



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 321 100**

51 Int. Cl.:

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

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04712289 .0**

96 Fecha de presentación : **18.02.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1599096**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.11.2005**

54 Título: **Bloqueadores de los canales de sodio heterosustituídos.**

30 Prioridad: **19.02.2003 US 367947**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.06.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.06.2009

73 Titular/es: **Parion Sciences, Inc.**
2525 Meridian Parkway, Suite 260
Durham, North Carolina 27713, US

72 Inventor/es: **Johnson, Michael R.**

74 Agente: **Polo Flores, Carlos**

ES 2 321 100 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Bloqueadores de los canales de sodio heterosustituidos.

5 La presente invención se refiere a bloqueadores de los canales de sodio. La presente invención también incluye una variedad de usos de estos bloqueadores de los canales de sodio inventivos.

10 Las superficies mucosas en la superficie de separación entre el entorno y el cuerpo han desarrollado varias “defensas innatas”, es decir, mecanismos protectores. Una forma principal de tales defensas innatas es para limpiar estas superficies con líquido. Normalmente, la cantidad de la capa líquida sobre una superficie mucosa refleja el equilibrio entre la secreción de líquido epitelial, que frecuentemente refleja la secreción de aniones (Cl^- y/o HCO_3^-) acoplada a agua (y un contraión catiónico), y la absorción de líquido epitelial, que frecuentemente refleja la absorción de Na^+ acoplada a agua y a contra-anión (Cl^- y/o HCO_3^-). Muchas enfermedades de las superficies mucosas se producen por demasiado poco líquido protector sobre esas superficies mucosas creado por un desequilibrio entre la secreción (demasiado poca) y la absorción (relativamente grande). Los defectuosos procesos de transporte de sales que caracterizan estas disfunciones mucosas residen en la capa epitelial de la superficie mucosa.

20 Una solución para reponer la capa de líquido protector sobre superficies mucosas es “reequilibrar” el sistema bloqueando el canal de Na^+ y la absorción de líquido. La proteína epitelial que actúa de mediadora en la etapa limitante de la velocidad de absorción de Na^+ y de líquido es el canal de Na^+ epitelial (ENaC). El ENaC está localizado sobre la superficie apical del epitelio, es decir, la superficie de separación superficie mucosa-entorno. Por tanto, para inhibir la absorción de Na^+ y de líquido mediada por ENaC debe liberarse un bloqueador de ENaC de la clase de las amiloridas (que bloquea a partir del dominio extracelular de ENaC) a la superficie mucosa y, lo que es más importante, mantenerse en ese sitio para lograr utilidad terapéutica. La presente invención describe enfermedades caracterizadas por demasiado poco líquido sobre las superficies mucosas y bloqueadores “tópicos” de los canales de sodio diseñados para presentar el aumento de potencia, reducción de la absorción mucosa y lenta disociación (“desvinculación” o desprendimiento) del ENaC requerido para la terapia de estas enfermedades.

30 La bronquitis crónica (BC), que incluye la forma genética letal más común de la bronquitis crónica, la fibrosis quística (FQ), son enfermedades que reflejan la insuficiencia corporal para limpiar normalmente la mucosidad de los pulmones, que a la larga produce infección crónica de las vías respiratorias. En el pulmón normal, la defensa principal contra la infección crónica de las vías respiratorias intrapulmonares (bronquitis crónica) se logra por la continua limpieza de la mucosidad de las superficies de las vías respiratorias bronquiales. Esta función en la salud elimina eficazmente del pulmón toxinas y patógenos posiblemente perjudiciales. Datos recientes indican que el problema inicial, es decir, el “defecto básico” en tanto la BC como la FQ, es la falta de limpieza de la mucosidad de las superficies de las vías respiratorias. La falta de limpieza de la mucosidad se refleja en un desequilibrio entre la cantidad de líquido y mucina sobre las superficies de las vías respiratorias. Este “líquido de la superficie de las vías respiratorias” (LSVR) está compuesto principalmente por sal y agua en proporciones similares al plasma (es decir, isotónico). Las macromoléculas de mucina se organizan en una “capa de mucosidad” bien definida que normalmente atrapa bacterias inhaladas y es transportada fuera del pulmón mediante las acciones de cilios que se baten en una disolución acuosa de baja viscosidad llamada el “líquido periciliar” (LPC). En el estado de enfermedad hay un desequilibrio en las cantidades de mucosidad como LSVR sobre las superficies de las vías respiratorias. Esto resulta en una reducción relativa en el LSVR que lleva a una concentración de mucosidad, reducción de la actividad lubricante del LPC, y una falta de limpieza de la mucosidad mediante la actividad ciliar hasta la boca. La reducción de la limpieza mecánica de la mucosidad de los pulmones lleva a una colonización bacteriana crónica de la mucosidad adherente a las superficies de las vías respiratorias. La retención crónica de bacterias, la falta de sustancias antimicrobianas locales para destruir las bacterias atrapadas por la mucosidad en una base crónica y las consiguientes respuestas inflamatorias crónicas del cuerpo a este tipo de infección superficial son las que conducen a los síndromes de BC y FQ.

50 La población real aquejada de bronquitis crónica en los EE.UU. es de 12.000.000 pacientes con la forma adquirida (principalmente a partir de la exposición al humo del tabaco) y aproximadamente 30.000 pacientes con la forma genética, la fibrosis quística. En Europa están presentes números aproximadamente iguales de ambas poblaciones. En Asia hay poca FQ, pero la incidencia de la BC es elevada y, al igual que en el resto del mundo, está aumentando.

55 Actualmente existe una gran necesidad médica sin satisfacer de productos que traten específicamente la BC y la FQ al nivel del defecto básico que produce estas enfermedades. Las terapias actuales para la bronquitis crónica y la fibrosis quística se basan en tratar los síntomas y/o los efectos tardíos de estas enfermedades. Por tanto, para la bronquitis crónica, los β -agonistas, los esteroides inhalados, los agentes anticolinérgicos y las teofilinas orales y los inhibidores de la fosfodiesterasa están todos en desarrollo. Sin embargo, ninguno de estos fármacos trata eficazmente el problema fundamental de la falta de limpieza de la mucosidad del pulmón. Similarmente, en la fibrosis quística se usa el mismo espectro de agentes farmacológicos. Estas estrategias se han complementado con estrategias más recientes diseñadas para limpiar el pulmón con FQ del ADN (“Pulmozyme”; Genentech) que ha sido depositado en el pulmón por neutrófilos que han intentado inútilmente destruir las bacterias que crecen en las masas de mucosidad adherente y con el uso de antibióticos inhalados (“TOBI”) diseñados para aumentar los propios mecanismos de destrucción de los pulmones para librar de bacterias las placas de mucosidad adherente. Un principio general del cuerpo es que si la lesión inicial no se trata, en este caso la retención/obstrucción de mucosidad, las infecciones bacterianas se vuelven crónicas y cada vez más resistentes a la terapia antimicrobiana. Por tanto, una necesidad terapéutica sin satisfacer muy

ES 2 321 100 T3

importante para enfermedades pulmonares tanto de BC como de FQ es un medio eficaz para rehidratar la mucosidad de las vías respiratorias (es decir, restaurar/expandir el volumen del LSVR) y promover la limpieza, con bacterias, del pulmón.

5 R.C. Boucher, en el documento U.S. 6.264.975, describe el uso de bloqueadores de los canales de sodio de pirazinoilguanidina para hidratar las superficies mucosas. Estos compuestos, tipificados por los diuréticos muy conocidos amilorida, benzamil y fenamil, son eficaces. Sin embargo, estos compuestos se ven afectados por la significativa des-
10 ventaja de que (1) son relativamente poco potentes, que es importante debido a que la masa de fármaco que puede ser inhalada por el pulmón está limitada; (2) se absorben rápidamente, lo que limita la semivida del fármaco sobre la superficie mucosa; y (3) pueden disociarse libremente a partir del ENaC. La suma de estas desventajas personificada en
15 estos diuréticos muy conocidos produce compuestos con potencia insuficiente y/o semivida eficaz sobre las superficies mucosas que tienen beneficio terapéutico para hidratar las superficies mucosas.

Claramente, lo que se necesita son fármacos que sean más eficaces en la restauración de la limpieza de la mucosidad
15 de los pulmones de pacientes con BC/FQ. El valor de estas nuevas terapias se reflejará en mejoras en la calidad y la duración de vida de poblaciones tanto con FQ como con BC.

Otras superficies mucosas en y sobre el cuerpo presentan ligeras diferencias en la fisiología normal de los líquidos
20 superficiales protectores sobre sus superficies, pero la patofisiología de la enfermedad refleja un tema común, es decir, demasiado poco líquido superficial protector. Por ejemplo, en la xerostomía (sequedad de boca), la cavidad bucal se agota de líquido debido a un fallo de las glándulas sublingual parótida y submandibular para segregar líquido a pesar de la continuada absorción de líquido que actúa de mediadora en el transporte de Na^+ (ENaC) de la cavidad bucal. Similarmente, la queratoconjuntivitis seca (sequedad ocular) se produce por un fallo de las glándulas lagrimales para
25 segregar líquido en la cara de la absorción continuada de líquido dependiente de Na^+ sobre las superficies conjuntivas. En la rinosinusitis hay un desequilibrio, como en la BC, entre la secreción de mucina y el agotamiento relativo del LSVR. Finalmente, en el tubo gastrointestinal, la falta de secreción de Cl^- (y líquido) en el intestino delgado proximal, combinada con el aumento de la absorción de Na^+ (y líquido) en el íleon terminal, lleva al síndrome de obstrucción
30 intestinal distal (SOID). En pacientes mayores, una absorción (y volumen) excesiva(o) de Na^+ en el colon descendente produce estreñimiento y diverticulitis.

Cincuenta millones de estadounidenses y cientos de millones de otros ciudadanos alrededor del mundo padecen
35 hipertensión arterial y las secuelas posteriores que llevan a insuficiencia cardíaca congestiva y a un aumento de la mortalidad. Es la principal causal de mortalidad de los países industrializados y allí existe la necesidad de nuevos medicamentos para tratar estas enfermedades. Por tanto, además, algunos de los novedosos bloqueadores de los canales de sodio de esta invención pueden diseñarse para elegir como diana el riñón y, como tales, pueden usarse como
40 diuréticos para el tratamiento de hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) y otras enfermedades cardiovasculares. Estos nuevos agentes pueden usarse solos o en combinación con beta-bloqueadores, inhibidores de ACE, inhibidores de la HMGCoA reductasa, bloqueadores de los canales de calcio y otros agentes cardiovasculares.

El documento US-3.313.813 A1 desvela (3-amino-6,6-disustituido-pirazinoil)-guanidinas y representa los antecede-
45 dentes generales de la invención.

El documento US-6.475.509 B1 desvela conjugados de bloqueadores de los canales de sodio que representan los
50 antecedentes generales de las reivindicaciones de la invención.

El documento WO 03/070182 A2 se publicó después de la fecha de prioridad reivindicada en la presente solicitud
y, por tanto, sólo se contrapone a la novedad de la invención tal como se reivindica.

Este documento desvela bloqueadores de los canales de sodio que son diferentes de los reivindicados en la presente
55 solicitud.

El documento WO 03/07184 A2 desvela bloqueadores de los canales de sodio y representa los antecedentes gene-
rales de la invención desvelada en este documento.

Un objeto de la presente invención es proporcionar compuestos que son más potentes y/o se absorben menos
60 rápidamente por las superficies mucosas, y/o son menos reversibles con respecto a compuestos conocidos.

Otro aspecto de la presente invención es proporcionar compuestos que son más potentes y/o se absorben menos
rápidamente y/o presentan menos reversibilidad, con respecto a compuestos tales como amilorida, benzamil y fenamil.
65 Por tanto, los compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada sobre superficies mucosas con respecto a compuestos conocidos.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar compuestos que (1) se absorben menos rápidamente por
las superficies mucosas, especialmente superficies de las vías respiratorias, con respecto a compuestos conocidos y;
65 (2) cuando son absorbidos por las superficies mucosas después de la administración a las superficies mucosas, se convierten *in vivo* en derivados metabólicos de los mismos que tienen eficacia reducida en el bloqueo de canales de sodio con respecto al compuesto original administrado.

ES 2 321 100 T3

Otro objeto de la presente invención es proporcionar compuestos que son más potentes y/o se absorben menos rápidamente y/o presentan menos reversibilidad, con respecto a compuestos tales como amilorida, benzamil y fenamil. Por tanto, tales compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada sobre las superficies mucosas con respecto a los compuestos previos.

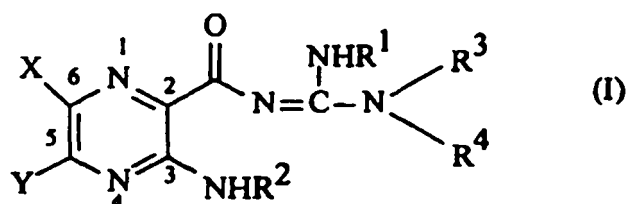
Otro objeto de la presente invención es proporcionar compuestos que eligen como diana el riñón para uso en el tratamiento de enfermedad cardiovascular.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar el uso de los compuestos anteriormente descritos en la preparación de composiciones farmacéuticas.

En particular, el objeto de la presente invención es proporcionar el uso de los compuestos descritos anteriormente en la preparación de composiciones farmacéuticas para tratar enfermedades en las que es necesaria la rehidratación de las superficies mucosas.

En particular, un objeto de la presente invención es proporcionar el uso de los compuestos descritos anteriormente en la preparación de composiciones farmacéuticas para tratar enfermedad cardiovascular.

Los objetos de la presente invención pueden llevarse a cabo con una clase de compuestos de pirazinoilguanidina representados por la fórmula (I):



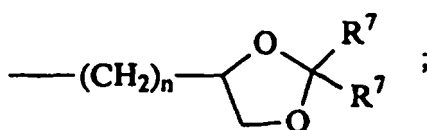
en la que

X es hidrógeno, halógeno, trifluorometilo, alquilo inferior, fenilo sin sustituir o sustituido, alquil inferior-tio, fenil-alquil inferior-tio, alquil inferior-sulfonilo, o fenil-alquil inferior-sulfonilo;

Y es hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquil inferior-tio, halógeno, alquilo inferior, arilo mononuclear sin sustituir o sustituido, o $-N(R^2)_2$;

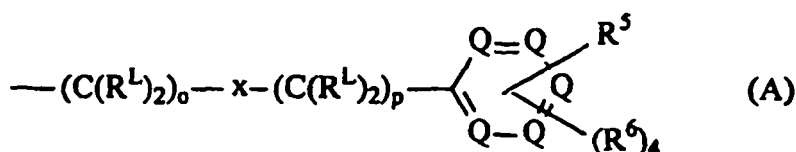
R^1 es hidrógeno o alquilo inferior;

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



en el que cuando dos grupos $-CH_2OR^8$ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R^8 pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico;

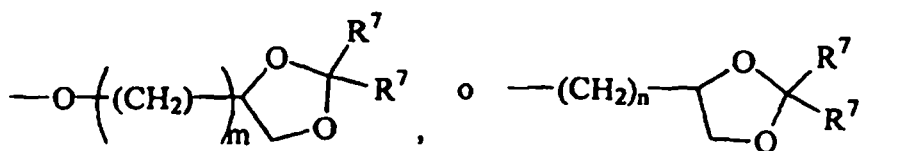
R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno, un grupo representado por la fórmula (A), alquilo inferior, hidroxialquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior, (halofenil)-alquilo inferior, (alquilfenilalquilo) inferior, (alcoxi inferior-fenil)-alquilo inferior, naftilalquilo inferior, o piridilalquilo inferior, con la condición de que al menos uno de R^3 y R^4 sea un grupo representado por la fórmula (A):



ES 2 321 100 T3

en la que

cada R^4 es, independientemente, $-R^7$, $-(CH_2)_n-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónido, $-O$ -glucosa,



en el que cuando dos grupos $-CH_2OR^8$ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R^8 pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico;

cada o es, independientemente, un número entero de 0 a 10;

cada p es un número entero de 0 a 10;

con la condición de que la suma de o y p en cada cadena contigua sea de 1 a 10;

cada x es, independientemente, O , NR^{10} , $C(=O)$, $CHOH$, $C(=N-R^{10})$, $CHNR^7R^{10}$, o representa un enlace sencillo;

cada R^5 es, independientemente, $-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-(Z)_gR^{12}$, $-(CH_2)_nNR^{11}R^{11}$, $-O-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(CH_2)_n-N^{\oplus}(R^{11})_3$, $-O-(CH_2)_m-N^{\oplus}(R^{11})_3$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-(CH_2)_n-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-O-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}(Z)_g-R^{10}$, $-(CH_2)_n-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}(Z)_g-R^{10}$, $-(CH_2)_nNR^{10}-O(CH_2)_m(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}(Z)_g-R^{10}$, $-O(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_m-(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}(Z)_g-R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-OR^8$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(Het)-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_gR^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_mNR^{11}R^{11}$, $-(Het)-(CH_2)_m-N^{\oplus}(R^{11})_3$, $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$, $-(Het)-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(C=O)NR^{12}R^{12}$, $-(Het)-(CH_2)_m-(CHOR^8)_mCH_2NR^{10}(Z)_g-R^{10}$, $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{10}-(CH_2)_m-(CHOR^8)_nCH_2NR^{10}(Z)_g-R^{10}$, en el que cuando dos grupos $-CH_2OR^8$ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R^8 pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico,

$-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, con la condición de que dos grupos $-CH_2OR^8$ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R^8 se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico,

$-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, con la condición de que dos grupos $-CH_2OR^8$ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R^8 se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico,

$-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, con la condición de que dos grupos $-CH_2OR^8$ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R^8 se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico, o

$-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, con la condición de que dos grupos $-CH_2OR^8$ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R^8 se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico;

cada R^6 es, independientemente, $-R^5$, $-R^7$, $-OR^8$, $-N(R^7)_2$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónido, $-O$ -glucosa,

ES 2 321 100 T3

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para promover la limpieza de la mucosidad en superficies mucosas. También se desvela que esta composición farmacéutica se aplica sobre la superficie mucosa.

5 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar bronquitis crónica.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar fibrosis quística.

10 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar rinosinusitis.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar deshidratación nasal. También se desvela que la composición farmacéutica se introduce en las fosas nasales.

También se desvela que la deshidratación nasal se provoca administrando oxígeno seco al sujeto.

20 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de un medicamento para tratar sinusitis.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar neumonía.

25 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para prevenir neumonía inducida por respirador. También se desvela que la composición farmacéutica se aplica por medio de un respirador.

30 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar asma.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar disquinesia ciliar primaria.

35 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar otitis media.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para inducir esputo. En particular, el esputo se induce para fines diagnósticos.

40 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de un medicamento para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

45 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfisema.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar sequedad ocular. También se desvela que la composición farmacéutica se aplica al ojo.

50 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para promover la hidratación ocular. También se desvela que la composición farmacéutica se aplica al ojo.

55 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para promover la hidratación corneal. También se desvela que la composición farmacéutica se aplica al ojo.

60 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar enfermedad de Sjögren.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar sequedad vaginal. También se desvela que la composición farmacéutica se aplica al tracto vaginal.

ES 2 321 100 T3

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar piel seca. También se desvela que la composición farmacéutica se aplica a la piel.

5 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar sequedad de boca (xerostomía). También se desvela que la composición farmacéutica se aplica a la boca.

10 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar síndrome de obstrucción intestinal distal.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar esofagitis.

15 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar estreñimiento.

También se desvela que la composición farmacéutica se administra tanto por vía oral como mediante un supositorio o enema.

20 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar diverticulitis crónica.

25 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar hipertensión.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para reducir la tensión arterial.

30 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para tratar edema.

La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para promover diuresis.

35 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para promover natriuresis.

40 La presente invención también proporciona el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) en la preparación de una composición farmacéutica para promover saluresis.

Una apreciación más completa de la invención y muchas de las ventajas que conlleva la misma se obtendrán fácilmente, al igual que la misma se entenderá mejor, mediante referencia a la siguiente descripción detallada.

45 La presente invención se basa en el descubrimiento de que los compuestos de fórmula (I) son más potentes y/o se absorben menos rápidamente por superficies mucosas, especialmente superficies de las vías respiratorias, y/o menos reversibles a partir de interacciones con ENaC con respecto a compuestos tales como amilorida, benzamil y fenamil. Por tanto, los compuestos de fórmula (I) tienen una semivida más larga sobre las superficies mucosas con respecto a estos compuestos.

50 La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos englobados por la fórmula (I) se convierten *in vivo* en derivados metabólicos de los mismos que tiene eficacia reducida en el bloqueo de canales de sodio con respecto al compuesto original administrado, después de que se absorban por las superficies mucosas después de la administración. Esta importante propiedad significa que los compuestos tendrán una menor tendencia a producir efectos secundarios no deseados bloqueando los canales de sodio localizados en localizaciones no elegidas como diana en el cuerpo del receptor, por ejemplo en los riñones.

55 La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos englobados por la fórmula (I) eligen como diana el riñón y, por tanto, pueden usarse como agentes cardiovasculares.

60 En los compuestos representados por la fórmula (I), X puede ser hidrógeno, halógeno, trifluorometilo, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, fenilo sin sustituir o sustituido, alquil inferior-tio, fenil-alquil inferior-tio, alquil inferior-sulfonilo, o fenil-alquil inferior-sulfonilo. Se prefiere halógeno.

65 Ejemplos de halógeno incluyen flúor, cloro, bromo y yodo. El cloro y el bromo son los halógenos preferidos. Se prefiere particularmente el cloro. Esta descripción puede aplicarse al término "halógeno" como se usa en toda la presente divulgación.

ES 2 321 100 T3

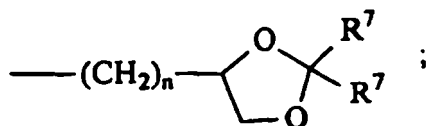
Como se usa en este documento, el término "alquilo inferior" significa un grupo alquilo que tiene menos de 8 átomos de carbono. Este intervalo incluye todos los valores específicos de átomos de carbono y subintervalos intermedios tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 átomos de carbono. El término "alquilo" engloba todos los tipos de tales grupos, por ejemplo grupos alquilo lineales, ramificados y cíclicos. Esta descripción puede aplicarse al término "alquilo inferior" como se usa en toda la presente divulgación. Ejemplos de grupos alquilo inferior adecuados incluyen metilo, etilo, propilo, ciclopropilo, butilo, isobutilo.

Los sustituyentes para el grupo fenilo incluyen halógenos. Los sustituyentes halógeno particularmente preferidos son cloro y bromo.

Y puede ser hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquil inferior-tio, halógeno, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, arilo mononuclear o $-N(R^2)_2$. El resto alquilo de los grupos alcoxi inferior es el mismo que se describe anteriormente. Ejemplos de arilo mononuclear incluyen grupos fenilo. El grupo fenilo puede estar sin sustituir o sustituido como se describe anteriormente. La identidad preferida de Y es $-N(R^2)_2$. Se prefieren particularmente tales compuestos en los que cada R^2 es hidrógeno.

R^1 puede ser hidrógeno o alquilo inferior. Se prefiere hidrógeno para R^1 .

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



En la definición de R^2 descrita anteriormente, cuando dos grupos $-CH_2OR^8$ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R^8 pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

Se prefieren hidrógeno y alquilo inferior, particularmente alquilo C_1-C_3 , para R^2 . Se prefiere particularmente hidrógeno.

R^3 y R^4 pueden ser, independientemente, hidrógeno, un grupo representado por la fórmula (A), alquilo inferior, hidroxialquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior, (halofenil)-alquilo inferior, (alquilfenilalquilo) inferior, (alcoxi inferior-fenil)-alquilo inferior, naftilalquilo inferior, o piridilalquilo inferior, siempre que al menos uno de R^3 y R^4 sea un grupo representado por la fórmula (A).

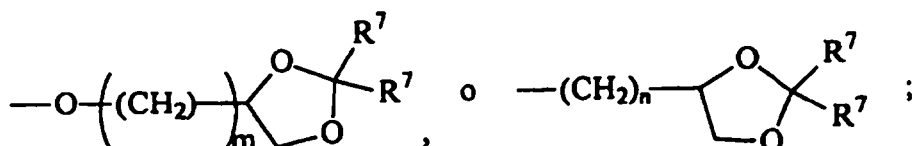
Los compuestos preferidos son aquellos en los que uno de R^3 y R^4 es hidrógeno y el otro se representa por la fórmula (A).

En la fórmula (A), el resto $-(C(R^L)_2)_o-x-(C(R^L)_2)_p-$ define un grupo alquileo unido al anillo aromático. Las variables o y p pueden ser cada una un número entero de 0 a 10, sujeto a la condición de que la suma de o y p en la cadena sea de 1 a 10. Por tanto, o y p pueden ser cada uno 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10. Preferentemente, la suma de o y p es de 2 a 6. En una realización particularmente preferida, la suma de o y p es 4.

El grupo de unión en la cadena de alquileo, x, puede ser, independientemente, O, NR^{10} , $C(=O)$, $CHOH$, $C(=N-R^{10})$, $CHNR^7R^{10}$, o representa un enlace sencillo;

Por tanto, cuando x represente un enlace sencillo, la cadena de alquileo unida al enlace se representa por la fórmula $-(C(R^L)_2)_{o+p}-$, en la que la suma o+p es de 1 a 10.

Cada R^L puede ser, independientemente, $-R^7$, $-(CH_2)_n-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónico, $-O$ -glucosa,



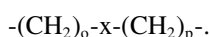
ES 2 321 100 T3

En la definición de R^L anterior, cuando dos grupos -CH₂OR⁸ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R⁸ pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

Los grupos R^L preferidos incluyen -H, -OH, -N(R⁷)₂, especialmente cuando cada R⁷ es hidrógeno.

En la cadena de alquileo en la fórmula (A) se prefiere que, cuando un grupo R^L unido a un átomo de carbono sea distinto de hidrógeno, entonces el otro R^L unido al átomo de carbono sea hidrógeno, es decir, la fórmula -CHR^L-. También se prefiere que como máximo dos grupos R^L en una cadena de alquileo sean distintos de hidrógeno, cuando los otros grupos R^L en la cadena son hidrógenos. Incluso más preferentemente, sólo un grupo R^L en una cadena de alquileo es distinto de hidrógeno, cuando los otros grupos R^L en la cadena son hidrógenos. En estas realizaciones se prefiere que x represente un enlace sencillo.

En otra realización particular de la invención, todos los grupos R^L en la cadena de alquileo son hidrógeno. En estas realizaciones, la cadena de alquileo se representa por la fórmula



Cada R⁵ es, independientemente, -(CH₂)_n-NR¹²R¹², -O-(CH₂)_m-NR¹²R¹², -O-(CH₂)_n-NR¹²R¹², -O-(CH₂)_m(Z)_gR¹², -(CH₂)_nNR¹¹R¹¹, -O-(CH₂)_mNR¹¹R¹¹, -(CH₂)_n-N[⊕]-(R¹¹)₃, -O-(CH₂)_m-N[⊕]-(R¹¹)₃, -(CH₂)_n-(Z)_g-(CH₂)_m-NR¹⁰R¹⁰, -O-(CH₂)_m-(Z)_g-(CH₂)_m-NR¹⁰R¹⁰, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR¹²R¹², -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR¹²R¹², -(CH₂)_n-(C=O)NR¹²R¹², -O-(CH₂)_m-(C=O)NR¹²R¹², -O-(CH₂)_m-(CHOR⁸)_mCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰, -(CH₂)_n-(CHOR⁸)_mCH₂-NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰, -(CH₂)_nNR¹⁰-O(CH₂)_m(CHOR⁸)_nCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰, -O(CH₂)_m-NR¹⁰-(CH₂)_n-(CHOR⁸)_nCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰, -(Het)-(CH₂)_m-OR⁸, -(Het)-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(Het)-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(Het)-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(Het)-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(Het)-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(Het)-(CH₂)_m-(Z)_g-R⁷, -(Het)-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(Het)-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -(Het)-(CH₂)_m-NR¹²R¹², -(Het)-(CH₂)_n-NR¹²R¹², -(Het)-(CH₂)_m-(Z)_gR¹², -(Het)-(CH₂)_mNR¹¹R¹¹, -(Het)-(CH₂)_m-N[⊕]-(¹¹)₃, -(Het)-(CH₂)_m-(Z)_g-(CH₂)_m-NR¹⁰R¹⁰, -(Het)-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR¹²R¹², -(Het)-(CH₂)_m-(C=O)NR¹²R¹², -(Het)-(CH₂)_m-(CHOR⁸)_mCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰, -(Het)-(CH₂)_m-NR¹⁰-(CH₂)_m-(CHOR⁸)_nCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰, en la que cuando dos grupos -CH₂OR⁸ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R⁸ pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico,

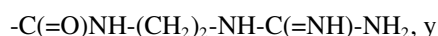
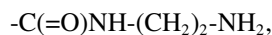
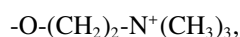
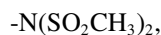
-(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que dos grupos -CH₂OR⁸ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico,

-O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que dos grupos -CH₂OR⁸ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico,

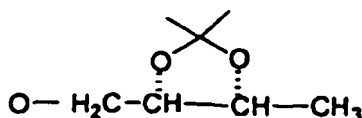
-(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que dos grupos -CH₂OR⁸ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico, o

-O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que dos grupos -CH₂OR⁸ estén localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

Ejemplos preferidos de R⁵ incluyen:



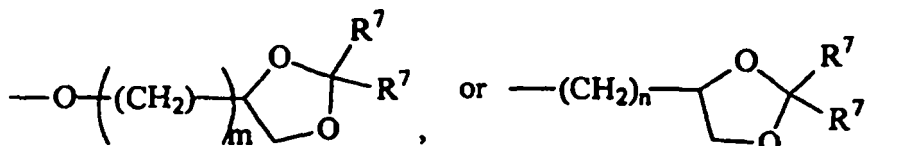
ES 2 321 100 T3



5

Hay cuatro grupos R^6 presentes sobre el anillo en la fórmula (A). Cada R^6 puede ser, independientemente, R^5 como se describe anteriormente, $-R^7$, $-OR^8$, $-N(R^7)_2$, $-(CH_2)_m-OR^8$, $-O-(CH_2)_m-OR^8$, $-(CH_2)_n-NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-R^8$, $-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2CH_2O)_m-CH_2CH_2NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-C(=O)NR^7R^{10}$, $-O-(CH_2)_m-C(=O)NR^7R^{10}$, $-(CH_2)_n-(Z)_g-R^7$, $-O-(CH_2)_m-(Z)_g-R^7$, $-(CH_2)_n-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-O-(CH_2)_m-NR^{10}-CH_2(CHOR^8)(CHOR^8)_n-CH_2OR^8$, $-(CH_2)_n-CO_2R^7$, $-O-(CH_2)_m-CO_2R^7$, $-OSO_3H$, $-O$ -glucurónico, $-O$ -glucosa, o

15



20

Cuando dos R^6 son $-OR^{11}$ y están localizados adyacentes el uno al otro sobre un anillo fenilo, los restos alquilo de los dos grupos R^6 pueden unirse juntos para formar un grupo metilendioxi, es decir, un grupo de fórmula $-O-CH_2-O-$. Además, cuando dos grupos $-CH_2OR^8$ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R^8 pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

25

Como se trata anteriormente, R^6 puede ser hidrógeno. Por tanto, 1, 2, 3 ó 4 grupos R^6 pueden ser distintos de hidrógeno. Preferentemente, como máximo 3 de los grupos R^6 son distintos de hidrógeno.

Cada g es, independientemente, un número entero de 1 a 6. Por tanto, cada g puede ser 1, 2, 3, 4, 5 ó 6.

30

Cada m es un número entero de 1 a 7. Por tanto, cada m puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7.

Cada n es un número entero de 0 a 7. Por tanto, cada n puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7.

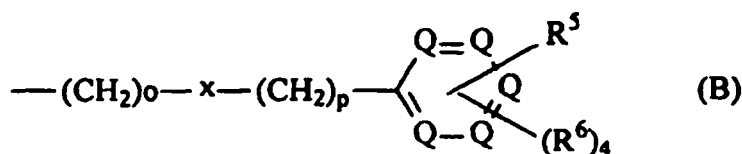
35

Cada Q en la fórmula (A) es $C-R^5$, $C-R^6$ o un átomo de nitrógeno, en la que como máximo tres Q en un anillo son átomos de nitrógeno. Por tanto, pueden estar 1, 2 ó 3 átomos de nitrógeno en un anillo. Preferentemente, como máximo dos Q son átomos de nitrógeno. Más preferentemente, como máximo un Q es un átomo de nitrógeno. En una realización particular, el átomo de nitrógeno está en la posición 3 del anillo. En otra realización de la invención, cada Q es $C-R^5$ o $C-R^6$, es decir, no hay átomos de nitrógeno en el anillo.

40

Ejemplos más específicos de grupos adecuados representados por la fórmula (A) se muestran en las fórmulas (B)-(F) de a continuación:

45



50

en la que o , x , p , R^5 y R^6 son como se definen anteriormente;

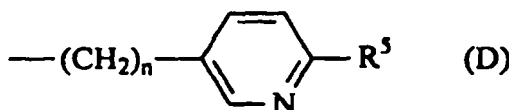
55



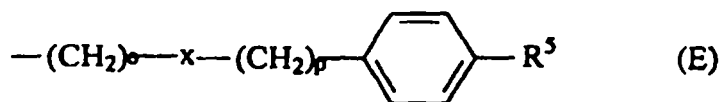
60

en la que n es un número entero de 1 a 10 y R^5 es como se define anteriormente;

65



en la que n es un número entero de 1 a 10 y R^5 es como se define anteriormente;



5

en la que o, x, p y R⁵ son como se definen anteriormente;

10

En una realización preferida de la invención, Y es -NH₂.

En otra realización preferida, R² es hidrógeno.

15

En otra realización preferida, R¹ es hidrógeno.

En otra realización preferida, X es cloro.

En otra realización preferida, R³ es hidrógeno.

20

En otra realización preferida, R^L es hidrógeno.

En otra realización preferida, o es 4.

25

En otra realización preferida, p es 0.

En otra realización preferida, la suma de o y p es 4.

En otra realización preferida, x representa un enlace sencillo.

30

En otra realización preferida, R⁶ es hidrógeno.

En otra realización preferida, como máximo un Q es un átomo de nitrógeno.

35

En otra realización preferida, ningún Q es un átomo de nitrógeno.

En una realización preferida de la presente invención:

40

X es halógeno;

Y es -N(R⁷)₂;

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

45

R² es -R⁷, -OR⁷, CH₂OR⁷ o -CO₂R⁷;

R³ es un grupo representado por la fórmula (A); y

50

R⁴ es hidrógeno, un grupo representado por la fórmula (A), o alquilo inferior;

En otra realización preferida de la presente invención:

55

X es cloro o bromo;

Y es -N(R⁷)₂;

R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

60

como máximo tres R⁶ son distintos de hidrógeno como se describe anteriormente;

como máximo tres R^L son distintos de hidrógeno como se describe anteriormente; y

65

como máximo 2 Q son átomos de nitrógeno.

ES 2 321 100 T3

En otra realización preferida de la presente invención:

Y es $-\text{NH}_2$;

5

En otra realización preferida de la presente invención:

R^4 es hidrógeno;

10

como máximo un R^L es distinto de hidrógeno como se describe anteriormente;

como máximo dos R^6 son distintos de hidrógeno como se describe anteriormente; y

como máximo 1 Q es un átomo de nitrógeno.

15

Ejemplos preferidos de R^5 en las realizaciones descritas anteriormente incluyen:

$-\text{N}(\text{SO}_2\text{CH}_3)_2$,

20

$-\text{CH}_2-\text{CHNHBocCO}_2\text{CH}_3$ (α),

$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{H}$ (α),

25

$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CHNH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ (α),

$-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$,

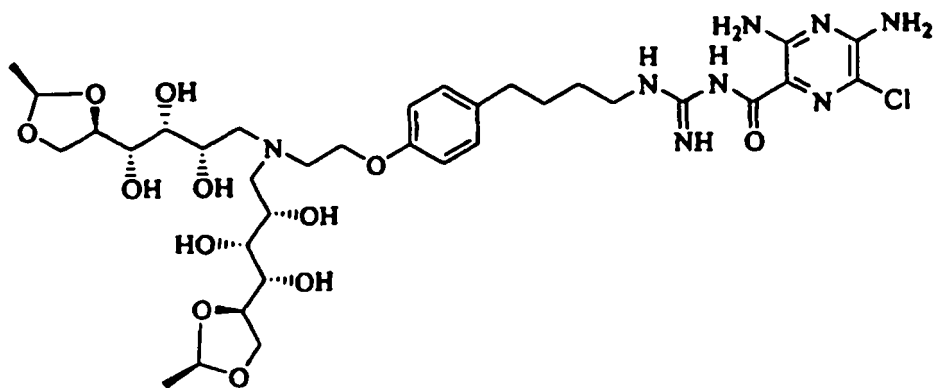
30

$-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$, y

$-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$.

Ejemplos de compuestos de la presente invención incluyen los siguientes:

35

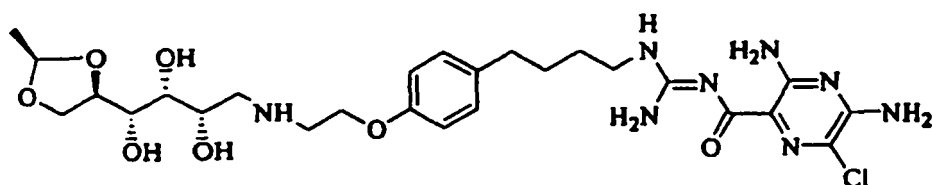


40

45

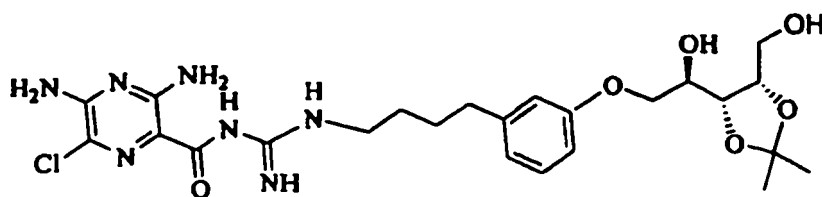
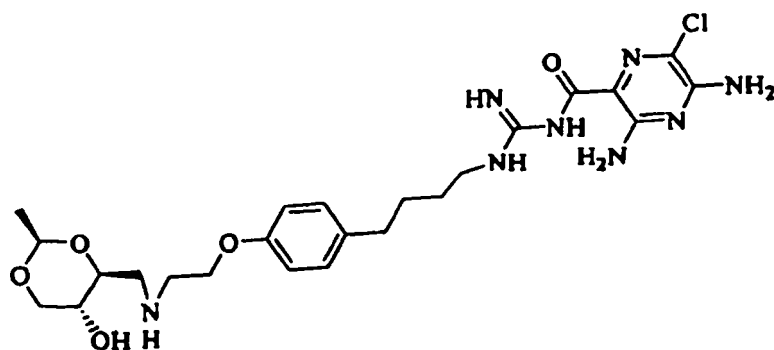
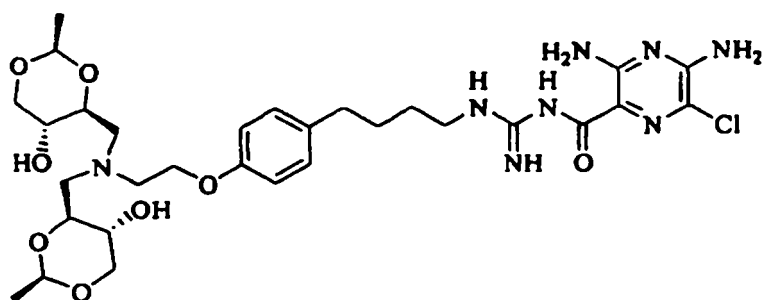
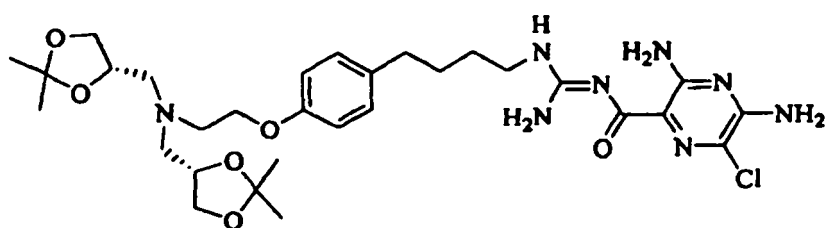
50

55



60

65



55

60

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse y usarse como la base libre. Alternativamente, los compuestos pueden prepararse y usarse como una sal farmacéuticamente aceptable. Sales farmacéuticamente aceptables son sales que retienen o potencian la actividad biológica deseada del compuesto original y no confieren efectos toxicológicos no deseados. Ejemplos de tales sales son (a) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico; (b) sales formadas con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácido naftalensulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalendisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico; y (c) sales formadas a partir de aniones elementales, por ejemplo, cloro, bromo y yodo.

65

Debe observarse que todos los enantiómeros, diaestereómeros y mezclas racémicas de compuestos dentro del alcance de la fórmula (I) están englobados por la presente invención. Todas las mezclas de tales enantiómeros y diaestereómeros están dentro del alcance de la presente invención.

Sin limitarse a ninguna teoría particular, se cree que los compuestos de fórmula (I) funcionan *in vivo* como bloqueadores de los canales de sodio. Mediante el bloqueo de los canales de sodio epiteliales presentes en las superficies mucosas, los compuestos de fórmula (I) reducen la absorción de agua por las superficies mucosas. Este efecto aumenta el volumen de líquidos protectores sobre las superficies mucosas, reequilibra el sistema y, por tanto, trata la enfermedad.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que aprovechan las propiedades de los compuestos de fórmula (I) tratados anteriormente. Por tanto, los sujetos que pueden tratarse mediante las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen pacientes aquejados de fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias, pacientes con respiración artificial, pacientes con neumonía aguda.

La presente invención puede usarse para obtener una muestra de esputo de un paciente administrando los compuestos activos a al menos un pulmón de un paciente, y luego induciendo o recogiendo una muestra de esputo de ese paciente. Normalmente, la invención se administrará a las superficies mucosas respiratorias mediante aerosol (líquido o polvos secos) o lavado.

Los sujetos que pueden tratarse por la presente invención también incluyen pacientes a los que se les administra oxígeno suplementario por vía nasal (un tratamiento que tiende a secar las superficies de las vías respiratorias); pacientes aquejados de una enfermedad o respuesta alérgica (por ejemplo, una respuesta alérgica a polen, polvo, pelo o partículas de animal, insectos o partículas de insecto) que afecta a las superficies de las vías respiratorias nasales; pacientes aquejados de una infección bacteriana, por ejemplo, infecciones por estafilococo tales como infecciones por *Staphylococcus aureus*, infecciones por *Hemophilus influenza*, infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, de las superficies de las vías respiratorias nasales; pacientes aquejados de una enfermedad inflamatoria que afecta a las superficies de las vías respiratorias nasales; o pacientes aquejados de sinusitis (en los que el agente activo o agentes activos se administran para promover el drenaje de secreciones mucosas congestionadas en los senos administrando una cantidad eficaz para promover el drenaje de fluido congestionado en los senos), o combinada, rinosinusitis. La invención puede administrarse a superficies rinosinuales mediante administración tópica, que incluye aerosoles y gotas.

La presente invención puede usarse para hidratar superficies mucosas distintas de las superficies de las vías respiratorias. Tales otras superficies mucosas incluyen superficies gastrointestinales, superficies bucales, superficies genitouretrales, superficies oculares o superficies del ojo, el oído interno y el oído medio. Por ejemplo, los compuestos activos de la presente invención pueden administrarse en una cantidad eficaz mediante cualquier medio adecuado, incluyendo localmente/tópicamente, por vía oral, o rectalmente.

Los compuestos de la presente invención también son útiles para tratar una variedad de funciones relacionadas con el sistema cardiovascular. Por tanto, los compuestos de la presente invención son útiles para uso como agentes antihipertensores. Los compuestos también pueden usarse para reducir la tensión arterial y para tratar edema. Además, los compuestos de la presente invención también son útiles para promover diuresis, natriuresis y saluresis. Los compuestos pueden usarse solos o en combinación con beta-bloqueadores, inhibidores de ACE, inhibidores de la HMGCoA reductasa, bloqueadores de los canales de calcio y otros agentes cardiovasculares para tratar hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva y reducir la mortalidad cardiovascular.

La presente invención se refiere fundamentalmente al tratamiento de sujetos humanos, pero también puede emplearse para el tratamiento de otros sujetos mamíferos tales como perros y gatos, para fines veterinarios.

Como se trata anteriormente, los compuestos usados para preparar las composiciones de la presente invención pueden estar en forma de una base libre farmacéuticamente aceptable. Debido a que la base libre del compuesto es generalmente menos soluble en disoluciones acuosas que la sal, las composiciones de base libre se emplean para proporcionar una liberación más sostenida del agente activo a los pulmones. Un agente activo presente en los pulmones en forma particulada que no se ha disuelto en disolución no puede inducir una respuesta fisiológica, pero sirve de depósito de fármaco biodisponible que se disuelve gradualmente en la disolución.

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo una disolución acuosa de vehículo). En general, el compuesto de fórmula (I) incluido en la composición es una cantidad eficaz para inhibir la reabsorción de agua por superficies mucosas.

Los compuestos de la presente invención también puede usarse conjuntamente con un agonista del receptor P2Y2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (también se denomina algunas veces un "agente activo" en este documento). La composición puede comprender adicionalmente un agonista del receptor P2Y2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (también se denomina algunas veces un "agente activo" en este documento). El agonista del receptor P2Y2 se incluye normalmente en una cantidad eficaz para estimular la secreción de cloruro y agua por superficies de las vías respiratorias, particularmente superficies de las vías respiratorias nasales. Los agonistas del receptor P2Y2 adecuados se describen en las columnas 9-10 de los documentos U.S. 6.264.975, U.S. 5.656.256 y U.S. 5.292.498.

ES 2 321 100 T3

Los broncodilatadores también pueden usarse en combinación con compuestos de la presente invención. Estos broncodilatadores incluyen agonistas β -adrenérgicos que incluyen epinefrina, isoproterenol, fenoterol, albutereol, terbutalina, pirbuterol, bitolterol, metaproterenol, isoetarina, xinafoato de salmeterol, además de agentes anticolinérgicos que incluyen bromuro de ipratropio, además de compuestos tales como teofilina y aminofilina. Estos compuestos pueden administrarse según técnicas conocidas, bien antes de o simultáneamente con los compuestos activos descritos en este documento.

Otro aspecto de la presente invención es una formulación farmacéutica que comprende un compuesto activo como se describe anteriormente en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una disolución acuosa de vehículo). En general, el compuesto activo se incluye en la composición en una cantidad eficaz para tratar superficies mucosas, tal como inhibir la reabsorción de agua por superficies mucosas, incluyendo las vías respiratorias y otras superficies.

Los compuestos activos desvelados en este documento pueden administrarse a superficies mucosas mediante cualquier medio adecuado que incluye tópicamente, por vía oral, rectalmente, vaginalmente, ocularmente y dérmicamente. Por ejemplo, para el tratamiento de estreñimiento, los compuestos activos pueden administrarse por vía oral o rectalmente a la superficie mucosa gastrointestinal. El compuesto activo puede combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable en cualquier forma adecuada tal como solución salina fisiológica estéril o diluida o disolución tópica, como gotitas, comprimido para administración por vía oral, como un supositorio para administración rectal o genitourtral. En la formulación pueden incluirse excipientes para potenciar la solubilidad de los compuestos activos, si se desea.

Los compuestos activos desvelados en este documento pueden administrarse a las superficies de las vías respiratorias de un paciente mediante cualquier medio adecuado que incluye un aerosol, niebla o gotitas de los compuestos activos en un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como soluciones salinas fisiológicas o diluidas o agua destilada. Por ejemplo, los compuestos activos pueden prepararse como formulaciones y administrarse como se describe en la patente de EE.UU. n° 5.789.391 a Jacobus.

Los agentes activos particulados sólidos o líquidos preparados para la práctica de la presente invención podrían incluir, como se indica anteriormente, partículas de tamaño respirable o no respirable; es decir, para partículas respirables, partículas de un tamaño suficientemente pequeño para atravesar la boca y la laringe con la inhalación y llegar a los bronquios y alvéolos de los pulmones, y para partículas no respirables, partículas suficientemente grandes para ser retenidas en las fosas de las vías respiratorias nasales en vez de atravesar la laringe y llegar a los bronquios y alvéolos de los pulmones. En general se desean partículas que oscilan de aproximadamente 1 a 5 micrómetros de tamaño (más particularmente, menos de aproximadamente 4,7 micrómetros de tamaño). Las partículas de tamaño no respirable son superiores a aproximadamente 5 micrómetros de tamaño, hasta el tamaño de gotitas visibles. Por tanto, para la administración nasal puede usarse un tamaño de partícula en el intervalo de 10-500 μm para garantizar la retención en la fosa nasal.

En la preparación de una formulación según la invención, los agentes activos o las sales o bases libres fisiológicamente aceptables de los mismos se mezclan normalmente con, entre otros, un vehículo aceptable. Por supuesto, el vehículo debe ser compatible con cualquier otro componente en la formulación y no debe ser perjudicial para el paciente. El vehículo debe ser sólido o líquido, o ambos, y preferentemente se formula con el compuesto como una formulación de dosis unitaria, por ejemplo, una cápsula, que puede contener del 0,5% al 99% en peso del compuesto activo. Uno o más compuestos activos pueden incorporarse en las formulaciones de la invención, formulaciones que pueden prepararse mediante cualquiera de las técnicas muy conocidas de la farmacia que consisten esencialmente en el mezclado de los componentes.

Las composiciones que contienen partículas secas respirables o no respirables de agente activo micronizado pueden prepararse moliendo el agente activo seco con un almirez y mano de almirez, y luego pasando la composición micronizada a través de una criba de 400 de malla para romper o separar aglomerados grandes.

La composición de agente activo particulada puede contener opcionalmente un dispersante que sirve para facilitar la formulación de un aerosol. Un dispersante adecuado es lactosa, que puede mezclarse con el agente activo en cualquier relación adecuada (por ejemplo, una relación de 1 a 1 en peso).

Los compuestos activos desvelados en este documento pueden administrarse a las superficies de las vías respiratorias que incluyen las fosas nasales, los senos y los pulmones de un sujeto mediante un medio adecuado conocido en la técnica, tal como mediante gotas nasales, nieblas. También se desvela que los compuestos activos de la presente invención se administran mediante lavado transbroncoscópico. También se desvela que los compuestos activos de la presente invención se depositan sobre las superficies de las vías respiratorias de los pulmones administrando una suspensión de aerosol de partículas respirables que comprende el compuesto activo que inhala el sujeto. Las partículas respirables pueden ser líquidas o sólidas. Se conocen numerosos inhaladores para administrar partículas de aerosol a los pulmones de un sujeto.

Pueden emplearse inhaladores tales como aquellos desarrollados por Inhale Therapeutic Systems, Palo Alto, California, EE.UU., que incluyen aquellos desvelados en las patentes de EE.UU. n° 5.740.794; 5.654.007; 5.458.135; 5.775.320; y 5.785.049. También pueden emplearse inhaladores tales como aquellos desarrollados por Dura Phar-

ES 2 321 100 T3

maceuticals, Inc. San Diego, California, EE.UU., que incluyen aquellos desvelados en las patentes de EE.UU. n° 5.622.166; 5.577.497; 5.645.051; y 5.492.112. Adicionalmente pueden emplearse inhaladores tales como aquellos desarrollados por Aradigm Corp. Hayward, California, EE.UU., que incluyen aquellos desvelados en las patentes de EE.UU. n° 5.826.570; 5.813.397; 5.819.726; y 5.655.516. Estos aparatos son particularmente adecuados como inhaladores de partículas secas.

Los aerosoles de partículas líquidas que comprenden el compuesto activo pueden producirse mediante cualquier medio adecuado, tal como con un nebulizador de aerosol accionado a presión o un nebulizador ultrasónico. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n° 4.501.729. Los nebulizadores son dispositivos comercialmente disponibles que transforman disoluciones o suspensiones del principio activo en una niebla de aerosol terapéutico bien por medio de la aceleración de gas comprimido, normalmente aire u oxígeno, a través de un orificio de Venturi estrecho, o por medio de agitación ultrasónica. Las formulaciones adecuadas para uso en nebulizadores están constituidas por el principio activo en un vehículo líquido, comprendiendo el principio activo hasta el 40% en peso/peso de la formulación, pero preferentemente menos del 20% en peso/peso. El vehículo es normalmente agua (y lo más preferentemente agua estéril sin pirógeno) o disolución alcohólica acuosa diluida. También pueden usarse vehículos de perfluorocarburos. Los aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no se esteriliza, por ejemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, aromatizantes, aceites volátiles, agentes de tamponamiento y tensioactivos.

Los aerosoles de partículas sólidas que comprenden el compuesto activo pueden producirse asimismo con cualquier generador de aerosol de medicamento particulado sólido. Los generadores de aerosol para la administración de medicamentos particulados sólidos a un sujeto producen partículas que son respirables, como se explica anteriormente, y generan un volumen de aerosol que contiene una dosis dosificada predeterminada de un medicamento a una velocidad adecuada para la administración humana. Un tipo ilustrativo de generador de aerosol particulado sólido es un insuflador. Las formulaciones adecuadas para administración mediante insuflado incluyen polvos finamente triturados que pueden administrarse por medio de un insuflador o llevarse a la fosa nasal en forma de una inhalación por la nariz. En el insuflador, el polvo (por ejemplo, una dosis dosificada del mismo eficaz para llevar a cabo los tratamientos descritos en este documento) está contenido en cápsulas o cartuchos, normalmente hechos de gelatina o plástico, que o se perforan o se abren *in situ* y el polvo se administra por el aire extraído por el dispositivo con la inhalación o por medio de una bomba accionada manualmente. El polvo empleado en el insuflador está constituido únicamente por el principio activo o por la mezcla de polvo que comprende el principio activo, un diluyente de polvo adecuado, tal como lactosa, y un tensioactivo opcional. El principio activo comprende normalmente del 0,1 al 100% en peso/peso de la formulación. Un segundo tipo de generador de aerosol ilustrativo comprende un inhalador de dosis dosificada. Los inhaladores de dosis dosificada son dispensadores de aerosol presurizados que normalmente contienen una formulación en suspensión o disolución de principio activo en un propulsor licuado. Durante el uso, estos dispositivos descargan la formulación por una válvula adaptada para la administración de un volumen dosificado, normalmente de 10 a 150 μl , para producir un aerosol de partículas finas que contiene el principio activo. Los propulsores adecuados incluyen ciertos compuestos de clorofluorocarburo, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano y mezclas de los mismos. La formulación puede contener adicionalmente uno o más codisolventes, por ejemplo, etanol, tensioactivos tales como ácido oleico o trioleato de sorbitano, antioxidantes y aromatizantes adecuados.

El aerosol, tanto si se forma a partir de partículas sólidas como líquidas, puede producirse mediante el generador de aerosol a una proporción de aproximadamente 10 a 150 litros por minuto, más preferible de 30 a 150 litros por minuto, y lo más preferentemente aproximadamente 60 litros por minuto. Los aerosoles que contienen mayores cantidades de medicamento pueden administrarse más rápidamente.

La dosificación de los compuestos activos desvelados en este documento variará dependiendo de la afección que está tratándose y del estado del sujeto, pero generalmente puede ser de aproximadamente 0,01, 0,03, 0,05, 0,1 a 1, 5, 10 ó 20 mg de agente farmacéutico depositado sobre las superficies de las vías respiratorias. La dosis diaria puede dividirse entre una o múltiples administraciones de dosis unitarias. El objetivo es lograr una concentración de los agentes farmacéuticos sobre las superficies de las vías respiratorias de los pulmones de entre 10^{-9} - 10^4 M.

También se desvela que se administran administrando una suspensión en aerosol de partículas respirables o no respirables (preferentemente partículas no respirables) que comprenden el compuesto activo que el sujeto inhala por la nariz. Las partículas respirables o no respirables pueden ser líquidas o sólidas. La cantidad de agente activo incluida puede ser una cantidad suficiente para lograr concentraciones disueltas de agente activo sobre las superficies de las vías respiratorias del sujeto de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} ó 10^{-7} a aproximadamente 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} moles/litro, y más preferentemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

La dosificación del compuesto activo variará dependiendo de la afección que está tratándose y del estado del sujeto, pero generalmente puede ser una cantidad suficiente para lograr concentraciones disueltas de compuesto activo sobre las superficies de las vías respiratorias nasales del sujeto de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} ó 10^{-7} a aproximadamente 10^{-3} , 10^{-2} ó 10^{-1} moles/litro, y más preferentemente de aproximadamente 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro. Dependiendo de la solubilidad de la formulación particular del compuesto activo administrado, la dosis diaria puede dividirse entre una o varias administraciones de dosis unitarias. La dosis diaria en peso puede oscilar de aproximadamente 0,01, 0,03, 0,1, 0,5 ó 1,0 a 10 ó 20 miligramos de partículas de agente activo para un sujeto humano dependiendo de la edad y la afección del sujeto. Una dosis unitaria actualmente preferida es aproximadamente 0,5 miligramos de agente activo administrado a una pauta posológica de 2-10 administraciones por día. La dosificación puede proporcio-

ES 2 321 100 T3

se ejecutan en paralelo ocho preparaciones; dos preparaciones por ejecución incorporan amilorida y/o benzamil como controles positivos. Después de administrarse la concentración máxima (5×10^{-5} M), el baño lumenal se cambia tres veces con disolución nueva de KBR sin fármaco y la I_{CC} resultante se mide después de cada lavado durante aproximadamente 5 minutos de duración. La reversibilidad se define como la vuelta en porcentaje al valor inicial para la corriente de sodio después del tercer lavado. Todos los datos de las pinzas de voltaje se recogen mediante una interfaz informática y se analizan fuera de línea.

Las relaciones dosis-efecto para todos los compuestos se consideran y se analizan mediante el programa Prism 3.0. Los valores de CI_{50} , las concentraciones eficaces máximas y la reversibilidad se calculan y se comparan con amilorida y benzamil como controles positivos.

Ensayos farmacológicos de absorción

(1) Ensayo de desaparición apical

Las células bronquiales (células de perro, ser humano, oveja o roedor) se siembran a una densidad de $0,25 \times 10^6/cm^2$ sobre una membrana porosa recubierta con colágeno Transwell-Col con un área de crecimiento de $1,13 \text{ cm}^2$ y crecen en una superficie de separación aire-líquido en un medio hormonalmente definido que promueve un epitelio polarizado. A partir de 12 a 20 días después del desarrollo de una superficie de separación aire-líquido (ALI) se espera que los cultivos estén $> 90\%$ ciliados, y las mucinas se acumularán sobre las células. Para garantizar la integridad de las preparaciones de células epiteliales de las vías respiratorias primarias se miden la resistencia transepitelial (R_t) y las diferencias de potencial transepitelial (PD), que son indicadores de la integridad de la naturaleza polarizada del cultivo. Se prefieren los sistemas de células humanas para estudios de velocidades de absorción de superficies apicales. El ensayo de desaparición se realiza en condiciones que imitan a las películas "finas" *in vivo* ($\sim 25 \mu\text{l}$) y se inicia añadiendo bloqueadores de los canales de sodio experimentales o controles positivos (amilorida, benzamil, fenamil) a la superficie apical a una concentración inicial de $10 \mu\text{M}$. Se recoge una serie de muestras (volumen de $5 \mu\text{l}$ por muestra) a diversos momentos de tiempo que incluyen 0, 5, 20, 40, 90 y 240 minutos. Las concentraciones se determinan midiendo la fluorescencia intrínseca de cada bloqueador de los canales de sodio usando un fluorímetro de placas de microtitulación Fluorocount o HPLC. El análisis cuantitativo emplea una curva patrón generada a partir de materiales patrón de referencia auténticos de concentración y pureza conocidos. El análisis de los datos de la velocidad de desaparición se realiza usando el decaimiento exponencial de una fase de la regresión no lineal ("Prism V 3.0").

2. Ensayo de microscopía confocal de la captación de congéner de amilorida

Casi todas las moléculas similares a la amilorida fluorescen en el intervalo ultravioleta. Esta propiedad de estas moléculas puede usarse para medir directamente la actualización celular usando microscopía confocal x-z. Las concentraciones equimolares de los compuestos experimentales y los controles positivos que incluyen amilorida y los compuestos que demuestran una rápida captación en el compartimento celular (benzamil y fenamil) se colocan sobre la superficie apical de los cultivos de las vías respiratorias sobre la platina del microscopio confocal. Las imágenes x-z seriadas se obtienen con el tiempo y la magnitud de la fluorescencia que se acumula en el compartimento celular se cuantifica y se representa como un cambio en la fluorescencia frente al tiempo.

3. Ensayos in vitro del metabolismo de compuestos

Las células epiteliales de las vías respiratorias tienen la capacidad de metabolizar fármacos durante el proceso de absorción transepitelial. Además, aunque es menos probable, es posible que los fármacos puedan metabolizarse sobre las superficies epiteliales de las vías respiratorias mediante actividades de ectoenzimas específicas. Quizás más probable que un acontecimiento ecto-superficial es que los compuestos puedan ser metabolizados por las secreciones infectadas que ocupan las luces de las vías respiratorias de pacientes con enfermedad pulmonar, por ejemplo fibrosis quística. Por tanto, se realiza una serie de ensayos para caracterizar el metabolismo de compuestos que resulta de la interacción de compuestos de prueba con epitelios de las vías respiratorias humanas y/o productos lumenales epiteliales de las vías respiratorias humanas.

En la primera serie de ensayos, la interacción de los compuestos de prueba en KBR como un estimulante de "LSVR" se aplica a la superficie apical de células epiteliales de las vías respiratorias humanas cultivadas en el sistema de insertos T-Col. Para la mayoría de los compuestos, el metabolismo (generación de nuevas especies) se prueba usando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para resolver las especies químicas y las propiedades de fluorescencia endógena de estos compuestos para estimar las cantidades relativas de compuesto de prueba y metabolitos novedosos. Para un ensayo típico, una disolución de prueba ($25 \mu\text{l}$ de KBR, que contiene compuesto de prueba $10 \mu\text{M}$) se coloca sobre la superficie lumenal epitelial. Se obtienen muestras secuenciales de 5 a $10 \mu\text{l}$ de los compartimentos lumenales y serosos para análisis por HPLC de (1) la masa del compuesto de prueba que permea del baño lumenal a seroso y (2) la posible formación de metabolitos a partir del compuesto original. En los casos en los que las propiedades de fluorescencia de la molécula de prueba no son adecuadas para tales caracterizaciones, para estos ensayos se usan compuestos radiomarcados. A partir de los datos de HPLC se cuantifica la velocidad de desaparición y/o formación de compuestos de metabolitos novedosos sobre la superficie lumenal y el aspecto del compuesto de prueba y/o metabolito novedoso en la disolución basolateral. También se cuantifican los datos referentes a la movilidad cromatográfica de posibles metabolitos novedosos con referencia al compuesto original.

ES 2 321 100 T3

Para analizar el posible metabolismo de compuestos de prueba mediante esputo de FQ se ha recogido una mezcla “representativa” de esputo de FQ expectorado obtenido de 10 pacientes con FQ (bajo autorización de IRB). El esputo se ha solubilizado en una mezcla 1:5 de disolución de KBR removiendo vigorosamente con vórtex, tras lo que la mezcla se fraccionó en una alícuota de esputo “puro” y una alícuota sometida a ultracentrifugación de manera que se obtuvo una alícuota de “sobrenadante” (pura=celular; sobrenadante=fase líquida). Los estudios típicos del metabolismo de compuestos mediante esputo de FQ implican la adición de masas conocidas del compuesto de prueba a esputo de FQ “puro” y alícuotas de “sobrenadante” de esputo de FQ incubado a 37°C, seguido de muestreo secuencial de alícuotas de cada tipo de esputo para la caracterización de la estabilidad/metabolismo de compuestos mediante análisis por HPLC como se describe anteriormente. Luego se realizan, como anteriormente, el análisis de la desaparición de compuestos, velocidades de formación de metabolitos novedosos y movilidades de HPLC de metabolitos novedosos.

4. Efectos farmacológicos y mecanismo de acción del fármaco en animales

El efecto de los compuestos para potenciar el aclaramiento mucociliar (AMC) puede medirse usando un modelo *in vivo* descrito por Sabater y col. Journal of Applied Physiology, 1999, páginas 2191-2196.

Ejemplos

Habiendo descrito generalmente esta invención, otro entendimiento puede obtenerse mediante referencia a ciertos ejemplos específicos que se proporcionan en este documento para fines de ilustración.

Preparación de bloqueadores de los canales de sodio

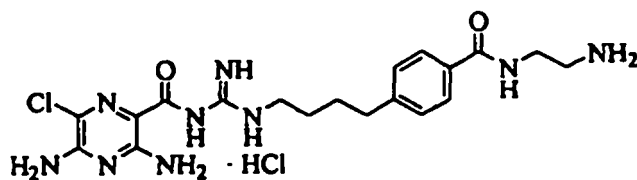
Materiales y procedimientos. Todos los reactivos y disolventes se compraron de Aldrich Chemical Corp. y se usaron sin más purificación. Los espectros de RMN se obtuvieron o bien en un Bruker WM 360 (RMN ¹H a 360 MHz y RMN ¹³C a 90 MHz) o en un Bruker AC 300 (RMN ¹H a 300 MHz y RMN ¹³C a 75 MHz). La cromatografía ultrarrápida se realizó en un sistema Flash Elute de Elution Solution (PO Box 5147, Charlottesville, Virginia 22905) cargado con un cartucho de gel de sílice de 90 g (40M FSO-0110-040155, 32-63 μm) a 20 psi (0,14 MPa)(N₂).

El análisis de CG se realizó en un Shimadzu GC-17 equipado con una columna capilar Heliflex (Alltech); fase: AT-1, longitud: 10 metros, DI: 0,53 mm, película: 0,25 micrómetros. Parámetros de CG: inyector a 320°C, detector a 320°C, flujo de gas FID: H₂ a 40 ml/min. Aire a 400 ml/min. Gas portador: relación de fraccionamiento 16:1, flujo de N₂ a 15 ml/min, velocidad de N₂ a 18 cm/s. El programa de temperatura es 70°C durante 0-3 min, 70-300°C de 3-10 min, 300°C de 10-15 min.

El análisis por HPLC se realizó en una bomba Gilson 322, detector UV/Vis-156 a 360 nm, equipado con una columna Microsorb MV C8, 100 A, 25 cm. Fase móvil: A = acetonitrilo con 0,1% de TFA, B = agua con 0,1% de TFA. Programa de gradiente: 95:5 de B:A durante 1 min, luego hasta 20:80 de B:A durante 7 min, luego hasta 100% de A durante 1 min, seguido de lavado con 100% de A durante 11 min, velocidad de flujo: 1 ml/min.

Ejemplo 1

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



11698

Ácido 4-(4-aminobutil)benzoico (30)

Una disolución de hidróxido sódico (0,69 g, 17,37 mmol) en agua (30 ml) se añadió a una disolución de 24 (1,2 g, 5,79 mmol) en metanol (30 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. Entonces, el disolvente se eliminó a presión reducida. Se añadió agua (20 ml) y el pH se ajustó a 7 con HCl. El sólido blanco precipitado se separó por filtración, se lavó con agua y se secó a vacío. El producto bruto 30 (1,39 g) se obtuvo como un sólido blanco y se usó para la siguiente etapa sin más purificación.

ES 2 321 100 T3

Ácido 4-(4-benciloxicarbonilaminobutil)benzoico (31)

Se añadió hidrogenocarbonato de sodio (0,95 g, 11,32 mmol) a una suspensión de 30 en THF (120 ml), seguido de agua (10 ml), proporcionando una disolución transparente. Entonces se añadió cloroformiato de bencilo (1,21 ml, 8,49 mmol) a la mezcla de reacción a 0°C. Entonces, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de esto, el disolvente se eliminó a presión reducida. Se añadió acetato de etilo (70 ml) al residuo y la disolución se lavó con HCl 2 N (2 x 30 ml) y agua (2 x 50 ml), luego se secó a vacío. Se obtuvieron 1,82 g (98%) de 31 como un sólido blanco. RMN ¹H (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 bencilico de ácido 4-[4-(2-*terc*-butoxicarbonilaminoetilcarbamoil)fenil]butil]-carbámico (32)

Se añadió *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (0,69 g, 3,36 mmol) a una disolución de cloruro de metileno fría (0°C) de 31 (1 g, 3,05 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) (0,41 g, 3,05 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno. Entonces, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se formó un precipitado blanco. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se separó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 3:2 de cloruro de metileno/acetato de etilo) para proporcionar 32 (0,9 g, 63%) como un sólido blanco. RMN ¹H (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 *terc*-butílico de ácido [2-[4-(4-aminobutil)benzoilamino]etil]carbámico (33)

Una suspensión de 32 (0,9 g, 1,92 mmol) con 10% de paladio sobre carbón (0,30 g, húmedo) en metanol (50 ml) se agitó durante 2 h a temperatura ambiente bajo presión atmosférica de hidrógeno. Entonces, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 6:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 33 (0,405 g, 63%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, 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 *terc*-butílico de ácido [2-(4-[4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]benzoilamino)etil]carbámico (34)

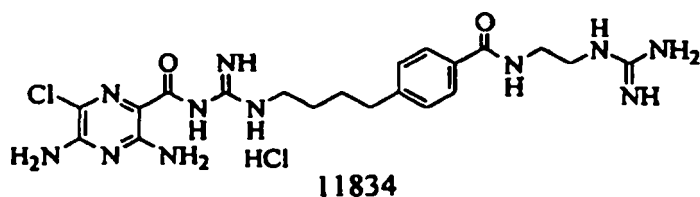
Se añadieron secuencialmente yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoil)-2-metilisotiurea (0,32 g, 0,82 mmol) y trietilamina (0,27 ml, 1,64 mmol) a una disolución de 33 (0,39 g, 0,82 mmol) en 5 ml de metanol. La mezcla de reacción se agitó en el disolvente a ebullición durante 2 h. El disolvente se evaporó y el residuo se separó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 6:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 34 (0,39 g, 62%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, 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 (s a, 1H), 6,94 (m, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,75 (d, 2H), 8,49 (m, 1H). *m/z* (APCI) = 548 [C₂₄H₃₄ClN₉O₄ + H]⁺.

Clorhidrato de *N*-(2-aminoetil)-4-[4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]benzamida (35 (11698))

La disolución de 34 (0,104 g, 0,19 mmol) en una mezcla de metanol/HCl (1:1, 8 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h; entonces el disolvente se evaporó completamente, proporcionando 0,099 g (100%) de 35 como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, 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 (s a, 2H), 8,82 (m, 1H), 8,90 (s a, 1H), 9,02 (s a, 1H), 9,37 (m, 1H), 10,57 (s, 1H). *m/z* (APCI) = 448 [C₁₉H₂₆ClN₉O₂ + H]⁺.

Ejemplo 2

Clorhidrato de 4-[4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]-*N*-(2-guanidinoetil)benzamida (11834)



ES 2 321 100 T3

4-[4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]-N-[2-N'',N'''-di-(butiloxicarbonil)guanidino-etil]benzamida (36)

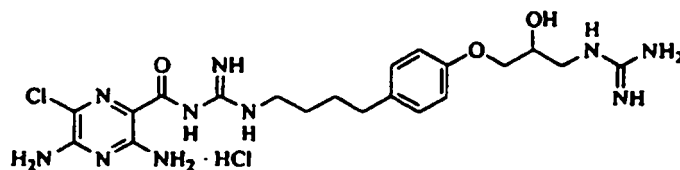
Se añadió trietilamina (0,34 ml, 2,44 mmol) a una suspensión de 35 en metanol (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min; momento en el que la suspensión se convirtió en una disolución transparente. Se añadió N,N'-di-(*tert*-butoxicarbonil)-N''-trifluorometanosulfonilguanidina (reactivo de Goodman) (0,193 g, 0,489 mmol) a la reacción. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h adicionales, después de eso el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 6:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 36 (0,18 g, 80%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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 (s a, 2H), 3,40 (m, 2H), 3,49 (m, 2H), 6,77 (s a, 2H), 7,30 (d, 2H), 7,75 (d, 2H), 8,50 (s a, 2H).

Clorhidrato de 4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]-N-(2-guanidino-etil)benzamida (37 (11834))

La disolución de 36 (0,155 g, 0,22 mmol) en una mezcla de metanol/HCl (1:1, 4 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, entonces el disolvente se evaporó y el residuo se secó a vacío para proporcionar 0,126 g (100%) de 37 como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,54 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 3,35 (s a, 4H), 7,32 (d, 2H), 7,90 (d, 2H), 8,79 (m, 1H), 8,92 (s a, 1H), 8,90 (s a, 1H), 9,02 (s a, 1H), 9,37 (m, 1H), 10,57 (s, 1H). *m/z* (APCI) = 490 [C₂₀H₂₈ClN₁₁O₂ + H]⁺.

Ejemplo 3

Clorhidrato de N(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-N'-{4-[4-(3-guanidino-2-hidroxiopropoxi)fenil]butil]guanidina (11975)



11975

La síntesis de éster bencílico de ácido [4-(4-aliloxifenil)butil]carbámico (38) se describió en los detalles experimentales previamente proporcionados (como el compuesto 30).

Éster bencílico de ácido [4-(4-oxiranilmetoxifenil)butil]carbámico (39)

Se añadió ácido 3-cloro-peroxibenzoico (2,46 g, 14,25 mmol) a una disolución de cloruro de metileno (100 ml) de 38 (1,86 g, 5,48 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de esto, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 8:1:1 de cloruro de metileno/hexano/acetato de etilo). Para eliminar la mezcla de ácido benzoico, la disolución de cloruro de metileno del producto se lavó secuencialmente con una disolución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio y agua, luego se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó para proporcionar 1,4 g (72%) de 39 como un sólido amarillo. RMN ¹H (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 bencílico de ácido {4-[4-(3-amino-2-hidroxiopropoxi)fenil]butil}carbámico (40)

Una disolución de etanol de 39 (0,86 g, 2,42 mmol) se saturó con amoníaco y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 6:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 40 (0,75 g, 87%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, 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 (s a, 5H).

ES 2 321 100 T3

Éster terc-butílico de ácido [4-[4-(3-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxiopoxi)-fenil]butil]carbámico (41)

El compuesto 41 se preparó de un modo similar a la síntesis del compuesto 25 partiendo del compuesto 40 (0,75 g, 2,03 mmol). Se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 2:1 de hexano/acetato de etilo) como un sólido blanco (0,8 g, 83%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (s a, 1H), 5,00 (s a, 1H), 5,10 (s, 2H), 6,81 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,35 (s a, 5H).

Éster terc-butílico de ácido [3-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-2-hidroxiopropil]carbámico (42)

Una suspensión de 41 (0,8 g, 1,69 mmol) con 10% de paladio sobre carbón (0,40 g, húmedo) en metanol (30 ml) se agitó durante 3 h a temperatura ambiente bajo presión atmosférica de hidrógeno. Entonces, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de gel de sílice; el disolvente se evaporó para proporcionar 42 (0,705 g, 99%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (s a, 1H), 5,10 (s a, 1H), 6,81 (d, 2H), 7,08 (d, 2H).

Éster terc-butílico de ácido [3-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]fenoxi)-2-hidroxiopropil]carbámico (43)

El compuesto 43 se preparó de un modo similar a la síntesis del compuesto 29 partiendo del compuesto 42 (0,46 g, 1,36 mmol). Se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 6:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) como un sólido amarillo (0,37 g, 57%). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,38 (s, 9H), 1,58 (s a, 4H), 2,55 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 3,08 (m, 2H), 3,33 (m, 2H), 3,82 (m, 3H), 5,13 (s a, 1H), 6,85 (d, 2H), 7,10 (d, 2H), 7,46 (s a, 2H).

N-[4-[4-(4-Amino-2-hidroxiopoxi)fenil]butil]-N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidina (44)

La base libre del compuesto 44 se preparó de un modo similar a la síntesis del compuesto 28 partiendo del compuesto 43 (0,18 g, 0,33 mmol) y se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 2:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar la base libre producto como un sólido amarillo. Entonces se trató con 3% de HCl. El disolvente se evaporó y el residuo se secó a vacío para proporcionar 0,125 g (73%) del compuesto 44. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,58 (s a, 4H), 2,55 (m, 2H), 2,84 (s a, 1H), 3,03 (s a, 1H), 3,34 (s a, 2H), 3,94 (m, 2H), 5,13 (s a, 1H), 6,85 (d, 2H), 7,13 (d, 2H), 8,13 (s a, 2H), 8,90 (s a, 1H), 9,00 (s a, 1H), 9,34 (s a, 1H), 10,56 (s, 1H).

N-(3,5-Diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonil)-N'-[4-[4-(3-(N''',N'''-di-terc-butiloxycarbonil)-guanidino)-2-hidroxiopoxi]fenil]-butil]-guanidina (45)

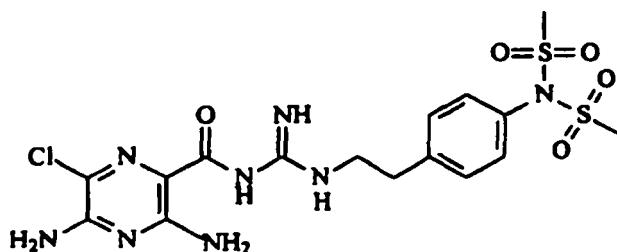
Se añadió trietilamina (0,30 ml, 2,14 mmol) a una disolución de 44 en metanol (10 ml) seguido de la adición de *N,N'*-di-(*terc*-butoxicarbonil)-*N*''-trifluorometanosulfonil-guanidina (reactivo de Goodman) (0,169 g, 0,4295 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de esto, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 6:1:0,1 de cloroformo/etanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 45 (0,154 g, 78%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,47 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 1,66 (s a, 4H), 2,58 (m, 2H), 3,23 (s a, 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).

Clorhidrato de N-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-N'-[4-[4-(3-guanidino-2-hidroxiopoxi)fenil]butil]guanidina (46)

Una disolución de 45 (0,134 g, 0,19 mmol) en ácido clorhídrico concentrado se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. Entonces, el disolvente se evaporó y el residuo se secó a vacío para proporcionar 0,108 g (99%) de 46 como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,60 (s a, 4H), 2,52 (s a, 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 (s a, 1H), 9,03 (s a, 1H), 9,37 (m, 1H), 10,57 (s, 1H). *m/z* (APCI) = 493 [C₂₀H₂₉ClN₁₀O₃ + H]⁺.

Ejemplo 4

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



10316

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

A una mezcla de THF anhidro y trietilamina (20 ml, 1/1) se añadieron secuencialmente 1-yodo-4-nitrobenceno (2,0 g, 8,032 mmol) y yoduro de cobre (I) (0,31 g, 1,606 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. El matraz se evacuó y se volvió a llenar con argón cuatro veces para garantizar que no quedaba oxígeno. El catalizador, diclorobis(trifenilfosfina)-paladio (II) (0,56 g, 0,803 mmol) se añadió a la mezcla bajo protección de argón, seguido de la adición de éster *tert*-butílico de ácido but-3-inil-carbámico (1,62 g, 9,638 mmol). La mezcla de reacción recientemente formada se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante la noche. El sólido en la mezcla de reacción se filtró a vacío. El filtrado se concentró. El residuo se volvió a disolver en cloruro de metileno y se purificó por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla de acetato de etilo (0-10%) y hexanos (100-90%) para proporcionar 2,08 g (89%) del producto 51 como un sólido naranja. RMN ¹H (CDCl₃) δ 1,46 (s, 9H), 2,66 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,36-3,43 (m, 2H), 4,86 (s a, 1H), 7,53 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 8,16 (d, J = 8,7 Hz, 2H). *m/z* (APCI) = 291 [C₁₅H₁₈N₂O₄ + H]⁺, 191 [C₁₅H₁₈N₂O₄ - Boc + H]⁺.

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

A una disolución del compuesto 51 (2,01 g, 6,923 mmol) en etanol (50 ml) se añadió 10% de paladio sobre carbón (737 mg, húmedo) en una porción bajo protección de argón. El matraz se evacuó y se volvió a llenar con argón tres veces (para eliminar el oxígeno) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche bajo una atmósfera de hidrógeno. Entonces, el sistema de reacción se purgó con nitrógeno y el catalizador se filtró a vacío y se lavó con etanol (2 x 5 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de acetato de etilo (0-25%) y hexanos (100-75%) para proporcionar 1,75 g (96%) del producto 52 como un aceite viscoso incoloro. RMN ¹H (CDCl₃) 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 (s a, 2H), 4,55 (s a, 1H), 6,62 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 6,95 (d, J = 8,2 Hz, 2H). *m/z* (APCI) = 265 [C₁₅H₂₄N₂O₂ + H]⁺.

Éster *tert*-butílico de ácido de 4-[4-[bis(metanosulfonyl)amino]fenil]butilcarbámico (53)

El compuesto 52 (0,16 g, 0,605 mmol) se disolvió en THF anhidro (5 ml). A la disolución transparente se añadieron secuencialmente trietilamina (0,18 ml, 1,21 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (15 mg, 0,121 mmol). La mezcla se enfrió a aproximadamente -10°C durante 15 min mediante un baño de metanol-hielo. A la disolución fría se añadió lentamente cloruro de metanosulfonilo (51 μl). La disolución se agitó adicionalmente a la temperatura (aproximadamente -10°C) durante 30 min adicionales, luego se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente eliminando el baño de refrigeración. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de acetato de etilo (0-35%) y hexanos (100-65%) para proporcionar 0,212 g (83%) del producto 53 como un sólido blanco. RMN ¹H (CDCl₃) 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 (s a, 1H), 7,27 (s, 4H). *m/z* (APCI) = 321 [C₁₇H₂₈N₂O₆S₂ - Boc + H]⁺.

4-[4-Bis(metanosulfonyl)amino]fenil]butilamina (54)

Una disolución del compuesto 53 (0,21 g, 0,499 mmol) disuelta en cloruro de metileno (10 ml) se trató con ácido trifluoroacético (1 ml) a temperatura ambiente durante 2 horas, luego se concentró a vacío. El residuo se recogió en metanol (2 ml) y se concentró de nuevo a presión reducida. El procedimiento se repitió tres veces para garantizar que no quedaba ácido trifluoroacético residual. El producto se secó completamente a vacío y se usó directamente para la siguiente reacción sin más purificación. Se obtuvieron 0,196 g (100%) del compuesto 54 como un aceite viscoso incoloro. RMN ¹H (DMSO-d₆) 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 [C₁₂H₂₀N₂O₄S₂ + H]⁺.

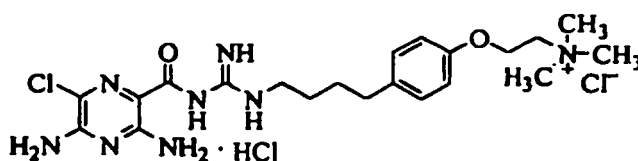
ES 2 321 100 T3

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

El compuesto 54 (0,095 g, 0,296 mmol) se mezcló con etanol (5 ml). La mezcla se calentó a 65°C durante 15 min para lograr la disolución completa. A la disolución transparente se añadieron secuencialmente diisopropilamina (0,26 ml, 1,48 mmol) y yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoil)-2-metilisotiourea (0,127 g, 0,326 mmol). La mezcla se calentó a la misma temperatura durante 1,5 horas adicionales y posteriormente se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de hidróxido de amonio concentrado (0-1%), metanol (0-10%) y cloruro de metileno (100-89%) para proporcionar 0,113 g (72%) del producto 55 como un sólido amarillo claro. P.f. 174-176°C (descompuesto). RMN ¹H (DMSO-d₆) 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 (s a, 3H), 7,31 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,41 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 9,05 (s a, 2H). m/z (APCI) = 533 [C₁₈H₂₅ClN₈O₅S₂ + H]⁺.

Ejemplo 5

Clorhidrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-*N'*-{4-[4-(2-clorotrimetilamonio)etoxifenil]butil}guanidina (11223)



11223

Éster bencílico de ácido {4-[4-(2-dimetilaminoetoxi)fenil]butil}carbámico (62)

Una mezcla de éster bencílico de ácido [4-(4-hidroxifenil)butil]carbámico (1,5 g, 5 mmol), clorhidrato de 2-dimetilaminocloroetano (1,4 g, 10 mmol), carbonato de potasio (2,76 g, 20 mmol) y éter 18-corona-6 (154 mg, 0,58 mmol) se agitó a 80°C (baño de aceite) durante 18 h. Después de este tiempo, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 10:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 62 (1,1 g, 61%) como un sólido blanco. RMN ¹H (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 (s a, 1H), 5,08 (s, 2H), 6,83 (d, 2H), 7,06 (d, 2H), 7,35 (m, 5H).

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

La amina protegida 62 (0,552 g, 1,5 mmol) se agitó con 10% de paladio sobre carbón (0,127 g, húmedo) en metanol (50 ml) a temperatura ambiente durante 3,5 h bajo hidrógeno (1 atm (0,10 MPa)). Después de este tiempo, el catalizador se separó por filtración y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar la amina libre 63 (0,27 g, 77%) como un polvo blanco. RMN ¹H (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-*terc*-Butiloxicarbonil-3-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiourea (64)

Se añadió 4-dimetilaminopiridina (87 mg, 0,7 mmol) a una disolución con agitación de dicarbonato de di-*terc*-butilo (0,8 g, 3,6 mmol) y yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoil)-2-metilisotiourea (1,14 g, 0,5 mmol) en THF/trietilamina (62 ml, 30/1). Entonces, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. Después de este tiempo, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 1:1 de acetato de etilo/hexanos) para dar la isotiourea protegida 64 (0,34 g, 32%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1,51 (s, 9H), 2,30 (s, 3H), 7,40 (s a, 4H).

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

Una suspensión del compuesto 63 (0,22 g, 0,93 mmol) y 64 (0,33 g, 0,92 mmol) en THF/trietilamina (11 ml, 10/1) se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. Después de este tiempo se formó una disolución transparente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 10:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar la guanidina 65 (0,3 g, 60%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) 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 (s a, 2H), 9,02 (m, 2H).

ES 2 321 100 T3

N-terc-Butiloxicarbonil-N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-N''-{4-[4-(2-yodotrimetilamonioetoxi)fenil]butil}guanidina (66)

Se añadió yodometano (30 µl, 0,49 mmol) a una suspensión de 65 (0,29 g, 0,52 mmol) en THF (50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de este tiempo, se añadió THF adicional (7 ml) y la agitación continuó durante 2 d para dar una disolución transparente. El disolvente de la disolución resultante se eliminó a presión reducida. El residuo se lavó con THF (2 x 5 ml) y se secó para proporcionar la sal 66 (0,22 g, 32%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (300 MHz, 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 (s a, 2H), 9,02 (m, 1H).

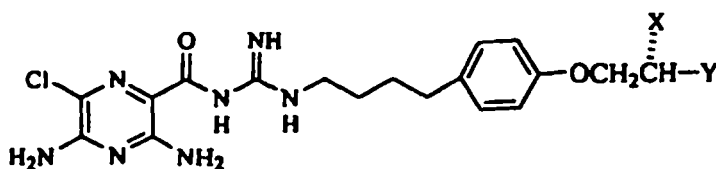
Cloruro de [2-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]fenoxi)etil]-trimetilamonio (67, 11223)

Se añadió ácido trifluoroacético (2 ml) a la guanidina protegida 66 (0,092 g, 0,13 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se lavó con acetato de etilo (2 x 1 ml) y se secó a vacío. El sólido seco obtenido se trató con una disolución acuosa de hidróxido de amonio (15%, 1 ml). El precipitado formado se recogió por centrifugación y se lavó con agua fría (1 ml). El sólido restante se disolvió en 10% de ácido clorhídrico y entonces el disolvente se eliminó a presión reducida. El sólido amarillo resultante se secó a vacío para dar el compuesto 67 (0,055 g, 82%). RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,68 (s a, 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 (s a, 1H). *m/z* (APCI) = 499 [C₂₁H₃₂Cl₂N₈O₂ + H]⁺.

25 Actividad de bloqueo de los canales de sodio

Los compuestos mostrados en las tablas a continuación se probaron para la potencia en epitelios bronquiales caninos usando el ensayo *in vitro* descrito anteriormente. En este ensayo también se probó la amilorida como control positivo. Los resultados para los compuestos de la presente invención se presentan como valores de veces de potenciación respecto a la amilorida.

Ejemplo 6

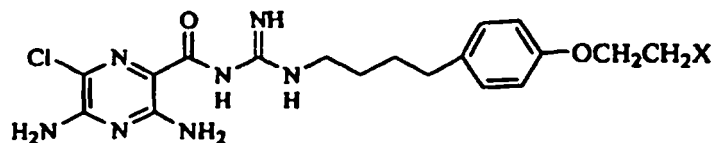


| X= | Y= | Veces de amilorida* |
|---------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| -NHCO ₂ ⁺ | -CO ₂ CH ₃ | 29,4 ± 10 (5) |
| I I INH ₂ | -CO ₂ H | 17,2 ± 5,8 (4) |
| I I I NH ₂ | -CO ₂ CH ₃ | 21,1 ± 14,1 (2) |
| I I I I NH ₂ | -CONH ₂ | |

* Potencia relativa para amilorida = 665 nM.
 ** Potencia relativa para FQ552 = 100 usando CI₅₀ a partir de 552 en la misma ejecución.
 *** 3^{er} lavado
 (a) Base de datos antigua
 (b) ND = No disponible
 (c) 1 de 5 está muy distante (252)

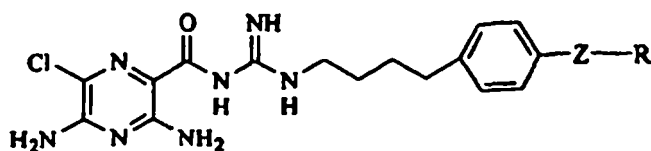
ES 2 321 100 T3

Ejemplo 7



| X= | Veces de amilorida* |
|---|---------------------|
| $N(CH_3)_2$ | $25,3 \pm 2,3$ (3) |
| $N^{\oplus}(CH_3)_3$ | $39,4 \pm 0,3$ (2) |
| * Potencia relativa para amilorida = 665 nM. | |
| ** Potencia relativa para FQ552 = 100 usando CI_{50} a partir de 552 en la misma ejecución. | |
| *** 3 ^{er} lavado | |
| a La guanidina está acilada | |

Ejemplo 8



| <u>R=\Z=</u> | | $NH(C=O)CH_2CH_2R$ |
|--------------|-----------------|--------------------|
| NH_2 | | |
| Xamilorida | $86,2 \pm 30,1$ | 170 |

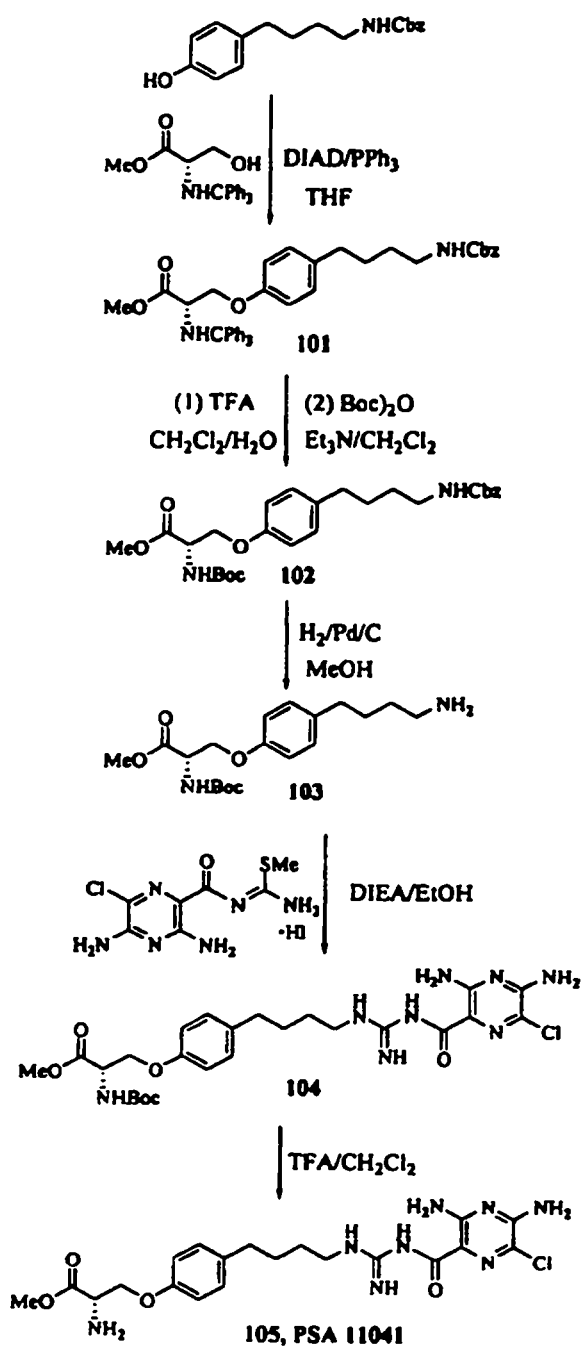
| <u>R=\Z=</u> | | |
|--|------------------------|------------------|
| $\begin{matrix} NH \\ \\ -NHCNH_2 \end{matrix}$ | | |
| Xamilorida | $182,3 \pm 106,3$ (12) | $139,7 \pm 62,4$ |

ES 2 321 100 T3

Ejemplo 9

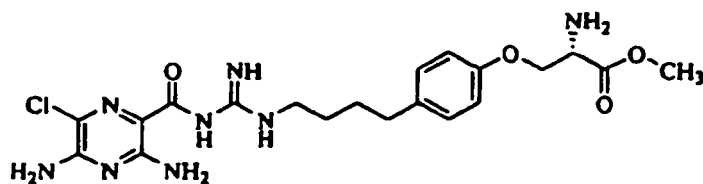
Esquema 1

Síntesis de PSA 11041



ES 2 321 100 T3

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



PSA 11041

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

Se combinó éster metílico de *N*-tritol-*L*-serina (1,60 g, 5,34 mmol) comercialmente disponible con trifenilfosfina (1,28 g, 4,88 mmol) y éster bencilico de ácido [4-(4-hidroxifenil)butil]carbámico (2,0 g, 6,68 mmol) en benceno (40 ml) a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (0,958 ml, 4,86 mmol) y la reacción se agitó durante 14 días. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: 6:1 v/v de diclorometano/acetato de etilo) para proporcionar el compuesto 101 (2,22 g, 51%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (5:1 v/v de diclorometano/acetato de etilo).

Éster metílico de ácido 3-[4-(4-benciloxycarbonilaminobutil)fenoxi]-2-terc-butoxicarbonilamino-propiónico (102)

El compuesto 101 (2,22 g, 3,45 mmol) se disolvió en una mezcla de diclorometano/agua (25 ml/0,5 ml), luego se añadió ácido trifluoroacético (0,75 ml, 10,0 mmol) y la reacción se agitó durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se disolvió en diclorometano (25 ml) y se trató con trietilamina (0,72 ml, 5,12 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (0,829 g, 3,79 mmol) durante 72 h. La eliminación de los disolventes a presión reducida seguida por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: 9:1 v/v de diclorometano/acetato de etilo) proporcionó el compuesto 102 (0,90 g, 52%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 [C₂₇H₃₆N₂O₇ - Boc + H]⁺.

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

El compuesto 102 (505 mg, 1,00 mmol) se disolvió en metanol (20 ml) y se añadió 10% de paladio sobre carbón (100 mg). El matraz se evacuó, se llenó con gas hidrógeno bajo presión con globo y se agitó durante la noche. La filtración a través de Celite para eliminar el catalizador seguida de eliminación del disolvente a presión reducida proporcionó el compuesto 103 (366 mg, 98%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (s, 2H), 1,62 (m, 2H), 1,50 (m, 2H), 1,48 (s, 9H).

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

El compuesto 103 (366 mg, 0,99 mmol) se disolvió en etanol (8 ml), luego se añadieron diisopropiletilamina (0,86 ml, 4,9 mmol) y yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-metil-isotiourea) (407 mg, 1,04 mmol) y la reacción se calentó hasta 65°C durante 1,5 h. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: 90:10:1 v/v de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio conc.) para proporcionar el compuesto 104 (215 mg, 37%). RMN ¹H (300 MHz, 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 [C₂₅H₃₅ClN₈O₆ + H]⁺. R_f = 0,65 (85:15:1 de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio conc.).

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

El compuesto 104 (40 mg, 0,069 mmol) se disolvió en diclorometano (3 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (1,5 ml) durante 30 min. La eliminación de los disolventes a presión reducida seguida por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: 85:15:1 v/v de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio conc.) proporcionó el compuesto

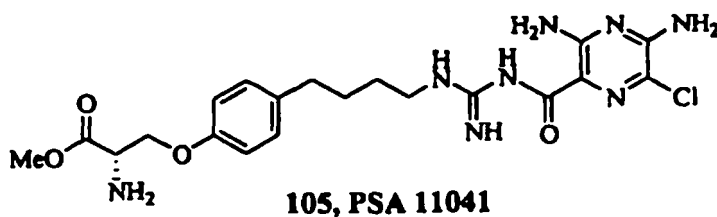
ES 2 321 100 T3

105 (28 mg, 84%). RMN ¹H (300 MHz, 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 (s a, 3H), 3,17 (m, 2H), 2,55 (m, 2H), 1,55 (m, 4H). *m/z* (APCI) 479 [C₂₀H₂₇ClN₈O₄ + H]⁺. R_f = 0,46 (85:15:1 de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio conc.).

5 Ejemplo 10

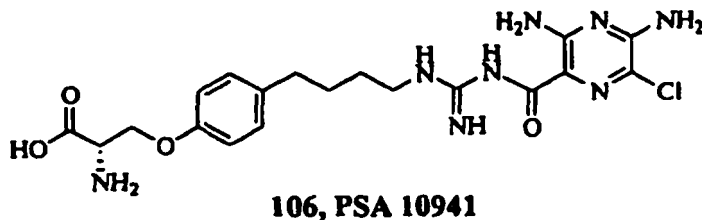
Esquema 2

Síntesis de PSA 10941

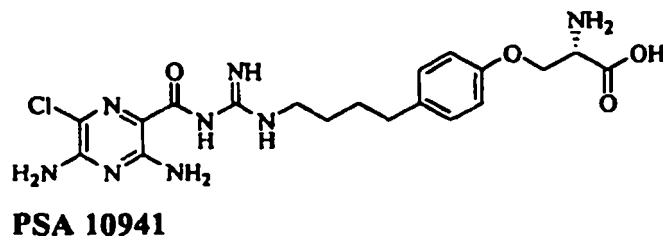


NaOH 1 N

THF/H₂O



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



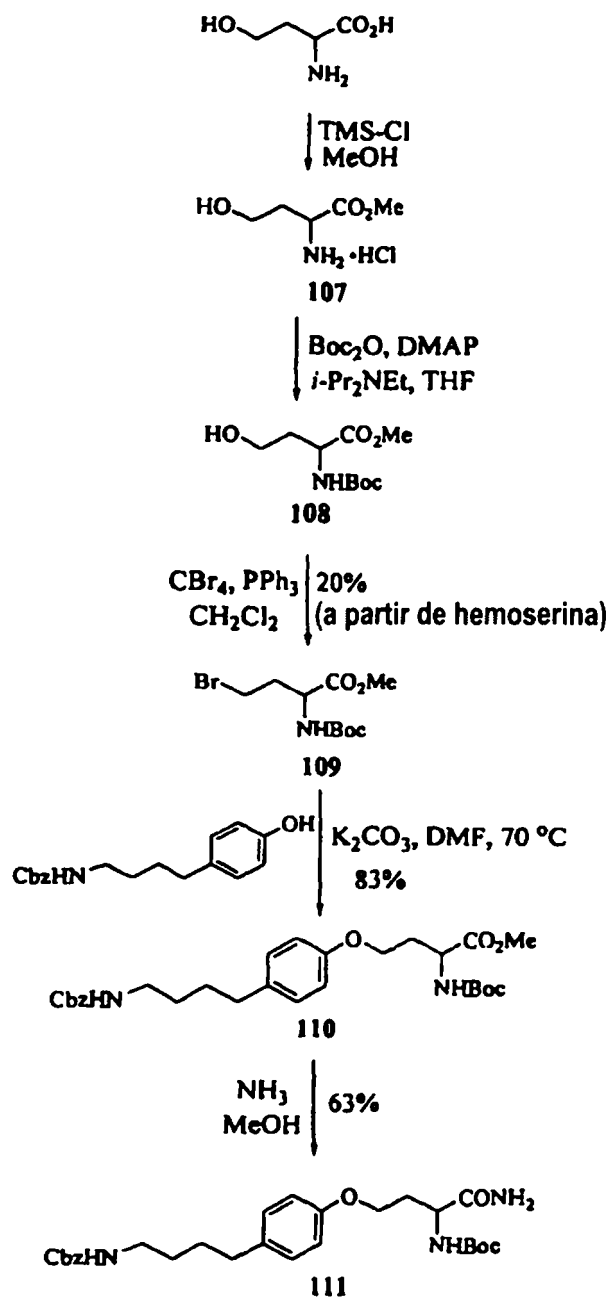
60 El compuesto 105 (175 mg, 0,302 mmol) se disolvió en una mezcla de tetrahidrofurano/agua (5 ml/2,5 ml) y se trató con NaOH 1 N (0,75 ml, 0,75 mmol) durante 1 h. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo se disolvió en una cantidad mínima de agua, se trató con HCl 2 N para eliminar el producto, luego se filtró para recoger el producto. El sólido se suspendió en diclorometano (3 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (3 ml) durante 1 h. La eliminación de los disolventes a presión reducida seguida de cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: 80:20:1 v/v de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio conc. para empezar, luego cambio a 6:3:1 v/v para obtener el producto) proporcionó el compuesto 106 (70 mg, 49%). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,78 (m a, 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 [C₁₉H₂₅ClN₈O₄ + H]⁺.

ES 2 321 100 T3

Ejemplo 11

Esquema 3

Síntesis de PSA 17587 y PSA 17588



ES 2 321 100 T3

mezcla se concentró mediante evaporación rotatoria y se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice usando metanol/diclorometano (1:30, 1:20, v/v) para dar la amida 110 deseada como un sólido blanco (436 mg, rendimiento del 63%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (s a, 1H), 5,09 (s, 2H), 5,48-5,58 (m, 1H), 5,62 (s a, 1H), 6,38 (s a, 1H), 6,75-6,85 (m, 2H), 6,99-7,10 (m, 2H), 7,28-7,40 (m, 5H). *m/z* (ESI) 500 [C₂₇H₃₇N₃O₆ + H]⁺.

Éster *terc*-butílico de ácido {3-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-1-carbamoilpropil}carbámico (120)

Una mezcla de *N*-Cbz-amida 110 (436 mg, 0,873 mmol) y catalizador de Pearlman (100 mg) en metanol (10 ml) y diclorometano (10 ml) se agitó bajo hidrógeno atmosférico durante 18 h. El catalizador se eliminó mediante filtración con succión sobre Celite y el filtrado se concentró para dar un aceite incoloro (318 mg, rendimiento bruto del 100%). El producto bruto 120 se usó para la siguiente etapa sin más purificación. *m/z* (ESI) 366 [C₁₉H₃₁N₃O₄ + H]⁺.

Éster *terc*-butílico de ácido [1-carbamoil-3-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)propil]carbámico (130)

Una disolución de *N*-Boc-amina 120 (318 mg, 0,873 mmol) y diisopropiletilamina (0,30 ml, 1,75 mmol) en etanol absoluto (8 ml) se agitó a 70°C durante 5 min después de que se añadiera yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiourea (441 mg, 1,13 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se agitó a esa temperatura durante 2,5 h y se enfrió a temperatura ambiente. Se concentró mediante evaporación rotatoria y se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice usando diclorometano/metanol/hidróxido de amonio concentrado (200:10:0, 200:10:1, 150:10:1 y 100:10:1, v/v) para dar el producto deseado 130 como un sólido amarillo (470 mg, rendimiento del 93%). *m/z* (ESI) 578 [C₂₅H₃₆ClN₉O₅ + H]⁺.

Diclorhidrato de éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butírico (140, PSA 17587) y diclorhidrato de 2-amino-4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)-butiramida (150, PSA 17588)

Una disolución de *N*-Boc-amida 130 y HCl (4 M en dioxano, 3 ml) en metanol (6 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 14 h y luego se evaporó a sequedad a vacío. Cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice usando diclorometano/metanol/hidróxido de amonio concentrado (200:10:0,200:10:1, 150:10:1, 100:10:1 y 100:10:2, v/v) para dar éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butírico (elución rápida, 313 mg, rendimiento del 78%) y 2-amino-4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butiramida (elución lenta, 70 mg, rendimiento del 18%).

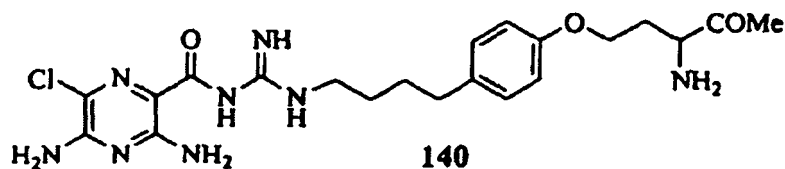
Se disolvió éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butírico en metanol y se trató con 3 gotas de HCl acuoso 4 N y luego la mezcla se concentró inmediatamente a vacío. Se coevaporó adicionalmente con agua y se secó a 40°C bajo alto vacío durante 16 h para dar 140. RMN ¹H (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]⁺. P.f. 88-90°C.

Se disolvió 2-amino-4-(4-{4-[*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)butiramida en metanol y se trató con 3 gotas de HCl acuoso 4 N y luego la mezcla se concentró inmediatamente a vacío. Se coevaporó adicionalmente con agua y se secó a 40°C bajo alto vacío durante 16 h para dar 150. RMN ¹H (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 [C₂₀H₂₈ClN₉O₃ + H]⁺. P.f. 128-130°C.

Ejemplo 12

Esquema 4

Síntesis de PSA 17666

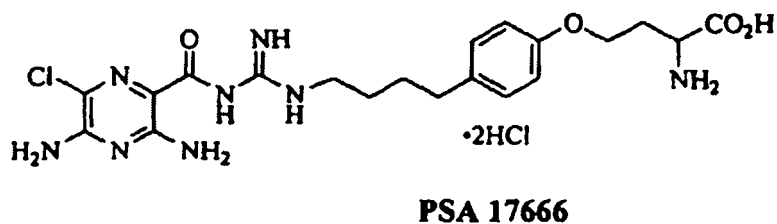


20

25

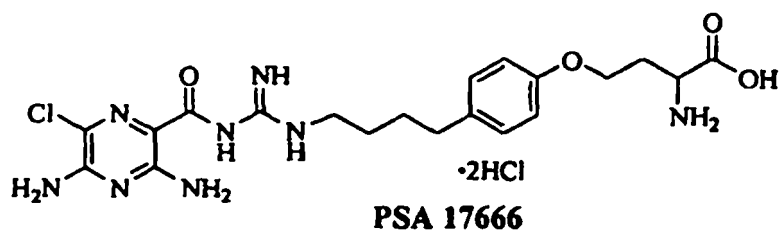
LiOH, THF/MeOH/H₂O
Columna Dowex 50WX8-200

70%



40

Síntesis de ácido 2-amino-4-(4-(4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-guanidino]butil)fenoxi)butírico (PSA 17666)



55

60

65

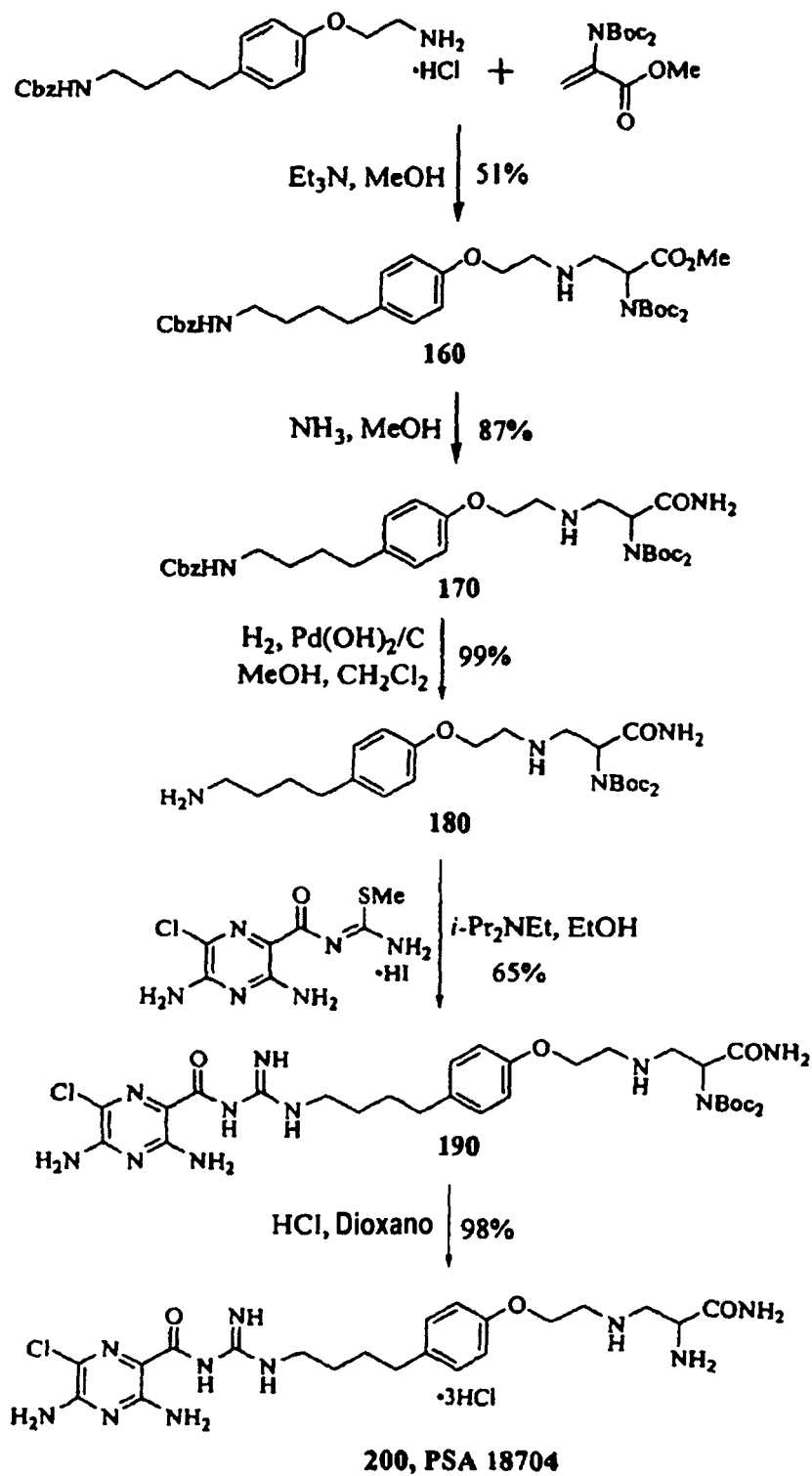
Se disolvió éster metílico de ácido 2-amino-4-(4-(4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil)fenoxi)butírico (140) (110 mg, 0,223 mmol) en una mezcla de metanol (1 ml)/THF (1 ml)/agua (1 ml). Se añadió hidróxido de litio monohidratado (14 mg, 0,334 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h antes de concentrarse a vacío. El residuo resultante se diluyó con agua (1 ml), se acidificó hasta pH 2 con HCl acuoso 1 N y se purificó a través de una resina de intercambio iónico DOWEX 50WX 8-200 eluyendo con 10% de hidróxido de amonio acuoso. El producto deseado se obtuvo como un sólido amarillo (75 mg, rendimiento del 70%). RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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 [C₂₀H₂₇ClN₈O₄ + H]⁺. P.f. 178-180°C.

ES 2 321 100 T3

Ejemplo 13

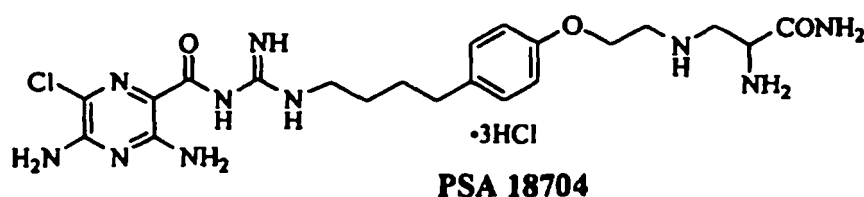
Esquema 5

Síntesis de PSA 18704



ES 2 321 100 T3

Síntesis de triclóridrato de 2-amino-3-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-guanidino]butil}fenoxi)etilamino]propionamida (PSA 18704)



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

Una mezcla de clorhidrato de éster bencilico de ácido {4-[4-(2-aminoetoxi)fenil]butil}carbámico (141 mg, 0,372 mmol), éster metílico de ácido 2-[*N,N'*-di(*tert*-butoxicarbonil)amino]acrílico (102 mg, 0,338 mmol) y trietilamina (0,16 ml, 1,11 mmol) en metanol (3 ml) se agitó a 55°C (baño de aceite) durante 16 h. Luego se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó mediante evaporación rotatoria. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico y salmuera. La fase orgánica se concentró a vacío y se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice usando acetato de etilo/hexanos (gradiente 1:10, 1:6, 1:4 y 1:2, v/v) para dar el aducto de Michael deseado 160 (110 mg, rendimiento del 51%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (s a, 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 [C₃₄H₄₉N₃O₉ + H]⁺.

Éster bencilico de ácido (4-{4-[2-(2-Di-(*tert*-butoxicarbonil)amino-2-carbamoiletilamino)etoxi]fenil}butil)carbámico (170)

Se añadió amoniaco metanólico (7 M, 10 ml, 70 mmol) a una disolución de éster metílico 160 (110 mg, 0,171 mmol) en metanol (3 ml). La mezcla se agitó en un tubo cerrado herméticamente a temperatura ambiente durante 3 días, se concentró a presión reducida y se secó adicionalmente bajo alto vacío durante 16 h. El producto sólido bruto 170 (94 mg, rendimiento bruto del 87%) se usó para la siguiente etapa sin más purificación. *m/z* (ESI) 629 [C₃₃H₄₈N₄O₈ + H]⁺.

Éster di-*tert*-butílico de ácido (2-{2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]etilamino}-1-carbamoiletil)dicarbámico (180)

Se disolvió N-Cbz-amida 170 (94 mg, 0,150 mmol) en metanol (5 ml) y diclorometano (5 ml) y la disolución se purgó con nitrógeno. Se añadió catalizador de Pearlman (hidróxido de paladio sobre carbón, 26 mg) y la mezcla de reacción se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 16 h. El catalizador se separó por filtración sobre Celite y el filtrado se concentró para dar el producto deseado 180 como un sólido blanco (73 mg, rendimiento bruto del 99%) y se usó para la siguiente etapa sin más purificación. *m/z* (ESI) 495 [C₂₅H₄₂N₄O₆ + H]⁺.

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

Una disolución de amina primaria 180 (73 mg, 0,15 mmol) y diisopropiletilamina (52 μl, 0,298 mmol) en etanol absoluto (3 ml) se agitó a 70°C durante 5 min, tras lo que se añadió yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiourea (69 mg, 0,18 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se agitó a esa temperatura durante 2 h y se enfrió a temperatura ambiente y se concentró mediante evaporación rotatoria. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando diclorometano/metanol/hidróxido de amonio concentrado (200:10:1, 150:10:1 y 100:10:1, v/v) para dar el producto deseado 190 como un sólido amarillo (68 mg, rendimiento del 65%). *m/z* ESI 707 [C₃₁H₄₇ClN₁₀O₇ + H]⁺.

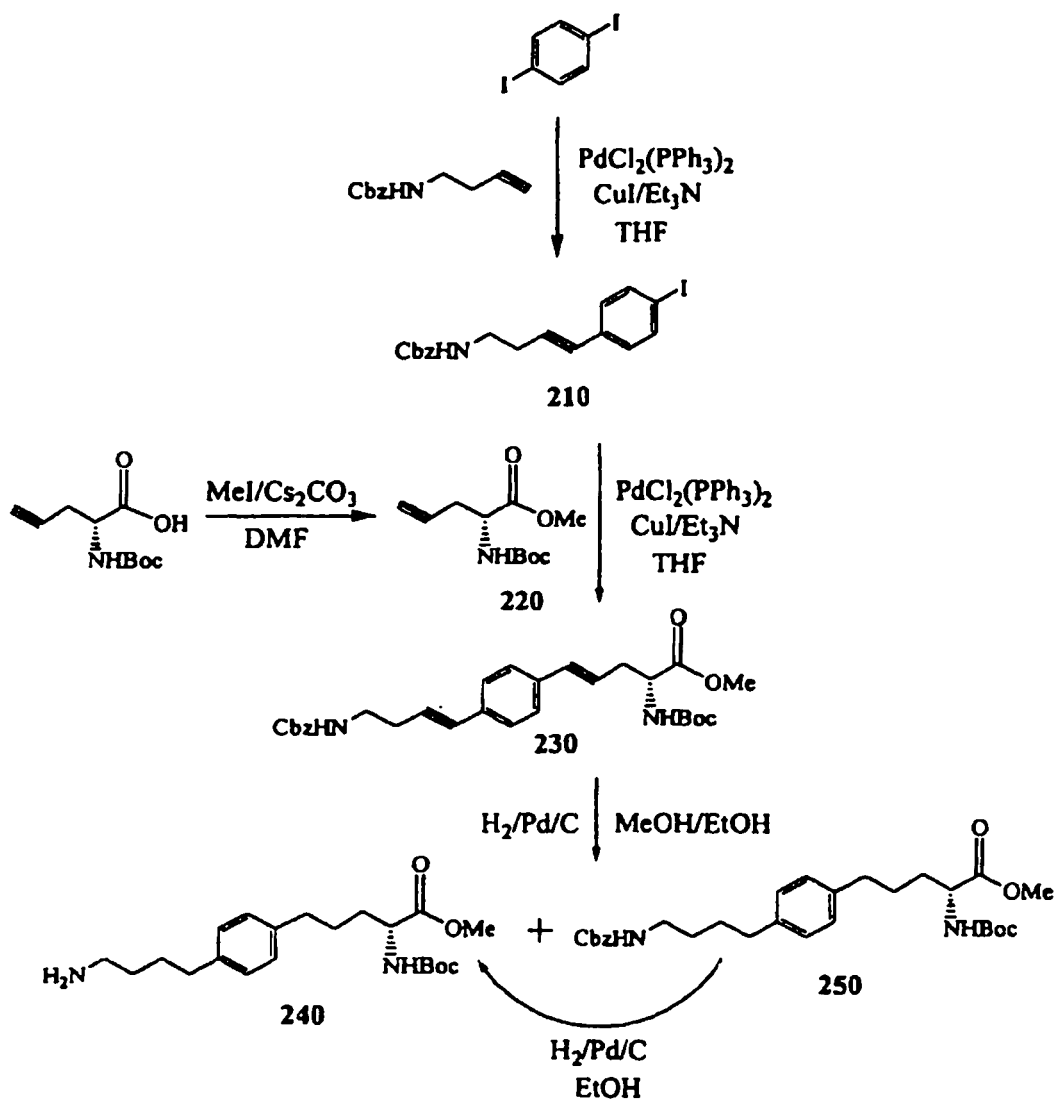
Triclóridrato de 2-amino-3-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)etilamino]propionamida (200, PSA 18704)

Una disolución de *N,N'*-bis(Boc)-amida 190 y HCl en dioxano (4 M, 3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 14 h y luego se concentró mediante evaporación rotatoria. El residuo se volvió a disolver en metanol, se evaporó a sequedad y se secó adicionalmente bajo alto vacío a 40°C durante 16 h. El producto 200 se obtuvo como un sólido amarillo (58 mg, rendimiento del 98%). RMN ¹H (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 [C₂₁H₃₁ClN₁₀O₃ + H]⁺. P.f. 160-160°C.

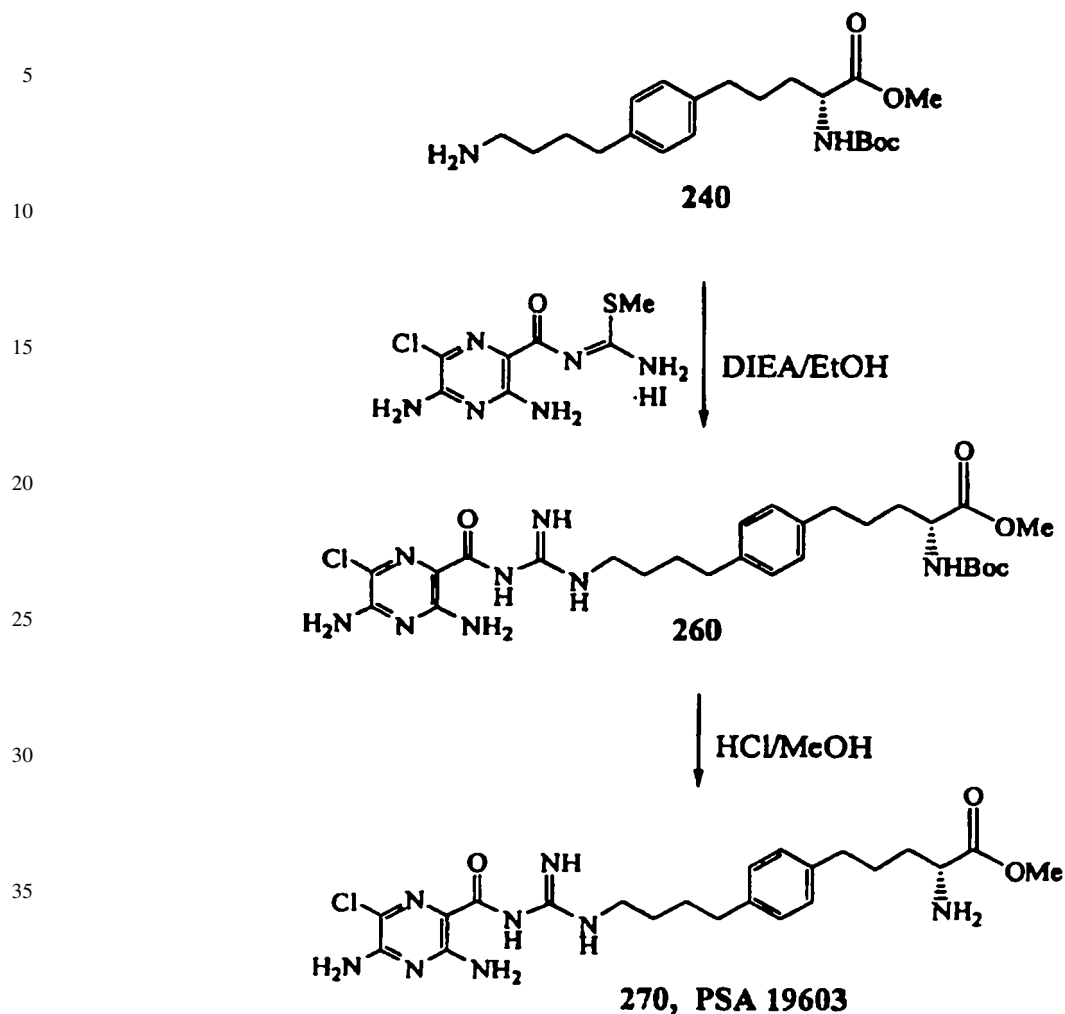
Ejemplo 14

Esquema 6

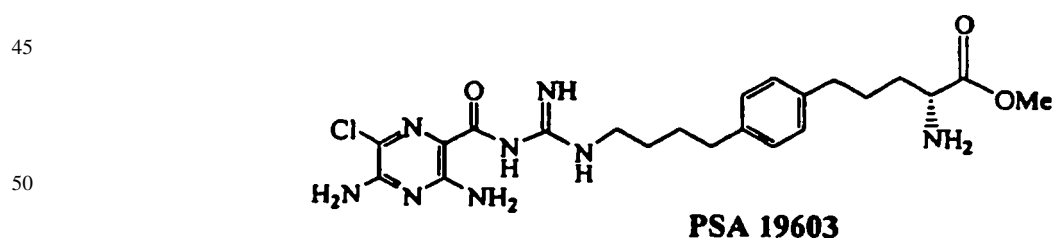
Síntesis de PSA 19603



Esquema 6 (continuación)



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



Éster bencílico de ácido [4-(4-yodofenil)but-3-inil]carbámico (210)

55

A una mezcla de THF anhidro y trietilamina (24 ml, 2/1, v/v) se añadieron secuencialmente 1,4-diyodobenceno (2,03 g, 6,15 mmol) y yoduro de cobre (I) (0,094 g, 0,246 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Entonces, el matraz se evacuó y se volvió a llenar con argón. El procedimiento se repitió tres veces más para garantizar que no quedaba oxígeno. El catalizador, diclorobis(trifenilfosfina)paladio (II) (0,173 g, 0,246 mmol), se añadió a la mezcla bajo protección de argón. El otro material de partida, éster bencílico de ácido but-3-inilcarbámico (0,50 g, 2,46 mmol) disuelto en THF (8 ml), se añadió gota a gota durante 6 horas. La mezcla de reacción recientemente formada se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante la noche. El sólido en la mezcla de reacción se filtró a vacío. El filtrado se concentró. El residuo se volvió a disolver en diclorometano y se purificó por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla de acetato de etilo (0-12%) y hexanos (100-88%) para proporcionar el producto

60

210 (0,852 g, 86%) como un sólido blanquecino. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 2,61 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,44 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 5,07 (s a, 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 [C₁₈H₁₆NO₂ + H]⁺.

65

ES 2 321 100 T3

Éster metílico de ácido 2-(R)-terc-butoxicarbonilaminopent-4-inoico (220)

El compuesto comercialmente disponible ácido 2-(R)-terc-butoxicarbonilaminopent-4-inoico (0,321 g, 1,50 mmol) se disolvió en DMF anhidra (5 ml). A la disolución se añadió carbonato de cesio (0,54 g, 1,65 mmol) en una porción. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 min antes de añadir yoduro de metilo (0,20 ml, 3,00 mmol) y se agitó adicionalmente durante tres horas. La reacción se inactivó con agua (10 ml). Los extractos orgánicos se extrajeron con diclorometano (2x30 ml), se lavaron con agua (3x50 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se eliminó completamente a vacío. El residuo se secó adicionalmente bajo alto vacío durante la noche y se usó en la siguiente reacción sin más purificación. El producto 220 se obtuvo como un aceite viscoso incoloro (0,326 g, rendimiento del 95%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 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 (s a, 5H).

Éster metílico de ácido 5-[4-(4-benciloxicarbonilaminobut-1-inil)fenil]-2-(R)-terc-butoxicarbonilaminopent-4-inoico (230)

El compuesto 210 éster bencilico de ácido [4-(4-yodofenil)-but-3-inil]carbámico (0,52 g, 1,283 mmol) se disolvió en una mezcla de THF anhidro y trietilamina (8 ml, 1/1, v/v). A la disolución se añadió yoduro de cobre (I) (0,025 g, 0,128 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Entonces, el matraz se evacuó y se volvió a llenar con argón. El procedimiento se repitió tres veces más para garantizar que no quedaba oxígeno. El catalizador, diclorobis(trifenilfosfina)paladio (II) (0,09 g, 0,128 mmol), se añadió a la mezcla bajo protección de argón. La mezcla se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 30 min. El otro material de partida 220, éster metílico de ácido 2-terc-butoxicarbonilaminopent-4-inoico (0,32 g, 1,412 mmol) disuelto en THF (4 ml), se añadió gota a gota durante 15 min. La mezcla de reacción recientemente formada se agitó adicionalmente durante la noche a temperatura ambiente. El sólido en la mezcla de reacción se filtró a vacío. El filtrado se concentró. El residuo se volvió a disolver en diclorometano y se purificó por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla de acetato de etilo (0-25%) y hexanos (100-75%) para proporcionar el producto 230 (0,64 g, 99%) como un sólido amarillento gomoso. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): 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 (s a, 1H), 7,29 (s, 4H), 7,35 (m, 5H). m/z (APCI) 502 [C₂₉H₃₂N₂O₆ - H]⁺.

Éster metílico de ácido de 5-[4-(4-aminobutil)fenil]-2-(R)-terc-butoxicarbonilaminopent-4-inoico (240)

El compuesto 230, éster metílico de ácido 5-[4-(4-benciloxicarbonilaminobut-1-inil)fenil]-2-(R)-terc-butoxicarbonilaminopent-4-inoico (0,36 g, 0,713 mmol), se disolvió en una mezcla de etanol y metanol (50 ml, 1/1, v/v) y se puso en una botella agitadora de Parr. A la disolución se añadió 10% de paladio sobre carbón (0,20 g, húmedo) en una porción bajo protección de argón. El matraz se evacuó y se volvió a llenar con argón. El procedimiento se repitió tres veces más. Entonces, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche bajo una atmósfera de hidrógeno de 35 psi (0,24 MPa). Entonces, el matraz se evacuó y se volvió a llenar con nitrógeno. El procedimiento se repitió tres veces. Entonces, el catalizador se filtró a vacío y se lavó con etanol (2 x 5 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de metanol (0-12%), hidróxido de amonio (0-1,2%) y diclorometano (100-86,8%) para proporcionar dos productos, el producto deseado 240 (0,045 g, 17%, un sólido incoloro similar a vidrio) y su forma protegida 250 (0,218 g, 60%, un sólido amarillento). RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) para el compuesto 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 el compuesto 7: 379 [C₁₂H₃₄N₂O₄ + H]⁺.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) para el compuesto 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).

El compuesto 250 se volvió a someter a hidrogenación para eliminar el grupo protector benciloxicarbonilo. El procedimiento se realizó del siguiente modo: el compuesto 250 (0,218 g, 0,425 mmol) se disolvió en etanol (10 ml). La disolución se purgó con nitrógeno tanto antes como después de añadirse el catalizador de paladio (0,10 g, 10% sobre carbón, humedad del 50%) y se sometió a hidrogenación durante dos horas bajo hidrógeno atmosférico. El catalizador se filtró a vacío y se lavó con etanol (2 x 5 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de metanol (0-14%), hidróxido de amonio (0-1,4%) y diclorometano (100-84,6%) para proporcionar el compuesto 240 (0,131 g, 81%).

Éster metílico de ácido 2-(R)-terc-butoxicarbonilamino-5-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]fenil)pentanoico (270, PSA 19603)

El compuesto 240 (0,127 g, 0,336 mmol) se mezcló con etanol (4 ml). La mezcla se calentó a 65°C durante 30 min para lograr la disolución completa. A la disolución transparente se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,29 ml, 1,68 mmol) y yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-yl)-2-metilisotiurea (0,157 g, 0,403 mmol). La mezcla se calentó a la misma temperatura durante tres horas adicionales y posteriormente se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de hidróxido de amonio concentrado

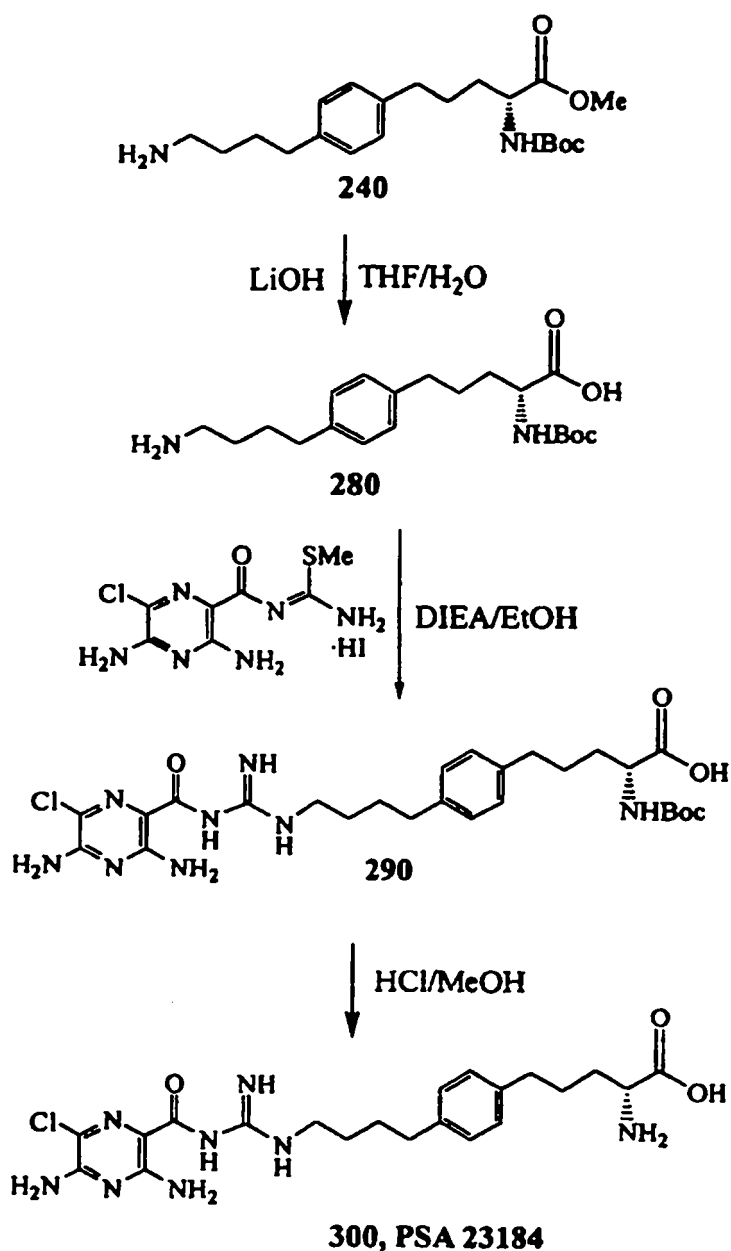
ES 2 321 100 T3

(0-1,5%), metanol (0-15%) y diclorometano (100-83,5%) para proporcionar el producto 260 (0,169 g, 85%) como un sólido amarillo claro. Una parte del producto 260 (0,06 g) se disolvió en metanol (10 ml) y se trató con ácido clorhídrico concentrado (2 ml) durante una hora. Todo el líquido se eliminó completamente a vacío y el residuo se purificó de nuevo por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de hidróxido de amonio concentrado (0-1,1%), metanol (0-11%) y diclorometano (100-87,9%) para proporcionar el producto deseado 270 (0,043 g, 86%) como un sólido amarillo. P.f. 76-79°C. $[\alpha]_D^{25}$ -5,6°C (c 0,31, MeOH). RMN ^1H (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 $[\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{ClN}_8\text{O}_3 + \text{H}]^+$.

10
Ejemplo 15

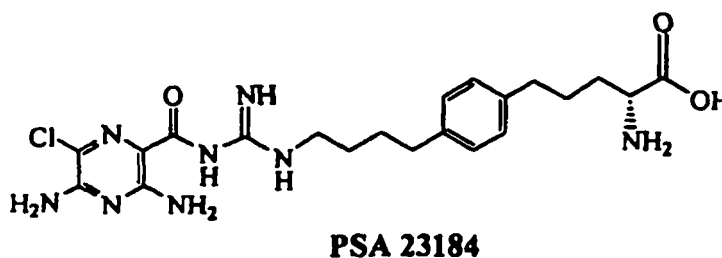
Esquema 7

Síntesis de PSA 23184



ES 2 321 100 T3

Síntesis de ácido 2-(R)-amino-5-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-guanidino]butil}fenil)pentanoico (PSA 23184)



Ácido 5-[4-(4-aminobutil)fenil]-2-(R)-terc-butoxicarbonilaminopentanoico (280)

20 El compuesto 240 (0,40 g, 0,780 mmol) se disolvió en una mezcla de metanol y THF (10 ml, 1/1, v/v). A la disolución se añadió hidróxido de litio monohidratado (0,063 g, 1,561 mmol) disuelto en agua (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante dos horas y luego se neutralizó con disolución acuosa de HCl 2 N hasta pH 5. La mezcla se concentró luego a vacío. El residuo se recogió en etanol (3 ml) y la disolución resultante se concentró de nuevo a vacío. El procedimiento se repitió dos veces más para garantizar que no quedaba disolvente acuoso. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de hidróxido de amonio concentrado (0-10%), metanol (0-30%) y diclorometano (100-60%) para proporcionar el producto 280 (0,29 g, 75%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): 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 [C₂₀H₃₂N₂O₄ + H]⁺.

25

30 Ácido 2-(R)-terc-butoxicarbonilamino-5-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)pentanoico (290)

35 El compuesto 280 (0,077 g, 0,211 mmol) se mezcló con etanol (5 ml). La mezcla se calentó a 65°C durante 15 min para lograr la disolución completa. A la disolución transparente se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,184 ml, 1,056 mmol) y yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoil)-2-metilisotiurea (0,99 g, 0,254 mmol). La mezcla se calentó a 65°C durante tres horas adicionales. Luego se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de hidróxido de amonio concentrado (0-2,2%), metanol (0-22%) y diclorometano (100-75,8%) para proporcionar el producto 290 (0,091 g, 75%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): 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 [C₂₆H₃₇ClN₈O₅ + H]⁺.

40

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

50 El compuesto 290 (0,031 g, 0,0538 mmol) se disolvió en metanol (3 ml) y se trató con ácido clorhídrico concentrado (0,5 ml) durante una hora. Todo el líquido se eliminó completamente a vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de hidróxido de amonio concentrado (0-8%), metanol (0-30%) y diclorometano (100-62%) para proporcionar el producto deseado 300 (0,024 g, 94%) como un sólido amarillo. P.f. 190-192°C (descompuesto). [α]_D²⁵ -4,3°C (c 0,25, MeOH). RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): 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 [C₂₁H₂₉ClN₈O₃ + H]⁺.

55

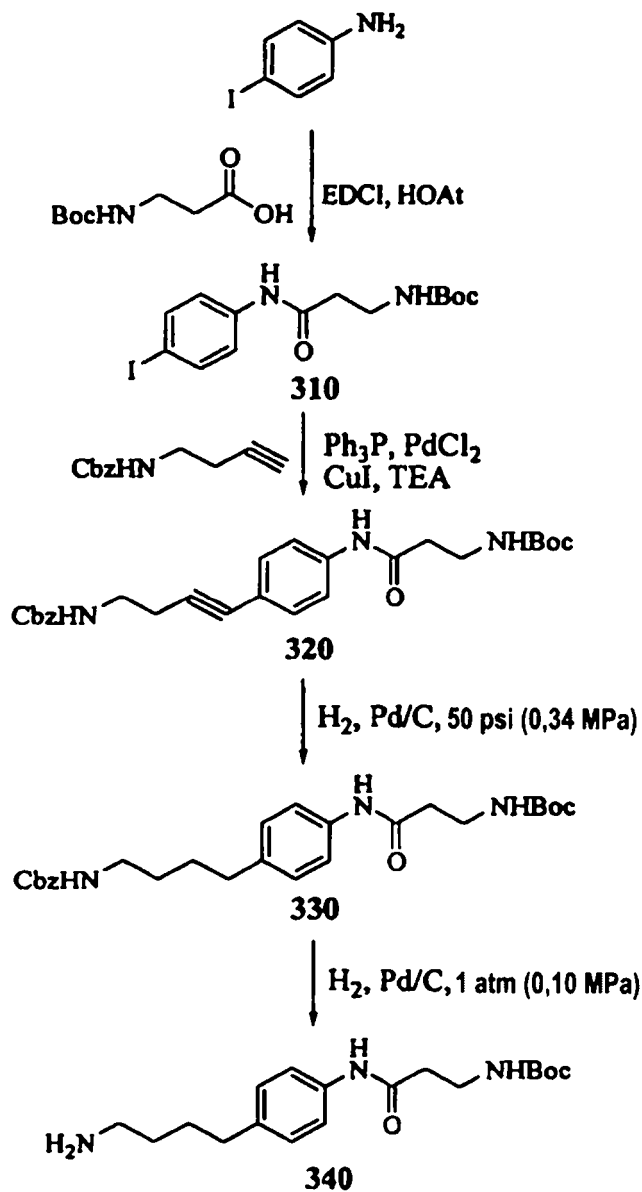
60

65

Ejemplo 16

Esquema 8

Síntesis de PSA 14568



ES 2 321 100 T3

Esquema 8 (continuación)

5

10

15

20

25

30

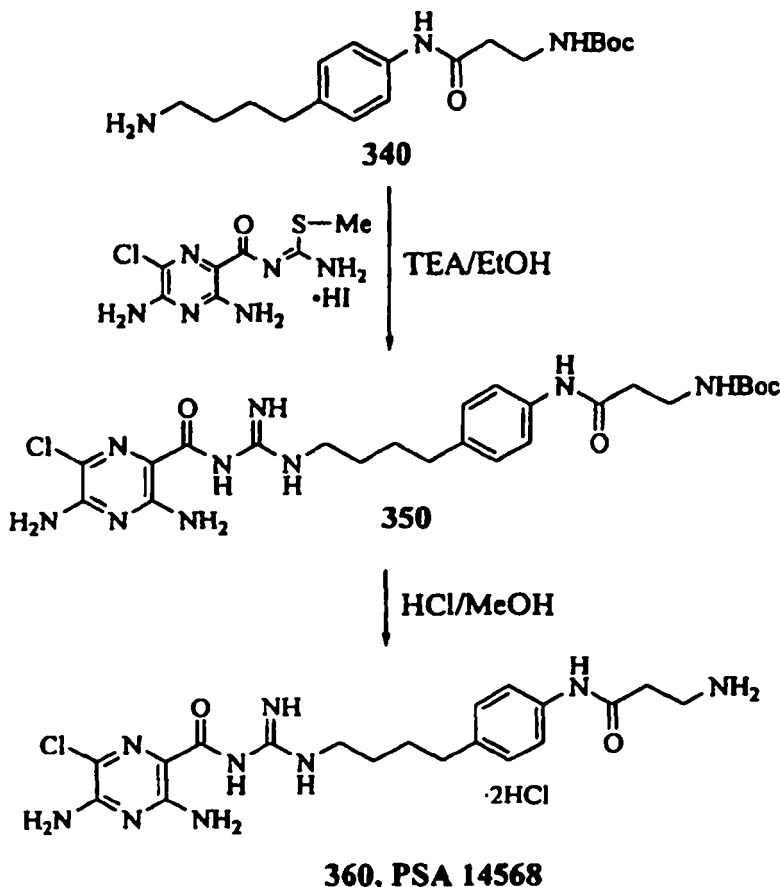
35

40

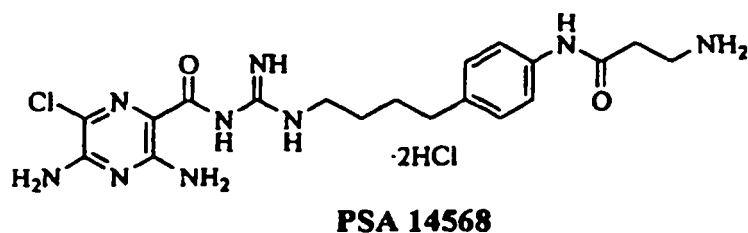
45

50

55



Síntesis de diclorhidrato de 3-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-guanidino]butil}fenilamino)propionamida (PSA 14568)



Éster terc-butílico de ácido [2-(4-yodofenilcarbamoil)etil]carbámico (310)

60

65

Una mezcla de 4-yodoanilina (2,0 g, 9,17 mmol), ácido 3-*terc*-butoxicarbonilaminopropiónico (1,61 g, 8,49 mmol), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (1,95 g, 10,19 mmol), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (0,12 g, 0,85 mmol) y DMF (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se disolvió en cloruro de metileno (100 ml) y se lavó con 10% de ácido cítrico (2 x 50 ml), luego 10% de K₂CO₃ acuoso (2 x 50 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 3:1 v/v de hexanos/acetato de etilo, luego 1:1 de hexanos/acetato de etilo) para proporcionar 310 (2,44 g, 69%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 2,60 (t, 2H), 3,49 (q, 2H), 7,36 (d, 2H), 7,60 (d, 2H).

ES 2 321 100 T3

Éster *terc*-butilico de ácido de {4-[4-(3-*terc*-butoxicarbonilaminopropionilamino)fenil]-but-3-inil}carbámico (320)

A una disolución de éster *terc*-butilico de ácido [2-(4-yodofenilcarbamoil)etil]carbámico 310 (1,5 g, 3,84 mmol) y trietilamina (40 ml) se añadió *trans*-diclorobis-(trifenilfosfina)paladio (II) (Ph₃P, PdCl₂, 0,27 g, 0,38 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos cuando se convirtió en una disolución transparente. Entonces se añadieron éster *terc*-butilico de ácido but-3-inil-carbámico (0,94 g, 4,6 mmol) y yoduro de cobre (0,14 g, 0,768 mmol) y la reacción se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se disolvió en diclorometano (100 ml) y se lavó con agua (3 x 150 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y luego se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 1:1 v/v de hexanos/acetato de etilo) para proporcionar 320 (1,91 g, todavía una mezcla, pero se usó como tal sin más purificación). RMN ¹H (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 *terc*-butilico de ácido {4-[4-(3-*terc*-butoxicarbonilaminopropionilamino)fenil]butil}-carbámico (330)

A una disolución desgasificada de éster *terc*-butilico de ácido {4-[4-(3-*terc*-butoxicarbonilaminopropionilamino)fenil]-but-3-inil}carbámico 320 (1,91 g, 4,1 mmol) y 1,2-dimetoxietano (DME, 35 ml) se añadió 10% de paladio sobre carbón activado (0,5 g, humedad del 50%). La mezcla se hidrogenó durante la noche a 50 psi (0,34 MPa) de presión. El catalizador se filtró a través de una almohadilla de Celite y el disolvente se evaporó a vacío para proporcionar 330 (1,78 g, 99%). RMN ¹H (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 *terc*-butilico de ácido {2-[4-(4-aminobutil)fenilcarbamoil]etil}carbámico (340)

A una disolución desgasificada de éster *terc*-butilico de ácido {4-[4-(3-*terc*-butoxicarbonilaminopropionilamino)fenil]-butil}carbámico 330 (1,78 g, 3,79 mmol) y metanol (50 ml) se añadió 10% de paladio sobre carbón activado (0,5 g, humedad del 50%). La mezcla se hidrogenó durante 4 horas bajo hidrógeno atmosférico. El catalizador se filtró a través de una almohadilla de Celite y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 6:1:0,1 v/v de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado) para proporcionar 340 (0,74 g, 58%). RMN ¹H (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 *terc*-butilico de ácido [2-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]fenilcarbamoil)etil]-carbámico (350)

Se añadieron yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiurea (0,32 g, 0,82 mmol) y trietilamina (0,42 ml) a una disolución de éster *terc*-butilico de ácido {2-[4-(4-aminobutil)fenilcarbamoil]etil}carbámico 340 (0,25 g, 0,74 mmol) en etanol (6 ml). La mezcla de reacción se agitó a 65°C durante 3 horas y se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 10:1:0,1 a 5:1:0,1 v/v de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado). El producto se lavó con agua (2 x 25 ml) y se secó en una estufa a vacío durante la noche para proporcionar 350 (0,32 g, 78%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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).

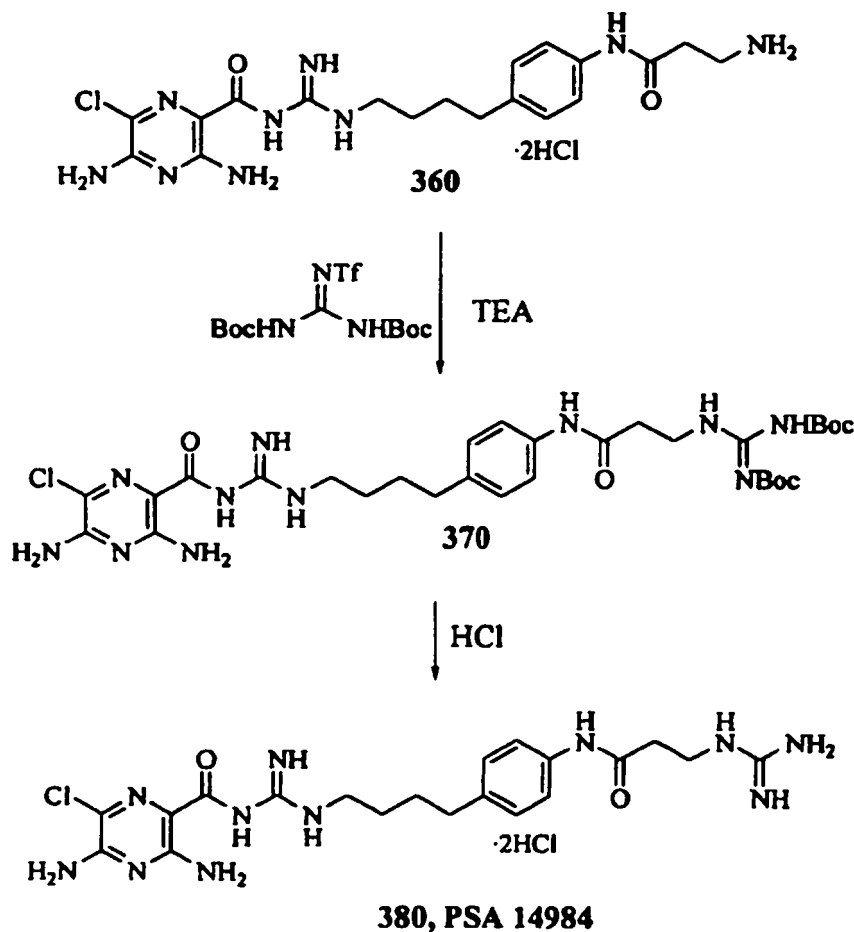
Diclorhidrato de (4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]fenilamino)propionamida (360, PSA 14568)

A una disolución de éster *terc*-butilico de ácido [2-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil]fenilcarbamoil)etil]carbámico 350 (0,32 g, 0,58 mmol) en metanol (5 ml) se añadió gota a gota HCl concentrado (7 ml). La reacción se agitó durante 30 minutos. El disolvente se evaporó a vacío para proporcionar 360 (0,30 g, 99%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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).

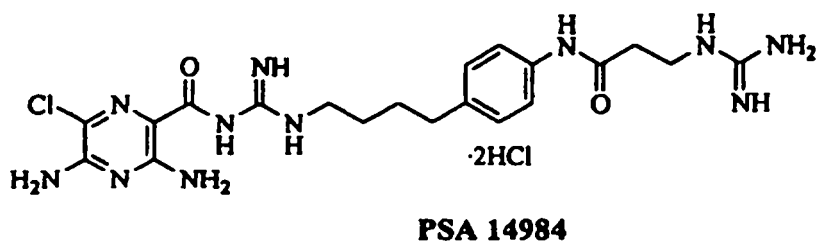
Ejemplo 17

Esquema 9

Síntesis de PSA 14984



45 *Síntesis de diclorhidrato de N-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil}fenil)-3-guanidino-propionamida (PSA 14984)*

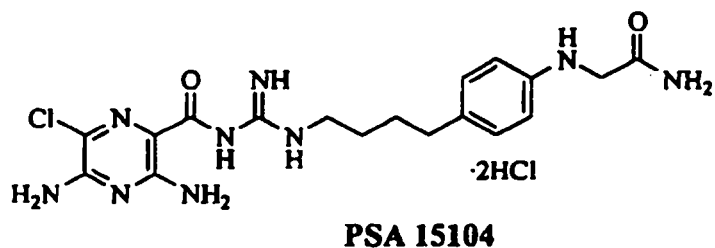


60 *N-(4-{4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenil)-3-[N'',N''']-bis-(terc-butoxicarbonil)guanidino]propionamida (370)*

65 A una disolución de diclorhidrato de 3-amino-N-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-guanidino]butil}fenil)propionamida 360 (0,2 g, 0,36 mmol) en metanol (10 ml) se añadió 1,3-di-(terc-butoxicarbonil)-2-(trifluorometanosulfonil)guanidina (0,22 g, 0,58 mmol) y trietilamina (0,4 ml, 2,88 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 10:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v). El producto se lavó con agua y se sonicó para proporcionar 370 (0,20 g, 77%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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).

ES 2 321 100 T3

Síntesis de diclorhidrato de 2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil}fenilamino)acetamida (PSA 15104)



15 *Éster terc-butílico de ácido {4-[4-(carbamoilmetilamino)fenil]butil}carbámico (390)*

20 Una mezcla de éster *terc*-butílico de ácido [4-(4-aminofenil)butil]carbámico (0,8 g, 3,03 mmol), 2-bromoacetamida (0,46 g, 3,33 mmol), trietilamina (0,2 ml, 3,33 mmol) y DMF (30 ml) se agitó a 80°C durante 20 horas. La CCF indicó que la reacción no se había completado. Por tanto, se añadió carbonato de plata (0,92 g, 3,33 mmol). La reacción se agitó adicionalmente a 80°C durante 24 horas. La mezcla de reacción se pasó a través de un tapón de sílice. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 3:1 de acetato de etilo/diclorometano, v/v) para proporcionar 390 (0,20 g, 22%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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).

25

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

30 Se añadió HCl 12 N (5 ml) a éster *terc*-butílico de ácido {4-[4-(carbamoilmetilamino)fenil]butil}carbámico 390 (0,2 g, 0,62 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 4:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 400 (0,10 g, 70%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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).

35

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

40 Se combinaron 2-[4-(4-aminobutil)fenilamino]acetamida 400 (0,19 g, 0,86 mmol), yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiurea (0,33 g, 0,86 mmol) y trietilamina (0,50 ml) en etanol (10 ml). La mezcla se agitó a 72°C durante 5 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 4:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v). La cromatografía se repitió para proporcionar la base libre (0,12 g, 32%) como un sólido amarillo. La sal se preparó añadiendo 1 gota de HCl concentrado a una disolución de 2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}-fenilamino)acetamida (40 mg) en metanol (0,5 ml). Entonces, la disolución se vertió en acetato de etilo (20 ml). El precipitado resultante se filtró y luego se recogió en agua y se evaporó para proporcionar 410 (0,031 g) como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,71 (m, 4H), 2,75 (t, 2H), 3,38 (t, 2H), 4,19 (s, 2H), 7,47 (s, 4H).

45

50

(Esquema pasa a página siguiente)

55

60

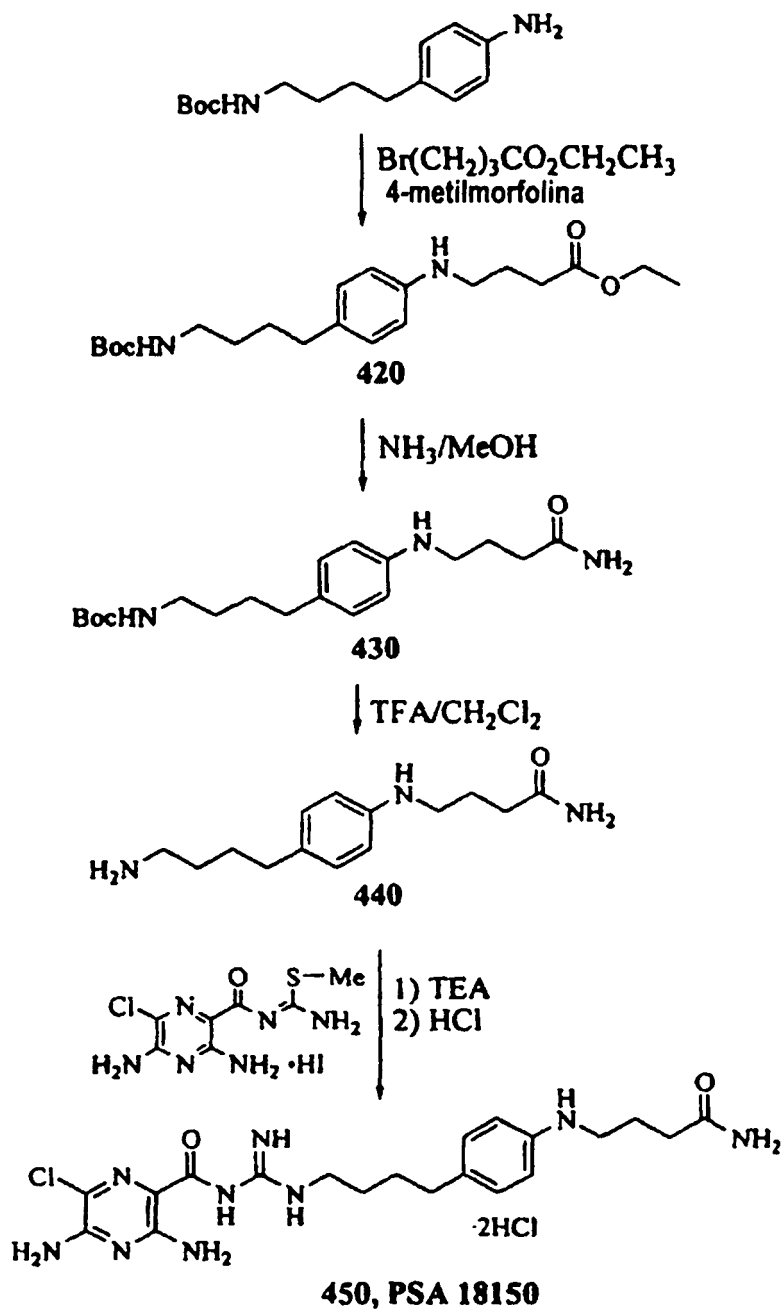
65

ES 2 321 100 T3

Ejemplo 19

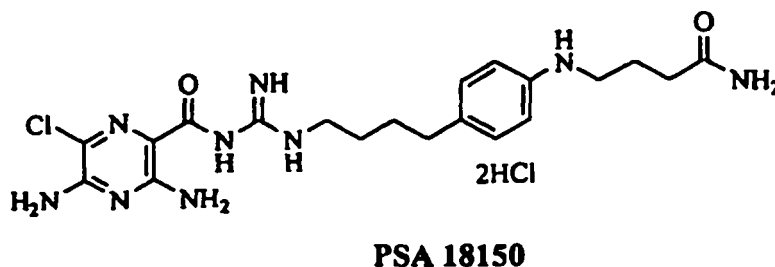
Esquema 11

Síntesis de PSA 18150



ES 2 321 100 T3

Síntesis de diclorhidrato de 4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenilamino)butiramida (PSA 18150)



Éster etílico de ácido 4-[4-(4-terc-butoxicarbonilaminobutil}fenilamino]butírico (420)

20 Una disolución de éster *terc*-butilico de ácido [4-(4-aminofenil)butil]carbámico (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) y DMF (10 ml) se agitó a 85°C durante 3 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 4:1 de hexanos/acetato de etilo, v/v) para proporcionar 420 (0,44 g, 18%) como un aceite incoloro. RMN ¹H (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.

25

Éster terc-butilico de ácido {4-[4-(3-carbamoilpropilamino)fenil]butil}carbámico (430)

30 Se añadió éster etílico de ácido 4-[4-(4-*terc*-butoxicarbonilaminobutil}fenilamino]butírico 420 (0,44 g, 1,16 mmol) a NH₃ 7 N en metanol (40 ml). La reacción se agitó a 30°C durante 18 horas, a 45°C durante 25 horas y finalmente a 50°C durante 84 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 20:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 430 (0,23 g, 56%) como un sólido blanco. RMN ¹H (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.

35

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

40 Se enfrió éster *terc*-butilico de ácido {4-[4-(3-carbamoilpropilamino)fenil]butil}carbámico 430 (0,23 g, 0,66 mmol) a 0°C en un baño de hielo. Se añadió una disolución fría de TFA/diclorometano (10 ml). La reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. El disolvente se evaporó a vacío para proporcionar 440. RMN ¹H (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.

45

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

50 Se combinaron {4-[4-(4-aminobutil}fenilamino]butiramida 440 (0,16 g, 0,64 mmol), yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiurea (0,27 g, 0,71 mmol) y trietilamina (0,90 ml) en etanol (5 ml). La reacción se agitó a 50°C durante 2 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se lavó secuencialmente con éter dietílico (2 x 5 ml) y agua (5 ml) y luego se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 8:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v). El producto obtenido se lavó adicionalmente con etanol (5 ml) para proporcionar la base libre pura de 450 (0,15 g, 51%). La sal se preparó añadiendo HCl 12 N (18,4 μl) a una disolución de 4-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}-fenilamino)butiramida (50 mg) en metanol (1,0 ml) que luego se vertió en éter dietílico. El sólido se separó eliminando por decantación el líquido transparente y luego se recogió en agua. La eliminación de todo el líquido a presión reducida proporcionó 450 (0,05 g) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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.

55

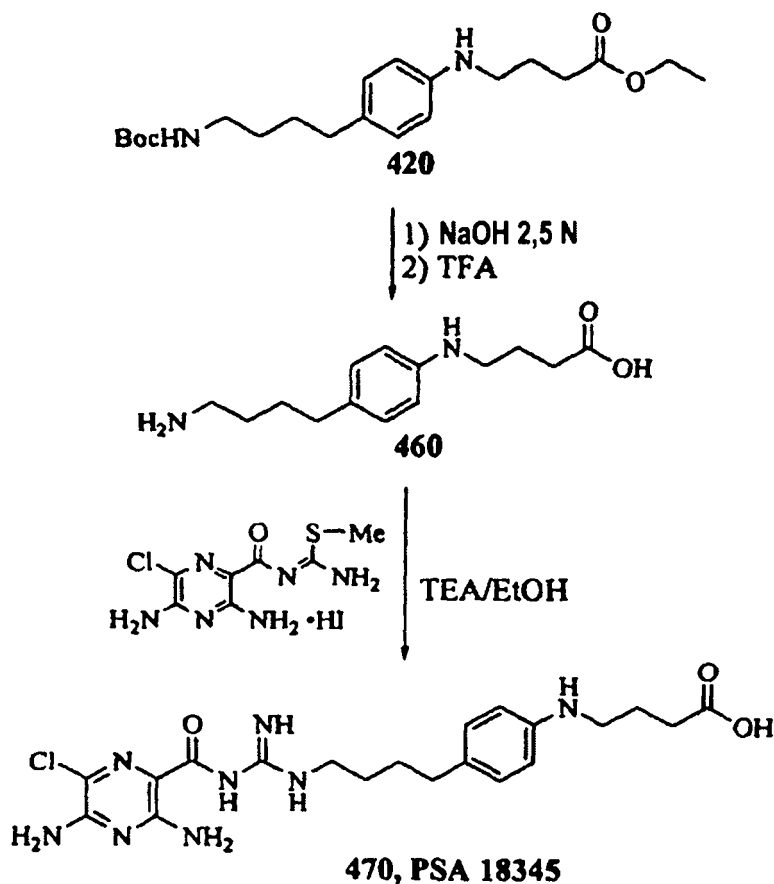
60

65

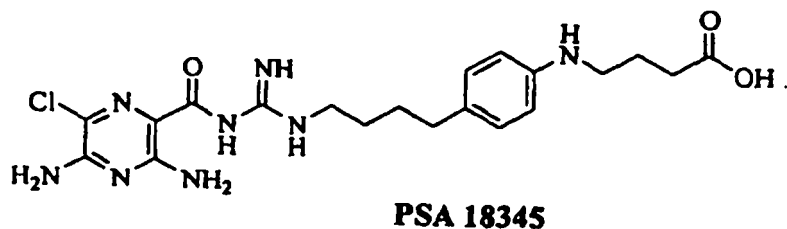
Ejemplo 20

Esquema 12

Síntesis de PSA 18345



45 *Síntesis de ácido 4-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil]fenilamino)butírico (PSA 18345)*



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

65 Se añadió NaOH acuoso 2,5 N (1,2 ml) a una disolución de éster etílico de ácido 4-[4-(4-*tert*-butoxicarbonilaminobutil)fenilamino]butírico 420 (0,45 g, 1,18 mmol) disuelto en una mezcla de agua (25 ml) y THF (30 ml). La reacción se agitó durante 2 h. Se añadió gota a gota HCl 12 N hasta pH 3. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se enfrió a 0°C y se añadió una disolución de TFA/diclorometano (10 ml). La reacción se agitó durante 30 minutos. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 4:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 460 (0,38 g, 100%). RMN ¹H (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.

ES 2 321 100 T3

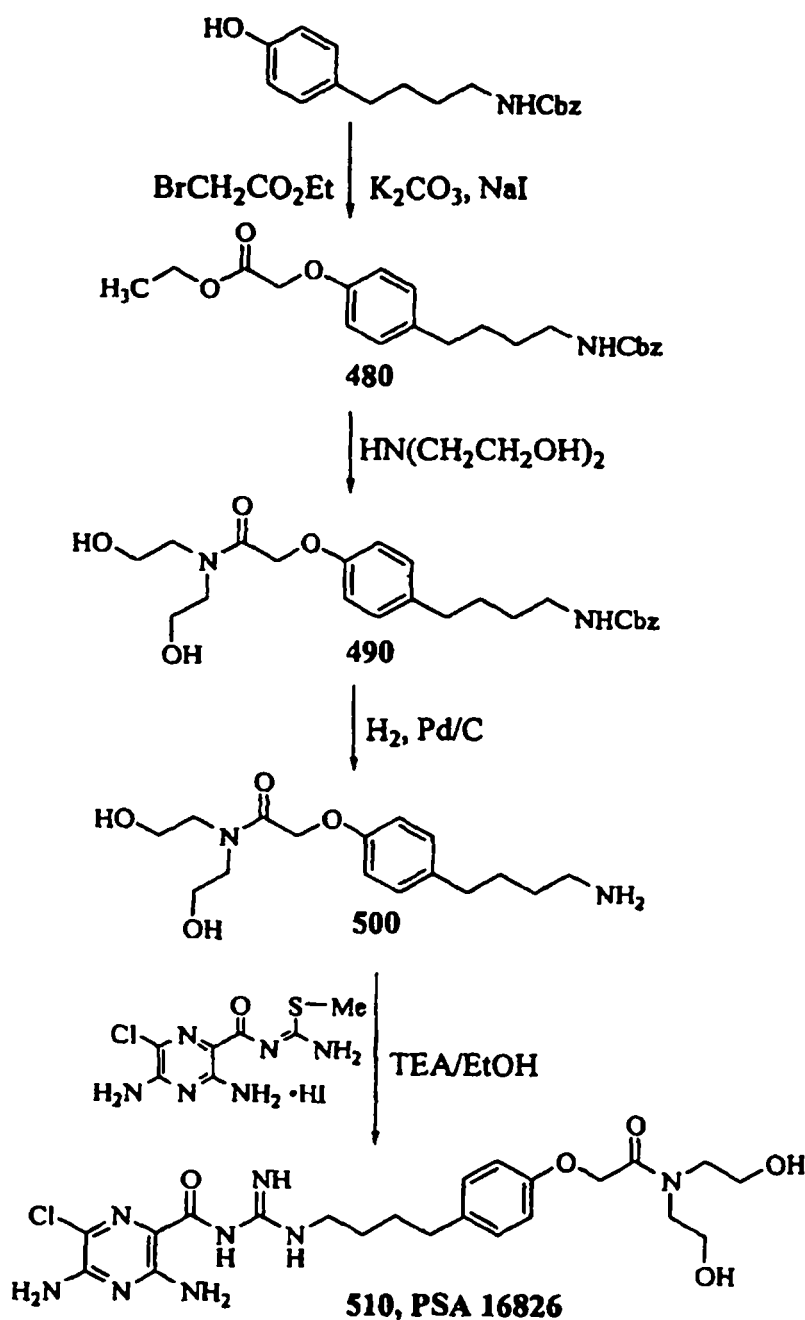
Ácido 4-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]-fenilamino)butílico (470, PSA 18345)

Se combinaron ácido 4-[4-(4-aminobutil)fenilamino] butílico 460 (0,24 g, 0,94 mmol), yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiurea (0,37 g, 0,94 mmol) y trietilamina (1,0 ml) en etanol (5 ml). La reacción se agitó a 50°C durante 4 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó dos veces por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 4:1:0,1, 2:1:0,1 de cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 470 (0,12 g, 27%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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.

Ejemplo 21

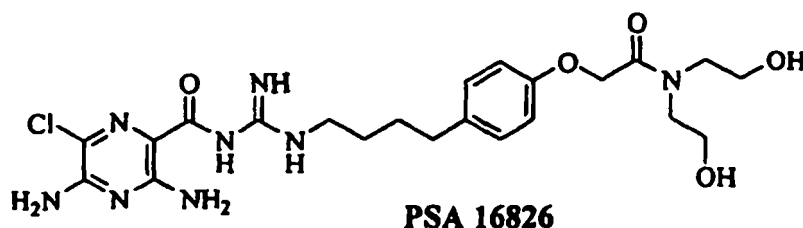
Esquema 13

Síntesis de PSA 16826



ES 2 321 100 T3

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



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

Una disolución de éster bencilico de ácido [4-(4-hidroxifenil)butil]carbámico (2,0 g, 6,7 mmol), carbonato de potasio (1,0 g, 7,3 mmol), yoduro de sodio (0,4 g, 2,7 mmol) y DMF (10 ml) se agitó durante 30 minutos. A la reacción se añadió gota a gota una disolución de bromoacetato de etilo (0,8 ml, 7,4 mmol) en DMF (10 ml). La reacción se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 3 días y luego se vertió en agua (200 ml). El producto se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 1:5 de acetato de etilo/hexanos, v/v) para proporcionar el producto deseado 480 (2,3 g, 89%) como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 bencilico de ácido [4-(4-[N,N-bis-(2-hidroxietyl)carbamoil]metoxi)fenil]butil]carbámico (490)

Una disolución de éster etílico de ácido [4-(4-benciloxycarbonilaminobutil)fenoxi]acético 480 (0,3 g, 0,78 mmol), 2-(2-hidroxiethylamino)etanol (0,15 ml, 1,6 mmol) y etanol (20 ml) se calentó a 70°C durante 72 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, diclorometano/metanol, 100:5-1, v/v) para proporcionar 490 (0,19 g, 100% basado en el material de partida recuperado (0,13 g)) como un sólido amarillo pálido. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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-hidroxietyl)acetamida (500)

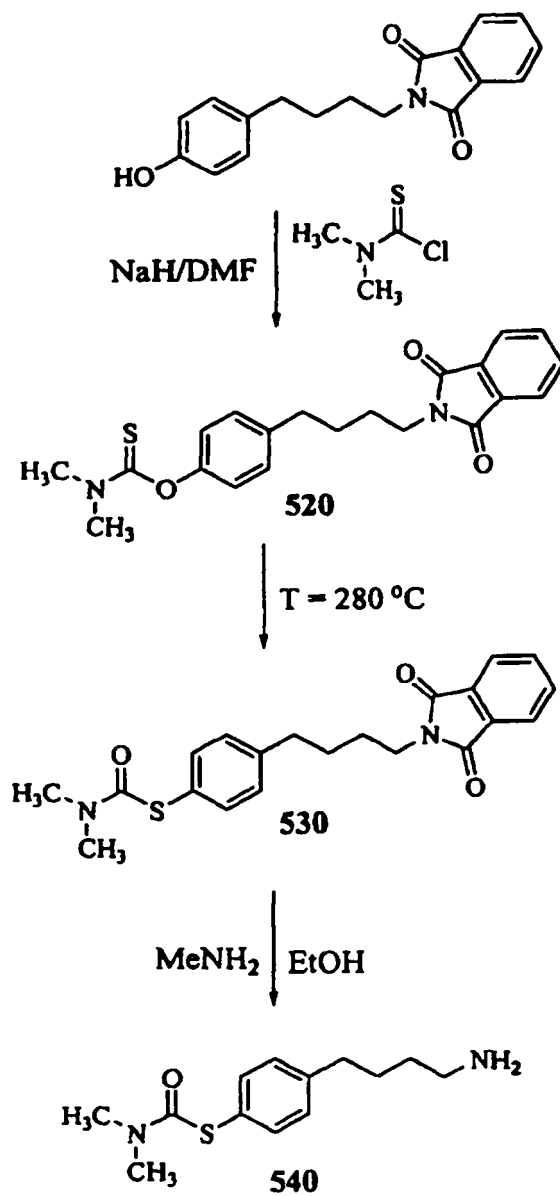
A una disolución desgasificada de éster bencilico de ácido [4-(4-{[N,N-bis-(2-hidroxietyl)carbamoil]metoxi}fenil)-butil]carbámico 490 (0,19 g, 0,43 mmol) en etanol (4 ml) se añadió 10% de paladio sobre carbón activado (0,1 g, humedad del 50%). La mezcla se hidrógenó a hidrógeno atmosférico durante la noche. El catalizador se filtró a través de una almohadilla de Celite y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 20-5:1:0,1-1 de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 500 (0,09 g, 72%) como un aceite incoloro. RMN ¹H (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.

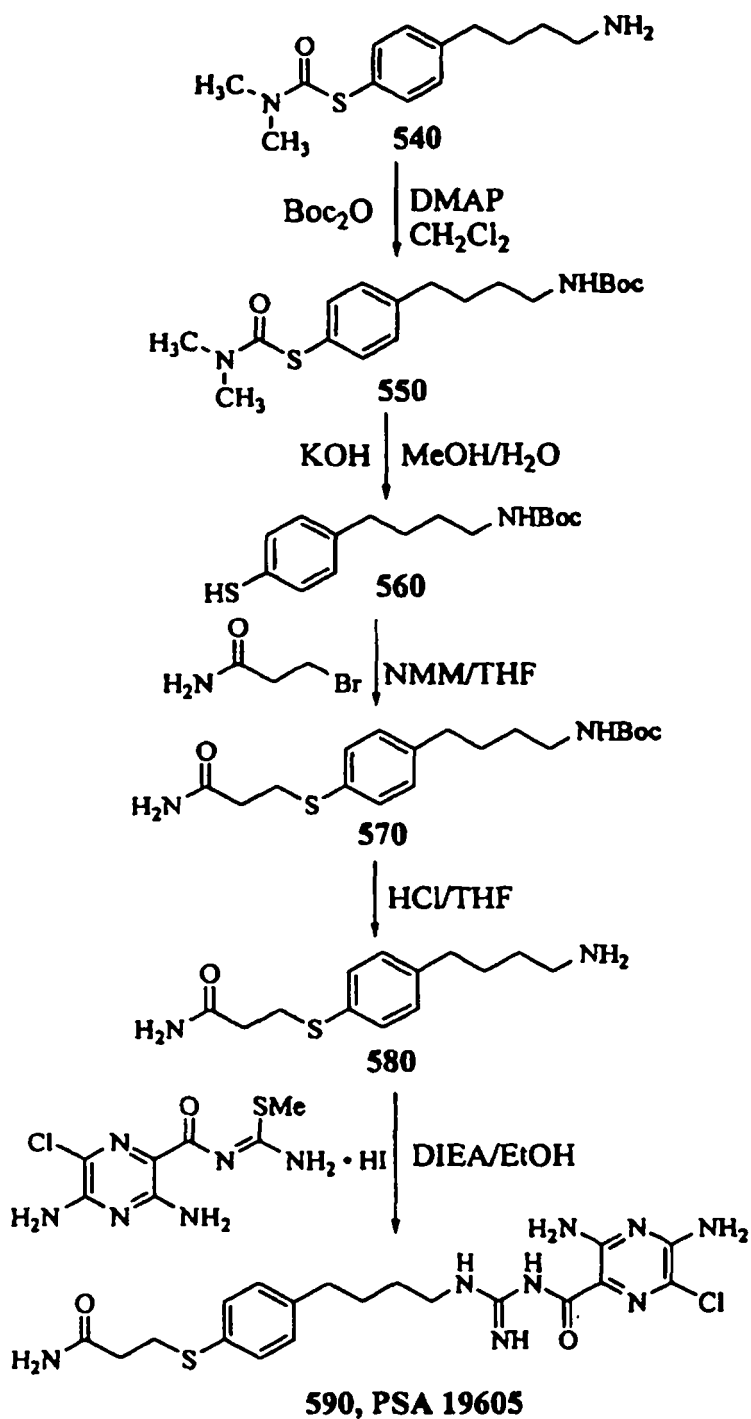
2-(4-{4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)-N,N-bis-(2-hidroxietyl)acetamida (510, PSA 16826)

Se añadió yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-2-metilisotiurea (0,13 g, 0,33 mmol) a una disolución de 2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]-N,N-bis-(2-hidroxietyl)acetamida 500 (0,09 g, 0,3 mmol), trietilamina (0,12 ml) y etanol (1,7 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 3 h. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se lavó con agua y luego se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, 20-10:1:0-0,2 de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 510 (0,1 g, 64%) como un sólido amarillo. La sal de diclorhidrato se preparó añadiendo HCl 4 N (3 gotas) a una disolución del producto (40 mg) en metanol (2 ml). Se observó algo de descomposición mediante análisis por HPLC. Por tanto, el producto se volvió a purificar mediante placa de CCF preparativa (revelada con 10:2:0,2 de diclorometano/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 510 (20 mg) como un sólido amarillo. RMN ¹H (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.

Ejemplo 22

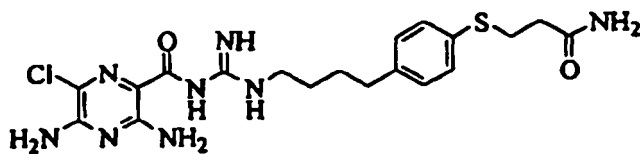
Esquema 14

Síntesis de PSA 19605



ES 2 321 100 T3

Síntesis de 3-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]fenil]tio)propionamida (PSA 19605)



PSA 19605

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

Una suspensión de hidruro de sodio en aceite mineral (0,44 g del 60%) en DMF anhidra (10 ml) se enfrió a 0°C. Se añadió *N*-[4-(4-hidroxifenil)butil]ftalimida (2,95 g, 10 mmol) disuelta en DMF seca (15 ml) a la mezcla que luego se agitó durante 30 min a 0°C y se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 h. A la mezcla se añadió en partes cloruro de *N,N*-dimiltiocarbamoilo (1,35 g, 11 mmol) disuelto en DMF (10 ml). La mezcla nuevamente formada se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego a 50°C durante 1 h y se enfrió de nuevo a temperatura ambiente, momento en el que se añadió metanol (10 ml) a la mezcla. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (diclorometano/hexano/acetato de etilo, 10:1:0,2, v/v) para dar *N*-{4-[4-(dimiltiocarbamoiloxi)fenil]butil}ftalimida 520 (2,27 g, 59%) como un sólido ligeramente amarillo. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 [C₂₁H₂₂N₂O₃S + H]⁺.

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

Se puso *N*-{4-[4-(dimiltiocarbamoiloxi)fenil]butil}ftalimida 520 (2,1 g, 5,4 mmol) en un baño de arena precalentada a 230°C. La temperatura se aumentó hasta 280°C y el compuesto fundido se mantuvo a esta temperatura durante 2 h en atmósfera de argón. La mezcla se enfrió y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (diclorometano/hexano/acetato de etilo, 10:1:0,2, v/v) para dar 530 (1,2 g, 57%) como un polvo blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,70 (m, 4H), 2,66 (t, 2H), 3,05 (s a, 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 [C₂₁H₂₂N₂O₃S + H]⁺.

{4-[4-(Dimetilcarbamoiltio)fenil]butil}amina (540)

La ftalimida 530 (1,1 g, 2,8 mmol) se disolvió en una disolución que contenía 6,6% de metilamina en etanol (100 ml) y se dejó con agitación a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 10:1:0,1, v/v) para proporcionar la amina libre 540 (0,31 g, 42%) como un polvo blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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-terc-Butoxicarbonil-{4-[4-(dimetilcarbamoiltio)fenil]butil}amina (550)

Se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (0,35 g, 1,6 mmol) a una disolución de 540 (0,31 g, 1,22 mmol), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) y diclorometano (50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 26 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo, 3:1, v/v) para dar 540 (0,36 g, 83%) como un polvo blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 1,51 (m, 2H) 1,64 (m, 2H), 3,08 (m, 8H), 4,48 (s a, 1H), 7,18 (d, 2H), 7,39 (d, 2H).

Éster *terc*-butílico de ácido *N*-[4-(4-mercaptofenil)butil]carbámico (560)

Se disolvió *N-terc*-butoxicarbonil-{4-[4-(dimetilcarbamoiltio)fenil]butil}amina 550 (0,35 g, 1,02 mmol) en MeOH (8 ml). Se añadió KOH (0,19 g, 3,4 mmol) disuelto en agua (2 ml). La mezcla se agitó a reflujo durante 6 h y se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en agua y se acidificó con 5% de HCl acuoso hasta pH ~ 5. El disolvente se eliminó de nuevo a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (hexano/acetato de etilo, 3:1, v/v) para dar el tiofenol 560 deseado (0,13 g, 45%) como un aceite transparente. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) 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 (s a, 1H), 7,04 (d, 2H), 7,19 (d, 2H).

ES 2 321 100 T3

*Éster *terc*-butílico de ácido {4-[4-(2-carbamoyl)fenil]butil}carbámico (570)*

Una disolución de amida de ácido 3-bromopropiónico (0,075 g, 0,5 mmol) en THF (5 ml) se añadió a una disolución de éster *terc*-butílico de ácido [4-(4-mercaptofenil)butil]carbámico 560 (0,13 g, 0,46 mmol) disuelto en THF (15 ml) y 4-metilmorfolina (NMM) (0,3 ml). La mezcla de reacción se agitó a 50°C durante 4 h y luego se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron dos equivalentes más de amida de ácido 3-bromopropiónico (0,15 g, 1 mmol). La mezcla se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 2 días. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 15:1:0,1, v/v) para proporcionar el producto deseado éster *terc*-butílico de ácido {4-[4-(2-carbamoylsulfanyl)fenil]butil}carbámico 570 (0,13 g, 80%) como un polvo blanco. RMN ¹H (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]⁺.

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

La amina protegida 570 se disolvió en THF (5 ml) y se añadió HCl 4 N en dioxano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se secó a vacío para dar la sal de diclorhidrato 580 (0,11 g, 100%) como un polvo blanco. RMN ¹H (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 (s a, 1H), 7,15 (d, 2H), 7,27 (d, 2H), 7,37 (s a, 1H), 7,78 (s a, 3H). m/z (ESI) 253 [C₁₃H₂₀N₂OS + H]⁺.

3-(4-[4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]feniltio)propionamida (590, PSA 19605)

Se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,4 ml, 2,2 mmol) y yodhidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazin)-2-metilisotiourea (0,17 g, 0,44 mmol) a una disolución de 580 (0,11 g, 0,31 mmol) en etanol (8 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 6 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se trató con agua (10 ml). El precipitado formado se recogió por centrifugación. Una porción del producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 15:1:0,1, v/v) para dar el compuesto 590 diana (0,027 g, 18%) como un polvo amarillo. (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]⁺.

(Esquema pasa a página siguiente)

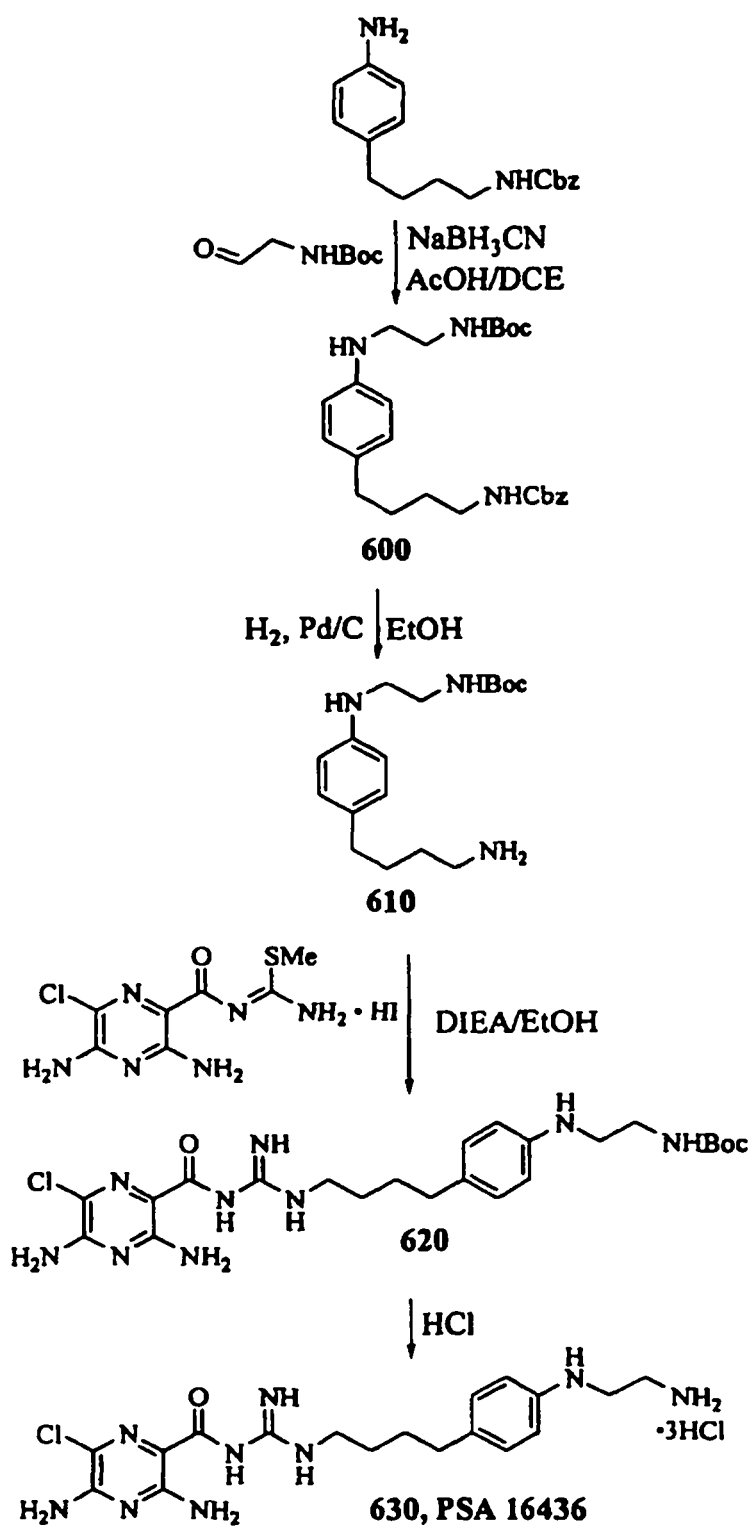
ES 2 321 100 T3

Ejemplo 23

Esquema 15

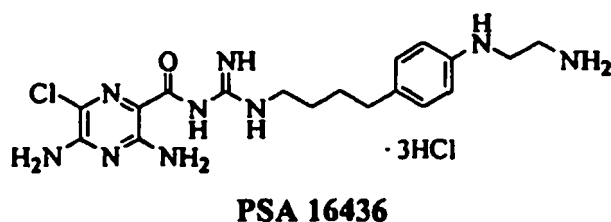
Síntesis de PSA 16436

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



ES 2 321 100 T3

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



15 *Éster bencílico de ácido de N*-{4-[4-(2-*terc*-butoxicarbonilaminoetilamino)fenil]butil}carbámico (600)

Una disolución de *N-terc*-butoxicarbonilaminoacetaldehído (0,28 g, 1,76 mmol) en 1,2-dicloroetano (DCE, 5 ml) se añadió a una disolución de éster bencílico de ácido [4-(4-aminofenil)butil]carbámico (0,48 g, 1,6 mmol) en DCE (10 ml) y ácido acético (0,108 ml, 1,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Luego se añadió NaB(OAc)₃H (0,48 g, 2,26 mmol) a la mezcla que se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua (10 ml) y la mezcla se acidificó a pH 7 mediante 10% de HCl acuoso. La fracción orgánica se aisló y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, acetato de etilo/hexano, 1:2, v/v) para proporcionar la diamina protegida 600 (0,33 g, 47%) como un polvo blanco. RMN ¹H (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 (s a, 1H), 4,69 (s a, 1H), 4,78 (s a, 1H), 5,51 (s, 2H), 6,54 (d, 2H), 6,96 (d, 2H), 7,33 (m, 5H). *m/z* (ESI) 442 [C₂₅H₃₅N₃O₄ + H]⁺.

20

25

30 *Éster terc-butílico de ácido N*-{2-[4-(4-aminobutil)fenilamino]etil}carbámico (610)

La diamina protegida 600 (0,315 g, 0,71 mmol) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h en metanol (25 ml) con 10% de Pd/C (137 mg, humedad del 50%) bajo hidrógeno atmosférico. El catalizador se separó por filtración y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar la amina 610 (0,21 g, 96%) como un aceite transparente. RMN ¹H (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 (s a, 1H), 4,80 (s a, 1H), 6,54 (d, 2H), 6,98 (d, 2H).

35

40 *Éster terc-butílico de ácido [2-(4-[4-[N'*-(3,5-diamino-6-cloro-pirazin-2-carbonilguanidino)butil]fenilamino)etil]carbámico

Se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,3 ml, 1,65 mmol) y yodhidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazin)-2-metilisotiurea (0,254 g, 0,67 mmol) a una disolución de 610 (0,20 g, 0,67 mmol) en etanol (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 4 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se lavó con acetato de etilo y agua y se secó a vacío. Una porción del residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 10:1:0,1, v/v) para dar 620 (0,206 g, 60%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (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]⁺.

45

50

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

La guanidina protegida 620 se disolvió en una mezcla de metanol (7 ml) y HCl 4 N en dioxano (12 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. El precipitado formado se recogió por centrifugación y se secó a vacío. El polvo amarillo seco se disolvió en HCl acuoso (5%) y el disolvente se evaporó para dar la sal de diclorhidrato 630 (0,14 g, 75%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (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]⁺.

55

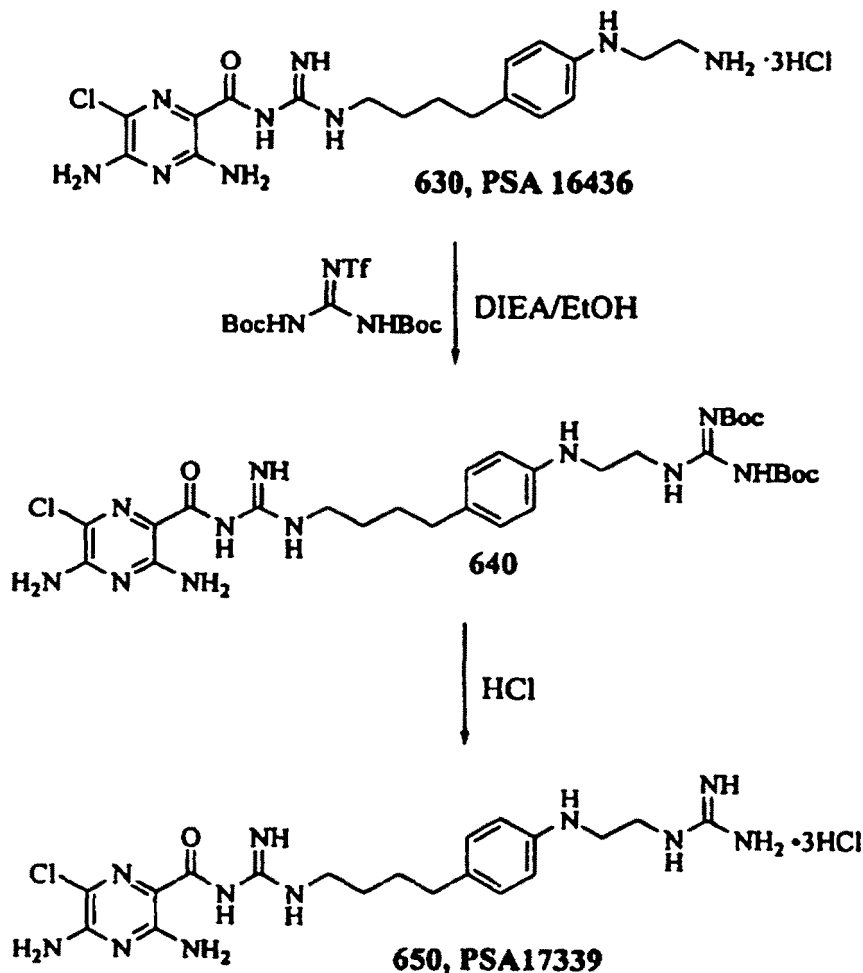
60

65

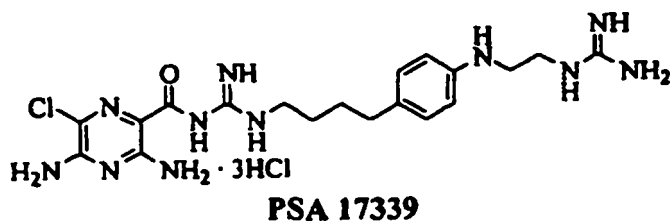
Ejemplo 24

Esquema 16

Síntesis de PSA 17339



45 Síntesis de triclorhidrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-*N'*-[4-[(2-guanidino)etilamino]fenil]butil guanidina (PSA 17339)



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

60 Se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,12 ml, 0,6 mmol) y *N,N'*-di-(*tert*-butoxicarbonil)-*N''*-trifluorometanosulfonilguanidina (reactivo de Goodman) (0,12 g, 0,30 mmol) en metanol (3 ml) a una suspensión de 630 en metanol (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 10:1:0,1, v/v). El sólido amarillo obtenido se lavó con agua y se secó a vacío para dar 640 (0,076 g, 57%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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 [C₂₉H₄₄ClN₁₁O₅ + H].

65

ES 2 321 100 T3

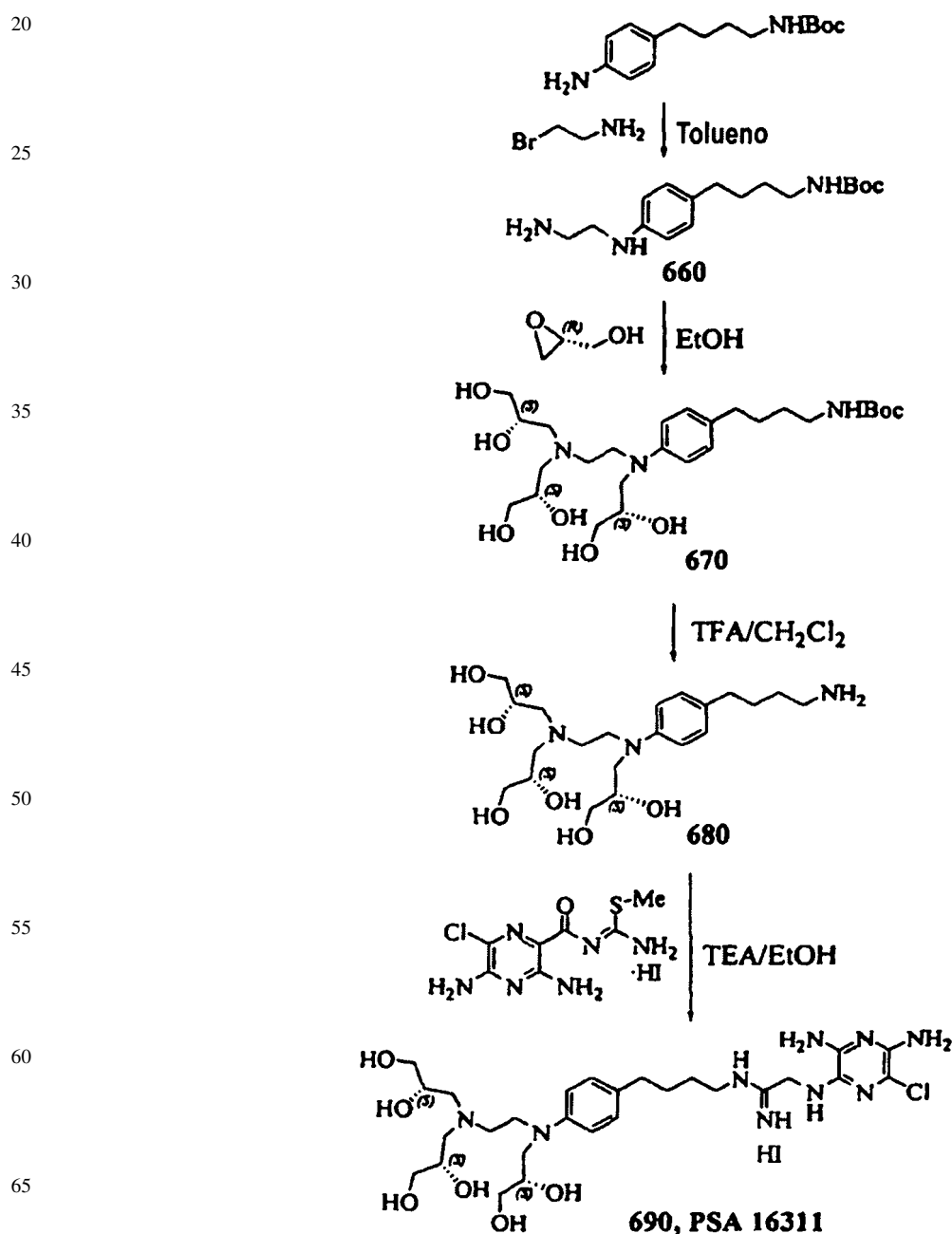
Triclorhidrato de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-*N'*-[4-[(2-guanidinoetilamino)fenil]butil]guanidina (650, PSA 17339)

El compuesto 640 (0,072 g, 0,11 mmol) se agitó en 33% de HCl acuoso (10 ml) a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en 0,1% de TFA acuoso y se purificó por HPLC preparativa (columna S5C8 de C8 Spherosorb, procedimiento isocrático, 0,1% de TFA agua/acetonitrilo, 75%:25%, v/v). Las fracciones que contenían el compuesto diana se combinaron y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en 5% de HCl y el disolvente se eliminó de nuevo a presión reducida. Este procedimiento se repitió dos veces. El compuesto obtenido se disolvió en agua y se liofilizó para dar 650 (0,012 g, 20%) como un sólido amarillo. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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 [C₁₉H₂₈ClN₁₁O₅ + H].

Ejemplo 25

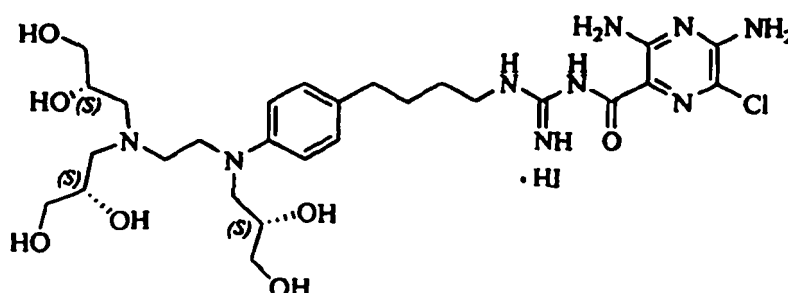
Esquema 17

Síntesis de PSA 16311



ES 2 321 100 T3

Síntesis de *N*-(4{4-[[2-[*N,N*-bis-((2*S*)-2,3-dihidroxiopropil)amino]etil]-*N*-((2*S*)-2,3-dihidroxiopropil)amino]fenil]butil)-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidina (PSA 16311)



PSA 16311

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

Una mezcla de éster *tert*-butílico de ácido *N*-[4-(4-aminofenil)butil]carbámico (4,5 g, 17 mmol) y bromhidrato de 2-bromoetilamina (1,75 g, 8,5 mmol) en tolueno se agitó a 100°C durante 3 días. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 8:1:0,1, v/v) para dar 660 (1,47 g, 56%) como un polvo blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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 [C₁₇H₂₉IN₃O₂ + H].

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

Una mezcla de (R)-(+)-glicidol (0,22 g, 3 mmol) y amina 660 en etanol (6 ml) se agitaron a 70°C (baño de aceite) durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 7:1:0,1, v/v) para dar 670 (0,27 g, 60%) como un aceite transparente. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,44 (m, 2H), 1,56 (m, 2H), 2,45-2,78 (m a, 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-dihidroxiopropil)amino]etil]-*N*-((2*S*)-2,3-dihidroxiopropil)amino]fenil}butilamina (680)

Se añadió diclorometano (2 ml) a la amina protegida 670 (0,27 g, 0,5 mmol) seguido de la adición de TFA (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 25 min. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en metanol y el disolvente se eliminó de nuevo a presión reducida. El residuo se secó a vacío durante la noche para proporcionar el compuesto 680 (0,31 g, 80%) como un aceite transparente. RMN ¹H (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-dihidroxiopropil)amino]etil]-*N*-((2*S*)-2,3-dihidroxiopropil)amino]fenil]butil)-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidina(690,PSA 16311)

Se añadieron secuencialmente trietilamina (0,5 ml, 3,6 mmol) y yodhidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazin)-2-metilisotiurea (0,20 g, 0,52 mmol) a una disolución de 680 (0,31 g, 0,40 mmol) en etanol (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70°C (baño de aceite) durante 2,5 h y luego a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por FlashTM (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 3:1:0,3, v/v) para dar 690 (0,127 g, 17%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (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).

ES 2 321 100 T3

Ejemplo 26

Esquema 18

Síntesis de PSA 16722

5

10

15

20

25

30

35

40

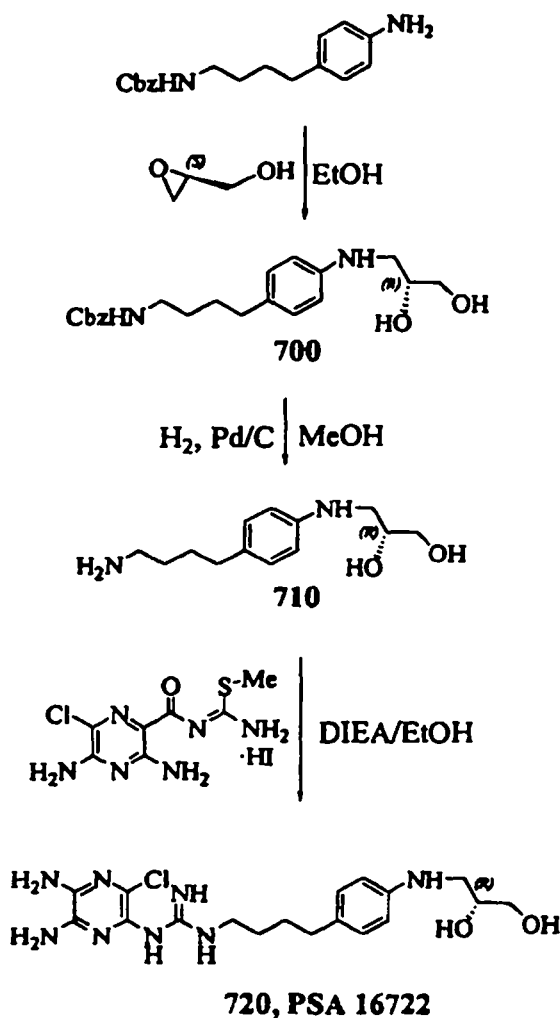
45

50

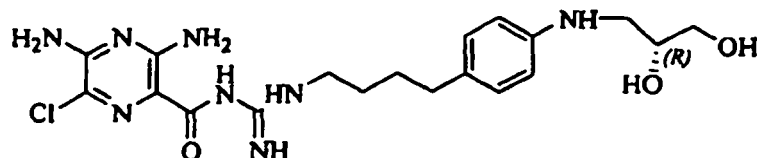
55

60

65



Síntesis de *N*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)-*N'*-[4-[4-((2R)-2,3-dihidroxiopropilamino)fenil]butil]guanidina (PSA 16722)

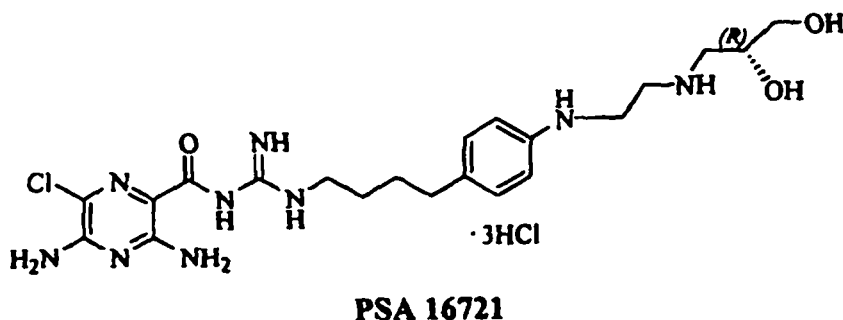


Éster bencílico de ácido {4-[4-((2R)-2,3-dihidroxiopropilamino)fenil]butil}carbámico (700)

Una disolución de (S)-(-)-glicidol (0,16 ml, 2,3 mmol) en etanol (5 ml) se añadió gota a gota a una disolución con agitación de éster bencílico de ácido *N*-[4-(4-aminofenil)butil]carbámico (0,59 g, 1,97 mmol) en etanol (15 ml) a 70°C. La mezcla de reacción se agitó a 70°C (baño de aceite) durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 15:1:0,1, v/v) para dar 700 (0,29 g, 40%) como un sólido blanco. RMN ¹H (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]⁺.

ES 2 321 100 T3

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



N-*tert*-Butoxicarbonil-4-{4-[2-[(*2R*)-2,3-dihidroxiopropil]amino]etilaminofenil}butilamina (730)

Una mezcla de (*S*)-(-)-glicidol (0,30 g, 4 mmol) y trietilamina (0,5 ml, 3,6 mmol) en etanol (5 ml) se añadió en partes a una disolución de amina 660 (0,61 g, 2 mmol) en etanol (15 ml) durante 30 min a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió gota a gota (*S*)-(-)-glicidol adicional (0,080 g, 1 mmol) en 10 ml de etanol y la mezcla se agitó durante 18 h adicionales. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 8:1:0,1, v/v) para proporcionar el compuesto bruto 730 (0,176 g). Se ejecutó un segundo lote de la misma reacción añadiendo gota a gota una disolución de (*S*)-(-)-glicidol (0,090 g, 1,2 mmol) en etanol (5 ml) a una disolución de amina 660 (0,36 g, 1,17 mmol) en etanol (10 ml) durante 3 h a 70°C. La mezcla de reacción se agitó a 70°C. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 7:1:0,1, v/v) para proporcionar el compuesto bruto 730 (0,22 g). Los productos brutos de ambos lotes se combinaron y se purificaron de nuevo por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 9:1:0,1, v/v) para proporcionar el producto bruto 730 (0,206 g, rendimiento global del 11%) como una parafina blanca. RMN ¹H (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).

Diclorhidrato de 4-{4-[2-[(*2R*)-2,3-dihidroxiopropil]amino]etilamino}fenil}butilamina (740)

Se añadió HCl 4 N en dioxano (10 ml) a la amina protegida 730. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó a presión reducida. Se añadió diclorometano (15 ml) al sólido blanco resultante y posteriormente se evaporó. Este procedimiento se repitió tres veces. El sólido resultante se secó adicionalmente a vacío para proporcionar la sal de diclorhidrato 740 (0,209 g, 96%) como un polvo blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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 [C₁₅H₂₇N₃O₂ + H]⁺.

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

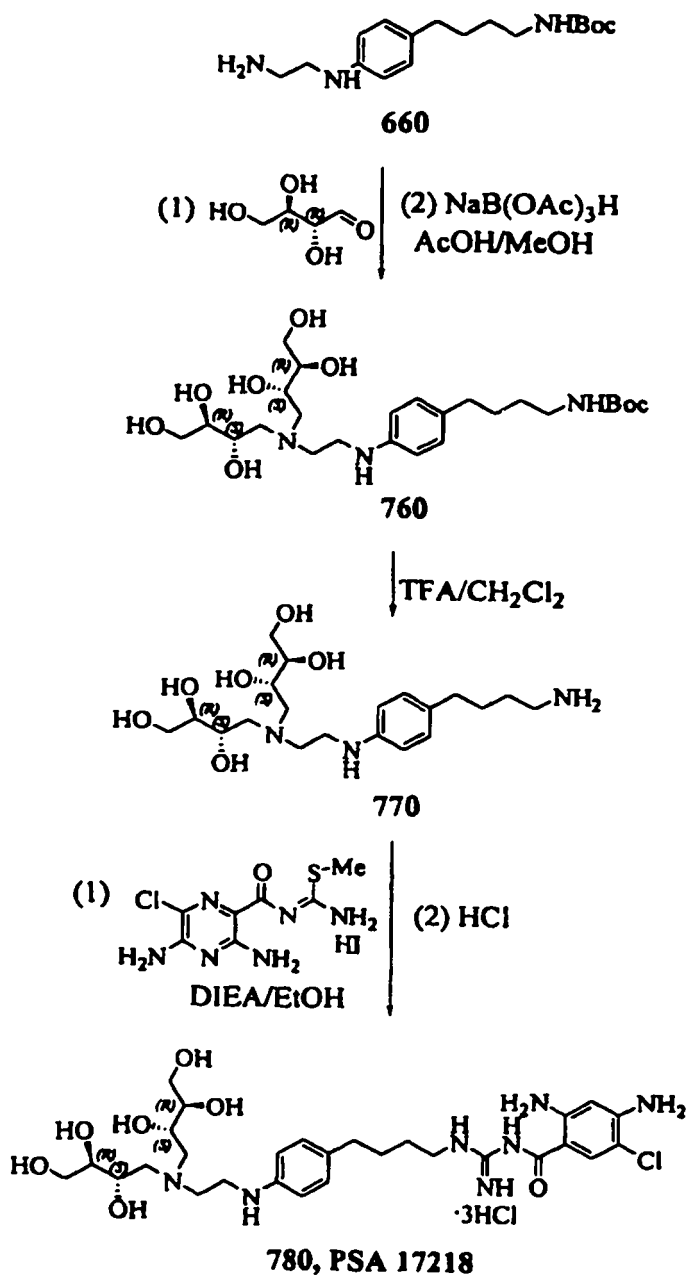
Se añadieron secuencialmente diisopropiletilamina (0,5 ml, 2,75 mmol) y yodhidrato de [1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-metilisotiurea) (0,230 g, 0,60 mmol) a una disolución de 740 (0,165 g, 0,70 mmol) en etanol (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70°C (baño de aceite) durante 2,5 h y luego a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 3:1:0,1, v/v) para dar la base libre bruta *N*-(4{4-[2-[(*2R*)-2,3-dihidroxiopropil]amino]etilamino}fenil)butil-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidina (0,176 g, 58%, 80% de pureza mediante HPLC) como un sólido amarillo. Entonces se disolvió en metanol (5 ml). A la disolución se añadió HCl 4 N en dioxano (10 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se disolvió de nuevo en metanol (5 ml). La disolución se vertió en 2-propanol (20 ml). El precipitado resultante se recogió y se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 3:1:0,3, v/v) para dar la base libre 750 (0,042 g, 12%). El compuesto 750 se disolvió en 3% de HCl acuoso. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar el compuesto final como una sal de triclorhidrato (0,050 g, 9,3%, un polvo amarillo). RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) 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 [C₂₁H₃₂Cl₃N₉O₃ + H]⁺. [α]_D²⁵ = +6,7° (c = 0,5, MeOH).

ES 2 321 100 T3

Ejemplo 28

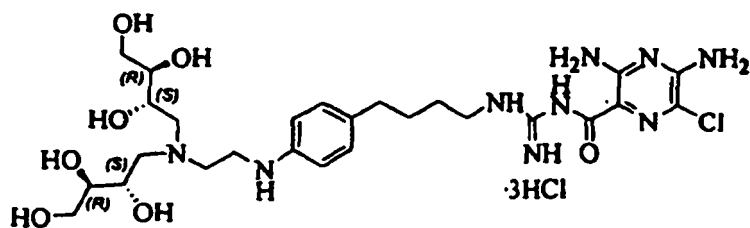
Esquema 20

Síntesis de PSA 17218



ES 2 321 100 T3

Síntesis de *N*-[4-(4-{2-[bis-((2*S*,3*R*)-2,3,4-trihidroxiutil)amino]etilamino}fenil)butil]-*N'*-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidina triclóridato (PSA 17218)



PSA 17218

N-*tert*-Butoxicarbonil-4-{2-[*N,N*-bis-((2*S*,3*R*)-2,3,4-trihidroxiutil)amino]etilamino}fenilbutilamina (760)

Se añadieron secuencialmente ácido acético (0,09 ml, 1,4 mmol) y una disolución de D-(-)-eritrosa (0,52 g, 4,2 mmol) en metanol (2,5 ml) a una disolución de amina 660 (0,44 g, 4,2 mmol) en metanol (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos bajo protección de nitrógeno. La reacción se enfrió a -78°C. Entonces se añadió cianoborohidruro de sodio (0,39 g, 6,16 mmol) a la mezcla. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó por Flash™ (BIOTAGE, Inc) (cartucho de gel de sílice 40M de 90 g, 4:1:0,15 cloroformo/metanol/hidróxido de amonio concentrado, v/v) para proporcionar 760 (0,12 g, 16%) como un sólido blanco. RMN ¹H (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-trihidroxiutil)amino]etilamino}fenilbutilamina (770)

La amina protegida 760 (0,12 g, 0,22 mmol) se agitó en una mezcla de diclorometano/TFA (10 ml, 1:1) durante 2 h. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 3:1:0,3, v/v) para proporcionar 770 (0,12 g, 98%) como un aceite incoloro. (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]⁺.

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

Se añadieron secuencialmente yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin)-2-metilisotiourea (0,121 g, 0,31 mmol) y diisopropiletilamina (0,20 ml, 1,2 mmol) a una disolución de 770 (0,12 g, 0,22 mmol) en etanol (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70°C durante 3,5 h y luego a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, cloroformo/metanol/hidróxido de amonio, 3:1:0,3, v/v) para proporcionar la base libre bruta (0,070 g) como un sólido amarillo. La base libre se recogió en 3% de HCl acuoso (2 ml). El sólido sin disolver se separó por filtración y el disolvente en el filtrado se eliminó a presión reducida. El producto se secó a vacío para proporcionar la sal de triclóridato 780 (0,057 g, 34%) como un polvo amarillo. RMN ¹H (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 [C₂₆H₄₂Cl₃N₉O₇ + H]⁺. [α]_D²⁵ = -13,8° (c = 0,5, MeOH).

Actividad de bloqueo de los canales de sodio

Los compuestos enumerados en la siguiente tabla se probaron para la potencia en epitelios bronquiales caninos usando el ensayo *in vitro* descrito anteriormente. También se probó PSA 4022 en cada ensayo como control positivo. Los resultados para los compuestos de la presente invención se presentan como valores de veces de potenciación respecto a la amilorida fijándose PSA 4022 = 100 x amilorida.

ES 2 321 100 T3

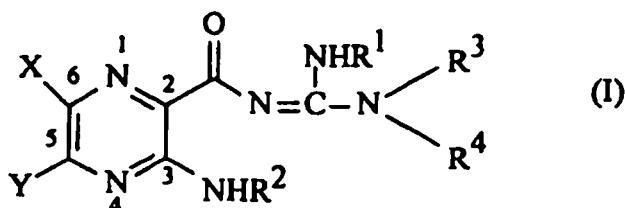
Ejemplo 29

| | PSA | CE ₅₀ (nM) | | | Veces de amilorida** (PSA 4022=100) | | |
|---|-------|-----------------------|-------|------|--|-------|------|
| | | N | Media | D.E. | N | Media | D.E. |
| 5 | 10316 | 6 | 9,56 | 5,09 | 6 | 132 | 71 |
| 10 | 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 |
| 15 | 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 |
| 20 | 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 |
| 25 | 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 |
| 30 | 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 |
| 35 | 16311 | 4 | 33,2 | 14,7 | 4 | 25,6 | 11,2 |
| | 16436 | 2 | 15,4 | 1,6 | 2 | 35,6 | 3,8 |
| 40 | 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 |
| 45 | 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 |
| 50 | 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 |
| 55 | 18704 | 2 | 14,1 | 3,9 | 2 | 90,2 | 18,4 |
| | 19603 | 3 | 32,3 | 7,7 | 3 | 39,4 | 12,6 |
| | 19605 | 3 | 4,70 | 1,17 | 3 | 145 | 37 |
| 60 | 23184 | 3 | 17 | 4 | 3 | 43,3 | 12,0 |
| **Potencia relativa para PSA 4022 = 100 usando CE ₅₀ de PSA 4022 en la misma ejecución | | | | | | | |

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

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de pirazinoilguanidina, **caracterizado** porque está representado por la fórmula (I):



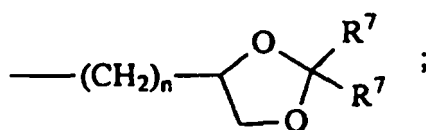
en la que

X es hidrógeno, halógeno, trifluorometilo, alquilo inferior, fenilo sin sustituir o sustituido, alquil inferior-tio, fenil-alquil inferior-tio, alquil inferior-sulfonilo, o fenil-alquil inferior-sulfonilo;

Y es hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquil inferior-tio, halógeno, alquilo inferior, arilo mononuclear sin sustituir o sustituido, o $-N(R^2)_2$;

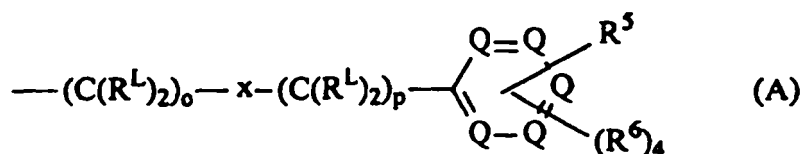
R^1 es hidrógeno o alquilo inferior;

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



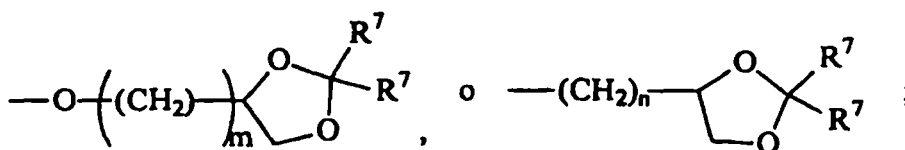
en el que cuando dos grupos $-CH_2OR^8$ están localizados 1,2- o 1,3- el uno con respecto al otro, los grupos R^8 pueden unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico;

R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno, un grupo representado por la fórmula (A), alquilo inferior, hidroxialquilo inferior, fenilo, fenil-alquilo inferior, (halofenil)-alquilo inferior, (alquilfenilalquilo) inferior, (alcoxi inferior-fenil)-alquilo inferior, naftilalquilo inferior, o piridilalquilo inferior, con la condición de que al menos uno de R^3 y R^4 sea un grupo representado por la fórmula (A):



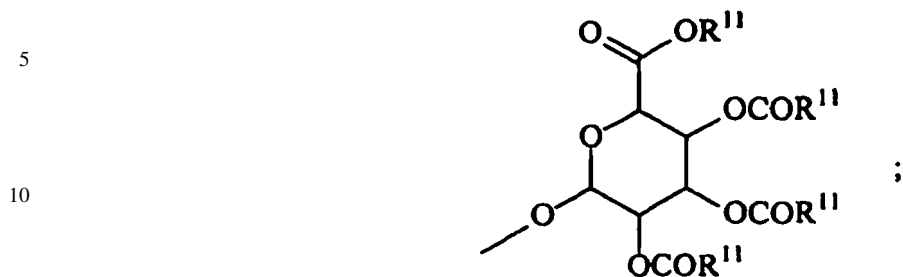
en la que

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



ES 2 321 100 T3

cada R⁸ es, independientemente, hidrógeno, alquilo inferior, -C(=O)-R¹¹, glucurónido, 2-tetrahidropiraniolo, o



15 cada R⁹ es, independientemente, -CO₂R⁷, -CON(R⁷)₂, -SO₂CH₃ o -C(=O)R⁷;

cada R¹⁰ es, independientemente, -H, -SO₂CH₃, -CO₂R⁷, -C(=O)NR⁷R⁹, -C(=O)R⁷ o -CH₂-(CHOH)_n-CH₂OH;

20 cada Z es, independientemente, CHO, C(=O), CHNR⁷R¹⁰, C=NR¹⁰ o NR¹⁰;

cada R¹¹ es, independientemente, alquilo inferior;

cada R¹² es, independientemente, -SO₂CH₃, -CO₂R⁷, -C(=O)NR⁷R⁹, -C(=O)R⁷ o -CH₂-(CHOH)_n-CH₂OH;

25 cada Het es independientemente, -NR⁷, -NR¹⁰, -S-, -SO- o -SO₂-;

cada g es, independientemente, un número entero de 1 a 6;

cada m es, independientemente, un número entero de 1 a 7;

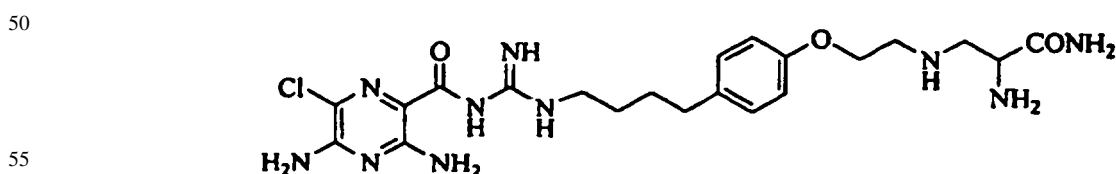
30 cada n es, independientemente, un número entero de 0 a 7;

cada Q es, independientemente, C-R⁵, C-R⁶ o un átomo de nitrógeno, en la que como máximo tres Q en un anillo son átomos de nitrógeno;

35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, e incluidos todos los enantiómeros, diaestereómeros y mezclas racémicas del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en la que R⁵ se selecciona del grupo que está constituido por:
 40 -(CH₂)_n-N(SO₂R⁷)₂, -O-(CH₂)_m-N(SO₂R⁷)₂, -(CH₂)_n-CHNHBocCO₂R⁷ (α), -O-(CH₂)_m-CHNHBocCO₂R⁷ (α),
 -(CH₂)_n-N(R¹¹)₂, -O-(CH₂)_m-N(R¹¹)₂, -(CH₂)_n-CHNH₂CO₂CH₃ (α), -O-(CH₂)_m-CHNH₂CO₂R⁷ (α), -O-(CH₂)_m-N⁺
 (R¹¹)₃, -(Z)_g-(CH₂)_m-N(R¹⁰)₂ [-(Z)_g-(CH₂)_m-N(R¹¹)₂], -C(O)NH-(CH₂)_m-N(R⁷)₂, -NHC(=O)(CH₂)_m-N(R⁷)₂, -C(=O)
 45 NH-(CH₂)_m-NH-C(=NH)-N(R⁷)₂, -NH-C(=O)-(CH₂)_m-NH-C(=NH)-N(R⁷)₂, -(CH₂)_n-NH-C(=NBoc)-NHBoc, -O-
 CH₂-CHOH-CH₂-NH-C(=NBoc)-NBoc, -(CH₂)_n-NR¹⁰CH₂(CHOR⁸)_n-(Z)_g-R⁷, y -O(CH₂)_m NR¹⁰CH₂(CHOR⁸)_n-(Z)_g-
 R⁷.

3. El compuesto de la reivindicación 2, en la que R⁵ es -O(CH₂)_m NR¹⁰CH₂(CHOR⁸)_n-(Z)_g-R⁷ y en el que dicho compuesto está representado por la fórmula:



4. El compuesto de la reivindicación 1, en la que Y es -NH₂.

60 5. El compuesto de la reivindicación 4, en la que R² es hidrógeno.

6. El compuesto de la reivindicación 5, en la que R¹ es hidrógeno.

65 7. El compuesto de la reivindicación 6, en la que X es cloro.

8. El compuesto de la reivindicación 7, en la que R³ es hidrógeno.

ES 2 321 100 T3

9. El compuesto de la reivindicación 8, en la que cada R¹ es hidrógeno.

10. El compuesto de la reivindicación 9, en la que o es 4.

5 11. El compuesto de la reivindicación 10, en la que p es 0.

12. El compuesto de la reivindicación 11, en la que x representa un enlace sencillo.

13. El compuesto de la reivindicación 12, en la que cada R⁶ es hidrógeno.

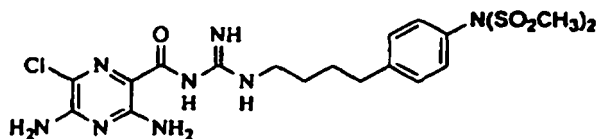
10 14. El compuesto de la reivindicación 13, en la que como máximo un Q es un átomo de nitrógeno.

15. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(CH₂)_n-NR¹²R¹².

15 16. El compuesto de la reivindicación 15, en la que R⁵ es -(CH₂)_n-N(SO₂R⁷)₂.

17. El compuesto de la reivindicación 16, que está representado por la fórmula:

20



25

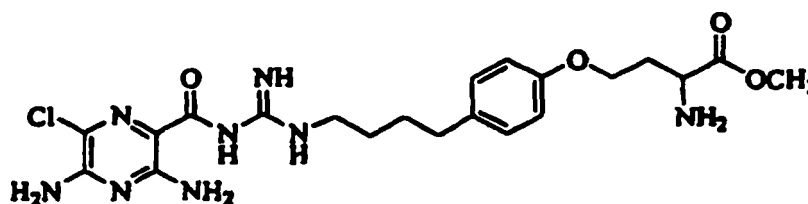
30 18. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ se selecciona del grupo que está constituido por: -O-(CH₂)_m-NR¹²R¹².

19. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-N(SO₂R⁷)₂.

35 20. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-(Z)_gR¹².

21. El compuesto de la reivindicación 20, que está representado por la fórmula:

40

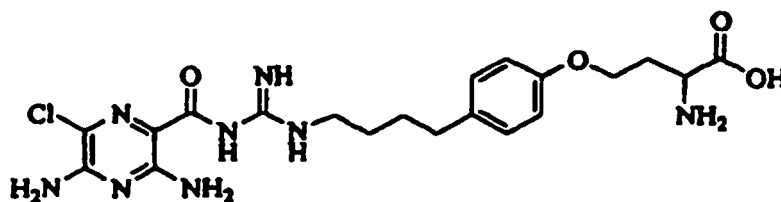


45

50

22. El compuesto de la reivindicación 20, que está representado por la fórmula:

55



60

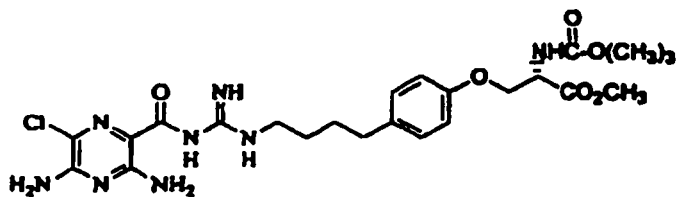
65 23. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(CH₂)_n-CHNHBocCO₂R⁷ (α).

24. El compuesto de la reivindicación 23, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-CHNHBacCO₂R⁷ (α).

ES 2 321 100 T3

25. El compuesto de la reivindicación 24, que está representado por la fórmula:

5



10

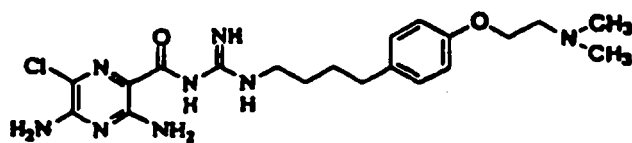
26. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(CH₂)_n-N(R¹¹)₂.

15

27. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-N(R¹¹)₂.

28. El compuesto de la reivindicación 27, que está representado por la fórmula:

20



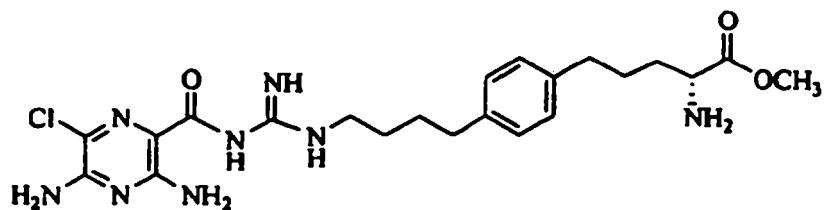
25

29. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(CH₂)_n-CHNH₂CO₂R⁷ (α).

30

30. El compuesto de la reivindicación 29, que está representado por la fórmula:

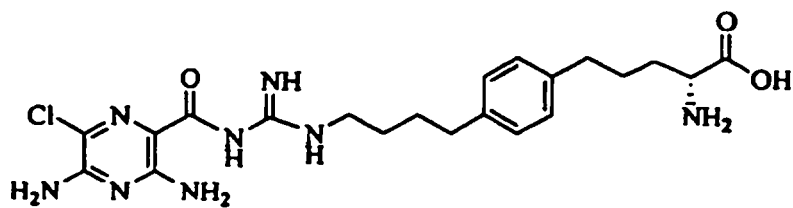
35



40

31. El compuesto de la reivindicación 29, que está representado por la fórmula:

45



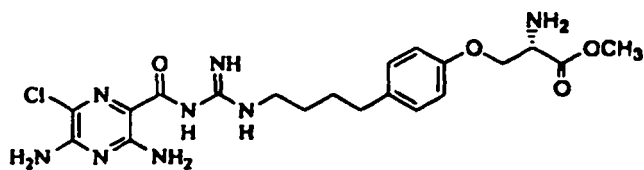
50

32. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-CHNH₂CO₂R⁷ (α).

55

33. El compuesto de la reivindicación 32, que está representado por la fórmula:

60

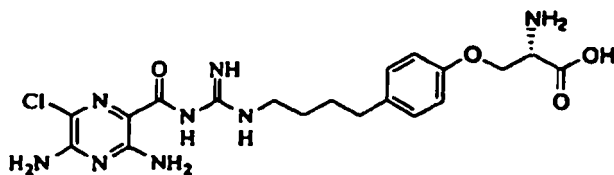


65

ES 2 321 100 T3

34. El compuesto de la reivindicación 32, que está representado por la fórmula:

5

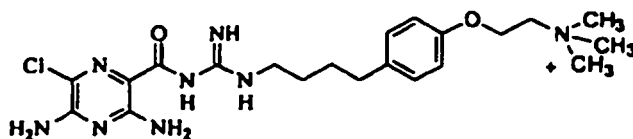


10

35. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R^5 es $-O-(CH_2)_m-N^+(R^{11})_3$.

36. El compuesto de la reivindicación 35, que está representado por la fórmula:

15



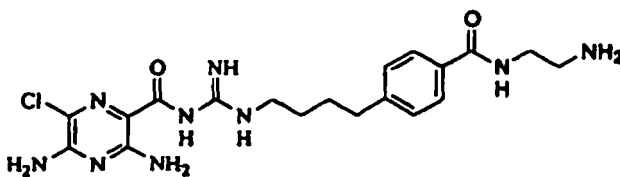
20

37. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R^5 es $-(CH_2)_n-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$.

38. El compuesto de la reivindicación 37, en la que R^5 es $-C(=O)NH-(CH_2)_m-N(R^{10})_2$.

39. El compuesto de la reivindicación 38, que está representado por la fórmula:

30

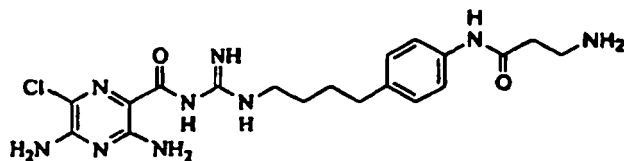


35

40. El compuesto de la reivindicación 37, en la que R^5 es $-NHC(=O)(CH_2)_m-N(R^{10})_2$.

41. El compuesto de la reivindicación 40, que está representado por la fórmula:

45

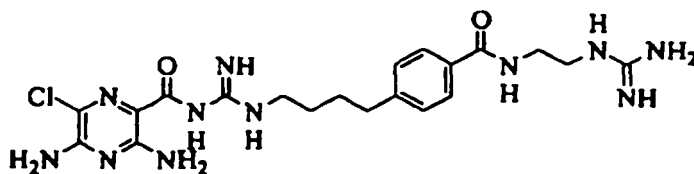


50

42. El compuesto de la reivindicación 1, en la que R^5 es $-C(=O)NH-(CH_2)_m-NH-C(=NH)-N(R^7)_2$.

43. El compuesto de la reivindicación 42, que está representado por la fórmula:

55



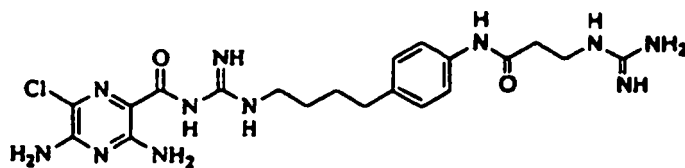
60

44. El compuesto de la reivindicación 37, en la que R^5 es $-NH-C(=O)-(CH_2)_m-NH-C(=NH)-N(R^{10})_2$.

65

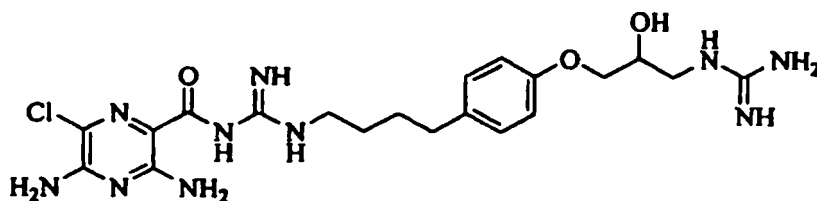
ES 2 321 100 T3

45. El compuesto de la reivindicación 44, que está representado por la fórmula:

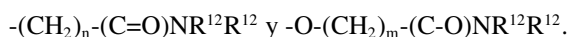
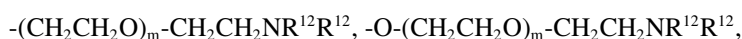


46. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-(CHOR⁸)_mCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰.

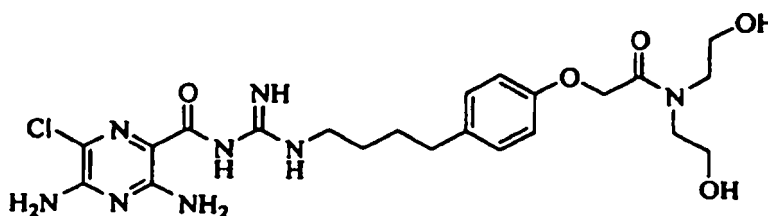
47. El compuesto de la reivindicación 46, que está representado por la fórmula:



48. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ se selecciona del grupo que está constituido por:



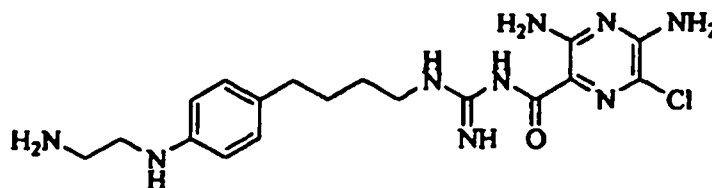
49. El compuesto de la reivindicación 48, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m(C=O)NR¹²R¹² y en la que dicho compuesto está representado por la fórmula:



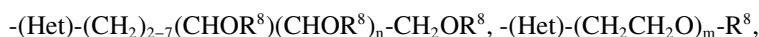
50. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(Het)-(CH₂)_m-OR⁸.

51. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(Het)-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰.

52. El compuesto de la reivindicación 51, que está representado por la fórmula:



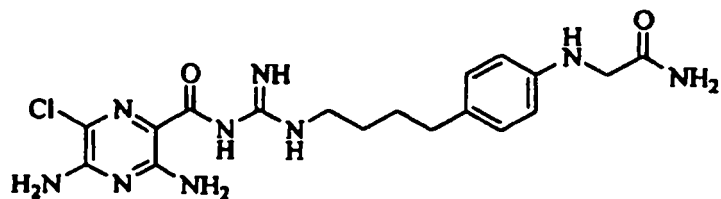
53. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ se selecciona del grupo que está constituido por:



ES 2 321 100 T3

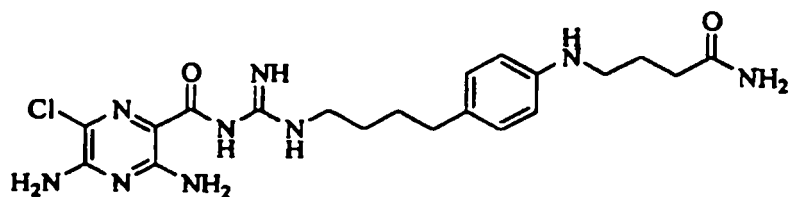
54. El compuesto de la reivindicación 53, en la que R^5 es $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^7\text{R}^{10}$ y en la que dicho compuesto está representado por una de las siguientes seis fórmulas:

5



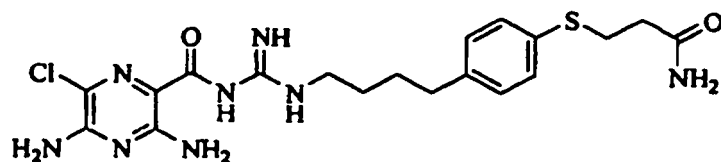
10

15



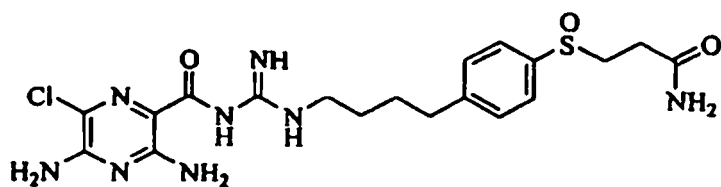
20

25



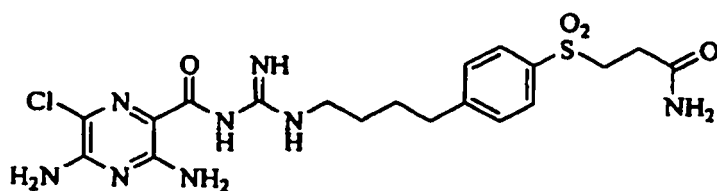
30

35



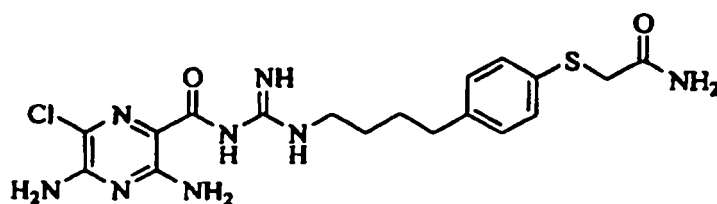
40

45



50

55

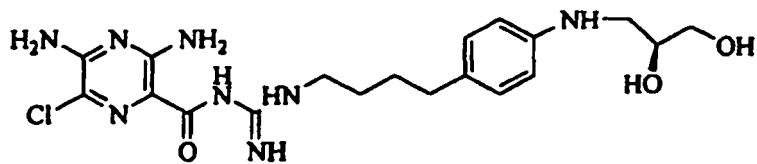


60

65

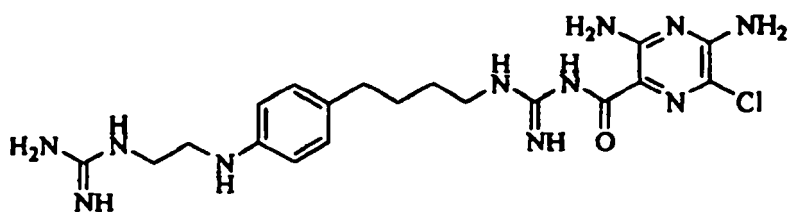
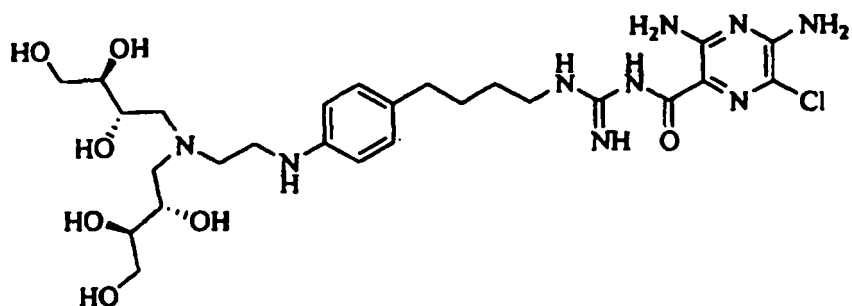
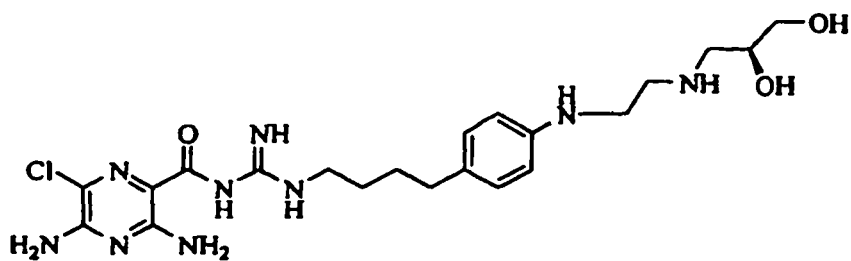
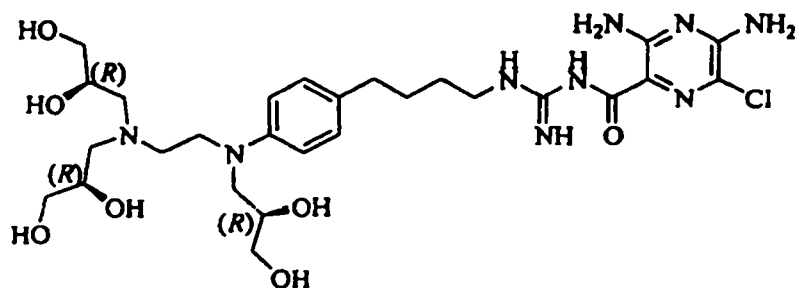
55. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R^5 es $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-(\text{Z})_g-\text{R}^7$.

56. El compuesto de la reivindicación 55, que está representado por la fórmula:



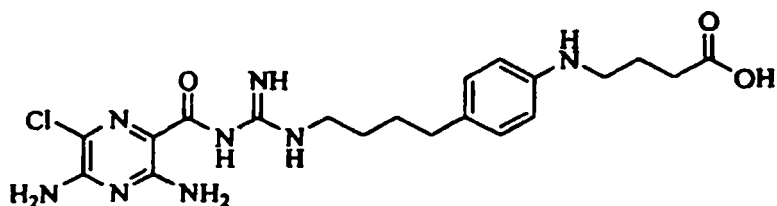
57. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R^5 es $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{NR}^{10}-\text{CH}_2(\text{CHOR}^8)(\text{CHOR}^8)_n-\text{CH}_2\text{OR}^8$.

58. El compuesto de la reivindicación 57, que está representado por una de las siguientes cuatro fórmulas:



59. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R^5 es $-(\text{Het})-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}_2\text{R}^7$.

60. El compuesto de la reivindicación 59, que está representado por la fórmula:



61. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ se selecciona del grupo que está constituido por:

- (Het)-(CH₂)_m-NR¹²R¹², - (Het)-(CH₂)_n-NR¹²R¹², - (Het)-(CH₂)_m-(Z)_gR¹²,
- (Het)-(CH₂)_mNR¹¹R¹¹, - (Het)-(CH₂)_m-N[⊖]-(R¹¹)₃,
- (Het)-(CH₂)_m-(Z)_g-(CH₂)_m-NR¹⁰R¹⁰, - (Het)-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR¹²R¹²,
- (Het)-(CH₂)_m-(C=O)NR¹²R¹², - (Het)-(CH₂)_m-(CHOR⁸)_mCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰ y
- (Het)-(CH₂)_m-NR¹⁰-(CH₂)_m-(CHOR⁸)_nCH₂NR¹⁰-(Z)_g-R¹⁰.

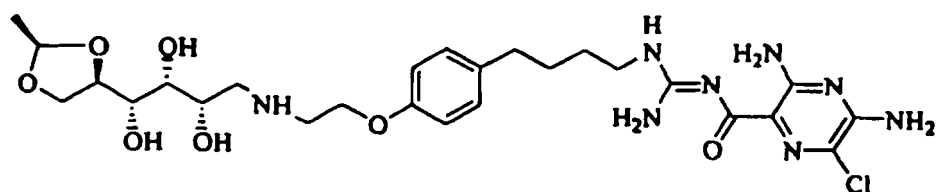
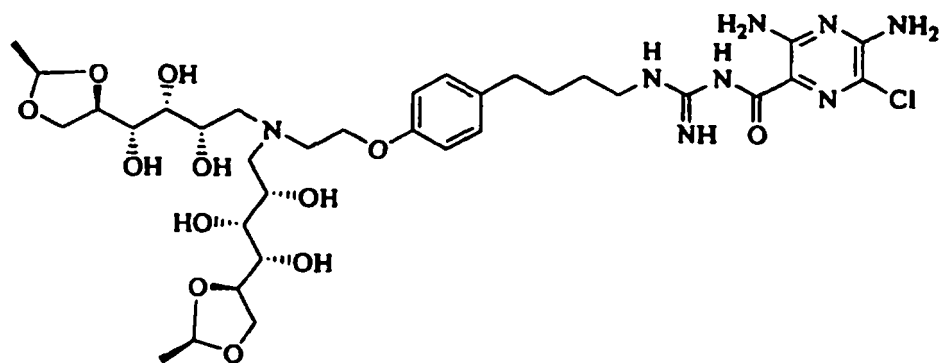
62. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que al menos dos -CH₂OR⁸ estén localizados adyacentes el uno al otro y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

63. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que al menos dos -CH₂OR⁸ estén localizados adyacentes el uno al otro y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

64. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que al menos dos -CH₂OR⁸ estén localizados adyacentes el uno al otro y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

65. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R⁵ es -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, con la condición de que al menos dos -CH₂OR⁸ estén localizados adyacentes el uno al otro y los grupos R⁸ se unan para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono o disustituido cíclico.

66. El compuesto de la reivindicación 1, que está representado por una de las siguientes seis fórmulas:



ES 2 321 100 T3

68. El compuesto de la reivindicación 60, en la que

X es cloro o bromo;

5 Y es $-N(R^7)_2$;

R^2 es hidrógeno o alquilo C_1-C_3 ;

como máximo tres R^6 son distintos de hidrógeno como se define anteriormente;

10 como máximo tres R^L son distintos de hidrógeno como se define anteriormente; y

como máximo 2 Q son átomos de nitrógeno.

15 69. El compuesto de la reivindicación 61, en la que R^5 es $-(Het)-(CH_2)_m-NR^{12}R^{12}$ y en la que Y es $-NH_2$.

70. El compuesto de la reivindicación 61, en la que R^5 es $-(Het)-(CH_2)_n-NR^{12}R^{12}$ y en la que R^4 es hidrógeno;

como máximo un R^L es distinto de hidrógeno como se define anteriormente;

20 como máximo dos R^6 son distintos de hidrógeno como se define anteriormente; y

como máximo 1 Q es un átomo de nitrógeno.

25 71. El compuesto de la reivindicación 14, en la que R^5 es $-(Het)-(CH_2)_m-(Z)_g-(CH_2)_m-NR^{10}R^{10}$.

72. Una composición farmacéutica, **caracterizada** porque comprende el compuesto según cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 73. Una composición según la reivindicación 72, que comprende además un inhibidor de P2Y2.

74. Una composición según la reivindicación 72, que comprende además un broncodilatador.

35 75. Uso de una cantidad eficaz del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 71 en la preparación de una composición farmacéutica para bloquear canales de sodio.

40

45

50

55

60

65