cada g é, independentemente, um inteiro de 1 a 6;

cada m é, independentemente, um inteiro de 1 a 7;

cada n é, independentemente, um inteiro de 0 a 7;

cada Q é, independentemente, C-R⁵, C-R⁶, ou um átomo de azoto, em que pelo menos um Q é C-R⁵ e no máximo três Q num anel são átomos de azoto;

cada V é, independentemente, $-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_m-NR^7R^7$,
+
 $-(CH_2)_m-NR^{11}R^{11}R^{11}$, $-(CH_2)_n-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-NR^{10}R^{10}$
+
 $-(CH_2)_n-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^7R^7$, $-(CH_2)_n-(CHOR^8)_m-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}R^{11}$,

com a condição de quando V estiver ligado directamente a um átomo de azoto, então V poder também ser, independentemente, R⁷, R¹⁰, ou (R¹¹)₂;

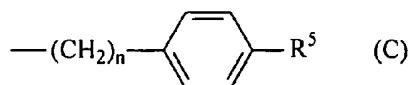
em que quando dois grupos $-CH_2OR^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação um ao outro, os grupos R⁸ podem estar ligados para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cílico mono- ou dissustituído;

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e

incluindo todos os seus racematos, enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, polimorfos e pseudopolimorfos.

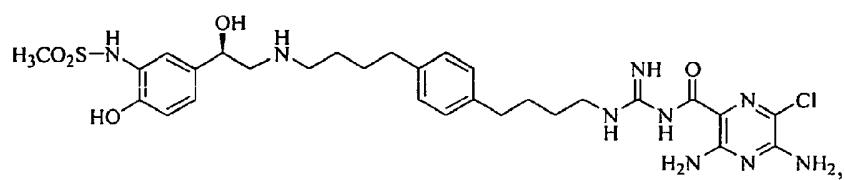
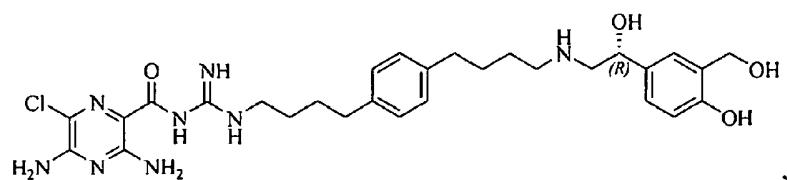
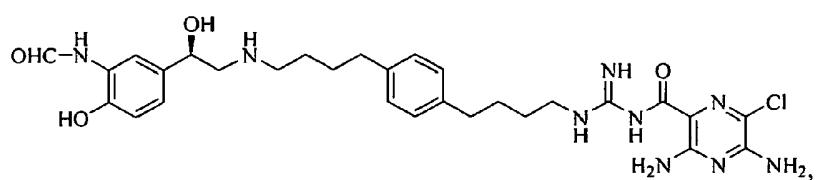
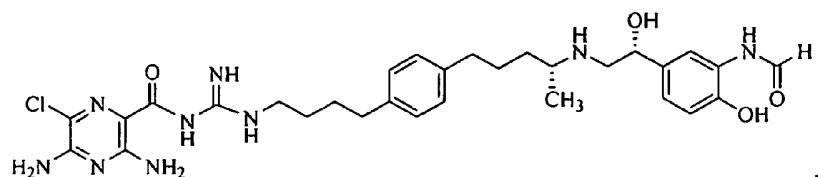
2. Composto de acordo com a Reivindicação 1 em que Y é $-\text{NH}_2$; cada R^1 , R^2 , R^3 , R^4 e R^6 é hidrogénio; X é cloro; o é 4; p é 0; x representa uma ligação simples e nenhum Q é azoto.

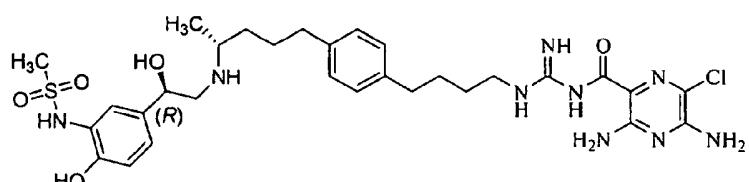
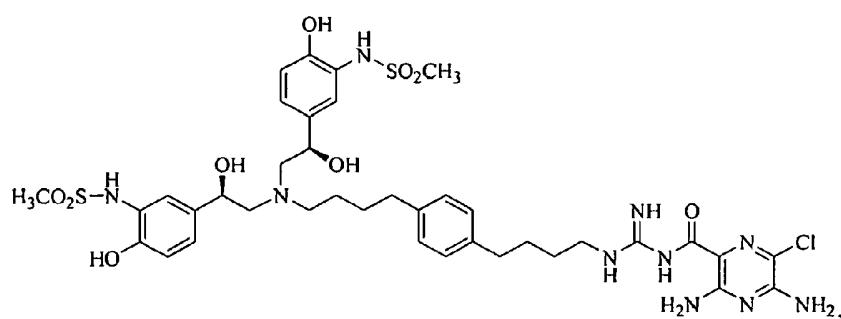
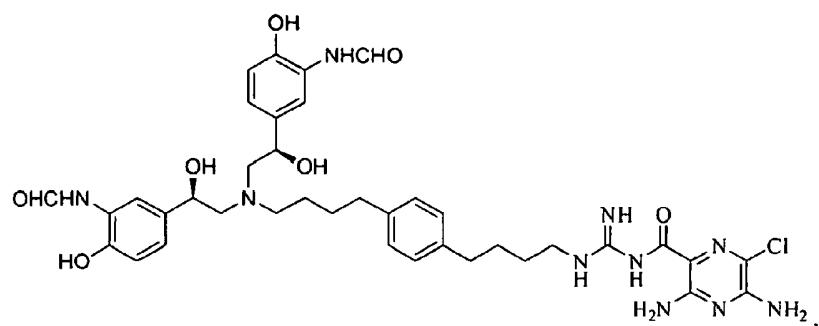
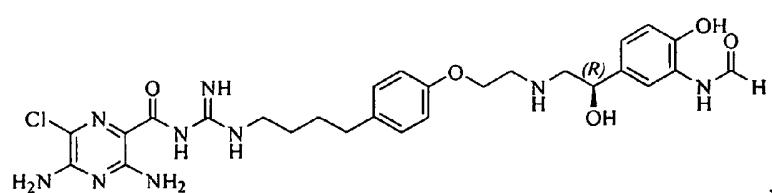
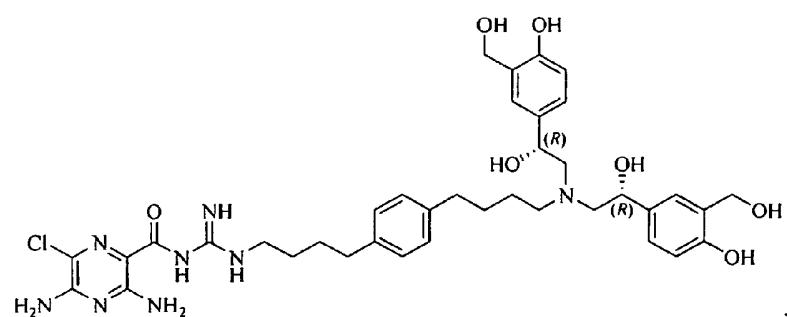
3. Composto de acordo com a Reivindicação 1 em que a fórmula A é



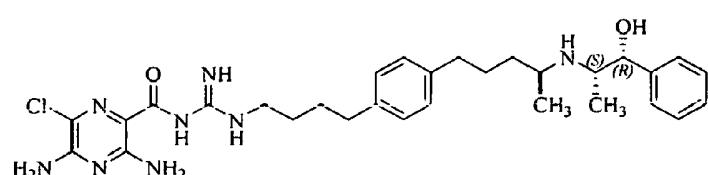
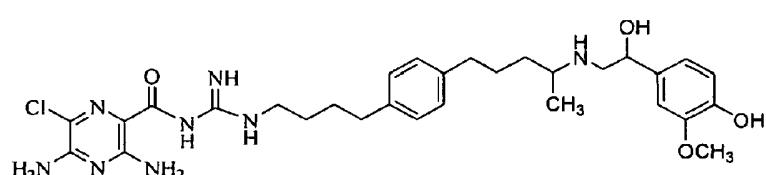
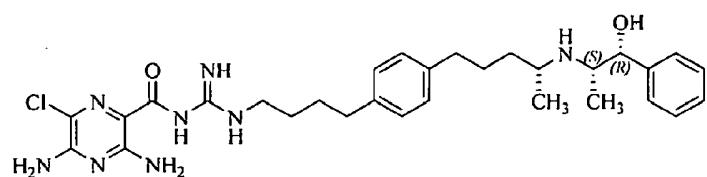
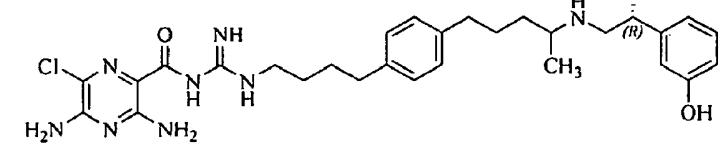
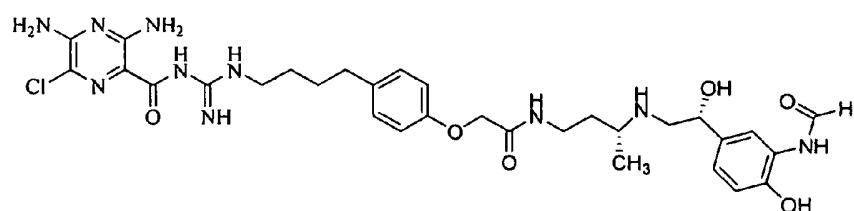
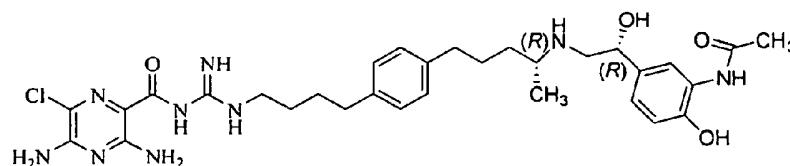
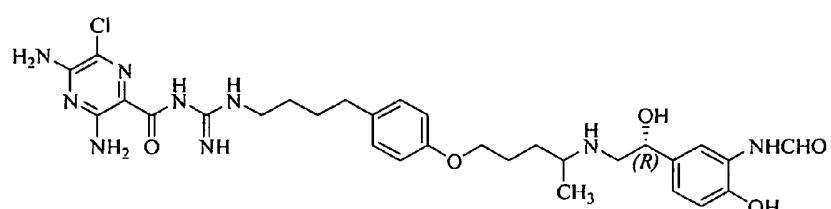
em que n é um inteiro de 1 a 10.

4. Composto de acordo com a Reivindicação 2 ou 3 seleccionado de entre o grupo constituído por





,

**e**

5. Composição que comprehende um composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1-4 que comprehende ainda pelo menos um outro agente seleccionado de entre o grupo constituído por um agonista de P2Y2, um broncodilatador, um broncodilatador colinérgico, um osmólito iónico, cloreto de sódio, um osmólito orgânico, manitol, e um agonista de adenosina.

6. Composição que comprehende um composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1-4 ou uma composição de acordo com a Reivindicação 5 e um veículo farmaceuticamente aceitável.

7. Método de bloqueio *in vitro* de canais de sódio e activação de receptores beta simultaneamente, que comprehende:

o contacto de canais de sódio e de receptores beta com uma quantidade efectiva do composto de qualquer uma das Reivindicações 1-4.

8. Utilização de uma quantidade efectiva de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-4 na produção de um medicamento para o tratamento de uma ou mais condições seleccionadas de entre o grupo constituído por bronquite crónica, fibrose quística, sinusite, secura vaginal, olho seco, doença de Sjogren, síndrome de obstrução intestinal na porção distal, pele seca, esofagite, boca seca (xerostomia), desidratação nasal, pneumonia induzida por ventilador, asma, disquinésia ciliar primária, otite média, doença pulmonar obstrutiva crónica, enfisema, pneumonia, obstipação, diverticulite crónica e rinossinusite.

9. Utilização de acordo com a Reivindicação 8 em que a condição é fibrose quística.

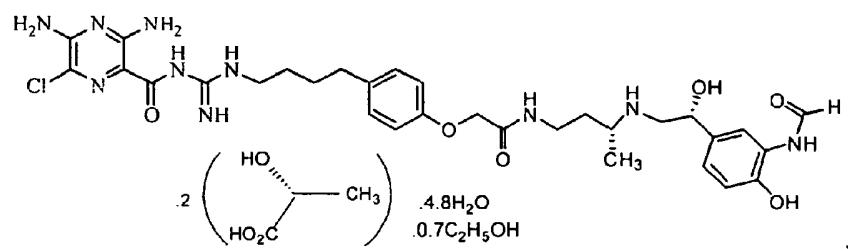
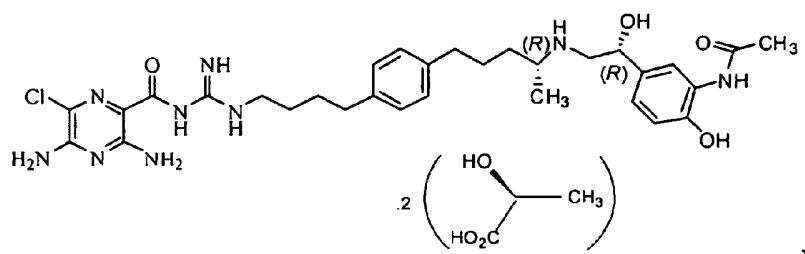
10. Utilização de acordo com a Reivindicação 8 ou 9 em que o composto se destina a ser administrado como um aerossol inalável.

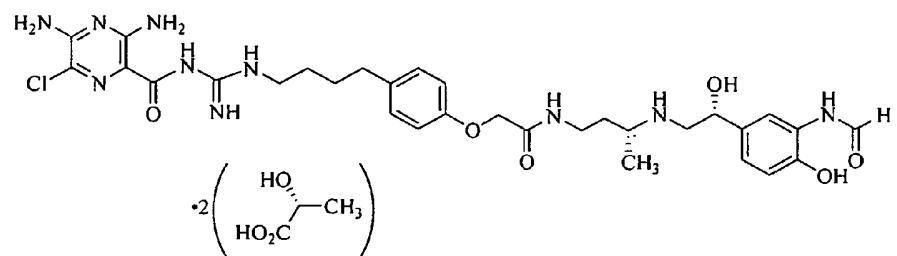
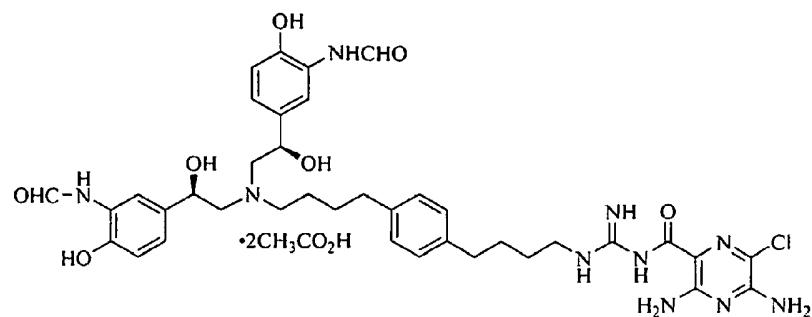
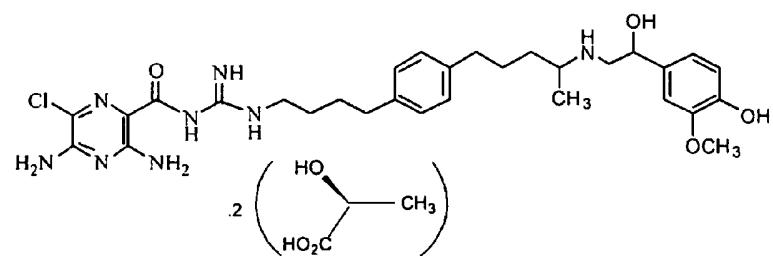
11. Utilização de um composto de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1-4 na produção de um medicamento para o

tratamento de uma ou mais condições seleccionadas de entre o grupo constituído por bronquite crónica, fibrose quística, sinusite, secura vaginal, olho seco, doença de Sjogren, síndrome de obstrução intestinal na porção distal, pele seca, esofagite, boca seca (xerostomia), desidratação nasal, pneumonia induzida por ventilador, asma, disquinésia ciliar primária, otite média, doença pulmonar obstrutiva crónica, enfisema, pneumonia, obstipação, diverticulite crónica e rinossinusite; em que o dito tratamento compreende a administração de uma quantidade efectiva de um composto de acordo com a Reivindicação 1 a um sujeito necessitado.

12. Composto de acordo com a Reivindicação 1 para utilização como medicamento.

13. Composto de acordo com a Reivindicação 1, que é representado pela fórmula:





Lisboa, 2012-11-08

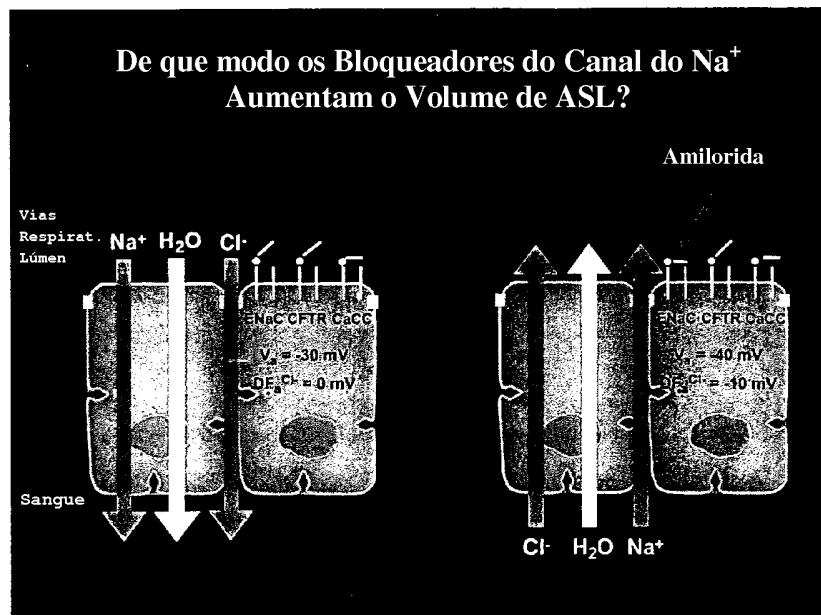
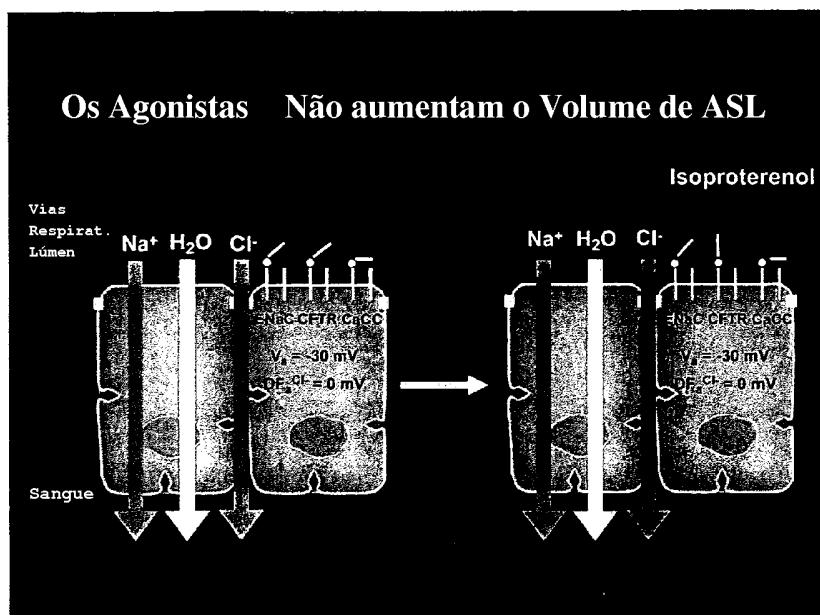
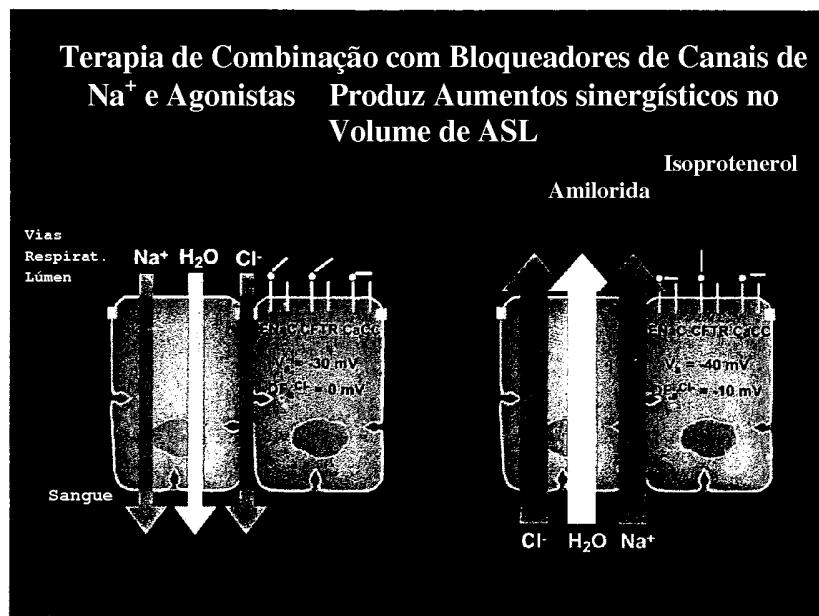
Figura 1**Figura 2**

Figura 3**Figura 4: Formas Tautoméricas de Compostos de Fórmula I**