

(11) Número de Publicação: **PT 1599096 E**

(51) Classificação Internacional:

A01N 43/64 (2006.01) **A01N 43/66** (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01) **A61K 31/50**
(2006.01)
A61K 31/501 (2006.01) **A61K 31/53** (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) **A61P 11/08** (2006.01)
C07D 241/00 (2006.01) **C07D 241/26** (2006.01)
C07D 251/00 (2006.01) **C07D 253/00** (2006.01)
C07D 401/00 (2006.01) **C07D 403/00** (2006.01)
C07D 405/00 (2006.01) **C07D 405/12** (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2004.02.18**

(30) Prioridade(s): **2003.02.19 US 367947**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.11.30**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.12.24**
076/2009

(73) Titular(es):

PARION SCIENCES, INC.
2525 MERIDIAN PARKWAY, SUITE 260
DURHAM, NC 27713 **US**

(72) Inventor(es):

MICHAEL R. JOHNSON **US**

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **BLOQUEADORES HETEROSSUBSTITUÍDOS DO CANAL DE SÓDIO**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"Bloqueadores heterossustituídos do canal de sódio"

O presente invento refere-se a bloqueadores do canal de sódio. O presente invento também inclui uma variedade de utilizações destes bloqueadores do canal de sódio do invento.

As superfícies mucosais na interface entre o ambiente e o corpo desenvolveram um número de "defesas inatas", i.e. mecanismos protectores. Uma forma principal dessas defesas inatas é a limpeza dessas superfícies com líquido. Tipicamente, a quantidade da camada de líquido sobre uma superfície mucosal reflecte o equilíbrio entre a secreção de líquido epitelial, frequentemente reflectindo a secreção de anião (Cl^- e/ou HCO_3^-) ligado a água (e a um catião contra-ião), e a absorção de líquido epitelial, frequentemente reflectindo a absorção de Na^+ , ligado com água e um contra-ião (Cl^- e/ou HCO_3^-). Muitas doenças de superfícies mucosais são provocadas por défice de líquido protector sobre essas superfícies mucosais criado por um desequilíbrio entre secreção (muito pouca) e absorção (relativamente demasiada). Os processos deficitários de transporte de sal que caracterizam estas disfunções mucosais residem na camada epitelial da superfície mucosal.

Uma abordagem para repor a camada de líquido protectora sobre superfícies mucosais consiste em "reequilibrar" o sistema bloqueando o canal de Na^+ e a absorção de líquido. A proteína epitelial que medeia o passo limitador da taxa de absorção de Na^+ e líquido é o canal de Na^+ epitelial (ENaC). O ENaC está posicionado sobre a superfície apical do epitélio, i.e. a interface superfície mucosal-meio ambiente. Como tal, para inibir a absorção de Na^+ e líquido mediada por EnaC, tem de ser entregue um bloqueador de EnaC da classe amilorida (que bloqueia a partir do domínio extracelular do ENaC) na superfície mucosal e, de modo importante, ser mantido neste local, para atingir utilidade terapêutica. O presente invento descreve doenças caracterizadas por pouco líquido sobre as superfícies mucosais e bloqueadores do canal de sódio "tópicos" desenhados para exibirem a potência aumentada, absorção mucosal reduzida e lenta dissociação ("desligação"

ou separação) do ENaC requeridas para a terapia destas doenças.

A bronquite crónica (BC), incluindo a forma genética letal mais comum da bronquite crónica, fibrose cística (FC), são doenças que reflectem a falha do corpo para limpar normalmente o muco proveniente dos pulmões, que finalmente produz infecção crónica das vias respiratórias. No pulmão normal, a defesa primária contra a infecção crónica das vias respiratórias intrapulmonares (bronquite crónica) é mediada pela limpeza contínua de muco das superfícies das vias respiratórias brônquicas. Esta função no estado de saúde remove eficazmente do pulmão toxinas e patógenos potencialmente nocivos. Dados recentes indicam que o problema original, *i.e.* o “defeito básico”, tanto em BC como em FC é a falha de limpeza de muco das superfícies das vias respiratórias. A falha na limpeza de muco reflecte um desequilíbrio entre a quantidade de líquido e mucina nas superfícies das vias respiratórias. Este “líquido da superfície das vias respiratórias” (LSV) é primariamente composto por sal e água em proporções similares às do plasma (*i.e.* isotónicas). As macromoléculas de mucina organizam-se numa “camada de muco” bem definida que normalmente aprisiona as bactérias inaladas e que é transportada para fora dos pulmões via a acção dos cílios que batem numa solução aquosa de baixa viscosidade chamada “líquido periciliar” (LPC). No estado de doença, existe um desequilíbrio nas quantidades de muco como LSV sobre as superfícies das vias respiratórias. Isto resulta numa redução relativa no LSV, que conduz a uma concentração de muco, redução na actividade lubrificante do LPC, e uma falha para limpar o muco via actividade ciliar para a boca. A redução na limpeza mecânica do muco dos pulmões conduz a colonização bacteriana crónica do muco aderente às superfícies das vias respiratórias. É a crónica retenção de bactérias, a falha das substâncias antimicrobianas locais para matar as bactérias aprisionadas no muco numa base crónica, e as consequentes respostas inflamatórias crónicas do corpo a este tipo de infecção da superfície, que conduzem aos sintomas de BC e FC.

A actual população afligida nos EUA é de 12000000 de pacientes com a forma adquirida (principalmente devida à

exposição ao fumo de cigarros) de bronquite crónica e cerca de 30000 pacientes com a forma genética, a fibrose cística. Números aproximadamente iguais de ambas populações estão presentes na Europa. Na Ásia, existe pouca FC 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 para produtos que tratem especificamente BC e FC ao nível do defeito básico que causa estas doenças. As terapias actuais para bronquite crónica e fibrose cística focam o tratamento dos sintomas e/ou os efeitos finais destas doenças. Assim, para a bronquite crónica, estão em desenvolvimento β -agonistas, esteróides inalados, agentes anti-colinérgicos e teofilinas orais e inibidores de fosfodiesterase. No entanto, nenhum destes fármacos trata eficazmente o problema fundamental da falha na limpeza do muco proveniente dos pulmões. De modo similar, na fibrose cística é utilizado o mesmo espectro de agentes farmacológicos. Estas estratégias foram complementadas por outras mais recentes concebidas para limpar o pulmão com FC do ADN ("Pulmozyme"; Genentech) que foi depositado no pulmão por neutrófilos que tentaram futilmente matar as bactérias que crescem em massas de muco aderentes e através do uso de antibióticos inalados ("TOBI") concebidos para aumentar os próprios mecanismos de morte nos pulmões das plaquetas de bactérias do muco aderente. Um princípio geral do corpo é que se a lesão inicial não é tratada, neste caso retenção/obstrução de muco, as infecções bacterianas tornam-se crónicas e crescentemente recalcitrantes à terapia antimicrobiana. Assim, uma necessidade principal não satisfeita para doenças pulmonares tanto de BC como de FC é a de um meio eficaz para re-hidratar o muco das vias respiratórias (*i.e.* restauração/expansão do volume do LSV) e promover a sua limpeza, com bactérias, a partir do pulmão.

R.C. Boucher, na patente US 6264975, descreve o uso de bloqueadores do canal de sódio de pirazinoílguanidina para hidratar superfícies mucosais. Estes compostos, tipificados pelos bem conhecidos diuréticos amilorida, benzamil e fenamil, são eficazes. No entanto, estes compostos sofrem da desvantagem significativa de serem (1) relativamente

impotentes, o que é importante porque a massa de fármaco que pode ser inalada pelo pulmão é limitada; (2) rapidamente absorvidos, o que limita a meia-vida do fármaco sobre a superfície mucosal; e (3) livremente dissociáveis de ENaC. A soma destas desvantagens corporizada nestes diuréticos bem conhecidos produz compostos com potência insuficiente e/ou meia-vida eficaz sobre superfícies mucosais para terem benefício terapêutico para hidratar superfícies mucosais.

Claramente, o que é necessário são fármacos que sejam mais eficazes na restauração da eliminação de muco dos pulmões em pulmões de pacientes com BC/FC. O valor destas novas terapias será reflectida em melhorias na qualidade e duração da vida para as populações com FC e BC.

Outras superfícies mucosais no e sobre o corpo exibem diferenças subtis na fisiologia normal dos líquidos de superfície protectores nas suas superfícies mas a patofisiologia da doença reflecte um tema comum, *i.e.* muito pouco líquido superficial protector. Por exemplo, em xerostomia (secura da boca) a cavidade oral está esgotada em líquido devido a uma falha das glândulas parótidas sublinguais e submandibulares na secreção de líquido, apesar da continuada absorção de líquido da cavidade oral mediada pelo transporte de Na^+ (ENaC). De modo similar, a ceratoconjuntivitis sica (secura do olho) é causada pela falha das glândulas lacrimais em segregar líquido face à continuada absorção de líquido dependente de Na^+ nas superfícies conjuncionais. Na rinosinusite, existe um desequilíbrio, tal como na BC, entre a secreção de mucina e a depleção relativa de LSV. Finalmente, no tracto gastrointestinal, a falha na secreção de Cl^- (e líquido) no intestino delgado proximal, combinada com absorção aumentada de Na^+ (e líquido) no íleo terminal conduz ao síndrome de obstrução intestinal distal (SOID). Em pacientes mais idosos, a absorção excessiva de Na^+ (e volume) no cólon descendente produz prisão de ventre e diverticulite.

Cinquenta milhões de Americanos e centenas de milhões de outros pacientes em todo o mundo padecem de pressão sanguínea elevada e sequelas subsequentes que conduzem a falha cardíaca congestiva e mortalidade crescente. É a principal causa de

morte no Mundo Ocidental e existe uma necessidade de novos remédios para tratar estas doenças. Além disso, alguns dos novos bloqueadores do canal de sódio deste invento podem ser concebidos para alvejar o rim e como tal podem ser utilizados como diuréticos para o tratamento de hipertensão, falha cardíaca congestiva (FCC) e outras doenças cardiovasculares. Estes novos agentes podem ser usados isolados ou em combinação com beta-bloqueadores, inibidores de ACE, inibidores de HMGCoA-redutase, bloqueadores do canal de cálcio e outros agentes cardiovasculares.

Em US 3313813 A1 divulgam-se (3-amino-6,6-disubstituído-pirazinoíl)-guanidinas e representam-se os antecedentes gerais do invento.

Em US 6475509 B1 divulgam-se conjugados de bloqueadores do canal de sódio representando o antecedente geral das reivindicações do invento.

O pedido WO 03/070182 A2 foi publicado após a data de prioridade reivindicada no pedido presente e é portanto oponível à novidade do invento tal como reivindicado, apenas.

Este documento divulga bloqueadores do canal de sódio que são diferentes dos reivindicados no presente pedido.

Em WO 03/07184 A2 divulgam-se bloqueadores do canal de sódio e representa-se o antecedente geral do invento aí divulgado.

É um objecto do presente invento proporcionar compostos que são mais potentes e/ou absorvidos menos rapidamente das superfícies mucosais, e/ou são reversíveis quando comparados com compostos conhecidos.

É outro aspecto do presente invento proporcionar compostos que são mais potentes e/ou absorvidos menos rapidamente e/ou exibem menor reversibilidade, quando comparados com compostos tais como amilorida, benzamil e fenamil. Portanto, os compostos originarão uma meia-vida farmacodinâmica prolongada nas superfícies mucosais quando comparados com compostos conhecidos.

É outro objecto do presente invento proporcionar compostos que (1) são absorvidos menos rapidamente a partir das superfícies mucosais, especialmente das superfícies das vias respiratórias, quando comparados com compostos conhecidos; e (2) quando absorvidos das superfícies mucosais após administração às superfícies mucosais, são convertidos *in vivo* em seus derivados metabólicos que possuem eficácia reduzida no bloqueio dos canais de sódio quando comparados com o composto de origem administrado.

É outro objecto do presente invento proporcionar compostos que são mais potentes e/ou absorvidos menos rapidamente e/ou exibem menor reversibilidade, quando comparados com compostos tais como amilorida, benzamil e fenamil. Portanto, tais compostos irão gerar uma meia-vida farmacodinâmica prolongada em superfícies mucosais quando comparados com os compostos anteriores.

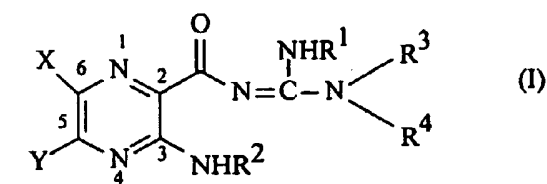
É outro objecto do presente invento proporcionar compostos que alvejam o rim para utilização no tratamento de doença cardiovascular.

É outro objecto do presente invento proporcionar o uso dos compostos descritos acima no fabrico de composições farmacêuticas.

Em particular, é objecto do presente invento proporcionar o uso dos compostos descritos acima no fabrico de composições farmacêuticas para tratar doenças em que a re-hidratação das superfícies mucosais é necessária.

Em particular, é um objecto do presente invento proporcionar a utilização dos compostos descritos acima no fabrico de composições farmacêuticas para tratar doença cardiovascular.

Os objectos do presente invento podem ser conseguidos com uma classe de compostos de pirazinoílguanidina representada pela fórmula (I):



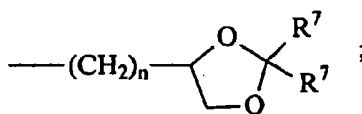
em que

X é hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, alquilo inferior, fenilo não substituído ou substituído, alquiltio inferior, fenil-alquiltio inferior, alquilsulfonilo inferior, ou fenil-alquilsulfonilo inferior;

Y é hidrogénio, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquiltio inferior, halogéneo, alquilo inferior, arilo mononuclear não substituído ou substituído, ou $-N(R^2)_2$;

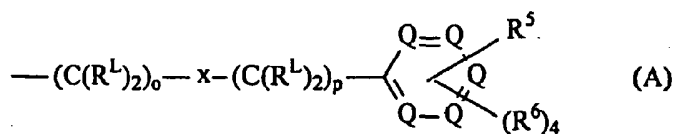
R^1 é hidrogénio ou alquilo inferior;

cada R^2 é, independentemente, $-R^7$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-Z_g-R^7$, $-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, ou



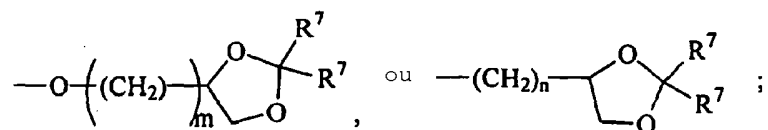
em que quando dois grupos $-CH_2OR^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;

R^3 e R^4 são cada, independentemente, hidrogénio, um grupo representado pela fórmula (A), alquilo inferior, hidroxialquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior, (halofenil)-alquilo inferior, (alquilfenilalquilo) inferior, (alcoxifenil inferior)-alquilo inferior, naftil-alquilo inferior, ou piridil-alquilo inferior, com a condição de pelo menos um de R^3 e R^4 ser um grupo representado pela fórmula (A):



em que

cada R^1 é, independentemente, $-R^7$, $-(CH_2)_n-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OOR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucuronida, $-O$ -glucose,



em que quando dois grupos $-CH_2OR^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;

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, $-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$, $-(CH_2)_nNR^{11}R^{11}$, $-O-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(CH_2)_n-N^{\oplus}-(R^{11})_3$, $-O-(CH_2)_m-N^{\oplus}-(R^{11})_3$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-(CH_2)_n-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$, $-(CH_2)_n-(CHOR^8)_mCH_2-NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$, $-(CH_2)_nNR^{10}-O(CH_2)_m(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$, $-O(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_m-(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-OR^8$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(Het)-(CH_2)_m-N^{\oplus}-(R^{11})_3$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_m-$

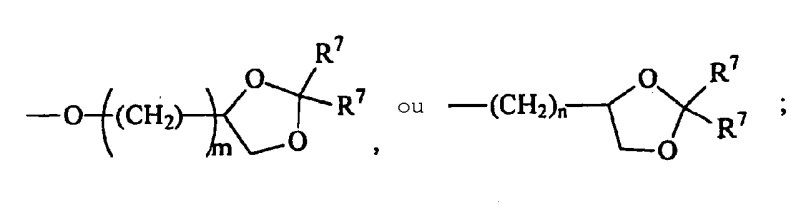
$(\text{CHOR}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, em que quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído,

$-(\text{CH}_2)_n(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído,

$-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído,

$-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído, ou $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;

cada R^6 é, independentemente, $-\text{R}^5$, $-\text{R}^7$, $-\text{OR}^8$, $-\text{N}(\text{R}^7)_2$, $-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{Z})_8-\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{OSO}_3\text{H}$, $-\text{O-glucuronida}$, $-\text{O-glucose}$,



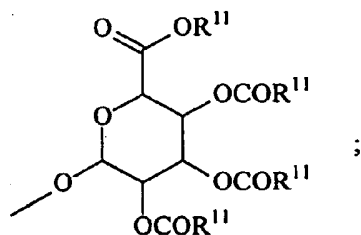
em que quando dois R^6 são $-\text{OR}^{11}$ e estão localizados adjacentes entre si num anel fenilo, as porções alquilo dos dois R^6 podem estar ligadas juntamente para formar um grupo metilenodioxí, e

em que quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou

1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano a cíclico mono- ou di-substituído;

cada R^7 é, independentemente, hidrogénio ou alquilo inferior;

cada R^8 é, independentemente, hidrogénio, alquilo inferior, $-C(=O)-R^{11}$, glucuronida, 2-tetra-hidropiraniilo, ou



cada R^9 é, independentemente, $-CO_2R^7$, $-CON(R^7)_2$, $-SO_2CH_3$, ou $-C(=O)R^7$;

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

cada Z é, independentemente, $CHOH$, $C(=O)$, $CHNR^{10}$, $C=NR^{10}$, ou NR^{10} ;

cada R^{11} é, independentemente, alquilo inferior;

cada R^{12} é independentemente, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^7$, $-C(=O)NR^7R^9$, $-C(=O)R^7$, ou $-CH_2-(CHOH)_n-CH_2OH$;

cada Het é independentemente $-NR^7$, $-NR^{10}$, $-S-$, $-SO-$, ou $-SO_2-$;

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 no máximo três Q num anel são átomos de azoto;

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e inclusive todos os seus enantiómeros, diastereómeros e misturas racémicas.

O presente invento também proporciona composições farmacêuticas que contêm um composto descrito acima.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para

promover a hidratação de superfícies mucosais. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada sobre a superfície mucosal.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para restaurar as defesas mucosais. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada topicamente à superfície mucosal.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para bloquear ENaC pelo contacto dos canais de sódio com esta composição farmacêutica.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para promover a remoção de muco em superfícies mucosais. Também é divulgado que esta composição farmacêutica é aplicada sobre a superfície mucosal.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a bronquite crónica.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a fibrose cística.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a rinosinusite.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para

tratar a desidratação nasal. Também é divulgado que a composição farmacêutica é introduzida nas passagens nasais.

Também é divulgado que a desidratação nasal é induzida pela administração de oxigénio seco ao sujeito.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de um medicamento para o tratamento da sinusite.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratamento de pneumonia.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para evitar a pneumonia induzida por ventilador. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada por meio de um ventilador.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratamento de asma.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a discinesia ciliar primária.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a otite média.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para induzir a expectoração. Em particular, a expectoração é induzida para efeitos de diagnóstico.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de um medicamento para tratar a doença pulmonar obstrutiva crónica.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratamento de enfisema.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a secura ocular. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicado ao olho.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para promover a hidratação ocular. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada ao olho.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para promover a hidratação da córnea. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada ao olho.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratamento da doença de Sjögren.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a secura vaginal. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada ao tracto vaginal.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para

tratar a secura da pele. Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada na pele.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a secura bucal (xerostomia). Também é divulgado que a composição farmacêutica é aplicada na boca.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratamento do síndrome de obstrução intestinal distal.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a esofagite.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a prisão de ventre.

Também é divulgado que a composição farmacêutica é administrada ou oralmente ou via um supositório ou enema.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a diverticulite crónica.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratar a hipertensão.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para reduzir a pressão sanguínea.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para tratamento de edema.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para promover a diurese.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para promover a natriurese.

O presente invento também proporciona a utilização de uma quantidade eficaz de um composto representado pela fórmula (I) no fabrico de uma composição farmacêutica para promover a salurese.

Uma apreciação mais completa do invento e muitas das suas vantagens esperadas será prontamente obtida à medida que o mesmo for mais bem percebido por referência à seguinte descrição detalhada.

O presente invento está baseado na constatação de que os compostos de fórmula (I) são mais potentes, e/ou absorvidos menos rapidamente a partir de superfícies mucosais, em especial superfícies de vias respiratórias, e/ou menos reversíveis a partir de interações com ENaC quando comparados com compostos tais como amilorida, benzamil e fenamil. Como tal, os compostos de fórmula (I) possuem uma meia-vida superior sobre superfícies mucosais quando comparados com estes compostos.

O presente invento está também baseado na constatação de que certos compostos englobados pela fórmula (I) são convertidos *in vivo* em seus derivados metabólicos que têm uma reduzida eficácia no bloqueio de canais de sódio quando comparados com o composto de origem administrado, após terem sido absorvidos a partir de superfícies mucosais após administração. Esta importante propriedade significa que os

compostos terão uma menor tendência para causar efeitos secundários indesejados pelo bloqueio de canais de sódio localizados em locais não alvejados no corpo do recebedor, e.g. nos rins.

O presente invento está também baseado na constatação de que certos compostos englobados pela fórmula (I) alvejam o rim e assim podem ser usados como agentes cardiovasculares.

Nos compostos representados pela fórmula (I), X pode ser hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, fenilo não substituído ou substituído, alquiltio inferior, fenil-alquiltio inferior, alquilsulfonilo inferior, ou fenil-alquilsulfonilo inferior. É preferido halogéneo.

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 usado ao longo da presente divulgação.

Tal como aqui utilizado, o termo "alquilo inferior" significa um grupo alquilo que possui menos de 8 átomos de carbono. Esta gama inclui todos os valores específicos de átomos de carbono e subgamas intermédias, 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 cíclicos. Esta descrição é aplicável ao termo "alquilo inferior" tal como usado ao longo da presente divulgação. Exemplos de grupos alquilo inferior adequados incluem metilo, etilo, propilo, ciclopropilo, butilo, isobutilo.

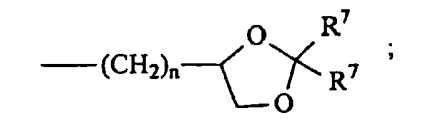
Substituintes para o grupo fenilo incluem halogéneos. Substituintes de halogéneo particularmente preferidos são cloro e bromo.

Y pode ser hidrogénio, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquiltio inferior, halogéneo, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, arilo mononuclear, ou $-N(R^2)_2$. A porção alquilo dos grupos alcoxi inferior é a mesma como

descrito 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 $-N(R^2)_2$. Particularmente preferidos são os compostos em que cada R^2 é hidrogénio.

R^1 pode ser hidrogénio ou alquilo inferior. Hidrogénio é preferido para R^1 .

Cada R^2 pode ser, independentemente, $-R^7$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-Z_g-R^7$, $-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, ou



Na definição de R^2 descrita anteriormente, quando dois grupos $-CH_2OR^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

Hidrogénio e alquilo inferior, particularmente alquilo C_1 - C_3 são preferidos para R^2 . Hidrogénio é particularmente preferido.

R^3 e R^4 podem ser, independentemente, hidrogénio, um grupo representado pela fórmula (A), alquilo inferior, hidroxi-alquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior, (halofenil)-alquilo inferior, (alquilfenilalquilo) inferior, (alcoxifenil inferior)-alquilo inferior, naftil-alquilo inferior, ou piridil-alquilo inferior, desde que pelo menos um de R^3 e R^4 seja um grupo representado pela fórmula (A).

Compostos preferidos são aqueles em que um de R^3 e R^4 é hidrogénio e o outro é representado pela fórmula (A).

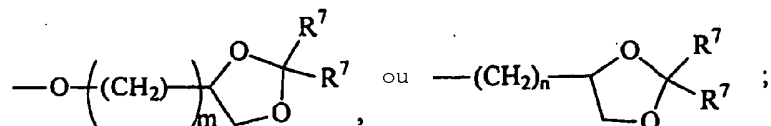
Na fórmula (A), a porção $-(C(R^L)_2)_o-x-(C(R^L)_2)_p-$ define um grupo alquilenos ligado ao anel aromático. As variáveis o e p podem ser cada uma um inteiro de 0 a 10, sujeitas à condição

de que a soma de o e p na cadeia seja de 1 a 10. Assim, o e p podem cada um ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10. Preferivelmente, 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 ligante na cadeia alquilenos, x, pode ser, independentemente, O, NR^{10} , $\text{C}(=\text{O})$, CHOH , $\text{C}(=\text{N}-\text{R}^{10})$, CHNR^{710} , ou representa uma ligação simples;

Portanto, quando x representa uma ligação simples, a cadeia alquilenos ligada ao anel é representada pela fórmula $-(\text{C}(\text{R}^{\text{L}})_2)_{\text{o+p-}}$, em que a soma o+p é de 1 a 10.

Cada R^{L} pode ser, independentemente, $-\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{710}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{710}$, $-(\text{CH}_2)_n(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_m-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{710}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{710}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{710}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{710}$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_m-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{OSO}_3\text{H}$, $-\text{O-glucuronida}$, $-\text{O-glucose}$,



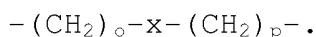
Na anterior definição de R^{L} , quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

Os grupos R^{L} preferidos incluem $-\text{H}$, $-\text{OH}$, $-\text{N}(\text{R}^7)_2$, especialmente quando cada R^7 é hidrogénio.

Na cadeia alquilenos na fórmula (A), é preferido que quando um grupo R^{L} ligado a um átomo de carbono é diferente de hidrogénio, então o outro R^{L} ligado a esse átomo de carbono é hidrogénio, i.e. a fórmula $-\text{CHR}^{\text{L}}-$. Também é preferido que no máximo dois grupos R^{L} numa cadeia alquilenos sejam diferentes de hidrogénio, em que os outros grupos R^{L} na

cadeia são hidrogénios. Ainda mais preferivelmente, apenas um grupo R^L numa cadeia alquilenos é diferente de hidrogénio, em que os outros grupos R^L na cadeia são hidrogénios. Nestas concretizações, é preferível que x represente uma ligação simples.

Noutra concretização particular do invento, todos os grupos R^L na cadeia alquilenos são hidrogénio. Nestas concretizações, a cadeia alquilenos é representada pela fórmula

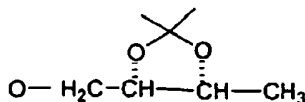


Cada R^5 é independentemente $-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$, $-(CH_2)_nNR^{11}R^{11}$, $-O-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(CH_2)_n-N^{\oplus}-(R^{11})_3$, $-O-(CH_2)_m-N^{\oplus}-(R^{11})_3$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-(CH_2)_n-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}-(Z)_gR^{10}$, $-(CH_2)_n-(CHOR^8)_mCH_2-NR^{10}-(Z)_gR^{10}$, $-(CH_2)_nNR^{10}-O(CH_2)_m(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}-(Z)_gR^{10}$, $-O(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_n-(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}-(Z)_gR^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-OR^8$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_gR^7$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(Het)-(CH_2)_m-N^{\oplus}-(R^{11})_3$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}-(Z)_gR^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_m-(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}-(Z)_gR^{10}$, em que quando dois grupos $-CH_2OR^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de dois grupos $-CH_2OR^8$ grupos estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de dois grupos $-CH_2OR^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formarem um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de dois grupos $-CH_2OR^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação

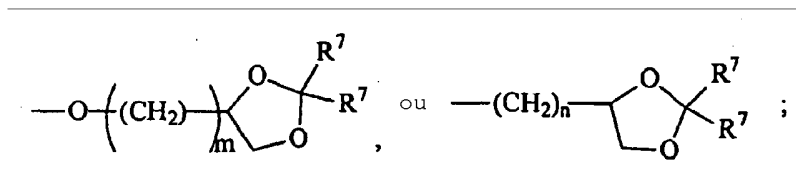
entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído, ou $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de dois grupos $-CH_2OR^8$ estarem localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

Exemplos preferidos de R^5 incluem:

$-N(SO_2CH_3)_2$,
 $-CH_2-CHNHBocCO_2CH_3$ (α),
 $-O-CH_2-CHNH_2CO_2H$ (α),
 $-O-CH_2-CHNH_2CO_2CH_3$ (α),
 $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$,
 $-C(=O)NH-(CH_2)_2-NH_2$,
 $-C(=O)NH-(CH_2)_2-NH-C(=NH)-NH_2$, e



Há quatro grupos R^6 presentes no anel na fórmula (A). Cada R^6 pode ser cada, independentemente, R^5 como descrito acima, $-R^7$, $-OR^8$, $-N(R^7)_2$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucuronida, $-O$ -glucose, ou



Quando dois R^6 são $-OR^{11}$ e estão localizados adjacentes entre si num anel fenilo, as porções alquilo dos dois grupos R^6 podem estar ligadas juntamente para formar um grupo metilenodioxi, i.e. um grupo de fórmula $-O-CH_2-O-$. De igual

modo, quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

Como discutido anteriormente, R^6 pode ser hidrogénio. Assim, 1, 2, 3 ou 4 grupos R^6 podem ser diferentes de hidrogénio. Preferivelmente, no máximo 3 dos grupos R^6 são diferentes de hidrogénio.

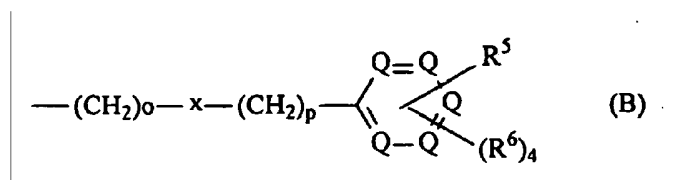
Cada g é, independentemente, um inteiro de 1 a 6. Portanto, cada g pode ser 1, 2, 3, 4, 5 ou 6.

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

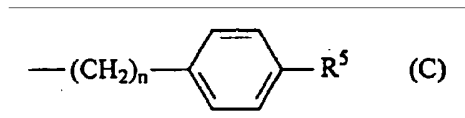
Cada n é um inteiro de 0 a 7. Portanto, cada n pode ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7.

Cada Q na fórmula (A) é C-R^5 , C-R^6 ou um átomo de azoto, em que no máximo três Q num anel são átomos de azoto. Assim, pode haver 1, 2 ou 3 átomos de azoto num anel. Preferivelmente, no máximo dois Q são átomos de azoto. Mais preferivelmente, no máximo um Q é um átomo de azoto. Numa concretização particular, o átomo de azoto está na posição 3-do anel. Noutra concretização do invento, cada Q é C-R^5 ou C-R^6 , i.e. não há átomos de azoto no anel.

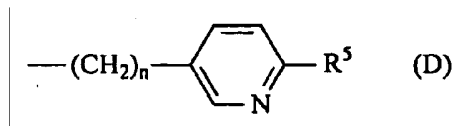
Exemplos mais específicos de grupos adequados representados pela fórmula (A) são mostrados nas fórmulas (B)-(F) seguintes:



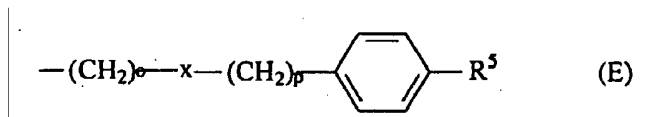
onde o , x , p , R^5 e R^6 são como definidos anteriormente;



onde n é um inteiro de 1 a 10 e R^5 é como definido acima;



onde n é um inteiro de 1 a 10 e R^5 é como definido acima;



onde o , x , p e R^5 são como definido acima;

Numa concretização preferida do invento, Y é $-\text{NH}_2$.

Noutra concretização preferida, R^2 é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, R^1 é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, X é cloro.

Noutra concretização preferida, R^3 é hidrogénio.

Noutra concretização preferida, R^4 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, R^6 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 do presente invento:

X é halogéneo;

Y é $-N(R^7)_2$;

R^1 é hidrogénio ou alquilo C_1-C_3 ;

R^2 é $-R^7$, $-OR^7$, CH_2OR^7 ou $-CO_2R^7$;

R^3 é um grupo representado pela fórmula (A); e

R^4 é hidrogénio, um grupo representado pela fórmula (A) ou alquilo inferior.

Noutra concretização preferida do presente invento:

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 diferentes de hidrogénio como descrito acima;

no máximo três R^L são diferentes de hidrogénio como descrito acima; e

no máximo dois Q são átomos de azoto.

Noutra concretização preferida do presente invento:

Y é $-NH_2$;

Noutra concretização preferida do presente invento:

R^4 é hidrogénio;

no máximo um R^L é diferente de hidrogénio como descrito acima;

no máximo dois R^6 são diferentes de hidrogénio como descrito acima; e

no máximo um Q é um átomo de azoto.

Exemplos preferidos de R^5 nas concretizações descritas acima incluem:

$-N(SO_2CH_3)_2$,

$-CH_2-CHNHBocCO_2CH_3$ (α),

$-O-CH_2-CHNH_2CO_2H$ (α),

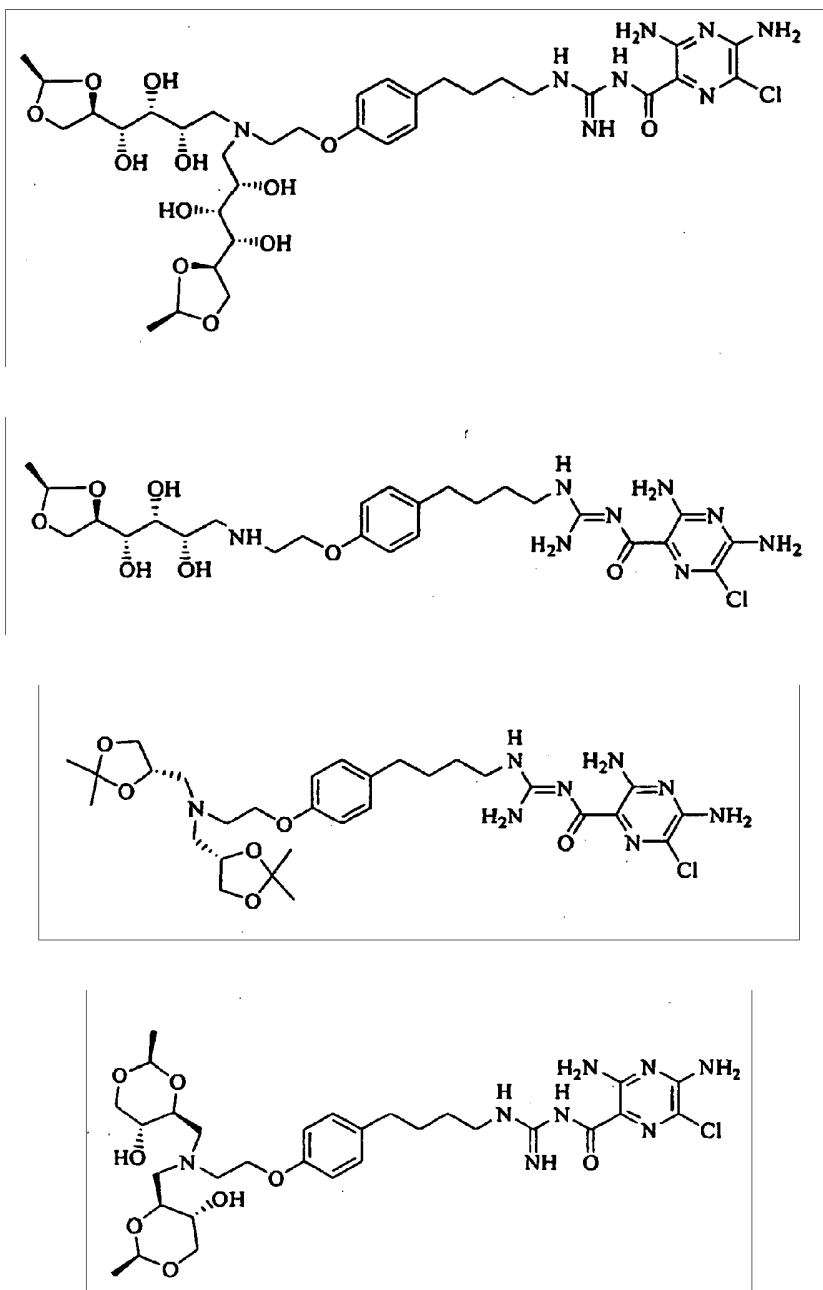
$-O-CH_2-CHNH_2CO_2CH_3$ (α),

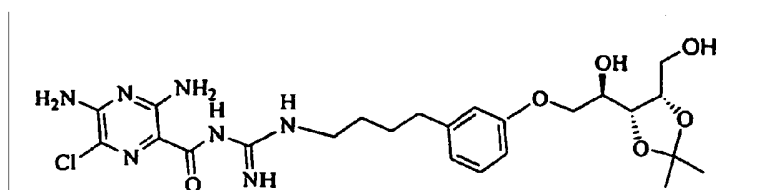
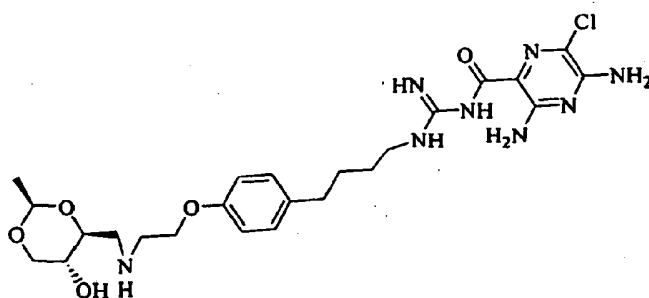
$-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$,

$-C(=O)NH-(CH_2)_2-NH_2$, e

$-C(=O)NH-(CH_2)_2-NH-C(=NH)-NH_2$.

Exemplos de compostos do presente invento incluem os seguintes:





Os compostos de fórmula (I) podem ser preparados e usados como uma base livre. Alternativamente, os compostos podem ser preparados e usados como um sal farmacêuticamente aceitável. Sais farmacêuticamente aceitáveis são sais que retêm ou melhoram a desejada actividade biológica do composto de origem e não aportam efeitos toxicológicos indesejados. Exemplos de tais sais são (a) sais de adição de ácido formados com ácidos inorgânicos, por exemplo, ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico; (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 benzoico, 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, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico; e (c) sais formados a partir de aniões elementares, por exemplo cloro, bromo e iodo.

Deve notar-se que todos os enantiómeros, diastereómeros e misturas racémicas de compostos dentro do âmbito da fórmula (I) são englobados pelo presente invento. Todas as misturas de tais enantiómeros e diastereómeros estão dentro do âmbito do presente invento.

Sem estar limitado a qualquer teoria particular, crê-se que os compostos de fórmula (I) funcionam *in vivo* como bloqueadores do canal de sódio. Ao bloquear os canais de sódio epiteliais presentes nas superfícies mucosais, os compostos de fórmula (I) reduzem a absorção de água pelas superfícies mucosais. Este efeito aumenta o volume dos líquidos protectores sobre as superfícies mucosais, reequilibra o sistema, e desse modo trata a doença.

O presente invento também proporciona composições farmacêuticas que tiram vantagem das propriedades dos compostos de fórmula (I) discutidos acima. Assim, os sujeitos que podem ser tratados pelas composições farmacêuticas do presente invento incluem pacientes afligidos com fibrose cística, discinesia ciliar primária, bronquite crónica, doença obstrutiva crónica das vias respiratórias, pacientes ventilados artificialmente, pacientes com pneumonia aguda.

O presente invento pode ser utilizado para obter uma amostra de expectoração proveniente de um paciente, pela administração de compostos activos a pelo menos um pulmão de um paciente, e depois induzindo ou recolhendo uma amostra de expectoração desse paciente. Tipicamente, o invento será administrado a superfícies mucosais respiratórias via aerossol (líquido ou pós secos) ou lavagem.

Sujeitos que podem ser tratados pelo presente invento também incluem pacientes a quem está a ser administrado oxigénio suplementar nasalmente (um regime que tende a secar as superfícies das respiratórias); pacientes afligidos com uma doença alérgica doença ou resposta (e.g. uma resposta alérgica a pólen, poeira, pelo de animal ou partículas, insectos ou partículas de insectos) que afecta as superfícies das vias respiratórias nasais; pacientes afligidos com uma infecção bacteriana, (e.g. infecções por *Staphylococcus* tais como infecções por *Staphylococcus aureus*, infecções por *Hemophilus influenza*, infecções por *Streptococcus pneumoniae*, infecções por *Pseudomonas aeruginosa*) das superfícies das vias respiratórias nasais; pacientes afligidos com uma doença inflamatória que afecta as superfícies das vias respiratórias nasais; ou pacientes afligidos com sinusite (em que o agente activo ou agentes são administrados para promover a drenagem

das secreções de muco congestionadas nos seios, pela administração de uma quantidade eficaz para promover a drenagem do fluido congestionado nos seios), ou combinados, rino-sinusite. O invento pode ser administrado a superfícies rino-sinusais por entrega tópica, incluindo aerossóis e gotas.

O presente invento pode ser usado para hidratar superfícies mucosais sem serem as superfícies das vias respiratórias. Essas outras superfícies mucosais incluem superfícies gastrointestinais, superfícies orais, superfícies genito-uretrais, superfícies oculares ou superfícies do olho, ouvido interno e ouvido médio. Por exemplo, os compostos activos do presente invento podem ser administrados por qualquer meio adequado, incluindo local/topicamente, oralmente ou rectalmente, numa quantidade eficaz.

Os compostos do presente invento também são úteis para tratar uma variedade de funções relativas ao sistema cardiovascular. Assim, os compostos do presente invento são úteis para uso como agentes anti-hipertensivos. Os compostos podem ser utilizados também para reduzir a pressão sanguínea e tratar edemas. Além disso, os compostos do presente invento também são úteis para promover diurese, natriurese e salurese. Os compostos podem ser utilizados isolados ou em combinação com bloqueadores beta, inibidores de ACE, inibidores de HMGCoA-redutase, bloqueadores do canal de cálcio e outros agentes cardiovasculares para tratar hipertensão, falha cardíaca congestiva e reduzir a mortalidade cardiovascular.

O presente invento está relacionado principalmente com o tratamento de sujeitos humanos, mas também pode ser empregue para o tratamento de outros sujeitos mamíferos, tais como cães e gatos, para fins veterinários.

Como discutido anteriormente, os compostos usados para preparar as composições do presente invento podem estar na forma de uma base livre farmaceuticamente aceitável. Como a base livre do composto é geralmente menos solúvel em soluções aquosas do que o sal, são empregues composições da base livre para proporcionar uma libertação mais sustentada do agente activo para os pulmões. Um agente activo presente nos pulmões na forma particulada que não se dissolveu em solução não está

disponível para induzir uma resposta fisiológica, mas serve como um depósito de fármaco biodisponível que gradualmente se dissolve em solução.

Outro aspecto do presente invento é uma composição farmacêutica que compreende um composto de fórmula (I) num portador farmacêuticamente aceitável (e.g. uma solução aquosa portadora). Em geral, o composto de fórmula (I) está incluído na composição numa quantidade eficaz para inibir a reabsorção de água pelas superfícies mucosais.

Os compostos do presente invento podem também ser usados em conjunto com um agonista do receptor P2Y2 ou um seu sal farmacêuticamente aceitável (por vezes também aqui referido como uma "agente activo"). A composição pode ainda compreender um agonista do receptor P2Y2 ou um seu sal farmacêuticamente aceitável (por vezes também aqui referido como uma "agente activo"). O agonista do receptor P2Y2 é tipicamente incluído numa quantidade eficaz para estimular a secreção de cloreto e água pelas superfícies das vias respiratórias, em particular superfícies das vias nasais. Agonistas do receptor P2Y2 adequados são descritos nas colunas 9-10 de US 6264975, US 5656256 e US 5292498.

Também podem ser utilizados broncodilatadores em combinação com compostos do presente invento. Estes broncodilatadores incluem agonistas β -adrenérgicos incluindo epinefrina, isoproterenol, fenoterol, albutereol, terbutalina, pirbuterol, bitolterol, metaproterenol, ioetarina, salmeterol xinafoato, assim como agentes anticolinérgicos incluindo brometo de ipratrópio, assim como compostos tais como teofilina e aminofilina. Estes compostos podem ser administrados de acordo com técnicas conhecidas, antes ou concorrentemente com os compostos activos aqui descritos.

Outro aspecto do presente invento é uma formulação farmacêutica que compreende um composto activo como descrito acima num portador farmacêuticamente aceitável (e.g. uma solução aquosa portadora). Em geral, o composto activo está incluído na composição numa quantidade eficaz para tratar superfícies mucosais, tal como inibir a reabsorção de água por superfícies mucosais, incluindo das vias respiratórias e outras superfícies.

Os compostos activos aqui divulgados podem ser administrados a superfícies mucosais por quaisquer meios adequados, incluindo tópica, oral, rectal, vaginal, ocular e dermicamente. Por exemplo, para o tratamento de prisão de ventre, os compostos activos podem ser administrados oral ou rectalmente na superfície mucosal gastrointestinal. O composto activo pode ser combinado com um portador farmacologicamente aceitável em qualquer forma adequada, tal como solução fisiológica estéril ou de salino diluído, como gotas, comprimidos para administração oral, como um supositório para administração rectal ou genito-uretral. Podem ser incluídos excipientes na formulação para melhorar a solubilidade dos compostos activos, se desejado.

Os compostos activos aqui divulgados podem ser administrados nas superfícies das vias respiratórias de um paciente por quaisquer meios adequados, incluindo como uma pulverização, aerossol, ou gotas dos compostos activos num portador farmacologicamente aceitável tal como soluções fisiológicas ou salinos diluídos ou água destilada. Por exemplo, os compostos activos podem ser preparados como formulações e administrados como descritos na Patente US N.º 5789391 de Jacobus.

Agentes activos particulados sólidos ou líquidos preparados para praticar o presente invento poderiam, como notado acima, incluir partículas de tamanho respirável ou não-respirável; isto é, para partículas respiráveis, partículas de um tamanho suficientemente pequeno para passarem pela boca e laringe por inalação para os brônquios e alvéolos dos pulmões, e para partículas não respiráveis, partículas suficientemente grandes para serem retidas nas passagens nasais das vias respiratórias em vez de passarem através da laringe para os brônquios e alvéolos dos pulmões. Em geral, partículas variando de cerca de 1 a 5 micron de tamanho (mais particularmente, menos de cerca de 4,7 micron de tamanho) são respiráveis. Partículas de tamanho não respirável são maiores que cerca de 5 micron de tamanho, até ao tamanho de gotas visíveis. Assim, para administração nasal, um tamanho de partícula na gama de 10-500 µm pode ser usado para assegurar retenção na cavidade nasal.

No fabrico de uma formulação de acordo com o invento, os agentes activos ou os seus sais fisiologicamente aceitáveis ou bases livres são tipicamente misturados com, *inter alia* um portador aceitável. Como é óbvio, o portador tem de ser compatível com quaisquer outros ingredientes na formulação e não pode ser prejudicial para o paciente. O portador tem de ser sólido ou líquido, ou ambos, e é preferivelmente formulado com o composto como uma formulação de dose unitária, por exemplo, uma cápsula, que pode conter de 0,5% a 99% em peso do composto activo. Um ou mais compostos activos podem ser incorporados nas formulações do invento, formulações que podem ser preparadas por meio de qualquer das técnicas farmacêuticas bem conhecidas que consistem essencialmente na mistura dos componentes.

Composições contendo partículas secas respiráveis ou não respiráveis de agente activo micronizado podem ser preparadas por moagem do agente activo seco com um pilão e almofariz, e depois passando a composição micronizada através de um peneiro de 400 mesh para partir ou separar aglomerados grandes.

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

Os compostos activos aqui divulgados podem ser administrados às superfícies das vias respiratórias incluindo as passagens nasais, seios e pulmões de um sujeito por um meio adequado conhecido na arte, tal como por gotas nasais ou nebulização. Também é divulgado que os compostos activos do presente invento são administrados por lavagem trans-broncoscópica. Também é divulgado que os compostos activos do presente invento são depositados nas superfícies das vias respiratórias do pulmão pela administração de uma suspensão de aerossol de partículas respiráveis compostas pelo composto activo, que o sujeito inala. As partículas respiráveis podem ser líquidas ou sólidas. São conhecidos numerosos inaladores para administrar partículas de aerossol para os pulmões de um sujeito.

Podem ser empregues inaladores tais como os desenvolvidos por Inhale Therapeutic Systems, Palo Alto, California, USA, incluindo os divulgados nas Patentes U.S. N.^{os} 5740794; 5654007; 5458135; 5775320; e 5785049. Também podem ser empregues inaladores tais como os desenvolvidos por Dura Pharmaceuticals, Inc., San Diego, California, USA, incluindo os divulgados nas Patentes US N.^{os} 5622166; 5577497; 5645051; e 5492112. Adicionalmente, podem ser empregues inaladores tais como os desenvolvidos por Aradigm Corp., Hayward, California, USA, incluindo os divulgados nas Patentes U.S. N.^{os} 5826570; 5813397; 5819726; e 5655516. Estes dispositivos são particularmente adequados como inaladores de partículas sólidas.

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 U.S. N.^o 4501729. Nebulizadores são dispositivos disponíveis comercialmente que transformam soluções ou suspensões do ingrediente activo numa nebulização de aerossol terapêutico por meio de aceleração de gás comprimido, tipicamente ar ou oxigénio, através de um orifício de venturi estreito ou por meio de agitação ultrassónica. Formulações adequadas para utilização em nebulizadores consistem no ingrediente activo num portador líquido, compreendendo o ingrediente activo até 40% p/p da formulação, mas preferivelmente menos de 20% p/p. O portador é tipicamente água (e muito preferivelmente água estéril, isenta de pirogénios) ou uma solução alcoólica aquosa diluída. Os portadores de perfluorocarboneto também podem ser usados. Aditivos adicionais incluem conservantes se a formulação não é tornada estéril, por exemplo hidróxi-benzoato de metilo, antioxidantes, agentes aromatizantes, óleos voláteis, agentes tamponantes, e tensioactivos.

Aerossóis de partículas sólidas que compreendem o composto activo podem igualmente ser produzidos com qualquer gerador de aerossol de medicamento particulado sólido. Geradores de aerossol para administração de medicamentos particulados sólidos a um sujeito produzem partículas que são respiráveis, como explicado acima, e geram um volume de aerossol contendo uma predeterminada dose calibrada de

medicamento a uma taxa adequada para administração humana. Um tipo ilustrativo de gerador de aerossol particulado sólido é um insuflador. Formulações adequadas para administração por insuflação incluem pós finamente fragmentados que podem ser entregues por meio de um insuflador ou tomados na cavidade nasal como uma pitada. No insuflador, o pó (e.g. uma sua dose calibrada eficaz para levar concretizar os tratamentos aí descritos) está contido em cápsulas ou cartuchos, tipicamente feitos de gelatina ou plástico, que são furados ou abertos *in situ* e o pó entregue por ar impulsionado 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 tipicamente compreende de 0,1 a 100% p/p da formulação. Um segundo tipo ilustrativo de gerador de aerossol compreende um inalador de dose calibrada. Os inaladores de dose calibrada são dispensadores pressurizados de aerossol, tipicamente contendo uma formulação de suspensão ou solução do ingrediente activo num propulsor liquefeito. Durante a utilização, estes dispositivos descarregam a formulação através de uma válvula adaptada para entregar um volume calibrado, tipicamente de 10 a 150 µl, para produzir uma pulverização de partículas finas que contém o ingrediente activo. Propulsores adequados incluem certos compostos de clorofluorocarboneto, por exemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano e suas misturas. 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 líquidas ou sólidas, pode ser produzido pelo gerador de aerossol a uma taxa de cerca de 10 a 150 litros por minuto, mais preferivelmente de 30 a 150 litros por minuto, e muito preferivelmente de cerca de 60 litros por minuto. Aerossóis contendo quantidades maiores de medicamento podem ser administradas mais rapidamente.

A dosagem dos compostos activos aqui divulgados variará dependendo da condição a ser tratada e do estado do sujeito, mas geralmente pode ser de cerca de 0,01, 0,03, 0,05, 0,1 a 1, 5, 10 ou 20 mg do agente farmacêutico, depositado sobre as superfícies das vias respiratórias. A dose diária pode ser dividida entre uma ou múltiplas administrações de dose unitária. O objectivo é conseguir uma concentração dos agentes farmacêuticos nas superfícies das vias respiratórias do pulmão entre 10^{-9} - 10^{-4} M.

Também é divulgado que são administrados pela administração de uma suspensão de aerossol de partículas respiráveis ou não respiráveis (preferivelmente partículas não respiráveis) consistindo em composto activo, que o sujeito inala através do nariz. As partículas respiráveis ou não respiráveis podem ser líquidas ou sólidas. A quantidade de agente activo incluída pode ser uma quantidade suficiente para conseguir concentrações dissolvidas de agente activo nas superfícies das vias respiratórias do sujeito de cerca de 10^{-9} , 10^{-8} ou 10^{-7} a cerca de 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} moles/litro, e mais preferivelmente de cerca de 10^{-9} a cerca de 10^{-4} moles/litro.

A dosagem do composto activo variará dependendo da condição a ser tratada e do estado do sujeito, geralmente pode ser uma quantidade suficiente para conseguir concentrações dissolvidas de composto activo nas superfícies das vias respiratórias nasais do sujeito de cerca de 10^{-9} , 10^{-8} ou 10^{-7} a cerca de 10^{-3} , 10^{-2} , ou 10^{-1} moles/litro, e mais preferivelmente de 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 dose unitária. A dose diária por peso pode variar de 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 correntemente preferida é cerca de 0,5 miligramas do agente activo, dada a um regime de 2-10 administrações por dia. A dosagem pode ser proporcionada como uma unidade pré-embalada através de quaisquer meios adequados (e.g. encapsulamento de uma cápsula de gelatina).

Também é divulgado que a composição de agente activo em partículas pode conter tanto uma base livre do agente activo e um sal farmacêuticamente aceitável para proporcionar tanto uma libertação rápida como uma libertada prolongada do agente activo para dissolução nas secreções de muco do nariz. Uma tal composição serve para proporcionar tanto um alívio rápido para o paciente como um alívio prolongado ao longo do tempo. Espera-se que o alívio sustentado, pela diminuição do número requerido de administrações, aumente a aceitação por parte do paciente com o decurso dos tratamentos com o agente activo.

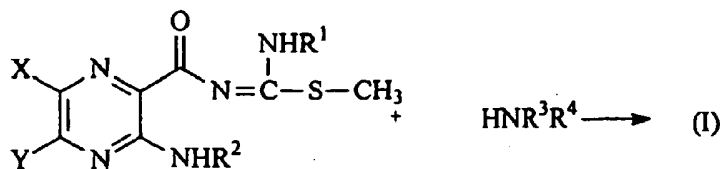
As formulações farmacêuticas adequadas para administração nas vias respiratórias incluem formulações de soluções, emulsões, suspensões e extractos. Ver, em geral, J. Naim, "Solutions, Emulsions, Suspensions and Extracts", in *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, chap. 86 (19th ed., 1995). As formulações farmacêuticas adequadas para administração nasal podem ser preparadas como descrito nas Patentes US N.^{os} 4389393 de Schor; 5707644 de Illum; 4294829 de Suzuki; e 4835142 de Suzuki.

Nebulizações ou aerossóis de partículas líquidas que compreendem o composto activo podem ser produzidos por quaisquer meios adequados, tais como por um simples *spray* nasal com o agente activo num portador aquoso farmacêuticamente aceitável, tal como uma solução salina estéril ou água estéril. A administração pode ser feita por um nebulizador de aerossol accionado por pressão ou por um nebulizador ultrassónico. Ver e.g. Patentes US N.^{os} 4501729 e 5656256. Formulações adequadas para uso em gotas nasais ou botija de *spray* ou em nebulizadores consistem no ingrediente activo num portador líquido, compreendendo o ingrediente activo até 40% p/p da formulação, mas preferivelmente menos de 20% p/p. Tipicamente, o portador é água (e muito preferivelmente água estéril, isenta de pirogénios) ou solução alcoólica aquosa diluída, preferivelmente feita numa solução de cloreto de sódio a 0,12% a 0,8%. Aditivos opcionais incluem conservantes se a formulação não é tornada estéril, por exemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, agentes aromatizantes, óleos voláteis, agentes tamponantes, agentes osmoticamente activos (e.g. manitol, xilitol, eritritol) e tensioactivos.

Composições contendo partículas secas respiráveis ou não respiráveis de agente activo micronizado podem ser preparadas por moagem do agente activo seco com um pilão e almofariz, e depois passando a composição micronizada por um peneiro de 400 mesh para partir ou separar os aglomerados grandes.

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

Os compostos de fórmula (I) podem ser sintetizados de acordo com procedimentos conhecidos na arte. Um procedimento sintético representativo é mostrado no esquema seguinte.



Estes procedimentos são descritos em, por exemplo, E.J. Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and Its Analogs" (Chapter 3) em *Amiloride and Its Analogs*, pp. 25-36. Outros métodos para a preparação dos compostos são descritos em, por exemplo, US 3313813. Ver em particular os métodos A, B, C e D descritos em US 3313813.

Podem ser utilizados vários ensaios para caracterizar os compostos do presente invento. Ensaio representativos são discutidos em seguida.

Medição *in vitro* da actividade e reversibilidade do bloqueio do canal de sódio

Um ensaio utilizado para avaliar o mecanismo de acção e/ou potência dos compostos do presente invento envolve a determinação da inibição lumenal do fármaco das correntes de sódio epiteliais das vias respiratórias medidas sob corrente em curto-circuito (I_{sc}) usando monocamadas epiteliais das vias respiratórias montadas em câmaras Ussing. Células obtidas de

vias respiratórias recém-excisadas de humano, cão, ovelha ou roedor são semeadas sobre Snapwell™ Inserts (CoStar) porosos de 0,4 micron, cultivadas em condições de interface ar-líquido (ALI) em meios hormonalmente definidos, e avaliadas quanto à actividade de transporte de sódio (I_{SC}) enquanto em banho de Krebs Bicarbonate Ringer (KBR) em câmaras Using. Todas as adições de fármaco de teste são feitas no banho lumenal com protocolos de adição de dose semi-logarítmicos (de $1 \times 10^{-11} M$ a $3 \times 10^{-5} M$), e é registada a alteração cumulativa em I_{SC} (inibição). Todos os fármacos são preparados em dimetilsulfóxido como soluções de reserva a uma concentração de $1 \times 10^{-2} M$ e armazenados a $-20^{\circ}C$. Tipicamente são ensaiadas oito preparações em paralelo; duas preparações por ensaio incorporam amilorida e/ou benzamil como controlos positivos. Após ter sido administrada a concentração máxima ($5 \times 10^{-5} M$), o banho lumenal é permutado três vezes com solução KBR fresca e isenta de fármaco, e a resultante I_{SC} medida após cada lavagem de cerca de 5 minutos de duração. A reversibilidade é definida como a percentagem de retorno ao valor de linha de base para a corrente de sódio após a terceira lavagem. Todos os dados dos "voltage clamps" são recolhidos via uma interface de computador e analisados posteriormente.

As relações dose-efeito para todos os compostos são consideradas e analisadas pelo programa Prism 3.0. Os valores de IC_{50} , concentrações eficazes máximas e reversibilidade são calculados e comparados com amilorida e benzamil como controlos positivos.

Ensaio farmacológicos de Absorção

(1) Ensaio de desaparecimento apical

Células bronquiais (células de cão, humano, ovelha ou roedor) são semeadas a uma densidade de $0,25 \times 10^6 / cm^2$ numa membrana porosa Transwell-Col revestida a colagénio com uma área de crescimento de $1,13 cm^2$ e cultivadas numa interface ar-líquido em meios hormonalmente definidos que promovem um epitélio polarizado. De 12 a 20 dias após o desenvolvimento de uma interface ar-líquido (ALI) espera-se que as culturas estejam >90% ciliadas, e que mucinas se tenham acumulado sobre as células. Para assegurar a integridade das preparações

celulares epiteliais das vias respiratórias primárias, são medidas a resistência transepitelial (R_t) e as diferenças de potencial transepitelial (PD), que são indicadores da integridade da natureza polarizada da cultura. Os sistemas celulares humanos são preferidos para estudos de taxas de absorção a partir de superfícies apicais. O ensaio de desaparecimento é conduzido sob condições que imitam os filmes "finos" *in vivo* (~25 μ l) e é iniciado pela adição de bloqueadores experimentais do canal de sódio ou controlos positivos (amilorida, benzamil, fenamil) à superfície apical a uma concentração inicial de 10 μ M. É recolhida uma série de amostras (5 μ l de volume por amostra) a vários pontos no tempo, incluindo 0, 5, 20, 40, 90 e 240 minutos. As concentrações são determinadas pela medição da fluorescência intrínseca de cada bloqueador do canal de sódio usando um fluorómetro Fluorocount Microplate ou HPLC. A análise quantidade emprega uma curva padrão gerada a partir de materiais padrão autênticos de referência, de concentração e pureza conhecidas. A análise dos dados da taxa de desaparecimento é realizada utilizando regressão não linear, decaimento exponencial de uma fase ("Prism V 3.0").

(2) Ensaio microscópico confocal de absorção congénere de amilorida

Virtualmente, todas as moléculas parecidas com amilorida fluorescem na gama dos ultravioletas. Esta propriedade destas moléculas pode ser empregue para medir directamente a actualização celular usando microscopia confocal x-z. Concentrações equimolares de compostos experimentais e controlos positivos incluindo amilorida e compostos que demonstram uma rápida absorção no compartimento celular (benzamil e fenamil) são colocadas na superfície apical de culturas das vias respiratórias na placa do microscópio confocal. Imagens seriais x-z são obtidas com o tempo e a magnitude de fluorescência acumulada no compartimento celular é quantificada e representada como uma variação na fluorescência *versus* tempo.

(3) Ensaaios *in vitro* de metabolismo do composto

As células epiteliais das vias respiratórias possuem a capacidade para metabolizar fármacos durante o processo de

absorção transepitelial. Além disso, embora menos provável, é possível que os fármacos possam ser metabolizados nas superfícies epiteliais das vias respiratórias por actividades ectoenzimáticas específicas. Talvez mais provável como um acontecimento ecto-superficial, os compostos possam ser metabolizados pelas secreções infectadas que ocupam os lúmenes das vias respiratórias dos pacientes com doença pulmonar, e.g. fibrose cística. Assim, é realizada uma série de ensaios para caracterizar o metabolismo do composto que resulta da interacção dos compostos em teste com os epitélios das vias respiratórias humanas e/ou produtos lumenais epiteliais das vias respiratórias humanas.

Na primeira série de ensaios, a interacção dos compostos de teste em KBR como um estimulante de "LSV" é aplicada à superfície apical de células epiteliais de vias respiratórias humanas, cultivadas no sistema de inserção T-Col. Para a maior parte dos compostos, o metabolismo (geração de novas espécies) é testado para utilizar cromatografia líquida de alto rendimento (HPLC) para resolver espécies químicas, e as propriedades endógenas de fluorescência destes compostos para estimar as quantidades relativas do composto de teste e novos metabolitos. Para um ensaio típico, uma solução de teste (25 µl de KBR, contendo 10 µM de composto de teste) é colocada sobre a superfície luminal epitelial. Amostras sequenciais de 5 a 10 µl são obtidas dos compartimentos luminal e serosal para análise por HPLC de (1) a massa de composto de teste que permeia do banho luminal para o serosal, e (2) a formação potencial de metabolitos a partir do composto de origem. EM casos em que as propriedades de fluorescência da molécula de teste não são adequadas para tais caracterizações, usam-se compostos radiomarcados para estes ensaios. A partir dos dados de HPLC, quantificam-se a taxa de desaparecimento e/ou formação de novos compostos de metabolito sobre a superfície luminal e o aparecimento de composto de teste e/ou novo metabolito na solução basolateral. Os dados que relacionam a mobilidade cromatográfica de potenciais novos metabolitos relativamente ao composto de origem são também quantificados.

Para analisar o metabolismo potencial de compostos de teste por expectoração de FC, foi recolhida uma mistura "representativa" de expectoração de FC obtida de 10 pacientes

de FC (sob aprovação IRB). A expectoração foi solubilizada numa mistura 1:5 de solução KBR com agitação vigorosa sob vórtice, após o que a mistura foi repartida numa alíquota "pura" de expectoração e numa alíquota sujeita a ultra-centrifugação de modo a obter uma alíquota "sobrenadante" (pura = celular; sobrenadante = fase líquida). Estudos típicos do metabolismo do composto por expectoração FC envolvem a adição de massas conhecidas de composto de teste à expectoração FC "pura" e alíquotas de expectoração FC "sobrenadante" incubadas a 37°C, seguida de amostragem sequencial de alíquotas de cada tipo de expectoração para caracterização da estabilidade/metabolismo do composto por análise HPLC como descrito acima. Tal como anteriormente, são depois realizadas análises do desaparecimento do composto, taxas de formação de novos metabolitos, e mobilidades por HPLC de novos metabolitos.

(4) Efeitos farmacológicos e mecanismo de acção do fármaco em animais

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

EXEMPLOS

Tendo descrito genericamente este invento, pode ser obtido um entendimento adicional por referência a certos exemplos específicos que aqui são proporcionados com fins de ilustração.

Preparação de bloqueadores do canal de sódio

Materiais e métodos. Todos os reagentes e solventes foram adquiridos em Aldrich Chemical Corp. e usados sem purificação adicional. Os espectros de RMN foram obtidos ou num Bruker WM 360 (^1H RMN a 360 MHz e ^{13}C RMN a 90 MHz) ou num Bruker AC 300 (^1H RMN a 300 MHz e ^{13}C RMN a 75 MHz). A cromatografia instantânea foi realizada num sistema Flash Elute de Elution solução (PO Box 5147, Charlottesville, Virginia 22905) carregado com um cartucho de 90 g de sílica

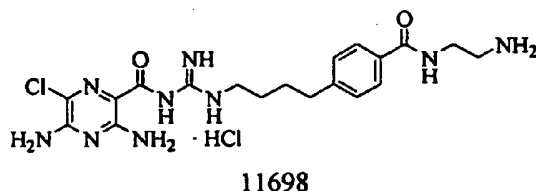
gel (40M FSO-0110-040155, 32-63 μm) a 20 psi (N_2).

A análise GC foi realizada num Shimadzu GC-17 equipado com uma coluna capilar Heliflex (Alltech); Fase: AT-1, Comprimento: 10 metros, ID: 0,53 mm, Filme: 0,25 micrómetros. Parâmetros de GC: Injetor a 320°C, Detector a 320°C, caudal de gás FID: H_2 a 40 ml/min., Ar a 400 ml/min. Gás portador: Split Ratio 16:1, caudal de N_2 a 15 ml/min., velocidade de N_2 a 18 cm/seg. O programa de temperatura é de 70°C durante 0-3 min, 70-300°C durante 3-10 min, 300°C durante 10-15 min.

A análise HPLC foi realizada numa 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% TFA, B = água com 0,1% TFA. Programa de gradiente: 95:5 B:A durante 1 min, depois para 20:80 B:A durante 7 min, depois para 100% A durante 1 min, seguido de lavagem com 100% A durante 11 min, caudal: 1 ml/min.

Exemplo 1

Cloridrato de 4-{4-[N-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]-butil}-N-(2-aminoetil)benzamida (**11698**)



Ácido 4-(4-aminobutil)benzóico (**30**)

Uma solução de hidróxido de sódio (0,69 g, 17,37 mmol) em água (30 mL) foi adicionada a uma solução de **24** (1,2 g, 5,79 mmol) em metanol (30 mL) e agitada a temperatura ambiente durante 48 h. Depois o solvente foi removido sob pressão reduzida. Juntou-se água (20 mL) e o pH foi ajustado a 7 com HCl. O sólido branco precipitado foi removido por filtração, lavado com água e seco sob vácuo. O produto em bruto **30** (1,39 g) foi obtido como um sólido branco e usado no passo seguinte sem purificação adicional.

Ácido 4-(4-benziloxicarbonilaminobutil)benzóico (**31**)

Juntou-se hidrogenocarbonato de sódio (0,95 g, 11,32 mmol) a uma suspensão de **30** em THF (120 mL), seguido de água (10 mL), proporcionando uma solução límpida. Juntou-se depois cloroformato de benzilo (1,21 mL, 8,49 mmol) à mistura reaccional a 0°C. A mistura reaccional foi depois agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi depois removido sob pressão reduzida. Juntou-se acetato de etilo (70 mL) ao resíduo e a solução foi lavada com HCl 2N (2×30 mL) e água (2×50 mL), e depois seca sob vácuo. Obtiveram-se 1,82 g (98%) de **31** como um sólido branco. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,11 (m, 2H), 1,28 (m, 2H), 2,33 (m, 2H), 3,02 (m, 2H), 5,01 (m, 2H), 7,15 (m, 7H), 7,93 (d 2H).

Éster benzílico de ácido 4-[4-(2-*tert*-butoxicarbonilamino-etilcarbamoíl)fenil]butil}carbâmico (**32**)

Adicionou-se *N,N'*-diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) (0,69 g, 3,36 mmol) a uma solução fria (0°C) de diclorometano de **31** (1 g, 3,05 mmol) e 1-hidroxibenzotriazole (HOBt) (0,41 g, 3,05 mmol) sob uma atmosfera de azoto. A mistura reaccional foi depois agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. Formou-se um precipitado branco. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi separado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, diclorometano/acetato de etilo 3:2) para proporcionar **32** (0,9 g, 63%) como um sólido branco. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,70 (m, 11H), 1,94 (m, 2H), 3,23 (m, 2H), 3,72 (m, 2H), 3,82 (m, 2H), 4,08 (m, 2H), 6,19 (s, 2H), 8,61 (m, 1H), 9,04 (m, 7H), 9,61 (d, 2H).

Éster *tert*-butílico de ácido {2-[4-(4-aminobutil)benzoíl-amino]etil}carbâmico (**33**)

Uma suspensão de **32** (0,9 g, 1,92 mmol) com paládio sobre carbono a 10% (0,30 g, húmido) em metanol (50 mL) foi agitada durante 2 h a temperatura ambiente sob pressão atmosférica de hidrogénio. A mistura foi depois filtrada através de uma almofada de sílica gel. O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio

concentrado 6:1:0,1) para proporcionar **33** (0,405 g, 63%) como um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,08 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,58 (m, 2H), 2,52 (m, 2H), 3,28 (m, 2H), 6,91 (m, 1H), 7,27 (d, 2H), 7,74 (d, 2H), 8,39 (m, 1H).

Éster *tert*-butílico de ácido [2-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}benzoílamino)etil]-carbâmico (**34**)

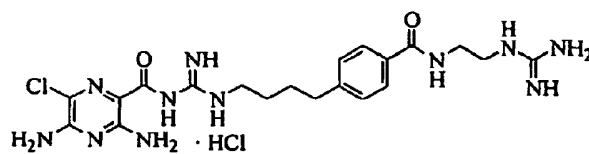
Iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoí)-2-metilisotioureia (0,32 g, 0,82 mmol) e trietilamina (0,27 mL, 1,64 mmol) foram adicionados sequencialmente a uma solução de **33** (0,39 g, 0,82 mmol) em 5 mL de metanol. A mistura reaccional foi agitada no solvente ebuliente durante 2 h. O solvente foi evaporado e o resíduo foi separado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio concentrado 6:1:0,1) para proporcionar **34** (0,39 g, 62%) como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,07 (t, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,52 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,66 (m, 2H), 3,10 (m, 2H), 3,28 (m, 2H), 4,39 (m, 1H), 6,65 (br s, 1H), 6,94 (m, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,75 (d, 2H), 8,49 (m, 1H). m/z (APCI) = 548 [$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{ClN}_9\text{O}_4 + \text{H}$]⁺.

Cloridrato de *N*-(2-aminoetil)-4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}benzamida (**35** (**11698**))

A solução de **34** (0,104 g, 0,19 mmol) numa mistura de metanol/HCl (1:1, 8 mL) foi agitada a temperatura ambiente durante 0,5 h; depois o solvente foi completamente evaporado, proporcionando 0,099 g (100%) de **35** como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,60 (m, 4H), 2,69 (m, 2H), 2,98 (m, 2H), 3,33 (m, 2H), 3,52 (m, 2H), 7,32 (d, 2H), 7,90 (d, 2H), 8,23 (br s, 2H), 8,82 (m, 1H), 8,90 (br s, 1H), 9,02 (br s, 1H), 9,37 (m, 1H), 10,57 (s, 1H). m/z (APCI) = 448 [$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{ClN}_9\text{O}_2 + \text{H}$]⁺.

Exemplo 2

Cloridrato de 4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}-*N*-(2-guanidinoetil)benzamida (**11834**)



11834

4-{4-[*N'*-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}-*N*-[2-*N''*,*N'''*-di-(butiloxicarbonilguanidinoetil)]-benzamida (**36**)

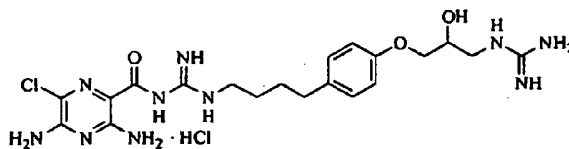
Adicionou-se trietilamina (0,34 mL, 2,44 mmol) a uma suspensão de **35** em metanol (25 mL). A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 20 min; tempo em que a suspensão se tornou uma solução límpida. Juntou-se *N,N'*-di-(*tert*-butoxicarbonil)-*N''*-trifluorometanossulfonilguanidina (reagente de Goodman) (0,193 g, 0,489 mmol) à reacção. A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 6 h adicionais, após o que o solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio concentrado 6:1:0,1) para proporcionar **36** (0,18 g, 80%) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,40 (s, 9H), 1,47 (s, 9H), 1,52 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 3,18 (br s, 2H), 3,40 (m, 2H), 3,49 (m, 2H), 6,77 (br s, 2H), 7,30 (d, 2H), 7,75 (d, 2H), 8,50 (br s, 2H).

Cloridrato de 4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]butil}-*N*-(2-guanidino-etil)benzamida (**37** (**11834**))

A solução de **36** (0,155 g, 0,22 mmol) numa mistura of metanol/HCl (1:1, 4 mL) foi agitada a temperatura ambiente durante 2 h, depois o solvente foi evaporado e o resíduo seco sob vácuo para proporcionar 0,126 g (100%) de **37** como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,54 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 3,35 (br s, 4H), 7,32 (d, 2H), 7,90 (d, 2H), 8,79 (m, 1H), 8,92 (br s, 1H), 8,90 (br s, 1H), 9,02 (br s, 1H), 9,37 (m, 1H), 10,57 (s, 1H). *m/z* (APCI) = 490 [C₂₀H₂₈ClN₁₁O₂ + H]⁺.

Exemplo 3

Cloridrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-{4-[4-(3-guanidino-2-hidroxipropoxi)fenil]butil}guanidina (**11975**)

**11975**

A síntese de éster benzílico de ácido [4-(4-aliloxifenil)butil]carbâmico (**38**) foi descrita nos detalhes experimentais anteriormente proporcionados (como composto **30**).

Éster benzílico de ácido [4-(4-oxiranilmetoxifenil)butil]carbâmico (**39**)

Adicionou-se ácido 3-cloro-peroxibenzóico (2,46 g, 14,25 mmol) a uma solução de diclorometano (100 mL) de **38** (1,86 g, 5,48 mmol), e a reacção foi agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. Posteriormente, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, diclorometano/hexano/acetato de etilo 8:1:1). Para eliminar a mistura com ácido benzóico, a solução de diclorometano do produto foi sequencialmente lavada com uma solução aquosa saturada de hidrogenocarbonato de sódio e água, depois seca sobre sulfato de sódio anidro e evaporada para proporcionar 1,4 g (72%) de **39** como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,57 (m, 4H), 2,56 (m, 2H), 2,78 (m, 1H), 2,91 (m, 1H), 3,21 (m, 2H), 3,36 (m, 1H), 3,97 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 5,08 (s, 2H), 6,82 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,72 (s, 5H).

Éster benzílico de ácido {4-[4-(3-amino-2-hidroxipropoxi)fenil]butil}carbâmico (**40**)

Uma solução etanólica de **39** (0,86 g, 2,42 mmol) foi saturada com amoníaco e agitada de um dia para o outro a temperatura ambiente. O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio concentrado 6:1:0,1) para proporcionar **40** (0,75 g, 87%) como

um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,40 (m, 2H), 1,51 (m, 2H), 2,50 (m, 2H), 2,58 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 3,00 (m, 2H), 3,69 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 5,08 (s, 2H), 6,82 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,35 (br s, 5H).

Éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(3-*tert*-butoxicarbonil-amino-2-hidroxipropoxi)fenil]butil}carbâmico (**41**)

O composto **41** foi preparado de modo similar ao da síntese do composto **25**, partindo do composto **40** (0,75 g, 2,03 mmol). Foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, hexano/acetato de etilo 2:1) como um sólido branco (0,8 g, 83%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H), 1,57 (m, 4H), 2,58 (m, 2H), 3,20 (m, 2H), 3,31 (m, 2H), 3,94 (m, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,73 (br s, 1H), 5,00 (br s, 1H), 5,10 (s, 2H), 6,81 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,35 (br s, 5H).

Éster *tert*-butílico de ácido {3-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-2-hidroxipropil}carbâmico (**42**)

Uma suspensão de **41** (0,8 g, 1,69 mmol) com paládio sobre carbono a 10% (0,40 g, húmido) em metanol (30 mL) foi agitada durante 3 h a temperatura ambiente sob pressão atmosférica de hidrogénio. A mistura foi depois filtrada através de uma almofada de sílica gel; o solvente foi evaporado para proporcionar **42** (0,705 g, 99%) como um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H), 1,55 (m, 4H), 2,58 (m, 4H), 2,71 (m, 2H), 3,29 (m, 1H), 3,45 (m, 2H), 3,92 (m, 2H), 4,10 (br s, 1H), 5,10 (br s, 1H), 6,81 (d, 2H), 7,08 (d, 2H).

Éster *tert*-butílico de ácido [3-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)-2-hidroxi-propil]carbâmico (**43**)

O composto **43** foi preparado de modo similar ao da síntese do composto **29**, partindo do composto **42** (0,46 g, 1,36 mmol). Foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio concentrado 6:1:0,1) como um sólido amarelo (0,37 g, 57%). ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,38 (s, 9H), 1,58 (br s, 4H), 2,55 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 3,08 (m, 2H), 3,33 (m, 2H), 3,82 (m, 3H), 5,13 (br s, 1H), 6,85 (d, 2H), 7,10 (d, 2H), 7,46 (br s, 2H).

N-{4-[4-(4-Amino-2-hidroxipropoxi)fenil]butil}-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (**44**)

A base livre do composto **44** foi preparada de modo similar ao da síntese do composto **28**, partindo do composto **43** (0,18 g, 0,33 mmol) e purificada por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio concentrado 2:1:0,1) para proporcionar a base livre do produto como um sólido amarelo. Foi depois tratado com HCl a 3%. O solvente foi evaporado, e o resíduo foi seco sob vácuo para gerar 0,125 g (73%) de **44**. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,58 (br s, 4H), 2,55 (m, 2H), 2,84 (br s, 1H), 3,03 (br s, 1H), 3,34 (br s, 2H), 3,94 (m, 2H), 5,13 (br s, 1H), 6,85 (d, 2H), 7,13 (d, 2H), 8,13 (br s, 2H), 8,90 (br s, 1H), 9,00 (br s, 1H), 9,34 (br s, 1H), 10,56 (s, 1H).

N-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-{4-[4-(3-(*N''*,*N'''*-di-*tert*-butiloxicarbonil)guanidino)-2-hidroxipropoxi)fenil]-butil}-guanidina (**45**)

Juntou-se trietilamina (0,30 mL, 2,14 mmol) a uma solução de **44** em metanol (10 mL) seguindo-se a adição de *N,N'*-di-(*tert*-butoxicarbonil)-*N''*-trifluorometanossulfonil-guanidina (reagente de Goodman) (0,169 g, 0,4295 mmol). A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 2 h. Depois, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/etanol/hidróxido de amónio concentrado 6:1:0,1) para proporcionar **45** (0,154 g, 78%) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,47 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 1,66 (br s, 4H), 2,58 (m, 2H), 3,23 (br s, 2H), 3,48 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 3,95 (m, 2H), 4,09 (m, 1H), 6,88 (d, 2H), 7,10 (d, 2H).

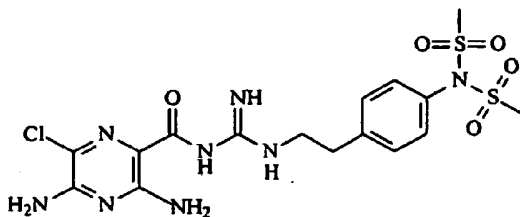
Cloridrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-{4-[4-(3-guanidino-2-hidroxipropoxi)fenil]butil}guanidina (**46**)

Uma solução de **45** (0,134 g, 0,19 mmol) em ácido clorídrico concentrado foi agitada a temperatura ambiente durante 0,5 h. O solvente foi depois evaporado e o resíduo seco sob vácuo para proporcionar 0,108 g (99%) de **46** como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,60 (br s, 4H),

2,52 (br s, 1H), 3,28 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 4,91 (s, 2H), 6,88 (d, 2H), 7,12 (d, 2H), 7,79 (m, 1H), 8,92 (br s, 1H), 9,03 (br s, 1H), 9,37 (m, 1H), 10,57 (s, 1H). m/z (APCI) = 493 $[C_{20}H_{29}ClN_{10}O_3 + H]^+$.

Exemplo 4

N-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-[4-(4-bis-(metanossulfonil)aminofenil)butil]guanidina (**10316**)



10316

Éster *tert*-butílico de ácido [4-(4-nitrofenil)but-3-inil]-carbâmico (**51**)

A uma mistura de THF anidro e trietilamina (20 mL, 1/1) foram adicionados sequencialmente 1-iodo-4-nitrobenzene (2,0 g, 8,032 mmol) e iodeto de cobre(I) (0,31 g, 1,606 mmol). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 15 min. O frasco foi evacuado e cheio de novo com árgon quatro vezes para assegurar que não restava oxigénio. O catalisador, diclorobis(trifenilfosfina)-paládio(II) (0,56 g, 0803 mmol) foi adicionado à mistura sob protecção de árgon, seguido de adição gota a gota de éster *tert*-butílico de ácido but-3-inil-carbâmico (1,62 g, 9,638 mmol). A nova mistura reaccional formada foi agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. O sólido na mistura reaccional foi filtrado a vácuo. O filtrado foi concentrado. O resíduo foi redissolvido em diclorometano e purificado por cromatografia em coluna, eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-10%) e hexanos (100-90%) para proporcionar 2,08 g (89%) do produto **51** como um sólido laranja. ^1H RMN ($CDCl_3$) δ 1,46 (s, 9H), 2,66 (t, $J=6,5$ Hz, 2H), 3,36-3,43 (m, 2H), 4,86 (br s, 1H), 7,53 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 8,16 (d, $J=8,7$ Hz, 2H). m/z (APCI) = 291 $[C_{15}H_{18}N_2O_4 + H]^+$, 191 $[C_{15}H_{18}N_2O_4 - Boc + H]^+$.

Éster *tert*-butílico de ácido [4-(4-aminofenil)butil]carbâmico (**52**)

A uma solução de composto **51** (2,01 g, 6,923 mmol) em etanol (50 mL) juntou-se paládio sobre carbono a 10% (737 mg, húmido) numa porção sob protecção de árgon. O frasco foi evacuado e cheio novamente com árgon três vezes (para remoção de oxigénio), e a mistura agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro sob uma atmosfera de hidrogénio. O sistema reaccional foi depois purgado com azoto e o catalisador foi filtrado sob vácuo e lavado com etanol (2×5 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-25%) e hexanos (100-75%), para proporcionar 1,75 g (96%) do produto **52** como um óleo viscoso incolor. ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,44 (s, 9H), 1,47-1,64 (m, 4H), 2,50 (t, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,08-3,14 (m, 2H), 3,57 (br s, 2H), 4,55 (br s, 1H), 6,62 (d, $J=8,2$ Hz, 2H), 6,95 (d, $J=8,2$ Hz, 2H). m/z (APCI) = 265 [$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 + \text{H}$] $^+$.

Éster *tert*-butílico de ácido 4-{4-[bis(metanossulfonil)-amino]fenil}butilcarbâmico (**53**)

O composto **52** (0,16 g, 0,605 mmol) foi dissolvido em THF anidro (5 mL). À solução límpida juntaram-se sequencialmente trietilamina (0,18 mL, 1,21 mmol) e 4-dimetilaminopiridina (15 mg, 0,121 mmol). A mistura foi arrefecida a cerca de -10°C durante 15 min com um banho de metanol-gelo. À solução fria foi adicionado lentamente cloreto de metanossulfonilo (51 μL). A solução foi ainda agitada a essa temperatura (cerca de -10°C) durante mais 30 min, depois deixada aquecer lentamente até temperatura ambiente por remoção do banho arrefecedor. A mistura reaccional foi concentrada sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-35%) e hexanos (100-65%), para gerar 0,212 g (83%) do produto **53** como um sólido branco. ^1H RMN (CDCl_3) δ 1,44 (s, 9H), 1,52-1,70 (m, 4H), 2,68 (t, $J=7,4$ Hz, 2H), 3,13-3,18 (m, 2H), 3,40 (s, 6H), 4,53 (br s, 1H), 7,27 (s, 4H). m/z (APCI) = 321 [$\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2 - \text{Boc} + \text{H}$] $^+$.

4-[4-Bis(metanossulfonil)amino]fenil]butilamina (**54**)

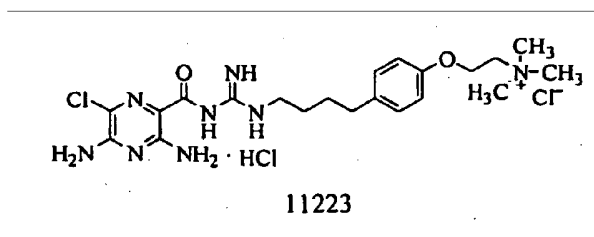
Uma solução do composto **53** (0,21 g, 0,499 mmol) dissolvido em diclorometano (10 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (1 mL) a temperatura ambiente durante 2 horas, e depois concentrada sob vácuo. O resíduo foi tomado em metanol (2 mL), e de novo concentrado sob pressão reduzida. Repetiu-se o procedimento três vezes para assegurar que nenhum ácido trifluoroacético residual restava. O produto foi seco completamente sob vácuo, e usado directamente na reacção seguinte sem purificação adicional. Foram obtidos 0,196 g (100%) do composto **54** como um óleo viscoso incolor. ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 1,50-1,72 (m, 4H), 2,65 (t, $J=7,4$ Hz, 2H), 2,84-2,89 (m, 2H), 3,51 (s, 6H), 7,33 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 7,42 (d, $J=8,3$ Hz, 2H). m/z (APCI) = 321 [$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2 + \text{H}$] $^+$.

N-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-[4-(4-bis(metanossulfonil)aminofenil)butil]guanidina (**55**, **10316**)

O composto **54** (0,095 g, 0,296 mmol) foi misturado com etanol (5 mL). a mistura foi aquecida a 65°C durante 15 min para conseguir uma dissolução completa. À solução límpida foram adicionados sequencialmente diisopropiletilamina (0,26 mL, 1,48 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoil)-2-metilisotioureia (0,127 g, 0,326 mmol). A mistura foi aquecida à mesma temperatura durante 1,5 horas adicionais, e subsequentemente concentrada sob vácuo. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de hidróxido de amónio concentrado (0-1%), metanol (0-10%) e diclorometano (100-89%), para proporcionar 0,113 g (72%) do produto **55** como um sólido amarelo claro. Pf. 174-176°C (decomposto). ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 1,48-1,68 (m, 4H), 2,64-2,69 (m, 2H), 3,12-3,25 (m, 2H), 3,51 (s, 6H), 6,65-6,78 (br s, 3H), 7,31 (d, $J=8,2$ Hz, 2H), 7,41 (d, $J=8,2$ Hz, 2H), 9,05 (br s, 2H). m/z (APCI) = 533 [$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{ClN}_8\text{O}_5\text{S}_2 + \text{H}$] $^+$.

Exemplo 5

Cloridrato de N-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-{4-[4-(2-clorotrimetilamónio)etoxifenil]butil}guanidina (**11223**)



Éster benzílico de ácido {4-[4-(2-dimetilaminoetoxi)fenil]-butil}carbâmico (**62**)

Uma mistura de éster benzílico de ácido [4-(4-hidroxifenil)butil]carbâmico (1,5 g, 5 mmol), cloridrato de 2-dimetilaminocloroetano (1,4 g, 10 mmol), carbonato de potássio (2,76 g, 20 mmol) e éter de 18-coroa-6 (154 mg, 0,58 mmol) foi agitada a 80°C (banho de óleo) durante 18 h. Após este tempo, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado 10:1:0,1) para proporcionar **62** (1,1 g, 61%) como um sólido branco. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,56 (m, 4H), 2,32 (s, 6H), 2,56 (m, 2H), 2,71 (t, 2H), 3,18 (m, 2H), 4,04 (t, 2H), 4,78 (br s, 1H), 5,08 (s, 2H), 6,83 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,35 (m, 5H).

4-[4-(2-Dimetilaminoetoxi)fenil]butilamina (**63**)

A amina protegida **62** (0,552 g, 1,5 mmol) foi agitada com paládio sobre carbono a 10% (0,127 g, húmido) em metanol (50 mL) a temperatura ambiente durante 3,5 h sob hidrogénio (1 atm). Após este tempo, o catalisador foi removido por filtração e o solvente foi removido sob pressão reduzida para originar a amina livre **63** (0,27 g, 77%) como um pó branco. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,55 (m, 4H), 2,32 (s, 6H), 2,54 (m, 2H), 2,75 (m, 2H), 4,02 (m, 2H), 6,78 (d, 2H), 7,08 (d, 2H).

1-*tert*-Butiloxicarbonil-3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (**64**)

Adicionou-se 4-dimetilaminopiridina (87 mg, 0,7 mmol) a uma solução agitada de dicarbonato de di-*tert*-butilo (0,8 g, 3,6 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoí)l)-2-metilisotioureia (1,14 g, 0,5 mmol) em THF/trietilamina (62 mL, 30/1). A mistura reaccional foi depois agitada a

temperatura ambiente durante 48 h. Após este tempo, o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, 1:1 acetato de etilo/hexanos) para proporcionar a isotiourea protegida **64** (0,34 g, 32%) como um pó amarelo. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,51 (s, 9H), 2,30 (s, 3H), 7,40 (br s, 4H).

N-tert-Butiloxicarbonil-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N''*'-{4-[4-(2-dimetilaminoetoxi)fenil]butil}-guanidina (**65**)

Uma suspensão do composto **63** (0,22 g, 0,93 mmol) e **64** (0,33 g, 0,92 mmol) em THF/trietilamina (11 mL, 10/1) foi agitada a temperatura ambiente durante 48 h. Após este tempo, formou-se uma solução límpida. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado 10:1:0,1) para gerar a guanidina **65** (0,3 g, 60%) como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,42 (s, 9H), 1,55 (m, 4H), 2,19 (s, 6H), 2,58 (m, 4H), 3,99 (m, 2H), 6,83 (d, 2H), 7,12 (d, 2H), 7,40 (br s, 2H), 9,02 (m, 2H).

N-tert-Butiloxicarbonil-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N''*'-{4-[4-(2-iodotrimetilamónioetoxi)fenil]butil}-guanidina (**66**)

Juntou-se iodometano (30 μL , 0,49 mmol) a uma suspensão de **65** (0,29 g, 0,52 mmol) em THF (50 mL). A mistura foi agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. Após este tempo, juntou-se THF adicional (7 mL) e a agitação foi mantida durante 2 dias para gerar uma solução límpida. O solvente da solução resultante foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi lavado com THF (2 $\times$ 5 mL) e seco para proporcionar o sal **66** (0,22 g, 32%) como um pó amarelo. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,42 (s, 9H), 1,56 (m, 4H), 2,58 (m, 2H), 3,15 (s, 9H), 3,75 (m, 2H), 4,42 (m, 2H), 6,92 (d, 2H), 7,18 (d, 2H), 7,36 (br s, 2H), 9,02 (m, 1H).

Cloreto de [2-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etil]trimetilamónio (**67**, **11223**)

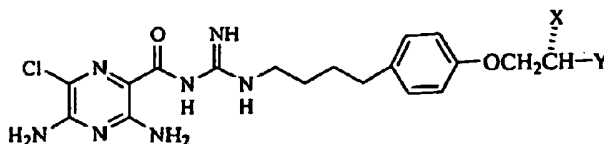
Juntou-se ácido trifluoroacético (2 mL) à guanidina protegida **66** (0,092 g, 0,13 mmol). A mistura reaccional foi

agitada a temperatura ambiente durante 15 min. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi lavado com acetato de etilo (2×1 mL) e seco sob vácuo. O sólido seco obtido foi tratado com uma solução aquosa de hidróxido de amónio (15%, 1 mL). O precipitado formado foi recolhido por centrifugação e lavado com água fria (1 mL). O sólido remanescente foi dissolvido em ácido clorídrico a 10%, e o solvente foi depois removido sob pressão reduzida. O sólido amarelo resultante foi seco sob vácuo para proporcionar o composto **67** (0,055 g, 82%). ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,68 (br s, 4H), 2,65 (m, 2H), 3,35 (m, 2H), 3,83 (m, 2H), 4,46 (m, 2H), 4,95 (s, 9H), 6,96 (d, 2H), 7,18 (d, 2H), 9,25 (br s, 1H). m/z (APCI) = 499 [$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_8\text{O}_2 + \text{H}$] $^+$.

Actividade de bloqueio do canal de sódio

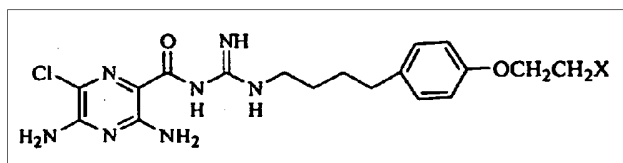
Os compostos mostrados nas Tabelas seguintes foram testados quanto à potência em epitélios brônquicos caninos usando o ensaio *in vitro* descrito acima. Também se testou amilorida neste ensaio como controlo positivo. Os resultados para os compostos do presente invento são reportados como valores do número de vezes melhor que a amilorida.

Exemplo 6



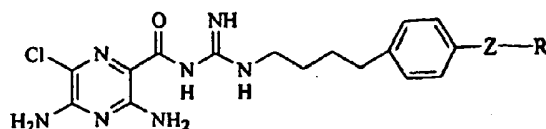
X=	Y=	Nº Vezes melhor que amilorida*
-NHCO ₂ +	-CO ₂ CH ₃	29,4 ± 10 (5)
I I INH ₂	-CO ₂ H	17,2 ± 5,8 (4)
I I I NH ₂	-CO ₂ CH ₃	21,1 ± 14,1 (2)
I I I I NH ₂	-CONH ₂	

* Potência relativa para amilorida = 665 nM.
 ** Potência relativa para CF552 = 100 usando IC₅₀ de 552 no mesmo ensaio.
 *** 3ª Lavagem
 (a) Base de dados antiga
 (b) ND = Não disponível
 (c) 1 de 5 é desvio elevado (252)

Exemplo 7

X=	Nº Vezes melhor que amilorida*
$N(CH_3)_2$	$25,3 \pm 2,3$ (3)
$N^+(CH_3)_3$	$39,4 \pm 0,3$ (2)

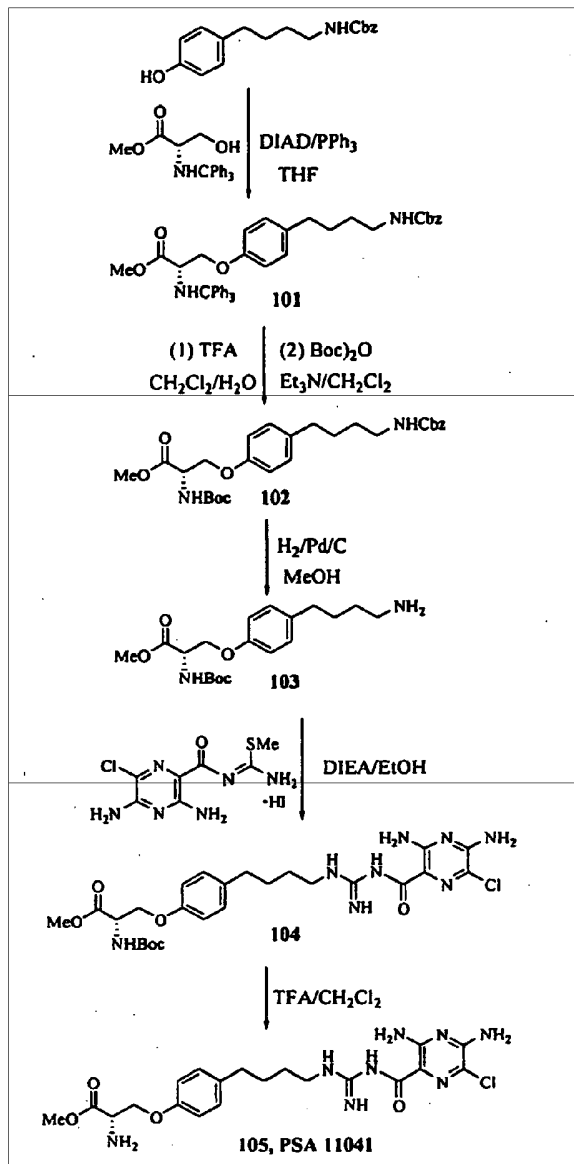
* Potência relativa para amilorida = 665 nM.
 ** Potência relativa para CF552 = 100 usando IC₅₀ de 552 no mesmo ensaio.
 *** 3ª lavagem
 a Guanidinina é acilada

Exemplo 8

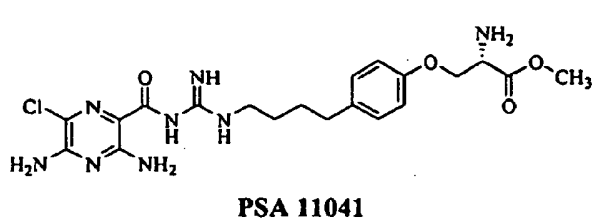
<u>R=\Z=</u>		NH (C=O) CH ₂ CH ₂ R
NH ₂		
X amilorida	$86,2 \pm 30,1$	170
<u>R=\Z=</u>		
X amilorida	$182,3 \pm 106,3$ (12)	$139,7 \pm 62,4$

Exemplo 9

Esquema 1. Síntese de PSA 11041



Síntese de éster metílico de ácido 2-amino-3-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)-propiónico (PSA **11041**)



Éster metílico de ácido 3-[4-(4-benziloxicarbonilaminobutil)fenoxi]-2-(tritolamino)propiónico (**1**)

Éster metílico de *N*-tritol-*L*-serina (1,60 g, 5,34 mmol) comercialmente disponível foi combinado com trifetilfosfina (1,28 g, 4,88 mmol) e éster benzílico de ácido [4-(4-hidroxifenil)butil]carbâmico (2,0 g, 6,68 mmol) em benzeno (40 mL) a temperatura ambiente. Azodicarboxilato de diisopropilo (0,958 mL, 4,86 mmol) foi adicionado gota a gota e a reacção foi agitada durante 14 dias. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, eluente: diclorometano/acetato de etilo 6:1, v/v) para proporcionar o composto **101** (2,22 g, 51%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7,52 (m, 6H), 7,39–7,14 (m, 14H), 7,06 (d, 2H), 6,79 (d, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,72 (m, 1H), 4,24 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 3,18 (m, 2H), 2,88 (d, 1H), 2,57 (m, 2H), 1,66–1,48 (m, 4H). R_f = 0,91 (diclorometano/acetato de etilo 5:1 v/v).

Éster metílico de ácido 3-[4-(4-benziloxicarbonilaminobutil)fenoxi]-2-*tert*-butoxicarbonilamino-propiónico (**102**)

O composto **101** (2,22 g, 3,45 mmol) foi dissolvido numa mistura de diclorometano/água (25 mL/0,5 mL) e depois juntou-se ácido trifluoroacético (0,75 mL, 10,0 mmol) e a reacção foi agitada durante 2 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido em diclorometano (25 mL) e tratado com trietilamina (0,72 mL, 5,12 mmol) e dicarbonato de di-*tert*-butilo (0,829 g, 3,79 mmol) durante 72 h. A remoção dos solventes sob pressão reduzida seguida de cromatografia em coluna (sílica gel, eluente: diclorometano/acetato de etilo 9:1, v/v) proporcionou o composto **102** (0,90 g, 52%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7,34 (m, 5H), 7,07 (d, 2H), 6,79 (d, 2H), 5,50 (d, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,68 (m, 2H), 4,38 (m, 1H), 4,17 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,20 (m, 2H), 2,57 (m, 2H), 1,67–1,48 (m, 4H), 1,45 (s, 9H). m/z (APCI) 401 $[\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_7 - \text{Boc} + \text{H}]^+$.

Éster metílico de ácido 3-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-2-*tert*-butoxicarbonilaminopropiónico (**103**)

O composto **102** (505 mg, 1,00 mmol) foi dissolvido em metanol (20 mL) e juntou-se paládio sobre carbono a 10% (100 mg). O frasco foi evacuado, cheio com hidrogénio gás até pressão de balão e agitou-se de um dia para o outro. A filtração através de celite para remover o catalisador seguida da remoção do solvente sob pressão reduzida originou o composto **103** (366 mg, 98%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 7,08 (d, 2H), 6,80 (d, 2H), 5,51 (d, 1H), 4,66 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,17 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,73 (m, 2H), 2,58 (m, 2H), 1,90 (br s, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,48 (s, 9H).

Éster metílico de ácido 2-*tert*-butoxicarbonilamino-3-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}-fenoxi)propiónico (**104**)

O composto **103** (366 mg, 0,99 mmol) foi dissolvido em etanol (8 mL) e depois juntaram-se diisopropiletilamina (0,86 mL, 4,9 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-metil-isotiourea (407 mg, 1,04 mmol) e a reacção foi aquecida a 65°C durante 1,5 h. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em coluna (sílica gel, eluente: diclorometano/metanol/hidróxido de amónio conc. 90:10:1, v/v) para proporcionar o composto **104** (215 mg, 37%). ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,13 (m, 1H), 8,89 (m, 1H), 8,70 (m, 1H), 7,45 (m, 4H), 7,13 (d, 2H), 6,85 (d, 2H), 4,43 (m, 1H), 4,17 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,30 (m, 2H), 2,90 (m, 1H), 2,56 (m, 2H), 1,58 (m, 4H), 1,40 (s, 9H). m/z (APCI) 579 [$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{ClN}_8\text{O}_6 + \text{H}$] $^+$. R_f = 0,65 (diclorometano/metanol/hidróxido de amónio conc. 85:15:1).

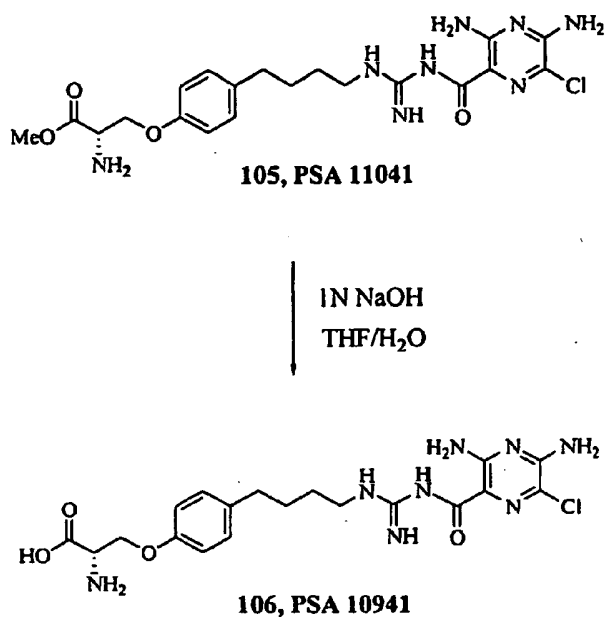
Éster metílico de ácido 2-amino-3-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)propiónico (**105**, PSA 11041)

O composto **104** (40 mg, 0,069 mmol) foi dissolvido em diclorometano (3 mL) e tratado com ácido trifluoroacético (1.5 mL) durante 30 min. A remoção dos solventes sob pressão reduzida seguida de cromatografia em coluna (sílica gel, eluente: diclorometano/metanol/hidróxido de amónio conc. 85:15:1, v/v) proporcionou o composto **105** (28 mg, 84%). ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,06 (m, 1H), 7,11 (d, 2H), 6,82 (m, 4H), 4,06 (m, 2H), 3,74 (m, 1H), 3,65 (br s, 3H), 3,17 (m,

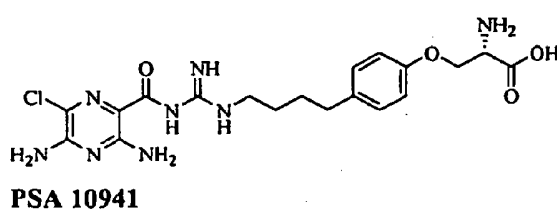
2H), 2,55 (m, 2H), 1,55 (m, 4H). m/z (APCI) 479 [$C_{20}H_{27}ClN_8O_4 + H$]⁺. $R_f = 0,46$ (diclorometano/metanol/hidróxido de amónio conc. 85:15:1).

Exemplo 10

Esquema 2. Síntese de PSA 10941



Síntese de ácido 2-amino-3-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)propiónico (60, PSA 10941)

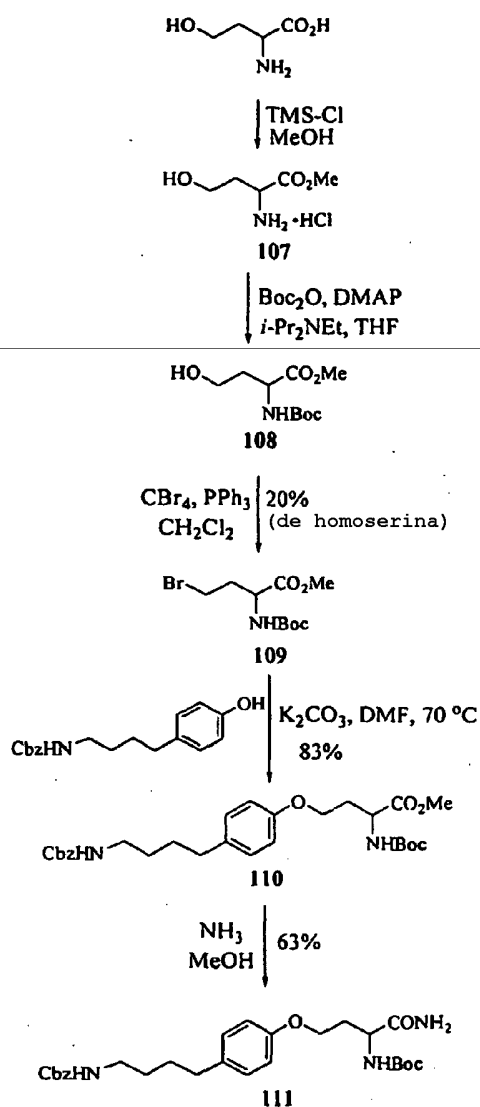


O composto **105** (175 mg, 0,302 mmol) foi dissolvido numa mistura de tetra-hidrofurano/água (5 mL/2,5 mL) e tratado com NaOH 1N (0,75 mL, 0,75 mmol) durante 1 h. Os solventes foram removidos sob pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido numa quantidade mínima de água, tratado com HCl 2N para precipitar o produto e depois filtrado para recolher o

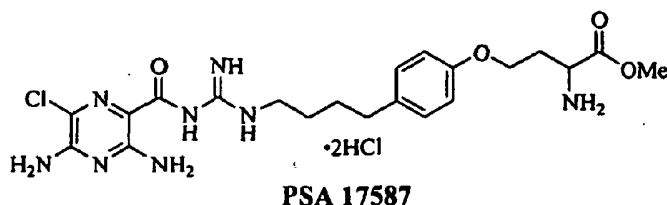
produto. O sólido foi suspenso em diclorometano (3 mL) e tratado com ácido trifluoroacético (3 mL) durante 1 h. A remoção dos solventes sob pressão reduzida seguida de cromatografia em coluna (sílica gel, eluente: diclorometano/metanol/hidróxido de amónio conc. 80:20:1, v/v no início e depois para 6:3:1, v/v para obter o produto) proporcionou o composto **106** (70 mg, 49%). ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,78 (br m, 4H), 7,13 (d, 2H), 6,88 (d, 2H), 6,67 (m, 2H), 4,28 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 3,16 (m, 2H), 2,56 (m, 2H), 1,55 (m, 4H). m/z (APCI) 465 $[\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{ClN}_8\text{O}_4 + \text{H}]^+$.

Exemplo 11

Esquema 3. Síntese de PSA 17587 e PSA 17588



Síntese de cloridrato de éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)butírico (PSA **17587**)



Cloridrato de éster metílico de ácido 2-amino-4-hidroxi-butírico (**70**)

Uma suspensão de *DL*-homoserina (1,00 g, 8,39 mmol) em metanol (40 mL) foi colocada num banho de gelo. Juntou-se cloreto de trimetilsililo (2,34 mL, 18,5 mmol) gota a gota via seringa. A mistura reaccional tornou-se gradualmente homogénea e foi agitada a T.A. durante 14 h, concentrada por evaporação rotativa e seca adicionalmente sob vácuo elevado. O óleo em bruto assim obtido foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 2,00–2,24 (m, 2H), 3,70–3,80 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 4,12–4,22 (m, 1H). m/z (ESI) 134 [$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_3 + \text{H}$] $^+$.

Éster metílico de ácido 2-*tert*-butoxicarbonilamino-4-hidroxibutírico (**80**)

Suspendeu-se cloridrato de éster metílico de ácido 2-amino-4-hidroxibutírico (**70**) em THF anidro (15 mL) e colocou-se num banho de gelo. Juntou-se diisopropiletilamina (2,92 mL, 16,8 mmol) via seringa, seguido da adição de DMAP (205 mg, 1,68 mmol) e Boc_2O (3,85 g, 17,6 mmol). A mistura foi agitada a 0°C durante 10 min e a temperatura ambiente durante 14 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo tomado em acetato de etilo (100 mL), lavado com água (2×30 mL) e salmoura (40 mL), seco sobre sulfato de sódio, e concentrado. O óleo incolor (1,96 g) foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H), 2,05–2,28 (m, 2H), 3,68–3,75 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 4,08–4,15 (m, 1H), 5,30–5,41 (m, 1H). m/z (ESI) 234 [$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{NO}_5 + \text{H}$] $^+$.

Éster metílico de ácido 4-bromo-2-*tert*-butoxicarbonilamino-butírico (**90**)

Uma solução de trifenilfosfina (2,20 g, 8,39 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL) foi adicionada gota a gota via seringa a uma solução de éster metílico de *N*-Boc homo-serina **80** (8,39 mmol) e tetrabrometo de carbono (4,18 g, 12,60 mmol) em CH₂Cl₂ seco (20 mL). A solução escura resultante foi agitada a temperatura ambiente durante 16 h. Juntaram-se hexanos e os precipitados foram removidos por filtração de sucção. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e sujeito a cromatografia instantânea em coluna de sílica gel usando acetato de etilo/hexanos (1:10, v/v depois 1:6, v/v) para dar o produto desejado **90** como um óleo amarelo (501 mg, 20% de rendimento global a partir de homo-serina). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,45 (s, 9H), 2,12-2,48 (m, 2H), 3,39-3,47 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 4,33-4,48 (m, 1H), 5,10-5,22 (m, 1H). *m/z* (ESI) 296 [C₁₀H₁₈BrNO₄ + H]⁺.

Éster metílico de ácido 4-[4-(4-benziloxycarbonilaminobutil)-fenoxi]-2-*tert*-butoxicarbonilamino-butírico (**100**)

Juntou-se carbonato de potássio (935 mg, 6,77 mmol) numa porção a uma solução de 4-[4-(benziloxycarbonilamino)butil]-fenol (506 mg, 1,69 mmol) e brometo de *N*-Boc **90** (501 mg, 1,69 mmol) em DMF anidra (10 mL). A mistura reaccional foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 14 h, arrefecida a temperatura ambiente, e diluída com acetato de etilo (100 mL) e hexanos (20 mL). A mistura foi lavada com água (4×20 mL) e salmoura (40 mL) e concentrada sob pressão reduzida. A cromatografia instantânea em coluna de sílica gel usando acetato de etilo/CH₂Cl₂ (1:25, 1:20, v/v) proporcionou o desejado produto **100** como um óleo amarelo espesso (718 mg, 83% de rendimento). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 1,48-1,68 (m, 4H), 2,12-2,38 (m, 2H), 2,48-2,60 (m, 2H), 3,10-3,24 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,97-4,06 (m, 2H), 4,41-4,52 (m, 1H), 4,70 (br s, 1H), 5,09 (s, 2H), 5,25-5,37 (m, 1H), 6,70-6,80 (m, 2H), 6,95-7,09 (m, 2H), 7,30-7,38 (m, 5H). *m/z* (ESI) 515 [C₂₈H₃₈N₂O₇ + H]⁺.

Éster benzílico de ácido {4-[4-(3-*tert*-butoxicarbonilamino-3-carbamoípropoxi)fenil]butil}carbâmico (**110**)

Juntou-se amoníaco (7M em metanol, 20 mL) a uma solução de éster metílico de *N*-Boc **100** (718 mg, 1,40 mmol) em metanol (5 mL) e a mistura foi agitada a temperatura ambiente num tubo selado durante 40 h. A mistura foi concentrada por evaporação rotativa e purificada por cromatografia instantânea em coluna de sílica gel usando metanol/diclorometano (1:30, 1:20, v/v) para gerar a desejada amida **110** como um sólido branco (436 mg, 63% de rendimento). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H), 1,48-1,68 (m, 4H), 2,09-2,32 (m, 2H), 2,48-2,61 (m, 2H), 3,08-3,25 (m, 2H), 3,97-4,20 (m, 2H), 4,30-4,45 (m, 1H), 4,75 (br s, 1H), 5,09 (s, 2H), 5,48-5,58 (m, 1H), 5,62 (br s, 1H), 6,38 (br s, 1H), 6,75-6,85 (m, 2H), 6,99-7,10 (m, 2H), 7,28-7,40 (m, 5H). m/z (ESI) 500 $[\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}]^+$.

Éster *tert*-butílico de ácido {3-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-1-carbamoípropil}carbâmico (**120**)

Uma mistura de *N*-Cbz-amida **110** (436 mg, 0,873 mmol) e catalisador de Pearlman (100 mg) em metanol (10 mL) e diclorometano (10 mL) foi agitada sob hidrogénio atmosférico durante 18 h. O catalisador foi removido por filtração por sucção sobre Celite e o filtrado foi concentrado para gerar um óleo alimentar (318 mg, 100% de rendimento bruto). O produto em bruto **120** foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional. m/z (ESI) 366 $[\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{H}]^+$.

Éster *tert*-butílico de ácido [1-carbamoí-3-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)-propil]carbâmico (**130**)

Uma solução de *N*-Boc-amina **120** (318 mg, 0,873 mmol) e diisopropiletilamina (0,30 mL, 1,75 mmol) em etanol absoluto (8 mL) foi agitada a 70°C durante 5 min, após o que se juntou iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (441 mg, 1,13 mmol) numa porção. A mistura reaccional foi agitada a essa temperatura durante 2,5 h e arrefecida a temperatura ambiente. Foi concentrada por evaporação rotativa e purificada por cromatografia

instantânea em coluna de sílica gel usando diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado (200:10:0, 200:10:1, 150:10:1 e 100:10:1, v/v) para originar o desejado produto **130** como um sólido amarelo (470 mg, 93% de rendimento). *m/z* (ESI) 578 [C₂₅H₃₆ClN₉O₅ + H]⁺.

Dicloridrato de éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}-fenoxi)butírico (**140**, PSA **17587**) e Dicloridrato de 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butiramida (**150**, PSA **17588**)

Uma solução de *N*-Boc amida **130** e HCl (4M em dioxano, 3 mL) em metanol (6 mL) foi agitada a temperatura ambiente durante 14 h, e depois evaporada até à secura *in vacuo*. A cromatografia instantânea em coluna de sílica gel usando diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado (200:10:0, 200:10:1, 150:10:1, 100:10:1 e 100:10:2, v/v) originou éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)-butírico (eluição rápida, 313 mg, 78% de rendimento) e 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butiramida (eluição lenta, 70 mg, 18% de rendimento).

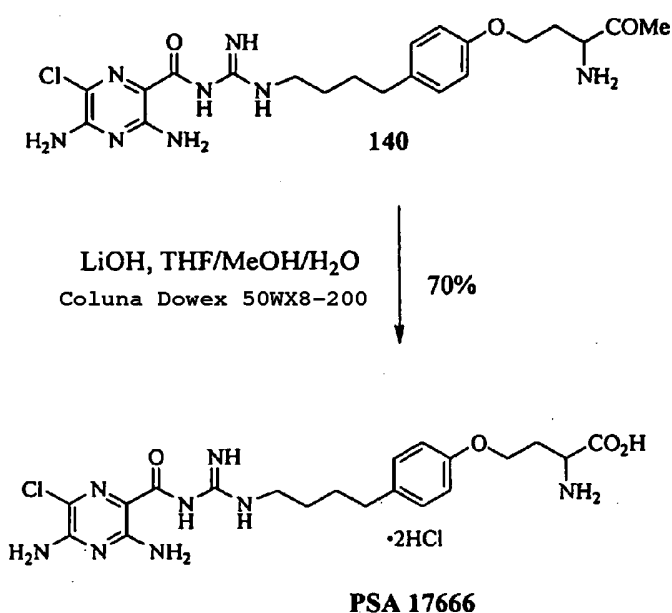
O éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)-butírico foi dissolvido em metanol e tratado com 3 gotas de HCL 4N aquoso e a mistura foi depois concentrada *in vacuo* imediatamente. Foi depois co-evaporada com água e seca a 40°C sob vácuo elevado durante 16 h para proporcionar **140**. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,62-1,78 (m, 4H), 2,35-2,45 (m, 2H), 2,59-2,69 (m, 2H), 3,33-3,40 (m, 2H), 3,84 (s, 3H), 4,09-4,18 (m, 2H), 4,24-4,32 (m, 1H), 6,80 (d, *J*=8,6 Hz, 2H), 7,08 (d, *J*=8,6 Hz, 2H). *m/z* (ESI) 493 [C₂₁H₂₉ClN₈O₄ + H]⁺. Pf. 88-90°C.

Dissolveu-se 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butiramida em metanol e tratou-se com 3 gotas de HCl 4N aquoso e a mistura foi depois concentrada *in vacuo* imediatamente. Foi ainda co-evaporada com água e seca a 40°C sob vácuo elevado durante 16 h para proporcionar **150**. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,60-1,78

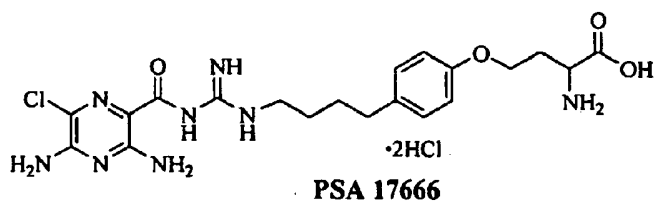
(m, 4H), 2,00-2,30 (m, 2H), 2,55-2,65 (m, 2H), 3,31-3,38 (m, 2H), 3,70-3,78 (m, 1H), 4,05-4,12 (m, 2H), 6,86 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 7,12 (d, $J=8,6$ Hz, 2H). m/z (ESI) 478 [$C_{20}H_{28}ClN_9O_3 + H$] $^+$. Pf. 128-130°C.

Exemplo 12

Esquema 4. Síntese de PSA 17666



Síntese de ácido 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butírico (PSA **17666**)

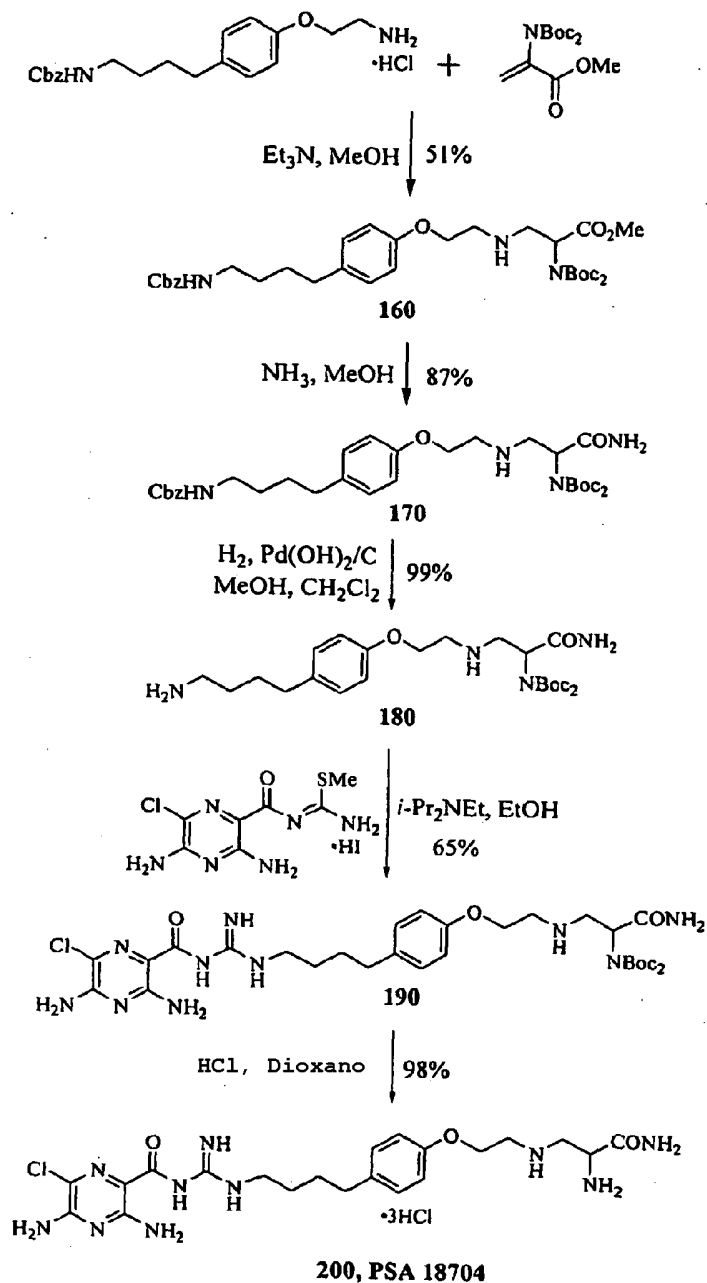


Dissolveu-se éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}-fenoxi)butírico (**140**) (110 mg, 0,223 mmol) numa mistura de metanol (1 mL)/THF (1 mL)/água (1 mL). Juntou-se hidróxido de lítio mono-hidratado (14 mg, 0,334 mmol) e a mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 16 h

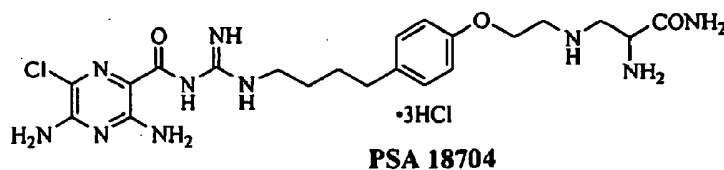
antes de ser concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi diluído com água (1 mL), acidificado a pH 2 com HCl 1N aquoso e purificado através de uma resina de permuta iónica DOWEX 50WX 8-200 eluindo com hidróxido de amónio a 10% aquoso. O produto desejado foi obtido como um sólido amarelo (75 mg, 70% de rendimento). ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,55-1,78 (m, 4H), 2,10-2,45 (m, 2H), 2,52-2,65 (m, 2H), 3,30-3,35 (m, 2H), 3,65-3,75 (m, 1H), 4,05-4,15 (m, 2H), 6,85 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,10 (d, $J=8,5$ Hz, 2H). m/z (ESI) 479 $[\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{ClN}_8\text{O}_4 + \text{H}]^+$. Pf. 178-180°C.

Exemplo 13

Esquema 5. Síntese de PSA 18704



Síntese de tri-cloridrato de 2-amino-3-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]butil}fenoxi)-etilamino]propionamida (PSA **18704**)



Éster metílico de ácido 3-{2-[4-(4-benziloxicarbonilamino-butyl)fenoxi]etilamino}-2-*N,N'*-di-(*tert*-butoxicarbonil)amino-propiónico (**160**)

Uma mistura de cloridrato de éster benzílico de ácido {4-[4-(2-aminoetoxi)fenil]butil}carbâmico (141 mg, 0,372 mmol), éster metílico de ácido 2-[*N,N'*-di(*tert*-butoxicarbonil)]-aminoacrílico (102 mg, 0,338 mmol) e trietilamina (0,16 mL, 1,11 mmol) em metanol (3 mL) foi agitada a 55°C (banho de óleo) durante 16 h. Foi depois arrefecida a temperatura ambiente. O solvente foi removido por evaporação rotativa. O resíduo foi tomado em acetato de etilo e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio e salmoura. A camada orgânica foi concentrada *in vacuo* e purificada por cromatografia instantânea em coluna de sílica gel usando acetato de etilo/hexanos (gradiente 1:10, 1:6, 1:4 e 1:2, v/v) para proporcionar o desejado aducto de Michael **160** (110 mg, 51% de rendimento). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,42 (s, 9H), 1,43-1,50 (m, 9H), 1,50-1,65 (m, 4H), 2,50-2,60 (m, 2H), 3,12-3,25 (m, 2H), 3,49-3,72 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 3,98-4,10 (m, 2H), 4,45-4,65 (m, 1H), 4,79 (br s, 1H), 5,09 (s, 2H), 5,50 (m, 1H), 6,81 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,06 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,28-7,38 (m, 5H). m/z (ESI) 644 [$\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_9 + \text{H}$] $^+$.

Éster benzílico de ácido (4-{4-[2-(2-di-(*tert*-butoxicarbonil)amino-2-carbamóiletetilamino)etoxi]fenil}butil)-carbâmico (**170**)

Adicionou-se amoníaco metanólico (7M, 10 mL, 70 mmol) a uma solução de éster metílico **160** (110 mg, 0,171 mmol) em metanol (3 mL). A mistura foi agitada num tubo selado a temperatura ambiente durante 3 dias, concentrada sob pressão reduzida, e seca adicionalmente sob vácuo elevado durante 16 h. O produto sólido **170** em bruto (94 mg, 87% de rendimento bruto) foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional. m/z (ESI) 629 [$\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_8 + \text{H}$] $^+$.

Di-éster *tert*-butílico de ácido (2-{2-[4-(4-aminobutil)-fenoxi]etilamino}-1-carbamoíleil)dicarbâmico (**180**)

Dissolveu-se N-Cbz-amida **170** (94 mg, 0,150 mmol) em metanol (5 mL) e diclorometano (5 mL) e a solução foi purgada com azoto. Juntou-se catalisador de Pearlman (hidróxido de paládio sobre carbono, 26 mg) e a mistura reaccional foi agitada sob uma atmosfera de hidrogénio a temperatura ambiente durante 16 h. O catalisador foi removido por filtração sobre Celite e o filtrado foi concentrado para proporcionar o desejado produto **180** como um sólido branco (73 mg, 99% de rendimento bruto) e foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional. *m/z* (ESI) 495 [$C_{25}H_{42}N_4O_6 + H$]⁺.

2-(*N,N'*-Di-*tert*-butoxicarbonil)amino-3-{4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etilamino}-propionamida (**190**)

Uma solução de amina primária **180** (73 mg, 0,15 mmol) e diisopropiletilamina (52 µL, 0,298 mmol) em etanol absoluto (3 mL) foi agitada a 70°C durante 5 min, após o que se juntou iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (69 mg, 0,18 mmol) numa porção. A mistura reaccional foi agitada a essa temperatura durante 2 h, arrefecida a temperatura ambiente e concentrada por evaporação rotativa. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel usando diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado (200:10:1, 150:10:1 e 100:10:1, v/v) para proporcionar o desejado produto **190** como um sólido amarelo (68 mg, 65% de rendimento). *m/z* ESI 707 [$C_{31}H_{47}ClN_{10}O_7 + H$]⁺.

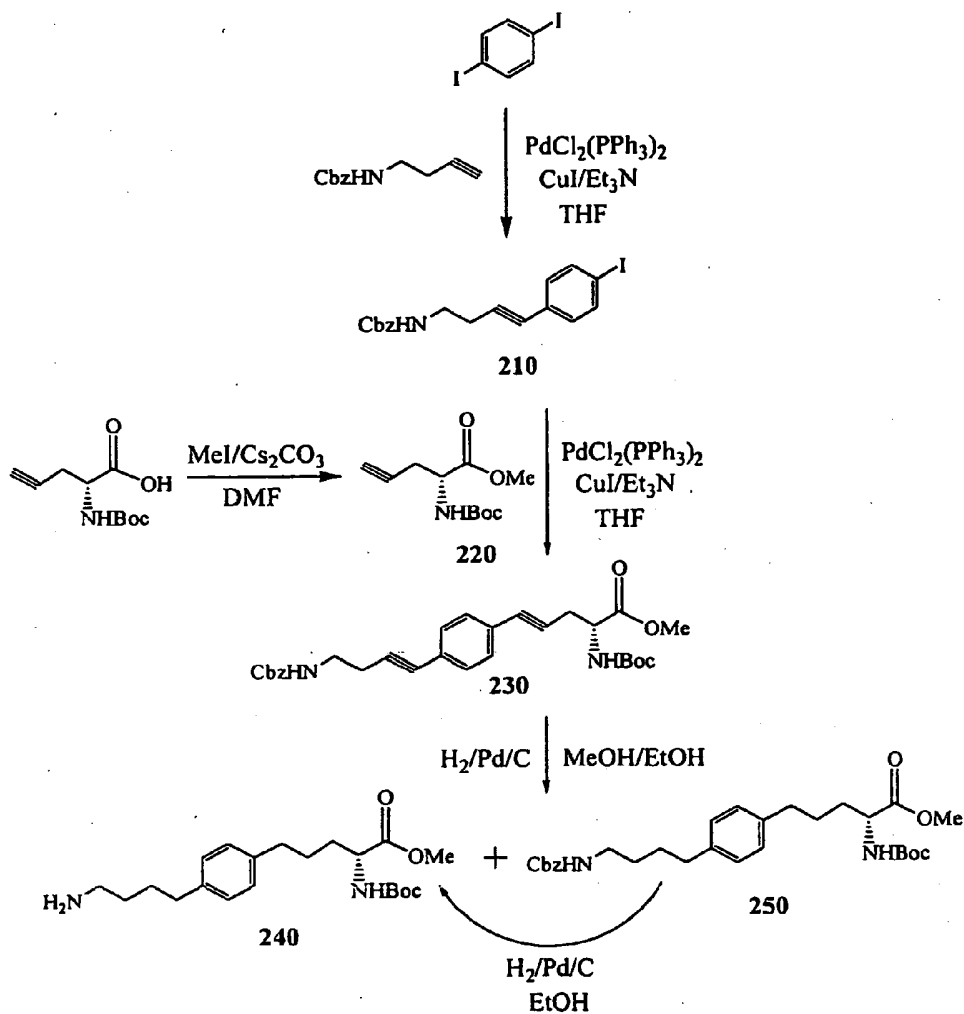
Tricloridrato de 2-amino-3-[2-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etilamino]-propionamida (**200**, PSA **18704**)

Uma solução de *N,N'*-bis(Boc)-amida **190** e HCl em dioxano (4M, 3 mL) foi agitada a temperatura ambiente durante 14 h e depois concentrada por evaporação rotativa. O resíduo foi redissolvido em metanol, evaporado até à secura e seco adicionalmente sob vácuo elevado a 40°C durante 16 h. O produto **200** foi obtido como um sólido amarelo (58 mg, 98% de rendimento). ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,65-1,75 (m, 4H),

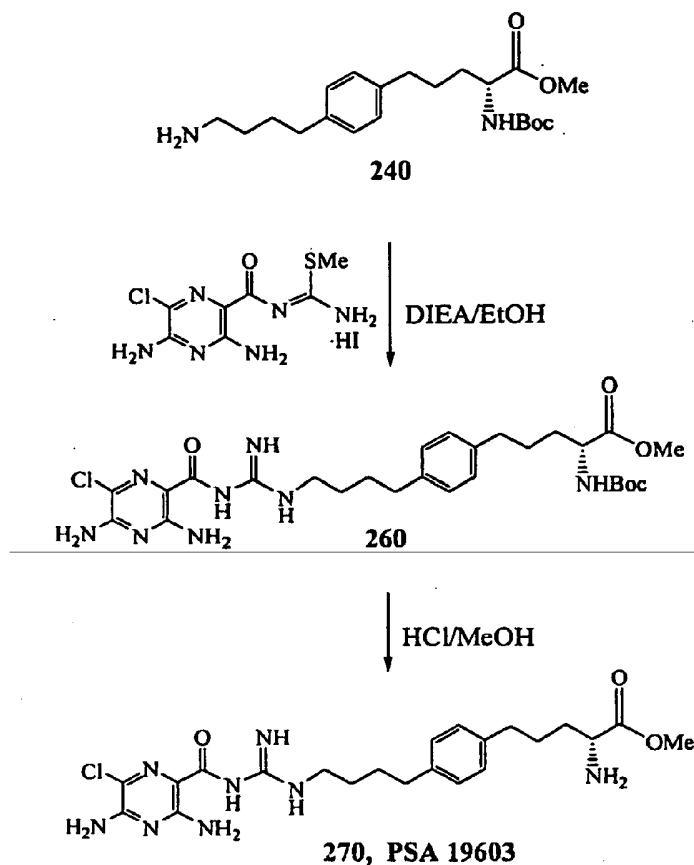
2,60-2,69 (m, 2H), 3,31-3,37 (m, 2H), 3,55-3,68 (m, 4H), 3,71-3,76 (m, 1H), 4,32-4,35 (m, 2H), 4,45-4,48 (m, 1H), 6,98 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,18 (d, $J=8,5$ Hz, 2H). m/z (ESI) 507 $[C_{21}H_{31}ClN_{10}O_3 + H]^+$. Pf. 160-160°C.

Exemplo 14

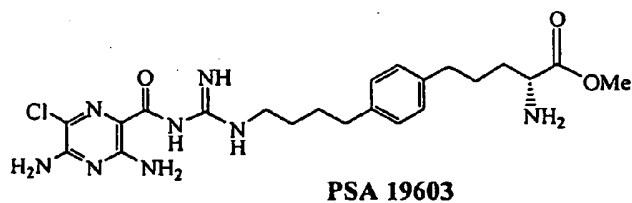
Esquema 6. Síntese de PSA 19603



Esquema 6. Síntese de PSA 19603 (continuação)



Síntese de éster metílico de ácido 2-(*R*)-amino-5-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]butil}-fenil)pentanóico (PSA **19603**)



Éster benzílico de ácido [4-(4-iodofenil)but-3-inil]carbâmico
(210)

A uma mistura de THF anidro e trietilamina (24 mL, 2/1, v/v) juntaram-se sequencialmente 1,4-diiodobenzeno (2,03 g, 6,15 mmol) e iodeto de cobre(I) (0,094 g, 0,246 mmol). A

mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 15 min. O frasco foi depois evacuado e cheio novamente com árgon. O procedimento foi repetido mais três vezes para assegurar que nenhum oxigénio restava. Juntou-se o catalisador, diclorobis-(trifenilfosfina)paládio(II) (0,173 g, 0,246 mmol) à mistura sob protecção de árgon. O outro material de partida, éster benzílico de ácido but-3-inilcarbâmico (0,50 g, 2,46 mmol), dissolvido em THF (8 mL) foi adicionado gota a gota durante 6 horas. A mistura reaccional recém-formada foi ainda agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. Filtrou-se o sólido na mistura reaccional sob vácuo. O filtrado foi concentrado. O resíduo foi re-dissolvido em diclorometano e purificado por cromatografia em coluna, eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-12%) e hexanos (100-88%) para proporcionar o produto **210** (0,852 g, 86%) como um sólido esbranquiçado. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 2,61 (t, $J=6,4$ Hz, 2H), 3,44 (t, $J=6,4$ Hz, 2H), 5,07 (br s, 1H), 5,12 (s, 2H), 7,10 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 7,35 (m, 5H), 7,63 (d, $J=8,3$ Hz, 2H). m/z (APCI) 405 $[\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{NO}_2 + \text{H}]^+$.

Éster metílico de ácido 2-(*R*)-*tert*-butoxicarbonilaminopent-4-inóico (**220**)

O composto comercialmente disponível ácido 2-(*R*)-*tert*-butoxicarbonilaminopent-4-inóico (0,321 g, 1,50 mmol) foi dissolvido em THF anidro (5 mL). À solução juntou-se carbonato de cézio (0,54 g, 1,65 mmol) numa porção. A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 45 min antes de adicionar iodeto de metilo (0,20 mL, 3,00 mmol) e agitar durante mais três horas. A reacção foi extinta com água (10 mL). Os orgânicos foram extraídos com diclorometano (2×30 mL), lavados com água (3×50 mL) e secos sobre sulfato de sódio anidro. O solvente foi completamente removido sob vácuo. O resíduo foi seco adicionalmente sob vácuo elevado de um dia para o outro e usado na reacção seguinte sem purificação adicional. O produto **220** foi obtido como um óleo viscoso incolor (0,326 g, 95% de rendimento). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 1,48 (s, 9H), 2,08 (t, $J=2,6$ Hz, 1H), 2,75 (t, $J=6,3$ Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 4,46 (m, 1H), 5,32 (br s, 5H).

Éster metílico de ácido 5-[4-(4-benziloxicarbonilaminobut-1-inil)fenil]-2-(*R*)-*tert*-butoxicarbonilaminopent-4-inóico (**230**)

O composto **210**, éster benzílico de ácido [4-(4-iodo-fenil)-but-3-inil]carbâmico (0,52 g, 1,283 mmol) foi dissolvido numa mistura de THF anidro e trietilamina (8 mL, 1/1, v/v). Juntou-se à solução iodeto de cobre(I) (0,025 g, 0,128 mmol). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 15 min. O frasco foi depois evacuado e novamente cheio com árgon. O procedimento foi repetido para assegurar que nenhum oxigénio restava. Juntou-se o catalisador, diclorobis(trifenilfosfina)paládio(II) (0,09 g, 0,128 mmol) à mistura sob protecção de árgon. A mistura foi ainda agitada a temperatura ambiente durante 30 min. O outro material de partida **220**, éster metílico de ácido 2-*tert*-butoxicarbonilaminopent-4-inóico (0,32 g, 1,412 mmol), dissolvido em THF (4 mL) foi adicionado gota a gota durante 15 min. A recém-formada mistura reaccional foi ainda agitada de um dia para o outro a temperatura ambiente. O sólido na mistura reaccional foi filtrado sob vácuo. O filtrado foi concentrado. O resíduo foi re-dissolvido em diclorometano e purificado por cromatografia em coluna, eluindo com uma mistura de acetato de etilo (0-25%) e hexanos (100-75%) para proporcionar o produto **230** (0,64 g, 99%) como um sólido amarelado tipo goma. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 1,46 (s, 9H), 2,64 (t, $J=6,3$ Hz, 2H), 2,95 (t, $J=4,1$ Hz, 2H), 3,42 (m, 2H), 3,79 (s, 3H), 4,56 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,38 (br s, 1H), 7,29 (s, 4H), 7,35 (m, 5H). m/z (APCI) 502 $[\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6 - \text{H}]^+$.

Éster metílico de ácido 5-[4-(4-aminobutil)fenil]-2-(*R*)-*tert*-butoxicarbonilaminopentinóico (**240**)

Dissolveu-se o composto **230**, éster metílico de ácido 5-[4-(4-benziloxicarbonilaminobut-1-inil)fenil]-2-(*R*)-*tert*-butoxi-carbonilaminopent-4-inóico (0,36 g, 0,713 mmol) numa mistura de etanol e metanol (50 mL, 1/1, v/v) e colocou-se numa garrafa Parr de agitação. Juntou-se à solução paládio sobre carbono a 10% (0,20 g, húmido) numa porção sob protecção de árgon. O frasco foi evacuado e novamente cheio com árgon. O procedimento foi repetido três vezes mais. A mistura foi depois agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro sob atmosfera de hidrogénio a 35 psi. O frasco

foi depois evacuado e cheio novamente com azoto. Repetiu-se o procedimento três vezes. O catalisador foi depois filtrado sob vácuo e lavado com etanol (2×5 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados sob pressão reduzida. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de metanol (0-12%), hidróxido de amónio (0-1,2%) e diclorometano (100-86,8%), para gerar dois produtos, o desejado produto **240** (0,045 g, 17%, um sólido incolor tipo vidro) e a sua forma protegida **250** (0,218 g, 60%, um sólido amarelado). ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) para o composto 240: δ 1,43 (s, 9H), 1,63-1,76 (m, 8H), 2,58-2,64 (m, 4H), 2,79 (t, J=7,0 Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 4,10 (m, 1H), 7,09 (s, 4H). m/z (APCI) para o composto 7: 379 [C₁₂H₃₄N₂O₄ + H]⁺. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) para o composto 250: δ 1,42 (s, 9H), 1,61-1,78 (m, 8H), 2,54-2,68 (m, 4H), 2,92 (t, J=7,0 Hz, 2H), 3,14 (t, J=6,9 Hz, 2H), 3,70 (s, 3H), 4,13 (m, 1H), 5,18 (s, 2H), 7,08 (s, 4H), 7,35 (m, 5H).

O composto **250** foi re-submetido a hidrogenação para remover o grupo protector de benziloxicarbonilo. Realizou-se o procedimento como segue: o composto **250** (0,218 g, 0,425 mmol) foi dissolvido em etanol (10 mL). A solução foi purgada com azoto tanto antes como depois de se ter juntado o catalisador de paládio (0,10 g, 10% sobre carbono, 50% húmido), e sujeita a hidrogenação durante duas horas sob hidrogénio atmosférico. O catalisador foi filtrada sob vácuo e lavado com etanol (2×5 mL). O filtrado e as lavagens foram combinados e concentrados sob vácuo. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de metanol (0-14%), hidróxido de amónio (0-1,4%) e diclorometano (100-84,6%), para proporcionar o composto **240** (0,131 g, 81%).

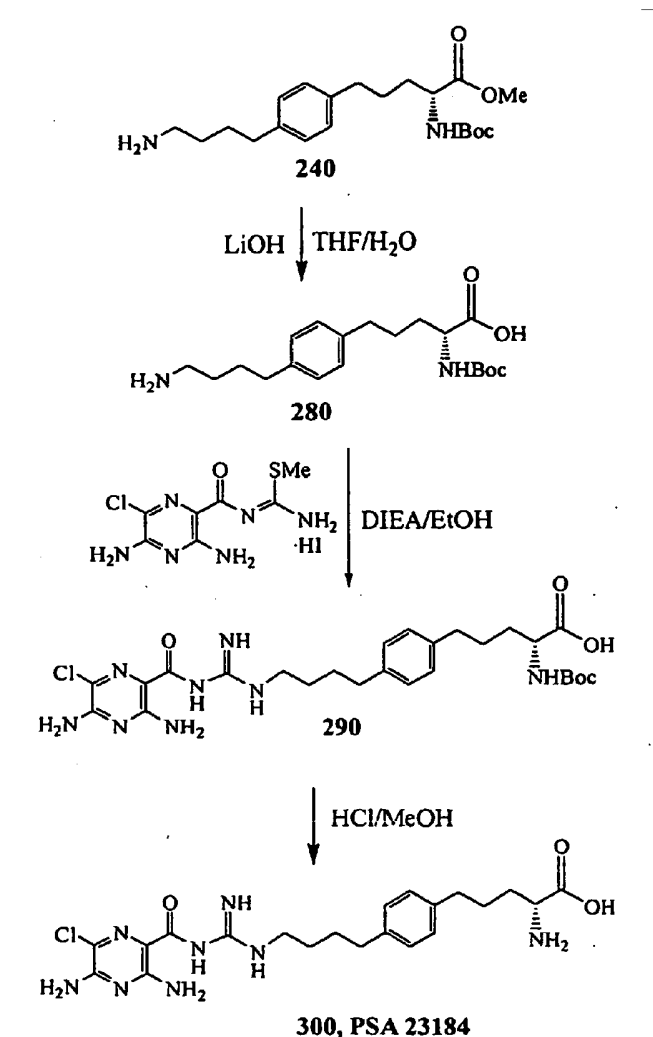
Éster metílico de ácido 2-(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-5-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}fenil)pentanóico (**270**, PSA **19603**)

O composto **240** (0,127 g, 0,336 mmol) foi misturado com etanol (4 mL). A mistura foi aquecida a 65°C durante 30 min para conseguir uma dissolução completa. À solução límpida adicionaram-se sequencialmente diisopropiletilamina (0,29 mL, 1,68 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloro-pirazinoí)-2-metilisotioureia (0,157 g, 0,403 mmol). A mistura foi

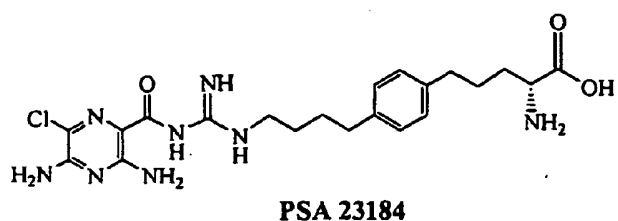
aquecida à mesma temperatura durante três horas adicionais, e subsequentemente concentrada sob vácuo. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de hidróxido de amônio concentrado (0-1,5%), metanol (0-15%) e diclorometano (100-83,5%), para proporcionar o produto **260** (0,169 g, 85%) como um sólido amarelo claro. Uma parte do produto **260** (0,06 g) foi dissolvida em metanol (10 mL) e tratada com ácido clorídrico concentrado (2 mL) durante uma hora. Todo o líquido foi completamente removido sob vácuo, e o resíduo foi cromatografado novamente sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de hidróxido de amônio concentrado (0-1,1%), metanol (0-11%) e diclorometano (100-87,9%) para originar o desejado produto **270** (0,043 g, 86%) como um sólido amarelo. Pf. 76-79°C. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} -5,6^{\circ}\text{C}$ (c 0,31, MeOH). ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,54-1,78 (m, 8H), 2,58-2,68 (m, 4H), 3,26 (t, J=6,8 Hz, 2H), 3,46 (t, J=6,4 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 7,10 (s, 4H). m/z (APCI) 491 $[\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{ClN}_8\text{O}_3 + \text{H}]^+$.

Exemplo 15

Esquema 7. Síntese de PSA 23184



Síntese de ácido 2-(R)-amino-5-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)pentanóico (PSA **23184**)



Ácido 5-[4-(4-aminobutil)fenil]-2-(R)-*tert*-butoxicarbonil-aminopentanóico (**280**)

O composto **240** (0,40 g, 0,780 mmol) foi dissolvido numa mistura de metanol e THF (10 mL, 1/1, v/v). Juntou-se à

solução hidróxido de lítio mono-hidratado (0,063 g, 1,561 mmol) dissolvido em água (1 mL). A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante duas horas, e depois neutralizada com solução aquosa de HCl 2N a pH 5. A mistura foi depois concentrada sob vácuo. O resíduo foi tomado em etanol (3 mL) e a solução resultante foi concentrada de novo sob vácuo. O procedimento foi repetido duas vezes mais para assegurar que não restava solvente aquoso. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de hidróxido de amónio concentrado (0-10%), metanol (0-30%) e diclorometano (100-60%), para proporcionar o produto **280** (0,29 g, 75%) como um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 1,46 (s, 9H), 1,58-1,78 (m, 8H), 2,54-2,68 (m, 4H), 2,85 (t, $J=6,6$ Hz, 2H), 3,98 (t, $J=6,5$ Hz, 1H), 7,08 (s, 4H), 8,50 (s, 1H). m/z (APCI) 365 [$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_4 + \text{H}$] $^+$.

Ácido 2-(R)-*tert*-butoxicarbonilamino-5-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)pentanóico (**290**)

O composto **280** (0,077 g, 0,211 mmol) foi misturado com etanol (5 mL). A mistura foi aquecida a 65°C durante 15 min para conseguir uma dissolução completa. À solução límpida foram adicionados sequencialmente diisopropiletilamina (0,184 mL, 1,056 mmol) e iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoíl)-2-metilisotioureia (0,99 g, 0,254 mmol). A mistura foi aquecida a 65°C durante mais três horas. Foi depois concentrada sob vácuo. O resíduo foi cromatografado sobre sílica gel, eluindo com uma mistura de hidróxido de amónio concentrado (0-2,2%), metanol (0-22%) e diclorometano (100-75,8%) para proporcionar o produto **290** (0,091 g, 75%) como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, CD_6OD): δ 1,44 (s, 9H), 1,58-1,84 (m, 8H), 2,54-2,68 (m, 4H), 3,34-3,42 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 7,08 (s, 4H). m/z (APCI) 577 [$\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{ClN}_8\text{O}_5 + \text{H}$] $^+$.

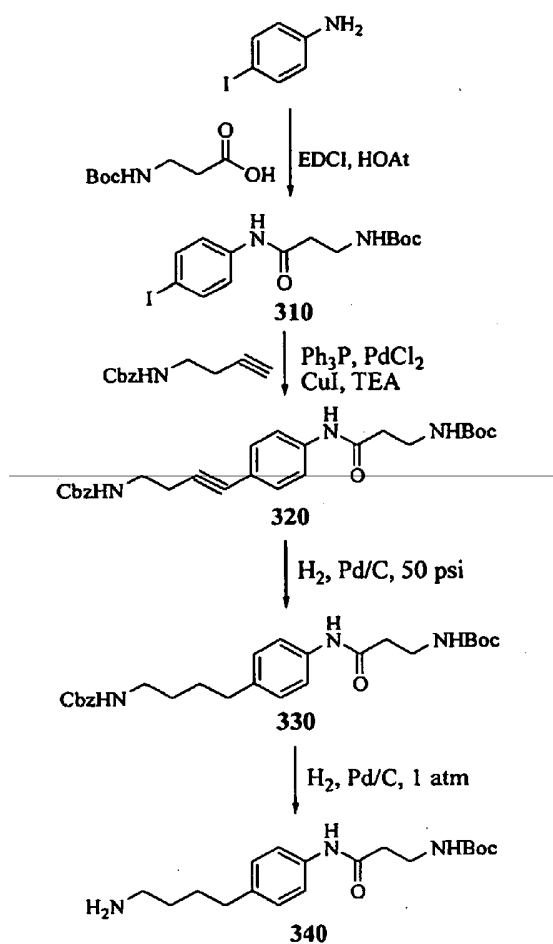
Ácido 2-(R)-amino-5-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)pentanóico (**300**, PSA **23184**)

O composto **290** (0,031 g, 0,0538 mmol) foi dissolvido em metanol (3 mL) e tratado com ácido clorídrico concentrado (0,5 mL) durante uma hora. Todos os líquidos foram removidos completamente sob vácuo, e o resíduo foi cromatografado sobre

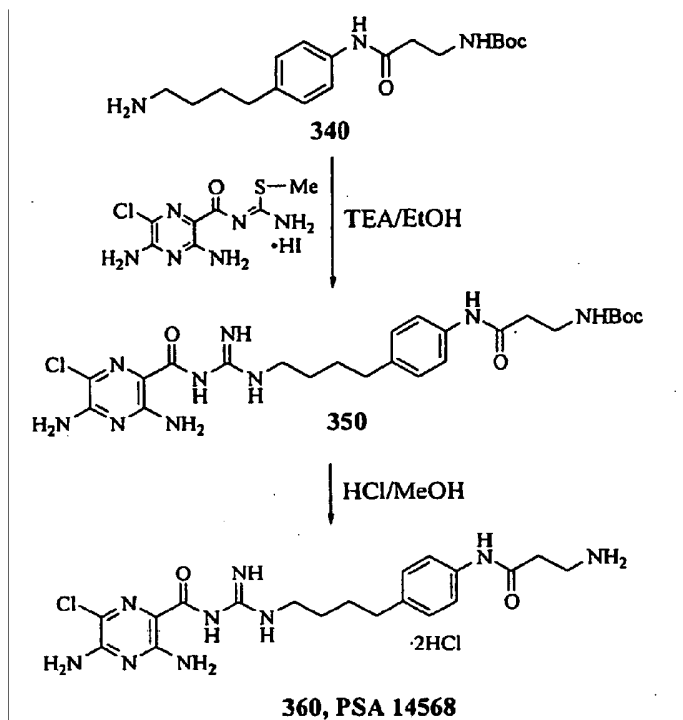
sílica gel, eluindo com uma mistura de hidróxido de amónio concentrado (0-8%), metanol (0-30%) e diclorometano (100-62%) para proporcionar o desejado produto **300** (0,024 g, 94%) como um sólido amarelo. Pf. 190-192°C (decomposto). $[\alpha]^{25}_D -4,3^\circ\text{C}$ (c 0,25, MeOH). ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 1,68-1,83 (m, 8H), 2,52-2,62 (m, 4H), 3,27 (t, $J=6,8$ Hz, 2H), 3,47 (t, $J=6,4$ Hz, 1H), 7,09 (s, 4H). m/z (APCI) 477 $[\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{ClN}_8\text{O}_3 + \text{H}]^+$.

Exemplo 16

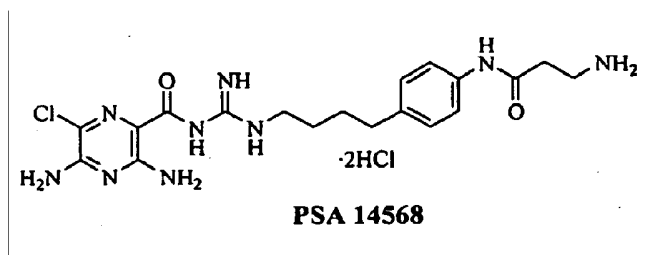
Esquema 8. Síntese de PSA 14568



Esquema 8. Síntese de PSA 14568 (continuação)



Síntese de dicloridrato de 3-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)propionamida (PSA **14568**)



Éster *tert*-butílico de ácido [2-(4-iodofenilcarbamoíl)-etil]carbâmico (**310**)

Uma mistura de 4-iodoanilina (2,0 g, 9,17 mmol), ácido 3-*tert*-butoxicarbonilaminopropiônico (1,61 g, 8,49 mmol), cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (1,95 g, 10,19 mmol), 1-hidroxi-7-azabenzotriazole (0,12 g, 0,85 mmol) e DMF (20 mL), foi agitada a temperatura ambiente durante 72 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (100 mL) e lavado com ácido cítrico a 10% (2×50 mL), depois K₂CO₃ aquoso a 10%

(2×50 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e evaporada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, hexanos/acetato de etilo 3:1 v/v, depois hexanos/acetato de etilo 1:1) para proporcionar **310** (2,44 g, 69%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 2,60 (t, 2H), 3,49 (q, 2H), 7,36 (d, 2H), 7,60 (d, 2H).

Éster benzílico de ácido {4-[4-(3-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)fenil]but-3-inil}carbâmico (**320**)

A uma solução de éster *tert*-butílico de ácido [2-(4-iodofenilcarbamoíl)etil]carbâmico **310** (1,5 g, 3,84 mmol) e trietilamina (40 mL) juntou-se *trans*-diclorobis-(trifenil-fosfina)paládio(II) (Ph₃P, PdCl₂, 0,27 g, 0,38 mmol). A mistura reaccional foi agitada durante 20 minutos quando se tornou uma solução límpida. Éster benzílico de ácido but-3-inil-carbâmico (0,94 g, 4,6 mmol) e iodeto de cobre (0,14 g, 0,768 mmol) foram depois adicionados e a reacção foi ainda agitada a temperatura ambiente durante 18 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (100 mL) e lavado com água (3×150 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e depois concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, hexanos/acetato de etilo 1:1, v/v) para proporcionar **320** (1,91 g, ainda uma mistura, mas utilizada como tal sem purificação adicional). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 2,60 (m, 4H), 3,47 (m, 4H), 5,12 (s, 2H), 7,37 (m, 7H), 7,49 (d, 2H).

Éster benzílico de ácido {4-[4-(3-*tert*-butoxicarbonilamino-propionilamino)fenil]butil}carbâmico (**330**)

A uma solução desgaseificada de éster benzílico de ácido {4-[4-(3-*tert*-butoxicarbonilaminopropionilamino)fenil]-but-3-inil}carbâmico **320** (1,91 g, 4,1 mmol) e 1,2-dimetoxietano (DME, 35 mL) juntou-se paládio a 10% sobre carvão activado (0,5 g, 50% húmido). A mistura foi hidrogenada de um dia para o outro a uma pressão de 50 psi. O catalisador foi filtrado através de uma almofada de Celite e o solvente foi evaporado *in vacuo* para proporcionar **330** (1,78 g, 99%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,42 (s, 9H), 1,58 (m, 4H), 2,59 (t, 4H), 3,17

(q, 2H), 3,47 (q, 2H), 5,18 (m, 3H), 5,58 (m, 1H), 5,70 (m, 1H), 7,07 (d, 2H), 7,33 (m, 5H), 7,49 (d, 2H).

Éster *tert*-butílico de ácido {2-[4-(4-aminobutil)fenilcarbamoíl]etil}carbâmico (**340**)

A uma solução desgaseificada de éster benzílico de ácido {4-[4-(3-*tert*-butoxicarbonilaminopropionilamino)fenil]butil}-carbâmico **330** (1,78 g, 3,79 mmol) e metanol (50 mL) juntou-se paládio sobre carvão activado a 10% (0,5 g, 50% húmido). A mistura foi hidrogenada durante 4 horas sob hidrogénio atmosférico. Filtrou-se o catalisador através de uma almofada de Celite e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado 6:1:0,1, v/v) para proporcionar **340** (0,74 g, 58%). ¹H RMN (300 MHz, CH₃OD) δ 1,44 (s, 9H), 1,50 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 2,60 (m, 6H), 3,38 (m, 2H), 7,14 (d, 2H), 7,44 (d, 2H).

Éster *tert*-butílico de ácido [2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilcarbamoíl)etil]-carbâmico (**350**)

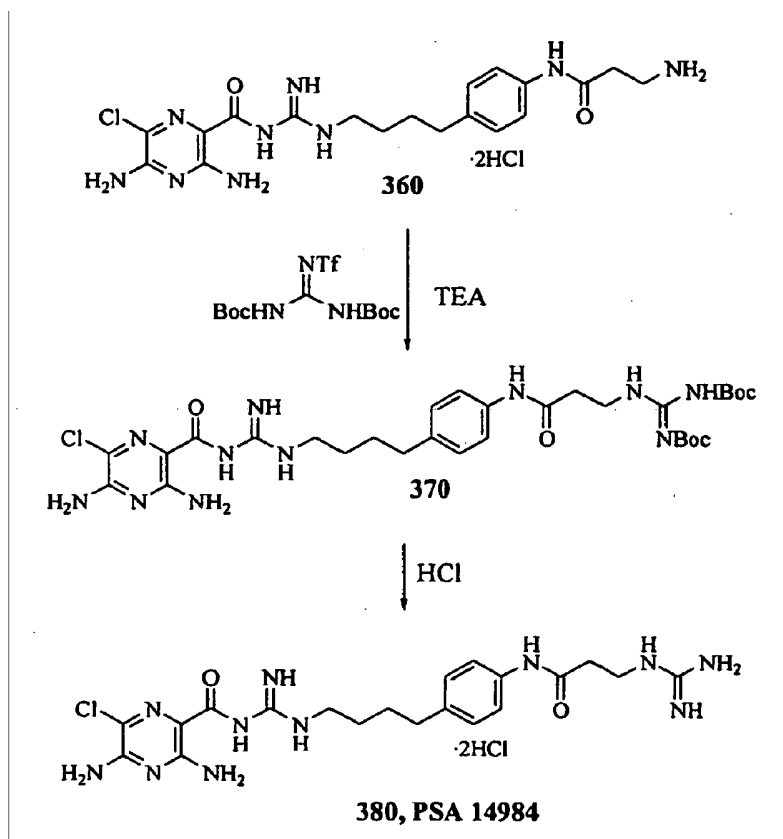
Juntaram-se iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,32 g, 0,82 mmol) e trietilamina (0,42 ml) a uma solução de éster *tert*-butílico de ácido {2-[4-(4-aminobutil)fenilcarbamoíl]etil}carbâmico **340** (0,25 g, 0,74 mmol) em etanol (6 mL). A mistura reaccional foi agitada a 65°C durante 3 horas, e arrefecida a temperatura ambiente. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado 10:1:0,1 para 5:1:0,1, v/v). O produto foi lavado com água (2×25 mL) e seco numa estufa de vácuo de um dia para o outro para proporcionar **350** (0,32 g, 78%) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,44 (s, 9H), 1,69 (m, 4H), 2,57 (t, 2H), 2,66 (t, 2H), 3,27 (t, 2H), 3,40 (m, 2H), 7,15 (d, 2H), 7,47 (d, 2H).

Dicloridrato de (4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)propionamida (**360**, PSA **14568**)

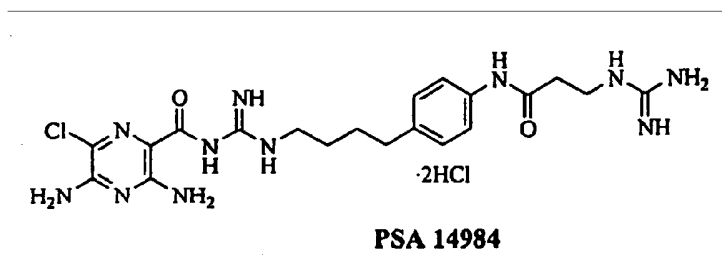
A uma solução de éster *tert*-butílico de ácido [2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}-fenilcarbamoil)etil]carbâmico **350** (0,32 g, 0,58 mmol) em metanol (5 mL) juntou-se gota a gota HCl concentrado (7 mL). A reacção foi agitada durante 30 minutos. O solvente foi evaporado *in vacuo* para proporcionar **360** (0,30 g, 99%) como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1,57 (m, 4H), 2,58 (t, 2H), 2,75 (t, 2H), 3,04 (m, 2H), 3,34 (m, 2H), 7,15 (d, 2H), 7,42 (m, 1H), 7,52 (d, 2H), 8,11 (s, 2H), 8,89 (s, 1H), 9,00 (s, 1H), 9,32 (s, 1H), 10,33 (s, 1H), 10,55 (s, 1H).

Exemplo 17

Esquema 9. Síntese de PSA 14984



Síntese de dicloridrato de N-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-3-guanidino-propionamida (PSA **14984**)



N-(4-{4-[*N'*-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}fenil)-3-[*N''*,*N'''*-bis-(*tert*-butoxicarbonil)guanidino]-propionamida (**370**)

A uma solução de dicloridrato de 3-amino-*N*-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}-fenil)propionamida **360** (0,2 g, 0,36 mmol) em metanol (10 mL) juntou-se 1,3-di-(*tert*-butoxicarbonil)-2-(trifluorometano-sulfonil)guanidina (0,22 g, 0,58 mmol) e trietilamina (0,4 mL, 2,88 mmol). A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 18 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado 10:1:0,1, v/v). O produto foi lavado com água e tratado com ultrassons para proporcionar **370** (0,20 g, 77%) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,46 (s, 9H), 1,49 (s, 9H), 1,67 (m, 4H), 2,63 (m, 4H), 3,25 (m, 2H), 3,71 (t, 2H), 7,13 (d, 2H), 7,42 (d, 2H).

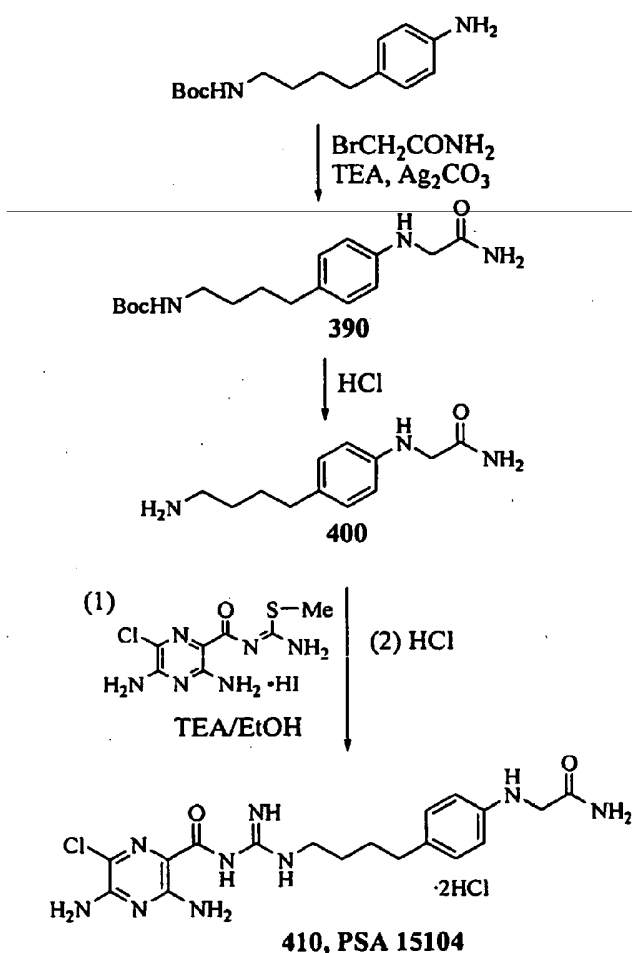
Dicloridrato de *N*-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-3-guanidinopropionamida (**380**, PSA **14984**)

A uma solução de *N*-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-3-[*N''*,*N'''*-bis-(*tert*-butoxicarbonil)guanidino]propionamida **370** (0,20 g, 0,29 mmol) em metanol (4 mL) juntou-se gota a gota HCl concentrado (4 mL). A reacção foi agitada a temperatura ambiente durante 4 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 2:1:0,15 para 1:1:0,4, v/v). A pureza do era de 84%. O produto foi ainda purificado por HPLC preparativa para proporcionar o desejado produto como uma base livre (0,05 g, 35%). O sal dicloridrato foi preparado por adição de HCl 12N (40 µL) a

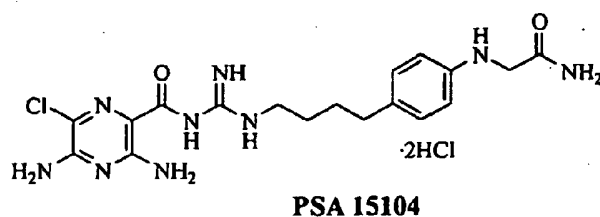
uma solução do produto em metanol (1 mL), que foi vertido subsequentemente em acetato de etilo (10 mL). O precipitado resultante foi filtrado e seco sob vácuo para proporcionar **380** como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,71 (m, 4H), 2,69 (m, 4H), 3,32 (m, 2H), 3,53 (m, 2H), 7,16 (d, 2H), 7,48 (d, 2H).

Exemplo 18

Esquema 10. Síntese de PSA 15104



Síntese de dicloridrato de 2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)acetamida (PSA **15104**)



Éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(carbamoílmethylamino)-fenil]butil}carbâmico (**390**)

Uma mistura de éster *tert*-butílico de ácido [4-(4-amino-fenil)butil]carbâmico (0,8 g, 3,03 mmol), 2-bromoacetamida (0,46 g, 3,33 mmol), trietilamina (0,2 mL, 3,33 mmol) e DMF (30 mL) foi agitada a 80°C durante 20 horas. A TLC indicou que a reacção não estava completa. Foi então adicionado carbonato de prata (0,92 g, 3,33 mmol). A reacção foi ainda agitada a 80°C durante 24 horas. A mistura reaccional foi passada através de uma rolha de sílica. O solvente foi evaporado *in vacuo*. Purificou-se o resíduo por cromatografia instantânea (sílica gel, acetato de etilo/diclorometano, 3:1 v/v) para proporcionar **390** (0,20 g, 22%) como um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,55 (m, 4H), 2,50 (t, 2H), 3,03 (t, 2H), 3,70 (s, 2H), 6,52 (d, 2H), 7,00 (d, 2H).

2-[4-(4-Aminobutil)fenilamino]acetamida (**400**)

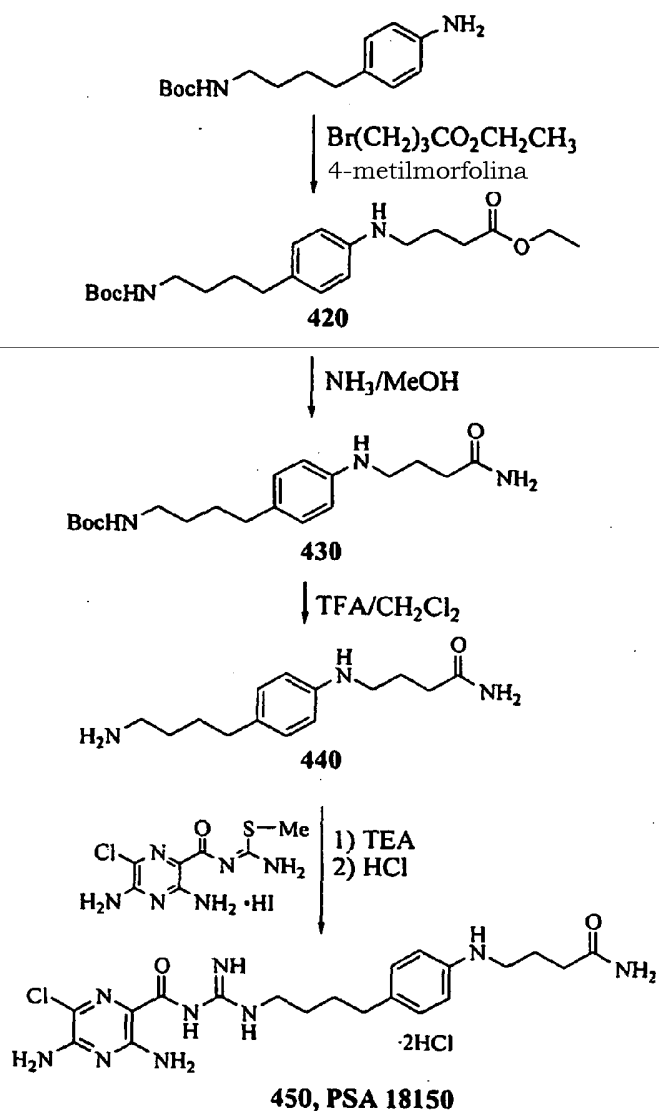
Adicionou-se HCl 12N (5 mL) a éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(carbamoílmethylamino)fenil]butil}carbâmico **390** (0,2 g, 0,62 mmol). A reacção foi agitada a temperatura ambiente durante 1 hora. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado 4:1:0,1, v/v) para proporcionar **400** (0,10 g, 70%) como um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,55 (m, 4H), 2,50 (t, 2H), 2,68 (t, 2H), 3,70 (s, 2H), 6,52 (d, 2H), 6,97 (d, 2H).

Dicloridrato de 2-(4-{4-(*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)acetamida (**410**, PSA **15104**)

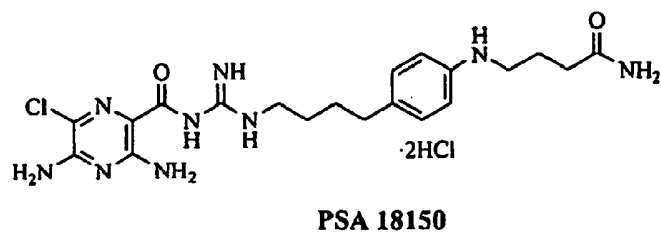
Combinaram-se 2-[4-(4-aminobutil)fenilamino]acetamida **400** (0,19 g, 0,86 mmol), iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,33 g, 0,86 mmol) e trietilamina (0,50 mL) em etanol (10 mL). A mistura foi agitada a 72°C durante 5 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amônio concentrado 4:1:0,1, v/v). A cromatografia foi repetida para proporcionar a base livre (0,12 g, 32%) como um sólido amarelo. O sal foi preparado por adição de 1 gota de HCl concentrado a uma solução de 2-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)acetamida (40 mg) em metanol (0,5 mL). A solução foi depois vertida em acetato de etilo (20 mL). O precipitado resultante foi filtrado, e depois tomado em água e evaporado para proporcionar **410** (0,031 g) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,71 (m, 4H), 2,75 (t, 2H), 3,38 (t, 2H), 4,19 (s, 2H), 7,47 (s, 4H).

Exemplo 19

Esquema 11. Síntese de PSA 18150



Síntese de dicloridrato de 4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)butiramida (PSA 18150)



Éster etílico de ácido 4-[4-(4-*tert*-butoxicarbonilamino-butil)fenilamino]butírico (**420**)

Uma solução de éster *tert*-butílico de ácido [4-(4-amino-fenil)butil]carbâmico (1,7 g, 6,43 mmol), éster etílico de ácido 4-bromo-*n*-butírico (1,88 g, 9,64 mmol), 4-metilmorfolina (1,0 mL, 9,64 mmol) e DMF (10 mL) foi agitada a 85°C durante 3 horas sob uma atmosfera de azoto. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, hexanos/acetato de etilo, 4:1 v/v) para proporcionar **420** (0,44 g, 18%) como um óleo incolor. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,23 (t, 3H), 1,47 (s, 9H), 1,55 (m, 4H), 1,96 (m, 2H), 2,43 (t, 2H), 2,51 (t, 2H), 3,19 (m, 4H), 4,14 (q, 2H), 6,54 (d, 2H), 7,00 (d, 2H). *m/z* (ESI) 379.

Éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(3-carbamoípropilamino)-fenil]butil}carbâmico (**430**)

Juntou-se éster etílico de ácido 4-[4-(4-*tert*-butoxicarbonil-aminobutil)fenilamino]butírico **420** (0,44 g, 1,16 mmol) a NH₃ 7N em metanol (40 mL). A reacção foi agitada a 30°C durante 18 horas, a 45°C durante 25 horas, e por fim a 50°C durante 84 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 20:1:0,1, v/v) para proporcionar **430** (0,23 g, 56%) como um sólido branco. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,47 (s, 9H), 1,55 (m, 4H), 1,96 (m, 2H), 2,37 (t, 2H), 2,50 (t, 2H), 3,11 (m, 4H), 6,52 (d, 2H), 6,97 (d, 2H). *m/z* (ESI) 350.

{4-[4-(4-Aminobutil)fenilamino]butiramida (**440**)

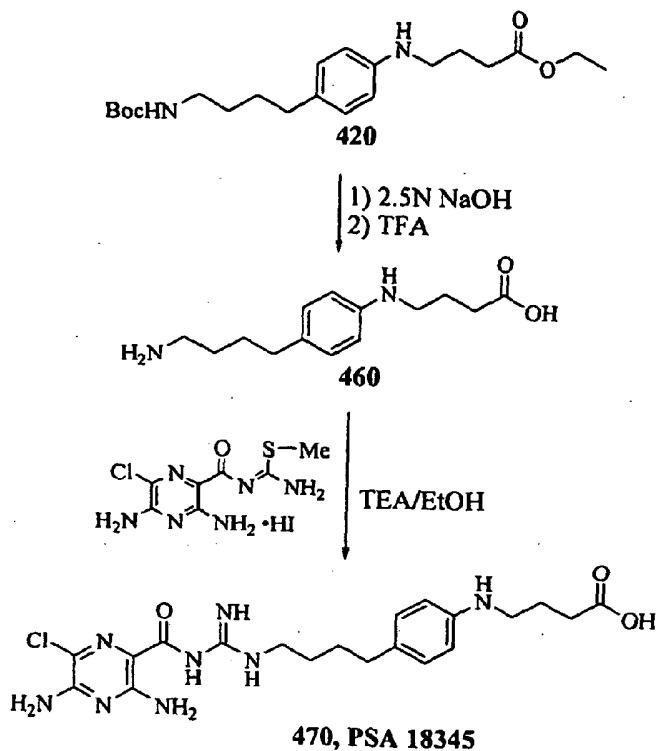
Arrefeceu-se éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(3-carbamoípropilamino)fenil]butil}carbâmico **430** (0,23 g, 0,66 mmol) a 0°C num banho de gelo. Juntou-se uma solução fria de TFA/diclorometano (10 mL). A reacção foi aquecida lentamente a temperatura ambiente e agitada durante 30 minutos. O solvente foi evaporado *in vacuo* para proporcionar **440**. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,69 (m, 4H), 1,95 (m, 2H), 2,47 (m, 2H), 2,71 (m, 2H), 2,93 (m, 2H), 3,39 (m, 2H), 7,39 (s, 4H). *m/z* (ESI) 250.

Dicloridrato de 4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)butiramida (**450**, PSA **18150**)

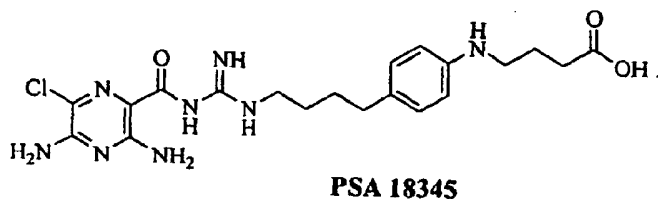
Combinaram-se {4-[4-(4-aminobutil)fenilamino]butiramida **440** (0,16 g, 0,64 mmol), iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotiourea (0,27 g, 0,71 mmol) e trietilamina (0,90 mL) em etanol (5 mL). A reação foi agitada a 50°C durante 2 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi sequencialmente lavado com éter dietílico (2×5 mL) e água (5 mL), e depois purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amônio concentrado, 8:1:0,1 v/v). O produto obtido foi ainda lavado com etanol (5 mL) para proporcionar a base livre pura de **450** (0,15 g, 51%). O sal foi preparado por adição de HCl 12N (18,4 µL) a uma solução de 4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)butiramida (50 mg) em metanol (1,0 mL) que foi depois vertida em éter dietílico. O sólido foi separado por decantação do líquido límpido, e depois tomado em água. A remoção de todo o líquido sob pressão reduzida proporcionou **450** (0,05 g) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,55 (m, 4H), 1,91 (t, 2H), 2,15 (t, 2H), 2,71 (m, 2H), 3,33 (m, 2H), 6,92 (s, 1H), 7,35 (s, 2H), 7,49 (s, 2H), 8,93 (m, 2H), 9,31 (s, 1H), 10,45 (s, 1H). *m/z* (ESI) 462.

Exemplo 20

Esquema 12. Síntese de PSA 18345



Síntese de ácido 4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)butírico (PSA **18345**)



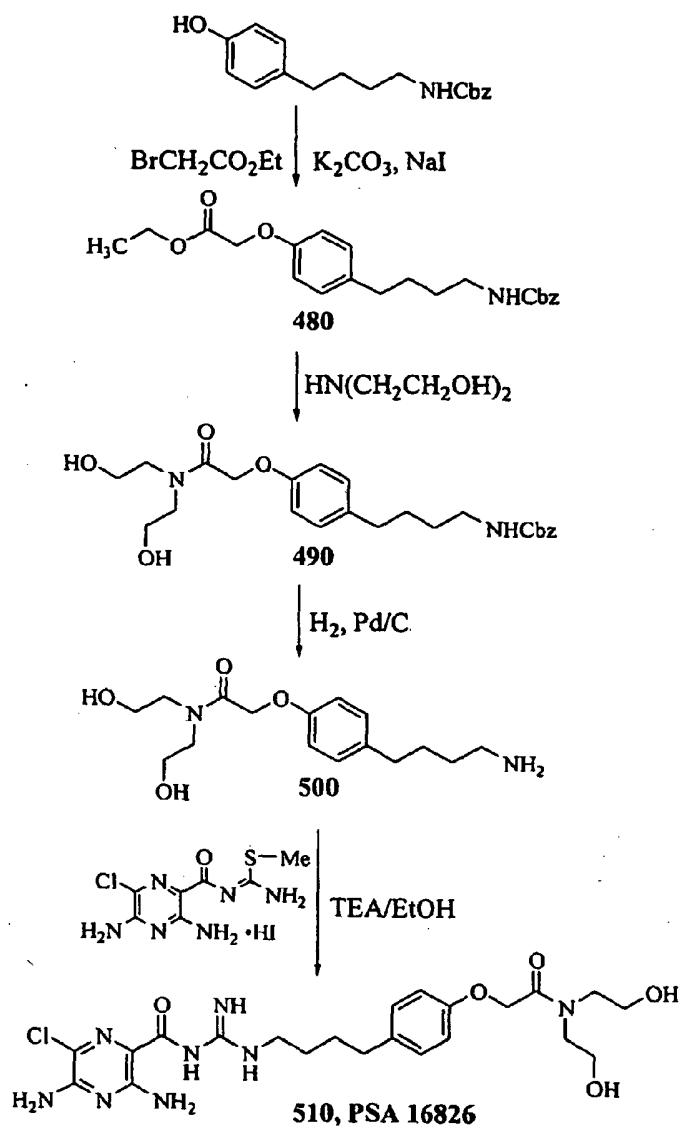
Ácido 4-[4-(4-aminobutil)fenilamino]butírico (**460**)

Juntou-se NaOH aquoso 2,5N (1,2 mL) a uma solução de éster etílico de ácido 4-[4-(4-*tert*-butoxicarbonilamino)butil]fenilamino]butírico **420** (0,45 g, 1,18 mmol) dissolvido numa mistura de água (25 mL) e THF (30 mL). A reacção foi agitada durante 2 h. Juntou-se HCl 12N gota a gota até pH 3. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi arrefecido a

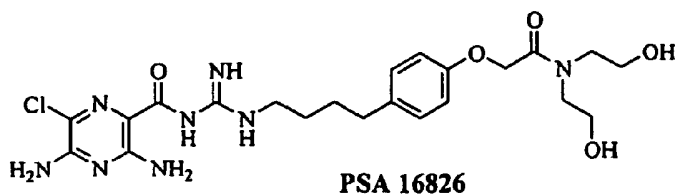
0°C e juntou-se uma solução de TFA/diclorometano (10 mL). A reacção foi agitada durante 30 minutos. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 4:1:0,1 v/v) para proporcionar **460** (0,38 g, 100%). ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,61 (m, 4H), 1,82 (m, 2H), 2,29 (t, 2H), 2,50 (m, 2H), 2,88 (m, 2H), 3,09 (t, 2H), 6,58 (d, 2H), 6,92 (d, 2H). *m/z* (ESI) 251.

Ácido 4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidino]butil}fenilamino)butírico (**470**, PSA **18345**)

Combinaram-se ácido 4-[4-(4-aminobutil)fenilamino]-butírico **460** (0,24 g, 0,94 mmol), iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotiourea (0,37 g, 0,94 mmol) e trietilamina (1,0 mL) em etanol (5 mL). A reacção foi agitada a 50°C durante 4 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado duas vezes por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 4:1:0,1, 2:1:0,1 v/v) para proporcionar **470** (0,12 g, 27%) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,67 (m, 4H), 1,89 (m, 2H), 2,30 (t, 2H), 2,59 (m, 2H), 3,09 (t, 2H), 3,30 (m, 2H), 6,58 (d, 2H), 6,92 (d, 2H). *m/z* (ESI) 463.

Exemplo 21**Esquema 13. Síntese de PSA 16826**

Síntese de 2-(4-{4-[N' -(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)- N,N -bis-(2-hidroxietyl)-acetamida (PSA **16826**)



Éster etílico de ácido [4-(4-benziloxicarbonilaminobutil)-fenoxi]acético (**480**)

Uma solução de éster benzílico de ácido [4-(4-hidroxifenil)butil]carbâmico (2,0 g, 6,7 mmol), carbonato de potássio (1,0 g, 7,3 mmol), iodeto de sódio (0,4 g, 2,7 mmol) e DMF (10 mL) foi agitada durante 30 minutos. Juntou-se uma solução de bromoacetato de etilo (0,8 mL, 7,4 mmol) em DMF (10 mL) gota a gota à reacção. A reacção foi ainda agitada a temperatura ambiente durante 3 dias, e depois vertida em água (200 mL). O produto foi extraído com acetato de etilo. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, acetato de etilo/hexanos, 1:5 v/v) para proporcionar o desejado produto **480** (2,3 g, 89%) como um sólido branco. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,34 (t, 3H), 1,57 (m, 4H), 2,56 (t, 2H), 3,20 (q, 2H), 4,25 (q, 2H), 4,59 (s, 2H), 5,10 (s, 2H), 6,85 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,38 (m, 5H).

Éster benzílico de ácido [4-(4-{[N,N-bis-(2-hidroxietil)-carbamoíl]metoxi}fenil)butil]carbâmico (**490**)

Aqueceu-se uma solução de éster etílico de ácido [4-(4-benziloxicarbonilaminobutil)fenoxi]acético **480** (0,3 g, 0,78 mmol), 2-(2-hidroxietilamino)etanol (0,15 mL, 1,6 mmol) e etanol (20 mL) a 70°C durante 72 horas. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, diclorometano/metanol, 100:5-1, v/v) para proporcionar **490** (0,19 g, 100% com base no material de partida recuperado (0,13 g)) como um sólido amarelo pálido. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,55 (m, 4H), 2,56 (t, 2H), 3,20 (q, 2H), 3,60 (m, 4H), 3,90 (m, 2H), 3,96 (m, 2H), 4,85 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 6,85 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,40 (m, 5H). m/z (ESI) 445.

2-[4-(4-Aminobutil)fenoxi]-*N,N*-bis-(2-hidroxietil)acetamida
(**500**)

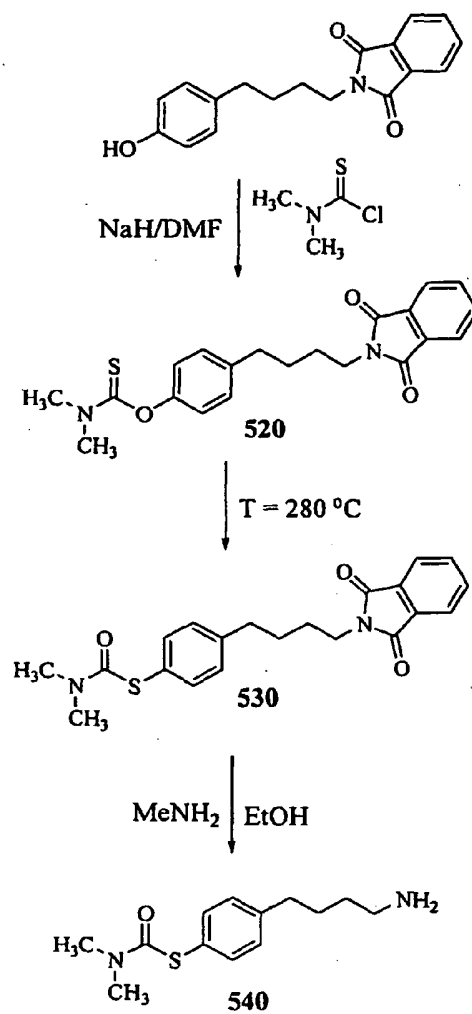
A uma solução desgaseificada de éster benzílico de ácido [4-(4-{[*N,N*-bis-(2-hidroxietil)carbamoíl]metoxi}fenil)butil]-carbâmico **490** (0,19 g, 0,43 mmol) em etanol (4 mL) juntou-se paládio sobre carvão activado a 10% (0,1 g, 50% húmido). A mistura foi hidrogenada a hidrogénio atmosférico de um dia para o outro. O catalisador foi filtrado através de uma almofada de Celite e o solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 20-5:1:0,1-1 v/v) para proporcionar **500** (0,09 g, 72%) como um óleo incolor. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,56 (m, 4H), 2,56 (t, 2H), 2,65 (t, 1H), 3,29 (m, 1H), 3,55 (m, 4H), 3,72 (m, 4H), 4,90 (s, 2H), 6,86 (d, 2H), 7,09 (d, 2H). *m/z* (ESI) 311.

2-(4-{4-[*N'*-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)-*N,N*-bis-(2-hidroxietil)acetamida (**510**, PSA **16826**)

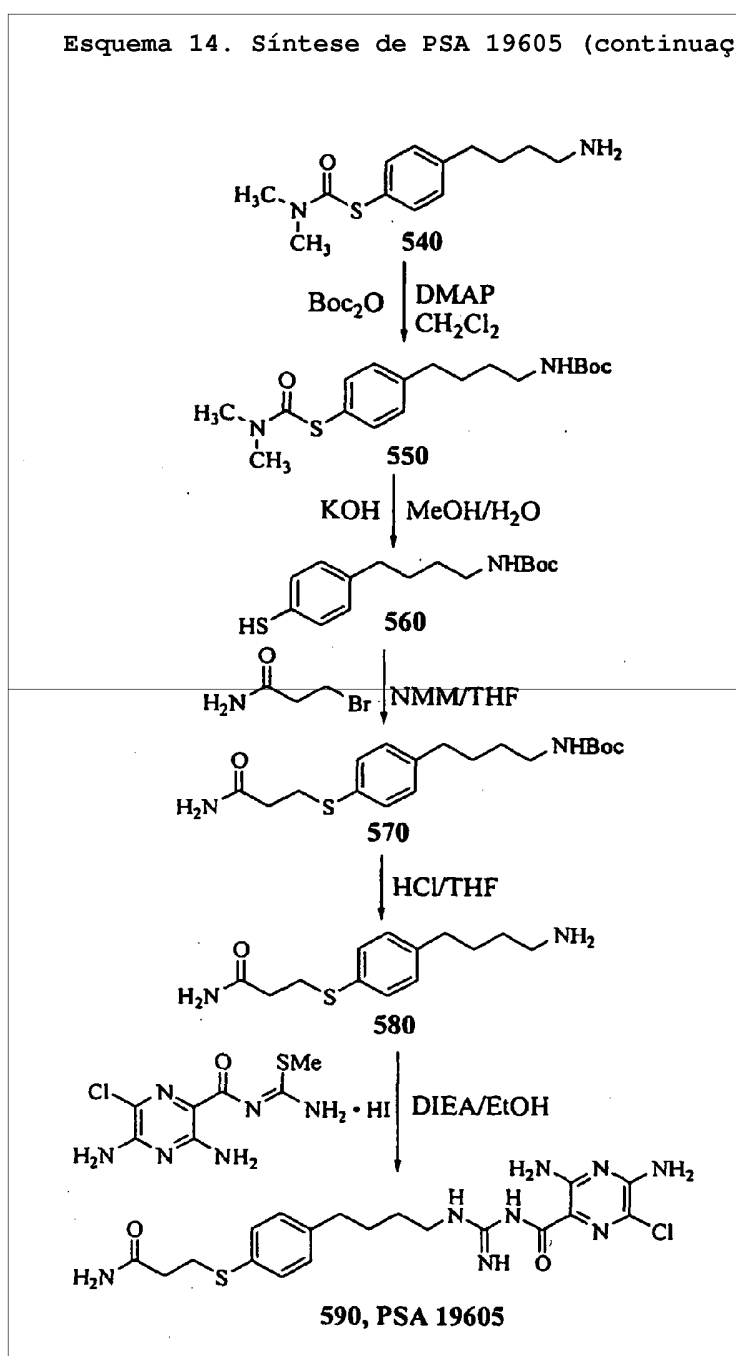
Juntou-se iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-2-metilisotioureia (0,13 g, 0,33 mmol) a uma solução de 2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-*N,N*-bis-(2-hidroxietil)-acetamida **500** (0,09 g, 0,3 mmol), trietilamina (0,12 mL) e etanol (1,7 mL). A mistura reaccional foi agitada a 60°C durante 3 h. O solvente foi evaporado *in vacuo*. O resíduo foi lavado com água e depois purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 20-10:1:0-0,2 v/v) para proporcionar **510** (0,1 g, 64%) como um sólido amarelo. O sal dicloridrato foi preparado por adição de HCl 4N (3 gotas) a uma solução do produto (40 mg) em metanol (2 mL). Foi observada alguma decomposição por análise de HPLC. O produto foi assim re-purificado por uma placa de TLC preparativa (revelada com diclorometano/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 10:2:0,2 v/v) para proporcionar **510** (20 mg) como um sólido amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,65 (m, 4H), 2,58 (t, 2H), 3,33 (m, 2H), 3,54 (m, 4H), 3,72 (m, 4H), 4,89 (s, 2H), 6,86 (d, 2H), 7,09 (d, 2H). *m/z* (ESI) 523.

Exemplo 22

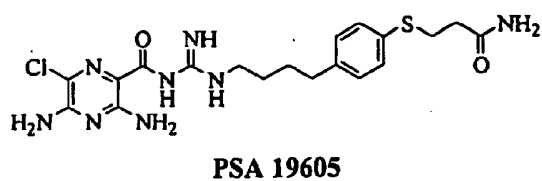
Esquema 14. Síntese de PSA 19605



Esquema 14. Síntese de PSA 19605 (continuação)



Síntese de 3-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]butil}feniltio)propionamida (PSA 19605)



N-{4-[4-(Dimetiltiocarbamoíloxi)fenil]butil}ftalimida (**520**)

Uma suspensão de hidreto de sódio em óleo mineral (0,44 g de 60%) em DMF anidra (10 mL) foi arrefecida a 0°C. Juntou-se à mistura N-[4-(4-hidroxifenil)butil]ftalimida (2,95 g, 10 mmol) dissolvida em DMF seca (15 mL), que depois foi agitada durante 30 min a 0°C e deixou-se aquecer a temperatura ambiente ao longo de 1 h. À mistura juntou-se em porções cloreto de N,N-dimetiltiocarbamoílo (1,35 g, 11 mmol) dissolvida em DMF (10 mL). A mistura recém-formada foi agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro, depois a 50°C durante 1 h, e foi arrefecida de volta a temperatura ambiente, momento em que se adicionou metanol (10 mL) à mistura. O solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea sobre sílica gel (diclorometano/hexano/acetato de etilo, 10:1:0,2 v/v) para dar N-{4-[4-(dimetiltiocarbamoíloxi)fenil]butil}ftalimida **520** (2,27 g, 59%) como um sólido ligeiramente amarelo. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,72 (m, 4H), 2,66 (m, 2H), 3,33 (s, 3H), 3,45 (s, 3H), 3,70 (m, 2H), 6,96 (d, 2H), 7,18 (d, 2H), 7,71 (m, 2H), 7,84 (m, 2H). m/z (ESI) 383 $[\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} + \text{H}]^+$.

N-{4-[4-(Dimetilcarbamoíltio)fenil]butil}ftalimida (**530**)

Colocou-se N-{4{4-[(dimetiltiocarbamoíloxi)fenil]butil}-ftalimida **520** (2,1 g, 5,4 mmol) em banho de areia pré-aquecida a 230°C. A temperatura foi aumentada para 280°C e o composto fundido foi mantido a esta temperatura durante 2 h em atmosfera de árgon. A mistura foi arrefecida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea sobre sílica gel (diclorometano/hexano/acetato de etilo, 10:1:0,2 v/v) para gerar **530** (1,2 g, 57%) como um pó branco. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,70 (m, 4H), 2,66 (t, 2H), 3,05 (br s, 3H), 3,71 (t, 2H), 6,96 (d, 2H), 7,19 (d, 2H), 7,38 (d, 2H), 7,70 (m, 2H), 7,83 (m, 2H). m/z (ESI) 383 $[\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{S} + \text{H}]^+$.

{4-[4-(Dimetilcarbamoíltio)fenil]butilamina (**540**)

Dissolveu-se ftalimida **530** (1,1 g, 2,8 mmol) numa solução contendo 6,6% de metilamina em etanol (100 mL) e deixou-se sob agitação a temperatura ambiente de um dia para

o outro. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 10:1:0,1 v/v) para proporcionar a amina livre **540** (0,31 g, 42%) como um pó branco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,51 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,66 (m, 4H), 3,02 (m, 6H), 7,23 (d, 2H), 7,35 (d, 2H).

N-*tert*-Butoxicarbonil-{4-[4-(dimetilcarbamoíltio)fenil]-butilamina (**550**)

Juntou-se di-*tert*-butildicarbonato (0,35 g, 1,6 mmol) a uma solução de **540** (0,31 g, 1,22 mmol), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) e diclorometano (50 mL). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 26 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea sobre sílica gel (hexano/acetato de etilo, 3:1 v/v) para gerar **550** (0,36 g, 83%) como um pó branco. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,44 (s, 9H), 1,51 (m, 2H) 1,64 (m, 2H), 3,08 (m, 8H), 4,48 (br s, 1H), 7,18 (d, 2H), 7,39 (d, 2H).

Éster *tert*-butílico de ácido *N*-[4-(4-mercaptofenil)butil]-carbâmico (**560**)

Dissolveu-se *N*-*tert*-butoxicarbonil-{4-[4-(dimetilcarbamoíltio)fenil]butilamina **550** (0,35 g, 1,02 mmol) em MeOH (8 mL). Juntou-se KOH (0,19 g, 3,4 mmol) dissolvido em água (2 mL). A mistura foi agitada sob refluxo durante 6 h e arrefecida a temperatura ambiente. O solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em água e acidificado com HCl aquoso a 5% até pH ~5. O solvente foi removido novamente sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea sobre sílica gel (hexano/acetato de etilo, 3:1 v/v) para proporcionar o desejado tiofenol **560** (0,13 g, 45%) como um óleo límpido. ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 1,43 (s, 9H), 1,49 (m, 2H) 1,59 (m, 2H), 2,57 (t, 2H), 3,12 (m, 2H), 3,38 (s, 1H), 4,47 (br s, 1H), 7,04 (d, 2H), 7,19 (d, 2H).

Éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(2-carbamoíletiltio)-fenil]butil}carbâmico (**570**)

Uma solução de amida de ácido 3-bromopropiônico (0,075 g, 0,5 mmol) em THF (5 ml) foi adicionada a uma solução de éster *tert*-butílico de ácido [4-(4-mercaptofenil)butil]-carbâmico **560** (0,13 g, 0,46 mmol) dissolvido em THF (15 mL) e 4-metilmorfolina (NMM) (0,3 mL). A mistura reaccional foi agitada a 50°C durante 4 h e depois arrefecida a temperatura ambiente. Juntaram-se mais dois equivalentes de amida de ácido 3-bromopropiônico (0,15 g, 1 mmol). A mistura foi ainda agitada a temperatura ambiente durante 2 dias. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 15:1:0,1 v/v) para proporcionar o desejado produto éster *tert*-butílico de ácido {4-[4-(2-carbamoíletilsulfanil)fenil]butil}carbâmico **570** (0,13 g, 80%) como um pó branco. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,48 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 2,46 (m, 2H), 2,58 (t, 2H), 3,09 (t, 2H), 3,13 (m, 2H), 7,14 (d, 2H), 7,29 (d, 2H). *m/z* (ESI) 353 (C₁₈H₂₈N₂O₃S + H)⁺.

Dicloridrato de 3-[4-(4-aminobutil)feniltio]propionamida (**580**)

A amina protegida **570** foi dissolvida em THF (5 mL) e juntou-se HCl 4N em dioxano (5 mL). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 6 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi seco sob vácuo para gerar o sal dicloridrato **580** (0,11 g, 100%) como um pó branco. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,56 (m, 4H), 2,35 (t, 2H), 2,56 (t, 2H), 2,47 (m, 2H), 3,08 (t, 2H), 6,68 (br s, 1H), 7,15 (d, 2H), 7,27 (d, 2H), 7,37 (br s, 1H), 7,78 (br s, 3H). *m/z* (ESI) 253 [C₁₃H₂₀N₂OS + H]⁺.

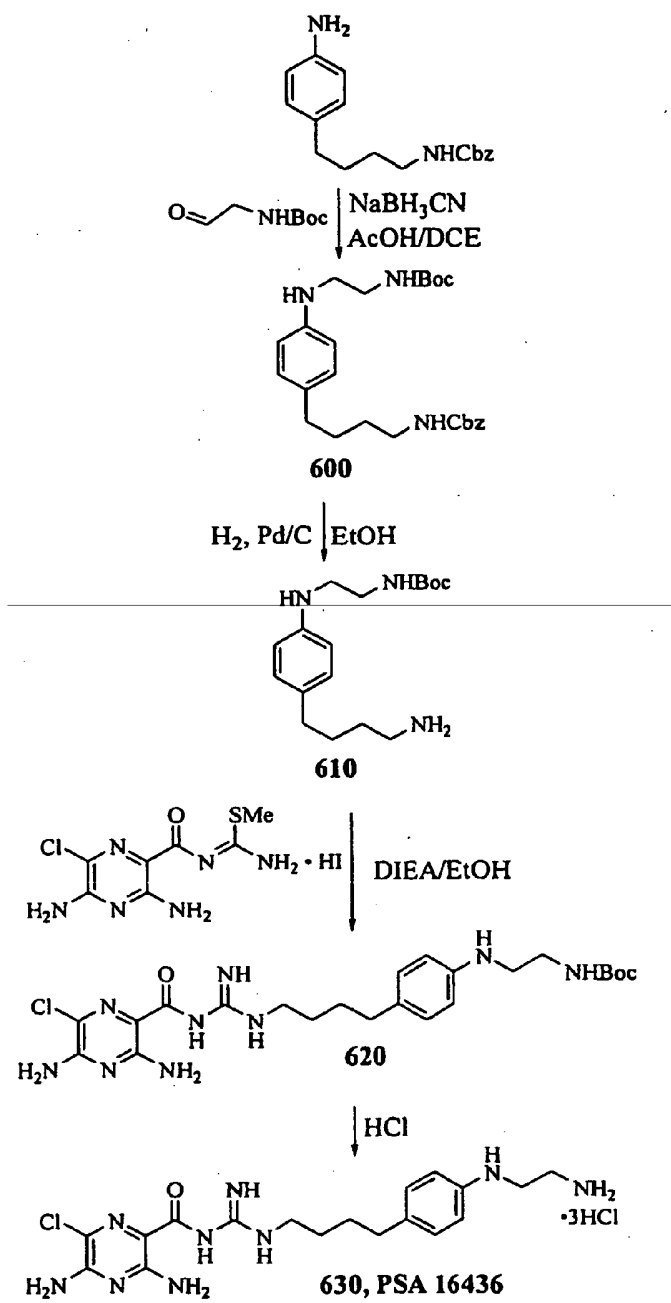
3-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidino]-butil}feniltio)propionamida (**590**, PSA **19605**)

Adicionaram-se sequencialmente diisopropiletilamina (0,4 mL, 2,2 mmol) e iodidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-metilisotioureia] (0,17 g, 0,44 mmol) a uma solução de **580** (0,11 g, 0,31 mmol) em etanol (8 mL). A mistura reaccional foi agitada a 60°C durante 6 h. O solvente foi removido sob

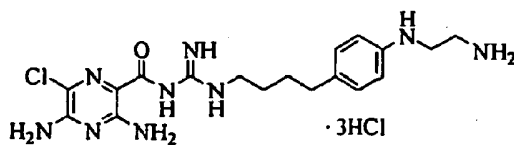
pressão reduzida e o resíduo foi tratado com água (10 mL). O precipitado formado foi recolhido por centrifugação. Uma porção do produto foi purificada por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 15:1:0,1 v/v) para gerar o desejado composto **590** (0,027 g, 18%) como um pó amarelo. (300 MHz, CD₃OD) δ 1,6 (m, 4H), 2,47 (m, 2H), 2,62 (t, 2H), 3,12(t, 2H), 3,23 (m, 2H), 7,14 (d, 2H), 7,29 (d, 2H). *m/z* (APCI) 465 [C₁₉H₂₅ClN₈O₂S + H]⁺.

Exemplo 23

Esquema 15. Síntese de PSA 16436



Síntese de N -{4-[4-(2-aminoetilamino)fenil]butil}- N' -(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (PSA **16436**)

**PSA 16436**

Éster benzílico de ácido *N*-{4-[4-(2-*tert*-butoxicarbonil-aminoetilamino)fenil]butil}carbâmico (**600**)

Uma solução de *N-tert*-butoxicarbonilaminoacetaldeído (0,28 g, 1,76 mmol) em 1,2-dicloroetano (DCE, 5 mL) foi adicionada a uma solução de éster benzílico de ácido [4-(4-aminofenil)butil]carbâmico (0,48 g, 1,6 mmol) em DCE (10 mL) e ácido acético (0,108 mL, 1,6 mmol). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 20 min. Depois juntou-se NaB(OAc)₃H (0,48 g, 2,26 mmol) à mistura, a qual foi agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. Juntou-se água (10 mL) e a mistura foi acidificada a pH 7 por HCl aquoso a 10%. A fracção orgânica foi isolada e seca sobre sulfato de sódio. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, acetato de etilo/hexano, 1:2 v/v) para proporcionar a diamina protegida **600** (0,33 g, 47%) como um pó branco. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,45 (s, 9H), 1,54 (m, 2H), 2,51 (m, 2H), 3,18 (m, 4H), 3,36 (m, 2H), 3,89 (br s, 1H), 4,69 (br s, 1H), 4,78 (br s, 1H), 5,51 (s, 2H), 6,54 (d, 2H), 6,96 (d, 2H), 7,33 (m, 5H). *m/z* (ESI) 442 [C₂₅H₃₅N₃O₄ + H]⁺.

Éster *tert*-butílico de ácido *N*-{2-[4-(4-aminobutil)fenil-amino]etil}carbâmico (**610**)

A diamina protegida **600** (0,315 g, 0,71 mmol) foi agitada a temperatura ambiente durante 4 h em metanol (25 mL) com Pd/C a 10% (137 mg, 50% húmido) sob hidrogénio atmosférico. O catalisador foi removido por filtração e o solvente foi removido sob pressão reduzida para gerar a amina **610** (0,21 g, 96%) como um óleo límpido. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,46 (m, 11H), 1,56 (m, 2H), 2,51 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 3,22 (m, 2H), 3,54 (m, 2H), 3,82 (br s, 1H), 4,80 (br s, 1H), 6,54 (d, 2H), 6,98 (d, 2H).

Éster *tert*-butilico de ácido [2-(4-{4-[*N'*-3,5-diamino-6-cloro-pirazina-2-carbonilguanidino]butil}fenilamino)etil]carbâmico (**620**)

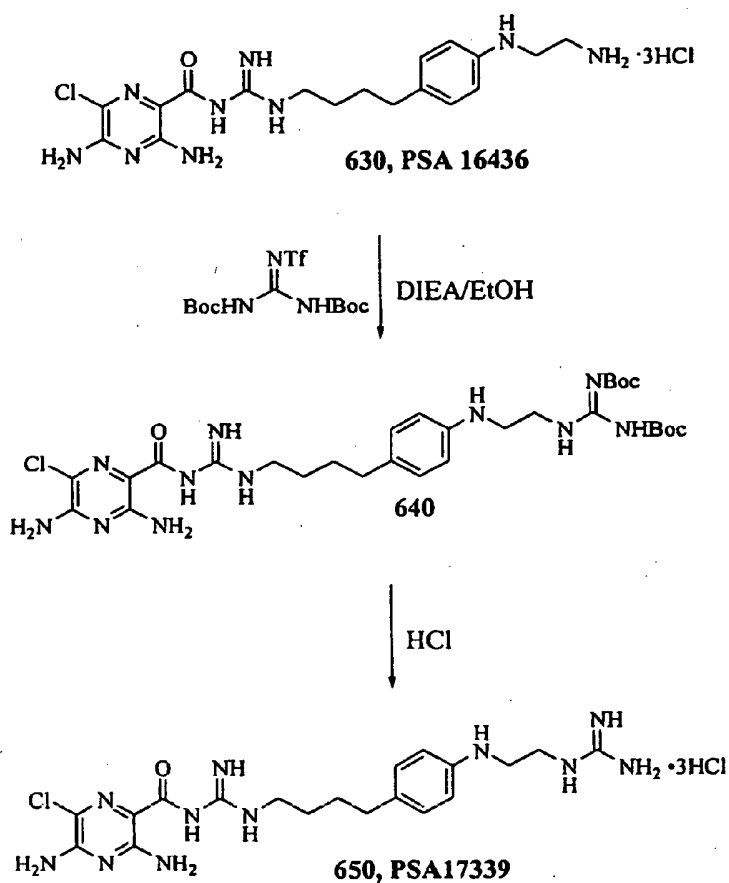
Adicionaram-se sequencialmente diisopropiletilamina (0,3 mL, 1,65 mmol) e iodidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-metilisotioureia (0,254 g, 0,67 mmol) a uma solução de **610** (0,20 g, 0,67 mmol) em etanol (10 mL). A mistura reaccional foi agitada a 60°C durante 4 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi lavado com acetato de etilo e água e seco sob vácuo. Uma porção do resíduo foi purificada por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 10:1:0,1 v/v) para gerar **620** (0,206 g, 60%) como um pó amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,62 (m, 4H), 2,52 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 3,22 (m, 4H), 6,57 (d, 2H), 6,95 (d, 2H). *m/z* (ESI) 520 [C₂₃H₃₄ClN₉O₃ + H]⁺.

Tricloridrato de *N*-{4-[4-(2-aminoetilamino)fenil]butil}-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (**630**, PSA **16346**)

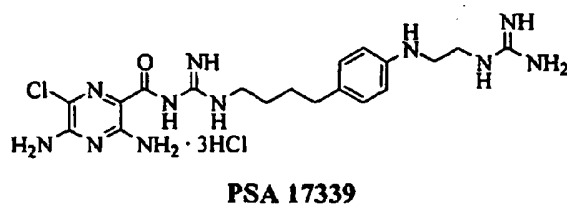
A guanidina protegida **620** foi dissolvida numa mistura de metanol (7 mL) e HCl 4N em dioxano (12 mL). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 2,5 h. O precipitado formado foi recolhido por centrifugação e seco sob vácuo. O pó amarelo seco foi dissolvido em HCl aquoso (5%) e o solvente foi evaporado para gerar o sal dicloridrato **630** (0,14 g, 75%) como um pó amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,74 (m, 4H), 2,77 (m, 2H), 3,39 (m, 4H), 3,73 (m, 2H), 7,47 (d, 2H), 7,58 (d, 2H). *m/z* (ESI) 420 [C₁₈H₂₆ClN₉O + H]⁺.

Exemplo 24

Esquema 16. Síntese de PSA 17339



Síntese de tricloridrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-{4-[2-(guanidinoetilamino)fenil]butil}guanidina (PSA 17339)

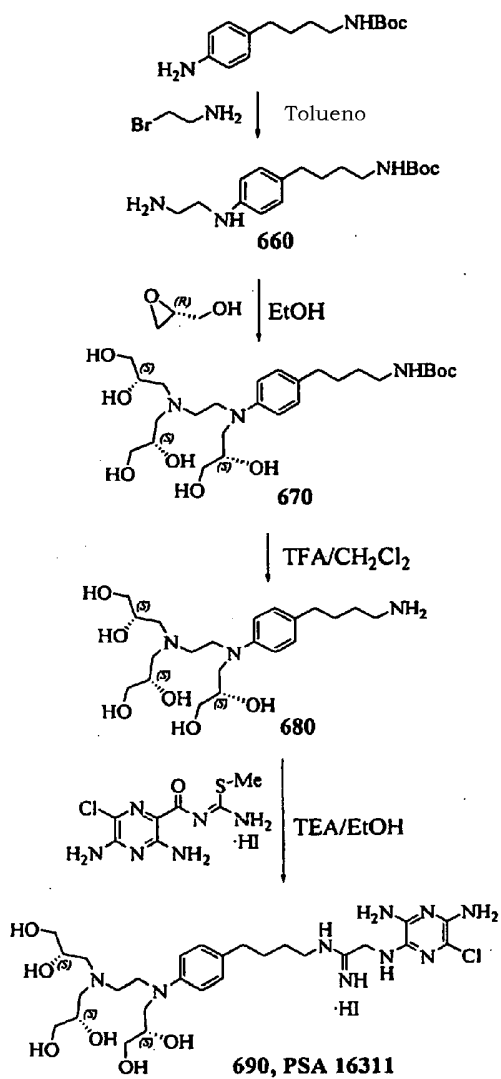


N-(4-{4-[2-(*N'*,*N''*-Di-*tert*-butoxicarbonilguanidino)etilamino]fenil}butil)-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-guanidina (640)

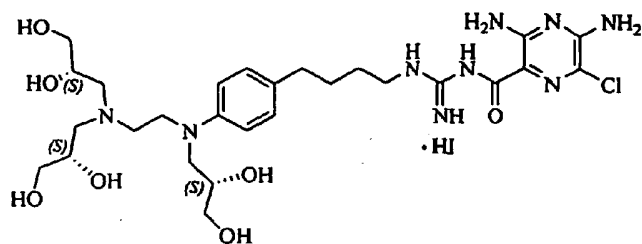
Adicionaram-se sequencialmente diisopropiletilamina (0,12 mL, 0,6 mmol) e *N,N'*-di-(*tert*-butoxicarbonil)-*N''*-trifluorometanossulfonilguanidina (reagente de Goodman) (0,12 g, 0,30 mmol) em metanol (3 mL) a uma suspensão de **630** em metanol (5 mL). A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 2 dias. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 10:1:0,1 v/v). O sólido amarelo obtido foi lavado com água e seco sob vácuo para dar **640** (0,076 g, 57%) como um pó amarelo. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,48 (s, 9H), 1,50 (s, 9H), 1,67 (m, 4H), 2,57 (m, 2H), 3,26 (m, 4H), 3,55 (m, 2H), 6,63 (d, 2H), 6,95 (d, 2H). m/z (ESI) 662 [$\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{ClN}_{11}\text{O}_5 + \text{H}$].

Tricloridrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-(4-[(2-guanidinoetilamino)fenil]butil}guanidina (**650**, PSA **17339**)

O composto **640** (0,072 g, 0,11 mmol) foi agitado em HCl aquoso a 33% (10 mL) a temperatura ambiente durante 3 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em TFA aquoso a 0,1% e purificado por HPLC preparativa (coluna C8 Spherosorb S5C8, método isocrático, 0,1% de TFA em água/acetonitrilo, 75%:25% v/v). As fracções contendo o composto desejado foram combinadas e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em HCl a 5% e o solvente foi removido de novo sob pressão reduzida. Este procedimento foi repetido duas vezes. O composto obtido foi dissolvido em água e liofilizado para gerar **650** (0,012 g, 20%) como um sólido amarelo. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,74 (m, 4H), 2,77 (m, 2H), 3,37 (m, 2H), 3,63 (m, 4H), 7,40-7,56 (m, 4H). m/z (ESI) 462 [$\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{ClN}_{11}\text{O}_5 + \text{H}$].

Exemplo 25**Esquema 17. Síntese de PSA 16311**

Síntese de *N*-(4{4-[{2-[*N,N*-bis-((2*S*)-2,3-di-hidroxipropil)-amino]etil}-*N*-((2*S*)-2,3-di-hidroxipropil)amino]fenil}butil)-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (PSA **16311**)



PSA 16311

Éster *tert*-butílico de ácido *N*-{4-[4-(2-aminoetil)aminofenil]-butil}carbâmico (**660**)

Uma mistura de éster *tert*-butílico de ácido *N*-[4-(4-aminofenil)butil]carbâmico (4,5 g, 17 mmol) e bromidrato de 2-bromoetilamina (1,75 g, 8,5 mmol) em tolueno foi agitada a 100°C durante 3 dias. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 8:1:0,1 v/v) para gerar **660** (1,47 g, 56%) como um pó branco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,51 (m, 4H), 2,48 (t, 2H), 2,85 (t, 2H), 3,03 (t, 2H), 3,17 (m, 2H), 6,59 (d, 2H), 6,94 (d, 2H). m/z (ESI) 308 [$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{IN}_3\text{O}_2 + \text{H}$].

N-tert-Butoxicarbonil-4-{4-[{2-[*N,N*-bis-((2*S*)-2,3-di-hidroxi-propil)amino]etil}-*N*-((2*S*)-2,3-di-hidroxi-propil)amino]fenil}-butilamina (**670**)

Uma mistura de (R)-(+)-glicidol (0,22 g, 3mmol) e amina **660** em etanol (6 mL) foi agitada a 70°C (banho de óleo) de um dia para o outro. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 7:1:0,1 v/v) para gerar **670** (0,27 g, 60%) como um óleo límpido. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,44 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 2,45-2,78 (br m, 6H), 3,0 (m, 2H), 3,32 (m, 8H), 3,52 (m, 8H), 3,72 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 6,70 (d, 2H), 6,98 (d, 2H).

Bis-(trifluoroacetato) de 4-{4-[[2-[*N,N*-bis-((2*S*)-2,3-di-hidroxi-propil)amino]etil]-*N*-((2*S*)-2,3-di-hidroxi-propil)amino]-fenil}butilamina (**680**)

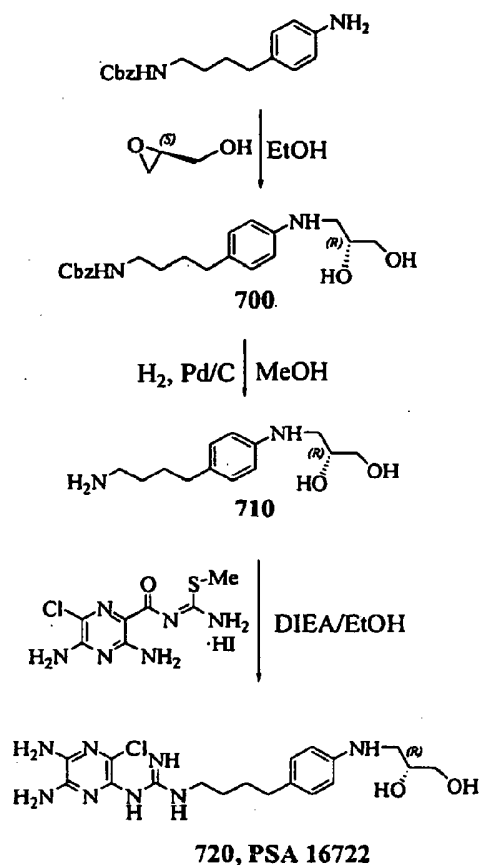
Adicionou-se diclorometano (2 mL) à amina protegida **670** (0,27 g, 0,5 mmol) seguido de adição de TFA (5 mL). A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 25 min. O solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em metanol e o solvente foi removido novamente sob pressão reduzida. O resíduo foi seco sob vácuo de um dia para o outro para proporcionar o composto **680** (0,31 g, 80%) como um óleo límpido. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,66 (m, 4H), 2,59 (m, 2H), 2,92 (m, 2H), 3,15-4,10 (m, 20H), 6,78 (d, 2H), 6,98 (d, 2H).

N-(4{4-[[2-[*N,N*-Bis-((2*S*)-2,3-di-hidroxi-propil)amino]etil]-*N*-((2*S*)-2,3-di-hidroxi-propil)amino]fenil}butil)-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (**690**, PSA **16311**)

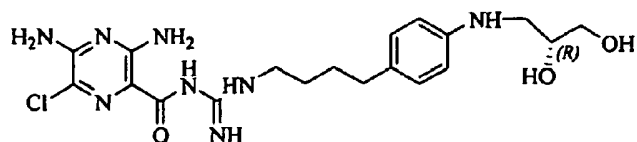
Adicionaram-se sequencialmente trietilamina (0,5 mL, 3,6 mmol) e iodidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-metilisotiourea] (0,20 g, 0,52 mmol) a uma solução de **680** (0,31 g, 0,40 mmol) em etanol (10 mL). A mistura reaccional foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 2,5 h e depois a temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 3:1:0,3 v/v) para gerar **690** (0,127 g, 17%) como um pó amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,64 (m, 4H), 2,49-2,81 (m, 8H), 3,25 (m, 4H), 3,51 (m, 9H), 3,70 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 6,71 (d, 2H), 7,00 (d, 2H). *m/z* (ESI) 642 [C₂₇H₄₄ClN₉O₇ + H]⁺, 768 [C₂₇H₄₄ClN₉O₇ + I]⁻. [α]_D²⁵ = -23,4° (c = 0,5, MeOH).

Exemplo 26

Esquema 18. Síntese de PSA 16722



Síntese de N-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-N'-{4-[4-((2R)-2,3-di-hidroxipropilamino)fenil]butil}guanidina (PSA 16722)

**PSA 16722**

Éster benzílico de ácido {4-[4-((2R)-2,3-Di-hidroxipropil-amino)fenil]butil}carbâmico (**700**)

Uma solução de (*S*)-(-)-glicidol (0,16 mL, 2,3 mmol) em etanol (5 mL) foi adicionada gota a gota a uma solução agitada de éster benzílico de ácido *N*-[4-(4-aminofenil)-butil]carbâmico (0,59 g, 1,97 mmol) em etanol (15 mL) a 70°C. A mistura reaccional foi agitada a 70°C (banho de óleo) de um dia para o outro. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 15:1:0,1 v/v) para gerar **700** (0,29 g, 40%) como um sólido branco. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,51 (m, 4H), 2,48 (t, 2H), 3,07 (m, 1H), 3,26 (t, 2H), 3,30 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 5,00 (s, 2H), 6,59 (d, 2H), 6,99 (d, 2H), 7,33 (m, 5H). *m/z* (ESI) 373 [C₂₁H₂₈N₂O₄ + H]⁺.

4-[4-((2*R*)-2,3-Di-hidroxipropilamino)fenil]butilamina (**710**)

A amina protegida **700** (0,29 g, 0,77 mmol) foi agitada a temperatura ambiente durante 6 h em metanol (20 mL) com Pd/C a 10% (129 mg, 50% húmido) sob hidrogénio (1 atm). O catalisador foi removido por filtração e o solvente foi removido sob pressão reduzida para gerar a amina **710** (0,165 g, 90%) como um óleo límpido. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,56 (m, 4H), 2,51 (t, 2H), 2,71 (t, 2H), 3,02 (m, 1H), 3,27 (m, 1H), 3,30 (m, 2H), 3,56 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 6,60 (d, 2H), 6,95 (d, 2H). *m/z* (ESI) 239 [C₁₃H₂₂N₂O₂ + H]⁺.

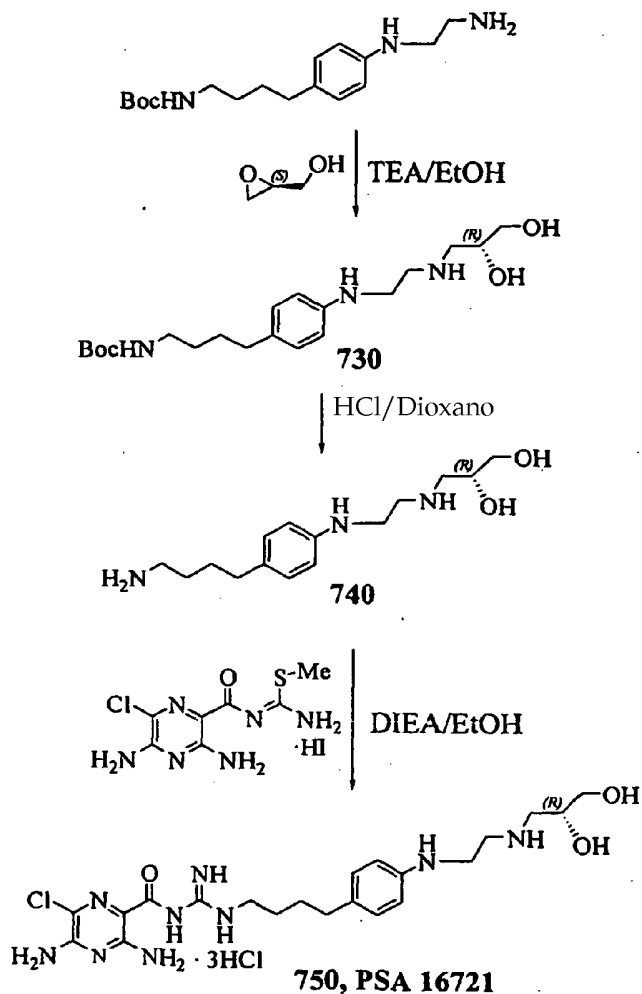
N-(3,5-Diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)-*N'*-{4-[4-((2*R*)-2,3-di-hidroxipropilamino)fenil]butil}guanidina (**720**, PSA **16722**)

Adicionaram-se sequencialmente diisopropiletilamina (0,5 mL, 2,75 mmol) e iodidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoíl)-2-metilisotioureia (0,272 g, 0,70 mmol) a uma solução de **710** (0,165 g, 0,70 mmol) em etanol (10 mL). A mistura reaccional foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 4 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi sequencialmente lavado com acetato de etilo e água (5 mL, de cada vez) e seco sob vácuo. O material bruto seco foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 4:1:0,15 v/v) para proporcionar o desejado composto **720** (0,168 g, 54%) como um pó amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,63 (m, 4H), 2,53 (t, 2H), 3,02 (m, 1H), 3,22 (m, 2H), 3,27 (m, 1H), 3,57 (m, 2H),

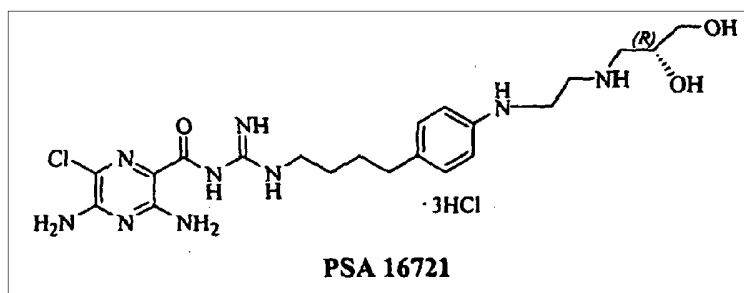
3,81 (m, 1H), 6,60 (d, 2H), 6,96 (d, 2H). m/z (ESI) = 451
 $[C_{19}H_{27}ClN_8O_3 + H]^+$, $[\alpha]^{25}_D = +6,9^\circ$ ($c = 0,5$, MeOH).

Exemplo 27

Esquema 19. Síntese de PSA 16721



Síntese de tricloridrato de N -(4-{4-[(2*R*)-2,3-dihidroxiopropil)amino]etilamino}fenil)butil- N' -(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (PSA **16721**)



N-*tert*-Butoxycarbonil-4-{4-[{2-[(*(R)*)-2,3-di-hidroxipropil]-amino]etilaminofenil}butilamina (**730**)

Uma mistura de (*S*)-(-)-glicidol (0,30 g, 4 mmol) e trietilamina (0,5 mL, 3,6 mmol) em etanol (5 mL) foi adicionada em porções a uma solução da amina **660** (0,61 g, 2 mmol) em etanol (15 mL) durante 30 min a temperatura ambiente. A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente de um dia para o outro. Juntou-se (*S*)-(-)-glicidol (0,080 g, 1 mmol) extra em 10 ml de etanol gota a gota e a mistura foi agitada durante 18 h adicionais. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 8:1:0.1, v/v) para proporcionar o composto **730** bruto (0,176 g).

Um segundo lote da mesma reacção foi ensaiado pela adição gota a gota de uma solução de (*S*)-(-)-glicidol (0,090 g, 1,2 mmol) em etanol (5 mL) a uma solução da amina **660** (0,36 g, 1,17 mmol) em etanol (10 mL) ao longo de 3 h a 70°C. A mistura reaccional foi agitada a 70°C. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 7:1:0,1 v/v) para proporcionar o composto **730** bruto (0,22 g).

Os produtos em bruto de ambos lotes foram combinados e purificados de novo por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 9:1:0,1 v/v) para gerar **730** puro (0,206 g, 11% de rendimento global) como uma parafina branca. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,44 (s, 9H), 1,47 (m, 2H), 1,54 (m, 2H), 2,48 (t, 2H), 2,61 (m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,83 (m, 2H), 3,02 (t, 2H), 3,22 (t, 2H), 3,49 (t, 2H), 3,72 (m, 1H), 6,59 (d, 2H), 6,93 (d, 2H).

Dicloridrato de 4-{4-[{2-[(*(2R)*-2,3-di-hidroxipropil)amino]-etilamino}fenil}butilamina (**740**)

Adicionou-se HCl 4N em dioxano (10 mL) à amina **730** protegida. A mistura foi agitada a temperatura ambiente durante 3 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida. Juntou-se diclorometano (15 mL) ao resultante sólido branco e evaporou-se subsequentemente. Este procedimento foi repetido três vezes. O sólido resultante foi seco adicionalmente sob vácuo para proporcionar o sal dicloridrato **740** (0,209 g, 96%) como um pó branco. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,43 (m, 4H), 2,72 (m, 2H), 2,93 (m, 2H), 3,12 (m, 1H), 3,49 (m, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,75 (m, 2H), 3,97 (m, 1H), 6,70 (m, 4H). m/z (ESI) 282 [$\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2 + \text{H}$] $^+$.

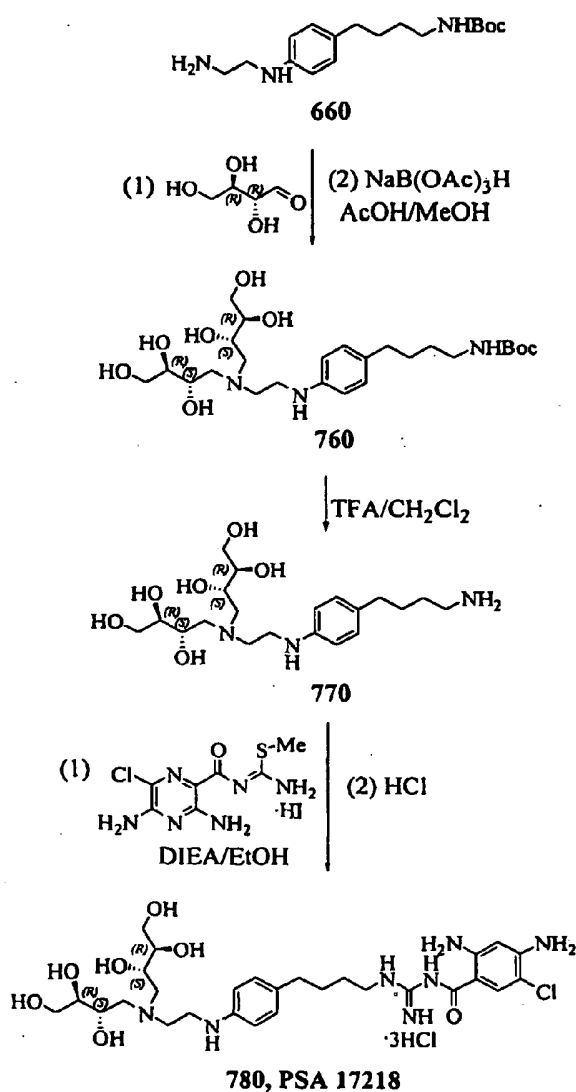
Tricloridrato de *N*-(4{4-{2-[(*(2R)*-2,3-di-hidroxipropil)amino]-etilamino}fenil}butil-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (**750**, PSA **16721**)

Adicionaram-se sequencialmente diisopropiletilamina (0,5 mL, 2,75 mmol) e iodidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-metilisotioureia (0,230 g, 0,60 mmol) a uma solução de **740** (0,165 g, 0,70 mmol) em etanol (10 mL). A mistura reaccional foi agitada a 70°C (banho de óleo) durante 2,5 h e depois a temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por Flash[™] (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 3:1:0,1 v/v) para gerar a base livre *N*-(4{4-[{2-[(*(2R)*-2,3-di-hidroxipropil)amino]etilamino}fenil}butil-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina em bruto (0,176 g, 58%, 80% de pureza por HPLC) como um sólido amarelo. Foi depois dissolvida em metanol (5 mL). À solução juntou-se HCl 4N em dioxano (10 mL). O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido novamente em metanol (5 mL). A solução foi vertida em 2-propanol (20 mL). O precipitado resultante foi recolhido e purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 3:1:0,3 v/v) para gerar a base livre **750** (0,042 g, 12%). O composto **750** foi dissolvido em HCl aquoso a 3%. O solvente foi removido sob pressão reduzida para proporcionar o composto final como um sal tricloridrato (0,050 g, 9,3%, um

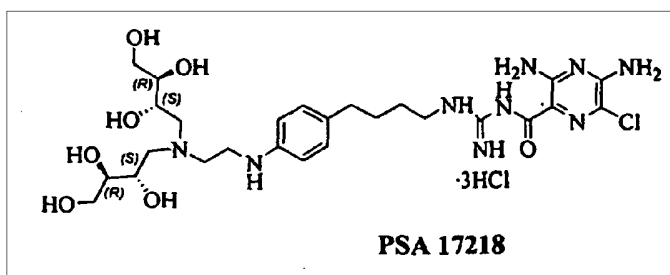
pó amarelo). ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 1,74 (m, 4H), 2,76 (t, 2H), 3,13 (m, 1H), 3,37 (m, 2H), 3,56 (m, 4H), 3,80 (m, 1H), 7,44 (d, 2H), 7,53 (d, 2H). m/z (ESI) 494 $[\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{ClN}_9\text{O}_3 + \text{H}]^+$. $[\alpha]^{25}_{\text{D}} = +6,7^\circ$ ($c = 0,5$, MeOH).

Exemplo 28

Esquema 20. Síntese de PSA 17218



Síntese de tricloridrato de N -[4-(4-{2-[bis-((2*S*, 3*R*)-2,3,4-tri-hidroxibutil)amino]etilamino}fenil)butil]- N' -(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (PSA **17218**)



N-tert-Butoxycarbonil-4-{2-[*N,N*-bis-((2*S*,3*R*)-2,3,4-tri-hidroxi-butyl)amino]etilamino}fenilbutilamina (**760**)

Adicionaram-se sequencialmente ácido acético (0,09 mL, 1,4 mmol) e uma solução de D-(-)-eritrose (0,52 g, 4,2 mmol) em metanol (2,5 mL) a uma solução da amina **660** (0,44 g, 4,2 mmol) em metanol (20 mL). A mistura reaccional foi agitada a temperatura ambiente durante 20 minutos sob protecção de azoto. A reacção foi arrefecida a -78°C. Juntou-se depois cianoboro-hidreto de sódio (0,39 g, 6,16 mmol) à mistura. Deixou-se a reacção aquecer até à temperatura ambiente e agitou-se durante 18 h. O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de 90 g de sílica gel 40M, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio concentrado, 4:1:0,15 v/v) para proporcionar **760** (0,12 g, 16%) como um sólido branco. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,45 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 2,49 (m, 2H), 2,61-2,98 (m, 4H), 3,02 (m, 2H), 3,22 (m, 2H), 3,45-3,85 (m, 10H), 6,64 (d, 2H), 6,94 (d, 2H). *m/z* (APCI) 516 [C₂₅H₄₅N₃O₈ + H]⁺.

Trifluoroacetato de 4-{2-[*N,N*-bis-((2*S*,3*R*)-2,3,4-tri-hidroxi-butyl)amino]etilamino}fenilbutilamina (**770**)

A amina protegida **760** (0,12 g, 0,22 mmol) foi agitada numa mistura de diclorometano/TFA (10 mL, 1:1) durante 2 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanol/hidróxido de amónio, 3:1:0,3 v/v) para proporcionar **770** (0,12 g, 98%) como um óleo incolor. (300 MHz, CD₃OD) δ 1,64 (m, 4H), 2,55 (m, 2H), 2,90 (m, 2H), 3,45 (m, 4H), 3,60 (m, 10H), 3,97 (m, 2H), 6,67 (d, 2H), 7,00 (d, 2H). *m/z* (APCI) 416 [C₂₀H₃₇N₃O₆ + H]⁺.

Tricloridrato de *N*-[4-(4-{2-[bis-((2*S*, 3*R*)-2,3,4-tri-hidroxi-butil)amino]etilamino}fenil)butil]-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonil)guanidina (**780**, PSA **17218**)

Adicionaram-se sequencialmente iodidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-metilisotiourea (0,121 g, 0,31 mmol) e diisopropiletilamina (0,20 mL, 1,2 mmol) a uma solução de **770** (0,12 g, 0,22 mmol) em etanol (10 mL). A mistura reaccional foi agitada a 70°C durante 3,5 h e depois a temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea (sílica gel, clorofórmio/metanal/hidróxido de amónio, 3:1:0,3 v/v) para proporcionar a base livre em bruto (0,070 g) como um sólido amarelo. A base livre foi tomada em HCl aquoso a 3% (2 mL). O sólido não dissolvido foi removido por filtração e o solvente no filtrado foi removido sob pressão reduzida. O produto foi seco sob vácuo para proporcionar o sal tricloridrato **780** (0,057 g, 34%) como um pó amarelo. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 1,72 (m, 4H), 2,74 (m, 2H); 3,36 (m, 2H), 3,49 (m, 2H), 3,65 (m, 8H), 3,89 (m, 4H), 4,07 (m, 2H), 7,41 (d, 2H). *m/z* (APCI) 629 [C₂₆H₄₂ClN₉O₇ + H]⁺. [α]²⁵_D = -13,8° (c = 0,5, MeOH).

Actividade de bloqueio do canal de sódio

Os compostos listados na Tabela seguinte foram testados quanto a potência em epitélios brônquicos caninos utilizando o ensaio *in vitro* descrito anteriormente. O PSA 4022 foi também testado em cada ensaio como um controlo positivo. Os resultados para os compostos do presente invento são reportados como valores múltiplos de melhoria relativamente a amilorida, ajustando PSA 4022 = 100 × Amilorida.

Exemplo 29

PSA	EC ₅₀ (nM)			Múltiplo de Amilorida** (PSA 4022=100)		
	N	Média	Desvio Padrão	N	Média	Desvio Padrão
10316	6	9,56	5,09	6	132	71
10735	5	24,2	6,0	5	46,5	22,4
10940	1	26,2		1	63,6	
10941	10	32,1	15,4	10	30,0	7,7
11041	3	32,0	24,4	3	38,6	21,4
11180	3	14,6	7,9	3	66,8	18,2
11223	4	14,7	3,5	4	79,6	22,2
11698	4	5,82	2,35	4	136	51
11833	2	12,3	1,3	2	58,6	29,0
11834	6	3,68	2,33	6	276	133
11975	6	4,85	2,45	6	287	134
11976	2	401	158	2	3,0	1,3
12218	3	312	268	3	5,6	5,6
14568	2	3,92	0,00	2	131	10
14984	2	3,27	0,68	2	268	56
15104	3	19,1	7,0	3	26,4	10,6
16311	4	33,2	14,7	4	25,6	11,2
16436	2	15,4	1,6	2	35,6	3,8
16721	2	25,4	1,8	2	44,7	3,2
16722	2	22,8	3,9	2	50,5	8,7
16826	3	12,7	6,2	3	64,9	43,6
17218	3	32,4	5,0	3	24,7	5,4
17339	2	6,83	3,61	2	108	56
17587	2	19,4	6,9	2	31,3	18,3
17666	2	29,3	3,8	2	34,8	23,7
18150	3	23,8	6,3	3	44,4	19,5
18345	3	69,0	3,5	3	12,4	4,0
18704	2	14,1	3,9	2	90,2	18,4
19603	3	32,3	7,7	3	39,4	12,6

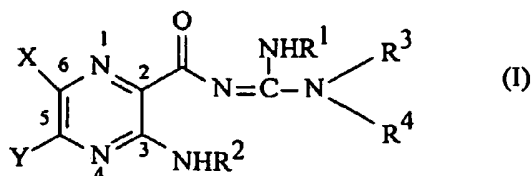
PSA	EC ₅₀ (nM)			Múltiplo de Amilorida** (PSA 4022=100)		
	N	Média	Desvio Padrão	N	Média	Desvio Padrão
19605	3	4,70	1,17	3	145	37
23184	3	17	4	3	43,3	12,0
** Potência relativa para PSA 4022 = 100 usando EC ₅₀ de PSA 4022 no mesmo ensaio						

Referências. 1. Rappoport, D.A.; Hassid, Z.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 1951, 73, 5524-5525.

Lisboa, 2009-04-14

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de pirazinoilguanidina, caracterizado por ser representado pela fórmula (I):



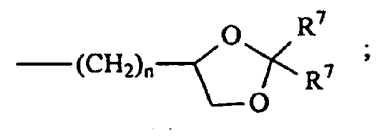
em que

X é hidrogénio, halogéneo, trifluorometilo, alquilo inferior, fenilo não substituído ou substituído, alquiltio inferior, fenil-alquiltio inferior, alquilsulfonilo inferior, ou fenil-alquilsulfonilo inferior;

Y é hidrogénio, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquiltio inferior, halogéneo, alquilo inferior, arilo mononuclear não substituído ou substituído, ou $-N(R^2)_2$;

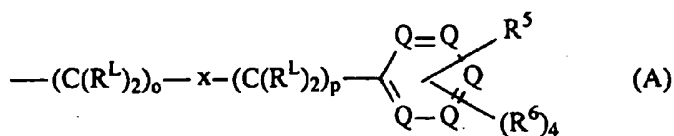
R^1 é hidrogénio ou alquilo inferior;

cada R^2 é, independentemente, $-R^7$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-Z_g-R^7$, $-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, ou



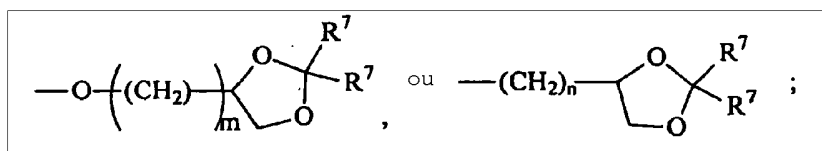
em que quando dois grupos $-CH_2OR^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;

R^3 e R^4 são cada um, independentemente, hidrogénio, um grupo representado pela fórmula (A), alquilo inferior, hidroxi-alquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior, (halofenil)-alquilo inferior, (alquilfenilalquilo) inferior, (alcoxifenil inferior)-alquilo inferior, naftil-alquilo inferior, ou piridil-alquilo inferior, com a condição de pelo menos um de R^3 e R^4 ser um grupo representado pela fórmula (A):



em que

cada R^1 é, independentemente, $-\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{OSO}_3\text{H}$, $-\text{O-glucuronida}$, $-\text{O-glucose}$,



em que quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar a 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;

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, 0 , NR^{10} , $\text{C}(=\text{O})$, CHOH , $\text{C}(=\text{N}-\text{R}^{10})$, $\text{CHNR}^7\text{R}^{10}$, ou representa uma ligação simples;

cada R^5 é, independentemente, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g\text{R}^{12}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^{11}\text{R}^{11}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{11}\text{R}^{11}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{N}^{(+)}-(\text{R}^{11})_3$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{N}^{(+)}-(\text{R}^{11})_3$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{Z})_g-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_m\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHOR}^8)_m\text{CH}_2-\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^{10}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_{2-7}(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-$

$\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g\text{R}^{12}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m\text{NR}^{11}\text{R}^{11}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{N}^{(+)}-(\text{R}^{11})_3$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}\text{R}^{10}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_m\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{N}(\text{R}^7)_2$, ou $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_m\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{N}(\text{R}^{10})_2$, em que quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar a 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído,

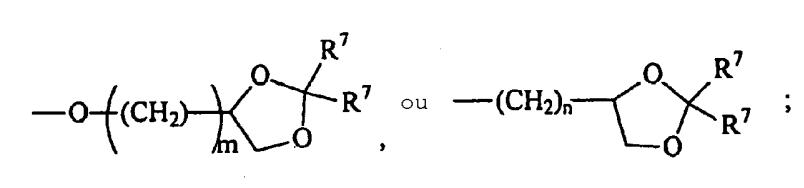
$-(\text{CH}_2)_n(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de pelo menos dois $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído,

$-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de pelo menos dois $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído,

$-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de pelo menos dois $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído, ou

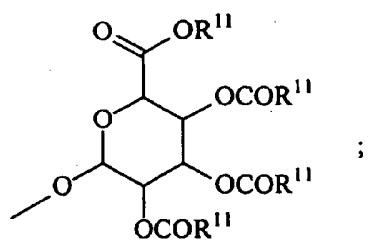
$-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, com a condição de pelo menos dois $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;

cada R^6 é, independentemente, $-\text{R}^5$, $-\text{R}^7$, $-\text{OR}^8$, $-\text{N}(\text{R}^7)_2$, $-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{R}^8$, $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_n(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{NR}^{10}\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{OSO}_3\text{H}$, $-\text{O-glucuronida}$, $-\text{O-glucose}$,



em que quando dois R^6 são $-\text{OR}^{11}$ e estão localizados adjacentes entre si num anel fenilo, as porções alquilo dos dois R^6

podem estar unidas em conjunto para formar um grupo metilenodioxi, e
 em que quando dois grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estão localizados 1,2- ou 1,3- em relação entre si, os grupos R^8 podem estar unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído;
 cada R^7 é, independentemente, hidrogénio ou alquilo inferior;
 cada R^8 é, independentemente, hidrogénio, alquilo inferior, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{11}$, glucuronida, 2-tetra-hidropiraniolo, ou



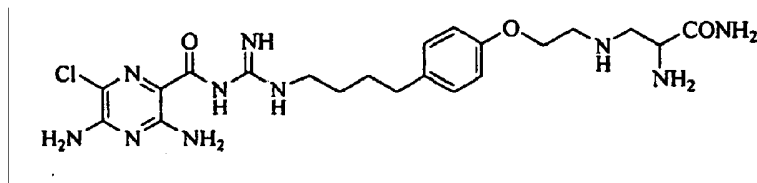
cada R^9 é, independentemente, $-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{CON}(\text{R}^7)_2$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, ou $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^7$;
 cada R^{10} é, independentemente, $-\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^9$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^7$, ou $-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$;
 cada Z é, independentemente, CHOH , $\text{C}(=\text{O})$, $\text{CHNR}^7\text{R}^{10}$, $\text{C}=\text{NR}^{10}$, ou NR^{10} ;
 cada R^{11} é, independentemente, alquilo inferior;
 cada R^{12} é, independentemente, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{R}^7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^9$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^7$, ou $-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$;
 cada Het é independentemente, $-\text{NR}^7$, $-\text{NR}^{10}$, $-\text{S}-$, $-\text{SO}-$, ou $-\text{SO}_2-$;
 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, $\text{C}-\text{R}^5$, $\text{C}-\text{R}^6$, ou um átomo de azoto, em que no máximo três Q num anel são átomos de azoto;

ou um seu sal farmacologicamente aceitável, e
 inclusive todos os seus enantiómeros, diastereómeros e misturas racémicas.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^5 é seleccionado do grupo que consiste em: $-(\text{CH}_2)_n-\text{N}(\text{SO}_2\text{R}^7)_2$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{N}(\text{SO}_2\text{R}^7)_2$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CHNHBocCO}_2\text{R}^7$ (α), $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CHNHBocCO}_2\text{R}^7$ (α), $-(\text{CH}_2)_n-\text{N}(\text{R}^{11})_2$, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{N}(\text{R}^{11})_2$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ (α), $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{R}^7$ (α), $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{N}^+(\text{R}^{11})_3$,

$-(Z)_g-(CH_2)_m-N(R^{10})_2$, $[-(Z)_g-(CH_2)_m-N(R^{11})_2]$, $-C(O)NH-(CH_2)_m-N(R^7)_2$, $-NHC(=O)(CH_2)_m-N(R^7)_2$, $-C(=O)NH-(CH_2)_m-NH-C(=NH)-N(R^7)_2$, $-NH-C(=O)-(CH_2)_m-NH-C(=NH)-N(R^7)_2$, $-(CH_2)_n-NH-C(=NBoc)-NHBoc$, $-O-CH_2-CHOH-CH_2-NH-C(=NBoc)-NHBoc$, $-(CH_2)_n-NR^{10}CH_2(CHOR^8)_n-(Z)_g-R^7$, e $-O(CH_2)_m-NR^{10}CH_2(CHOR^8)_n-(Z)_g-R^7$.

3. Composto de acordo com a reivindicação 2, em que R^5 é $-O(CH_2)_m-NR^{10}CH_2(CHOR^8)_n-(Z)_g-R^7$ e em que o referido composto é representado pela fórmula:



4. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que Y é $-NH_2$.

5. Composto de acordo com a reivindicação 4, em que R^2 é hidrogénio.

6. Composto de acordo com a reivindicação 5, em que R^1 é hidrogénio.

7. Composto de acordo com a reivindicação 6, em que X é cloro.

8. Composto de acordo com a reivindicação 7, em que R^3 é hidrogénio.

9. Composto de acordo com a reivindicação 8, em que cada R^L é hidrogénio.

10. Composto de acordo com a reivindicação 9, em que o é 4.

11. Composto de acordo com a reivindicação 10, em que p é 0.

12. Composto de acordo com a reivindicação 11, em que x representa uma ligação simples.

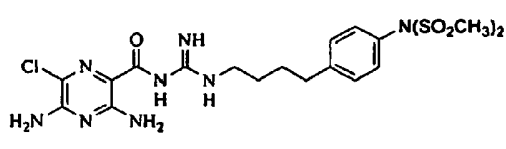
13. Composto de acordo com a reivindicação 12, em que cada R^6 é hidrogénio.

14. Composto de acordo com a reivindicação 13, em que no máximo um Q é um átomo de azoto.

15. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$.

16. Composto de acordo com a reivindicação 15, em que R^5 é $-(CH_2)_n-N(SO_2R^7)_2$.

17. Composto de acordo com a reivindicação 16, que é representado pela fórmula:

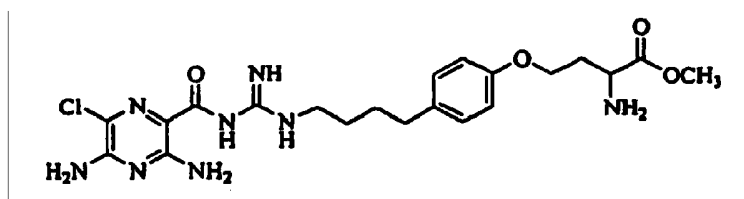


18. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é seleccionado do grupo que consiste em $-O-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$.

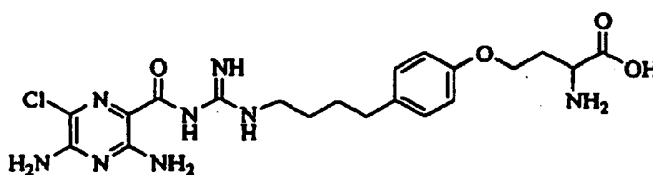
19. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-N(SO_2R^7)_2$.

20. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$.

21. Composto de acordo com a reivindicação 20, que é representado pela fórmula:



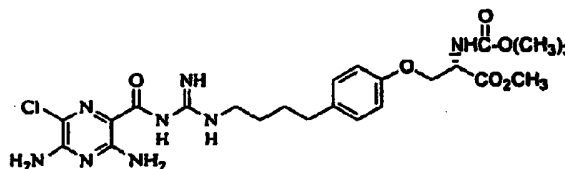
22. Composto de acordo com a reivindicação 20, que é representado pela fórmula:



23. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n-CHNHBocCO_2R^7$ (α).

24. Composto de acordo com a reivindicação 23, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-CHNHBacCO_2R$ (α).

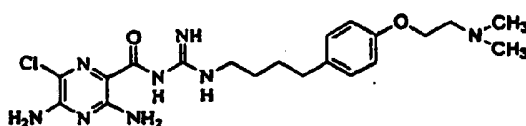
25. Composto de acordo com a reivindicação 24, que é representado pela fórmula:



26. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n-N(R^{11})_2$.

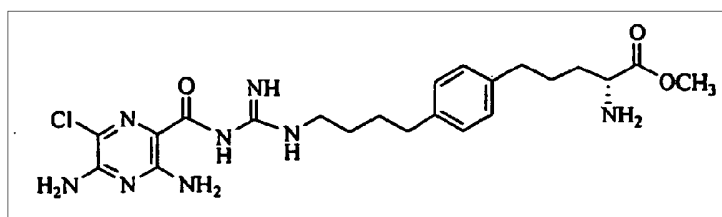
27. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-N(R^{11})_2$.

28. Composto de acordo com a reivindicação 27, que é representado pela fórmula:

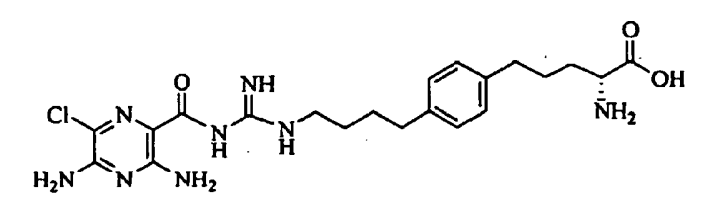


29. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n-CHNH_2CO_2R^7$ (α).

30. Composto de acordo com a reivindicação 29, que é representado pela fórmula:

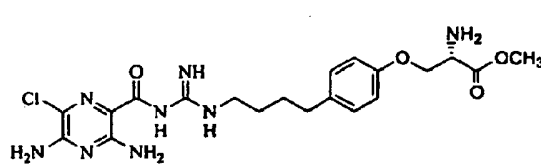


31. Composto de acordo com a reivindicação 29, que é representado pela fórmula:

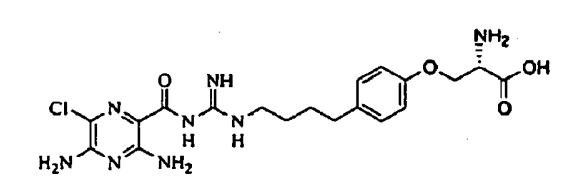


32. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-CHNH_2CO_2R^7$ (α).

33. Composto de acordo com a reivindicação 32, que é representado pela fórmula:

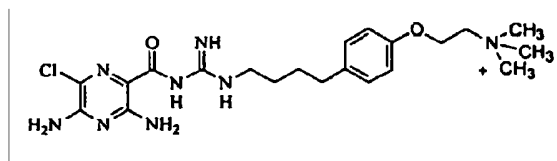


34. Composto de acordo com a reivindicação 32, que é representado pela fórmula:



35. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-N^+(R^{11})_3$.

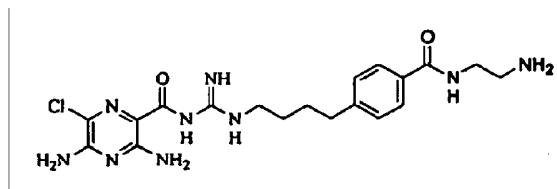
36. Composto de acordo com a reivindicação 35, que é representado pela fórmula:



37. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$.

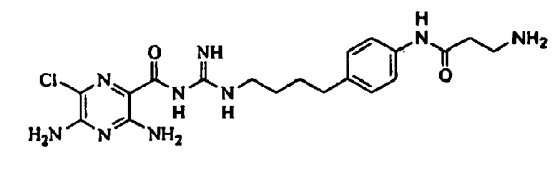
38. Composto de acordo com a reivindicação 37, em que R^5 é $-C(=O)NH-(CH_2)_m-N(R^{10})_2$.

39. Composto de acordo com a reivindicação 38, que é representado pela fórmula:



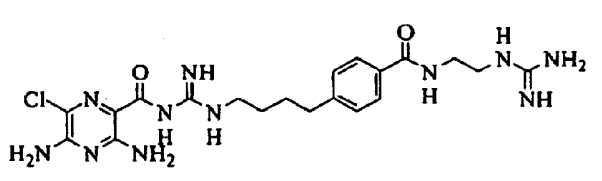
40. Composto de acordo com a reivindicação 37, em que R^5 é $-NHC(=O)(CH_2)_m-N(R^{10})_2$.

41. Composto de acordo com a reivindicação 40, que é representado pela fórmula:



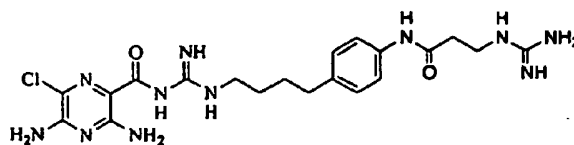
42. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que R^5 é $-C(=O)NH-(CH_2)_m-NH-C(=NH)-N(R^7)_2$.

43. Composto de acordo com a reivindicação 42, que é representado pela fórmula:



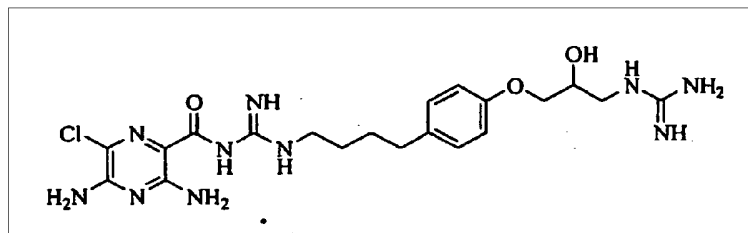
44. Composto de acordo com a reivindicação 37, em que R^5 é $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2)_m\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{N}(\text{R}^{10})_2$.

45. Composto de acordo com a reivindicação 44, que é representado pela fórmula:



46. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOR}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$.

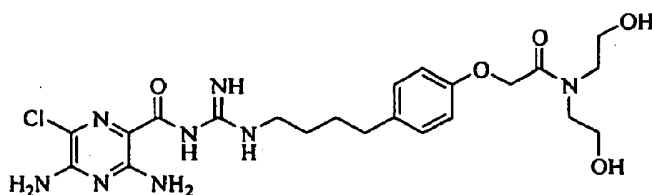
47. Composto de acordo com a reivindicação 46, que é representado pela fórmula:



48. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é seleccionado do grupo que consiste em:

- $-(\text{CH}_2)_n-(\text{CHOR}^8)_m\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$,
- $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}^{10}-(\text{CH}_2)_m(\text{CHOR}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$,
- $-\text{O}(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-(\text{CH}_2)_m-(\text{CHOH}^8)_n\text{CH}_2\text{NR}^{10}-(\text{Z})_g-\text{R}^{10}$,
- $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$, $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$,
- $-(\text{CH}_2)_n-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$ e $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$.

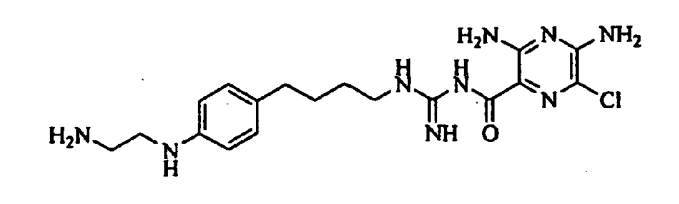
49. Composto de acordo com a reivindicação 48, em que R^5 é $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{12}\text{R}^{12}$ e em que o referido composto é representado pela fórmula:



50. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-OR^8$.

51. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$.

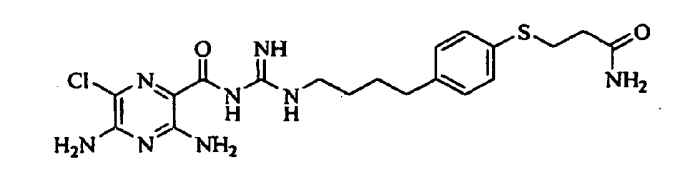
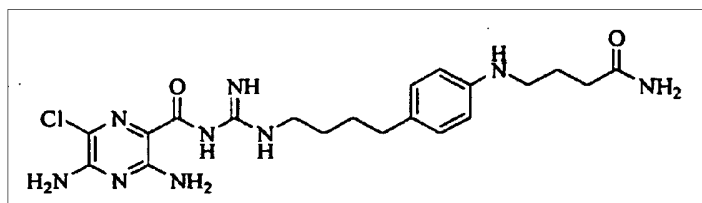
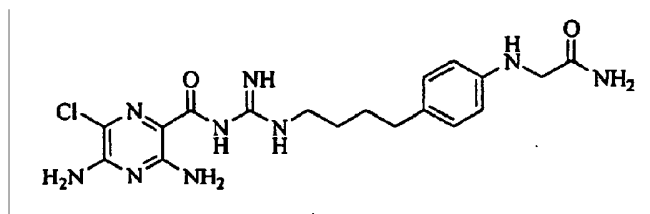
52. Composto de acordo com a reivindicação 51, que é representado pela fórmula:

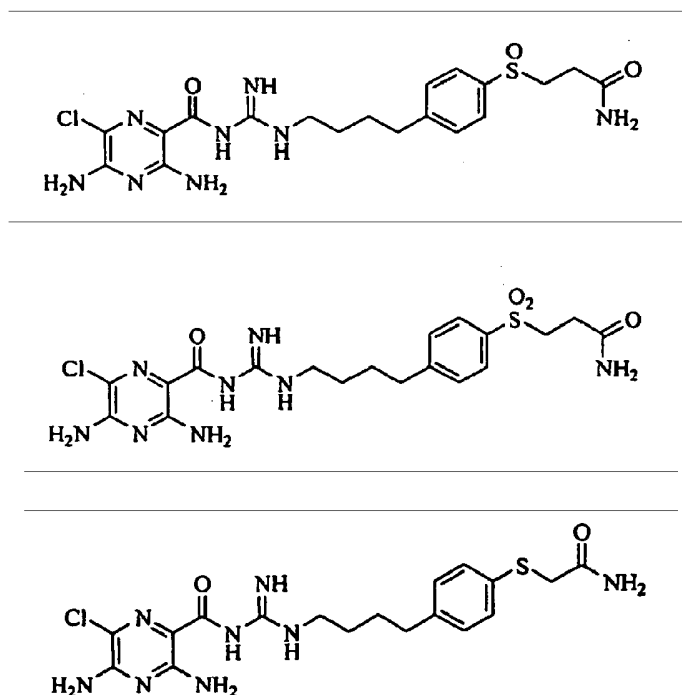


53. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é seleccionado do grupo que consiste em:

$-(Het)-(CH_2)_{2-7}(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-R^8$,
 $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$ e $-(Het)-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$.

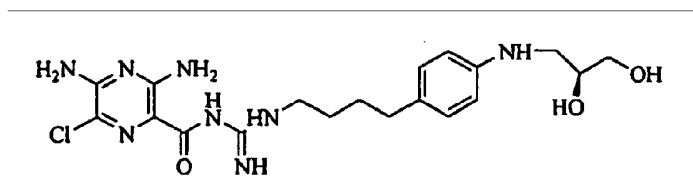
54. Composto de acordo com a reivindicação 53, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$ e em que o referido composto é representado por uma das seguintes seis fórmulas:





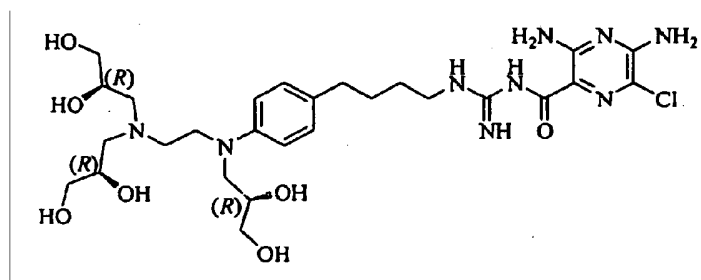
55. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$.

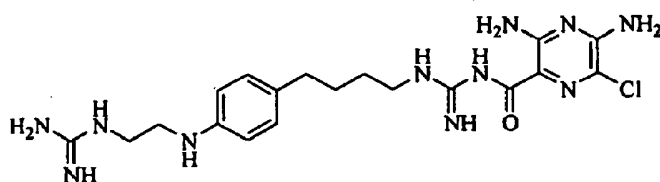
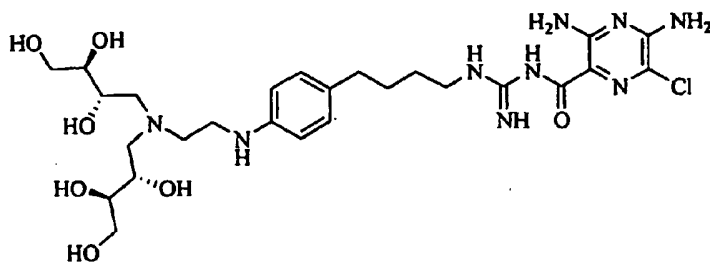
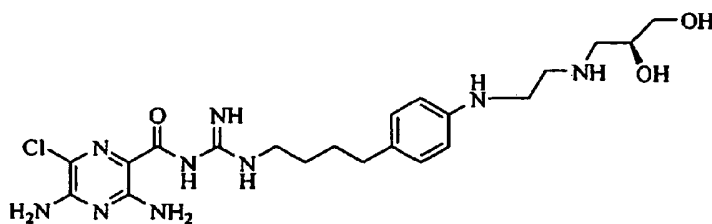
56. Composto de acordo com a reivindicação 55, que é representado pela fórmula:



57. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$.

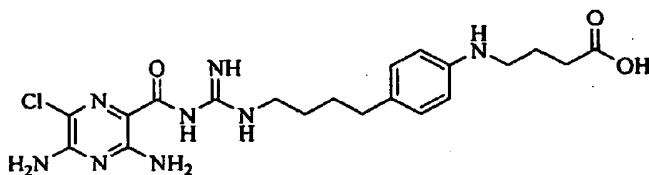
58. Composto de acordo com a reivindicação 57, que é representado por uma das seguintes quatro fórmulas:





59. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-CO_2R^7$.

60. Composto de acordo com a reivindicação 59, que é representado pela fórmula:



61. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é seleccionado do grupo que consiste em:

$-(Het)-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$,
 $-(Het)-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(Het)-(CH_2)_m-N^{(+)}-(R^{11})_3$,
 $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$,
 $-(Het)-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$ e
 $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_m-(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}-(Z)_g-R^{10}$.

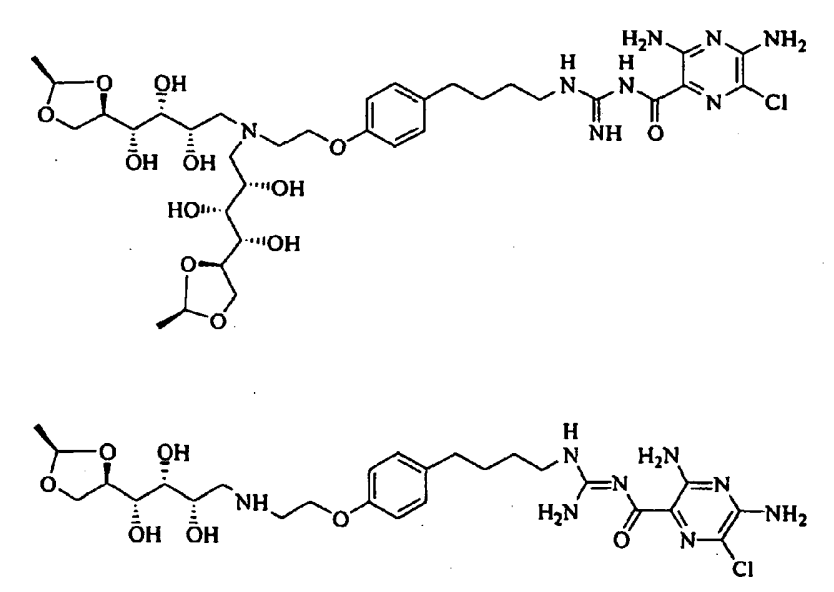
62. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de pelo menos dois $-CH_2OR^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

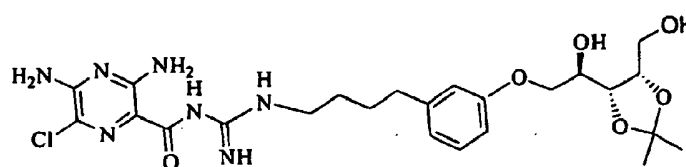
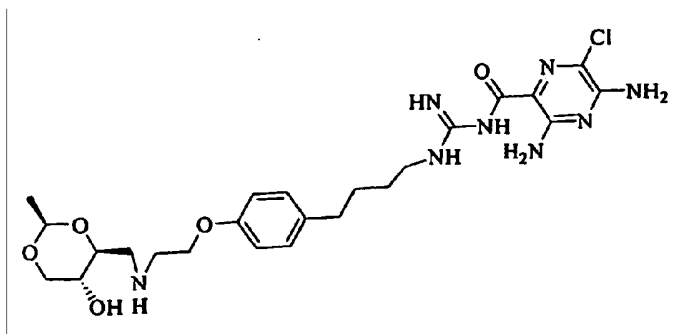
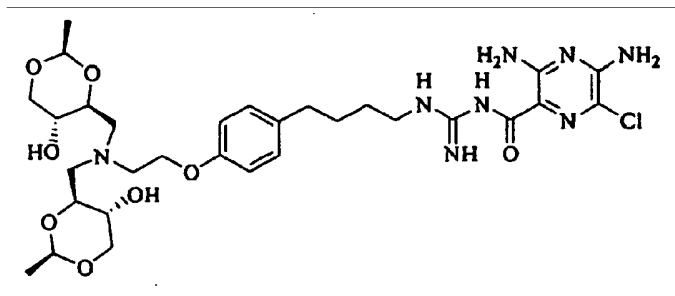
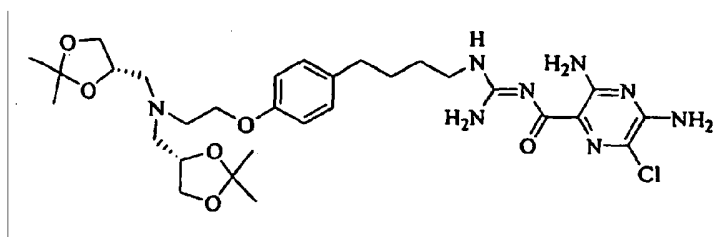
63. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de pelo menos dois $-CH_2OR^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

64. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de pelo menos dois $-CH_2OR^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

65. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, com a condição de pelo menos dois $-CH_2OR^8$ estarem localizados adjacentes entre si e os grupos R^8 estarem unidos para formar um 1,3-dioxano ou 1,3-dioxolano cíclico mono- ou di-substituído.

66. Composto de acordo com a reivindicação 1, que é representado por uma das seguintes seis fórmulas:





67. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que

X é halogéneo;

Y é $-N(R^7)_2$;

R^1 é hidrogénio ou alquilo C_1-C_3 ;

R^2 é $-R^7$, $-(CH_2)_m-OR^8$, ou $-(CH_2)_n-CO_2R^7$;

R^3 é um grupo representado pela fórmula (A); e

R^4 é hidrogénio, um grupo representado pela fórmula (A), ou alquilo inferior.

68. Composto de acordo com a reivindicação 60, em que

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 diferentes de hidrogénio como definido anteriormente;

no máximo três R^L são diferentes de hidrogénio como definido anteriormente; e

no máximo 2 Q são átomos de azoto.

69. Composto de acordo com a reivindicação 61, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, e em que Y é $-NH_2$.

70. Composto de acordo com a reivindicação 61, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, e em que R^4 é hidrogénio; no máximo um R^L é diferente de hidrogénio como definido anteriormente;

no máximo dois R^6 são diferentes de hidrogénio como definido anteriormente; e

no máximo 1 Q é um átomo de azoto.

71. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que R^5 é $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$.

72. Composição farmacêutica, caracterizada por compreender o composto de acordo com qualquer reivindicação precedente e um portador farmaceuticamente aceitável.

73. Composição de acordo com a reivindicação 72, que compreende adicionalmente um inibidor de P2Y2.

74. Composição de acordo com a reivindicação 72, que compreende adicionalmente um broncodilatador.

75. Utilização de uma quantidade eficaz do composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 71 no fabrico de uma composição farmacêutica para bloqueio dos canais de sódio.

Lisboa, 2009-04-14

RESUMO

"Bloqueadores heterossustituídos do canal de sódio"

O presente invento refere-se a novos compostos de pirazinoílguanidina e a métodos para a sua utilização.