

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 430 288**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4965 (2006.01) **A61P 9/00** (2006.01)
C07D 241/02 (2006.01) **A61P 7/10** (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/50 (2006.01)
C07D 241/24 (2006.01)
C07D 241/28 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 27/04 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2006 E 06751598 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2013 EP 1922073**

54 Título: **Nuevos bloqueadores de los canales de sodio de pirazinoilguanidina protegidos**

30 Prioridad:

03.08.2005 US 195758

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

19.11.2013

73 Titular/es:

**PARION SCIENCES, INC. (100.0%)
2525 MERIDIAN PARKWAY, SUITE 260
DURHAM, NC 27713, US**

72 Inventor/es:

**JOHNSON, MICHAEL, R.;
MOLINO, BRUCE, F.;
SARGENT, BRUCE y
ZHANG, JIANZHONG**

74 Agente/Representante:

POLO FLORES, Carlos

ES 2 430 288 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

Nuevos bloqueadores de los canales de sodio de pirazinoilguanidina protegidos

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

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

Descripción de los antecedentes

Las superficies mucosas en la superficie de separación entre el entorno y el cuerpo han desarrollado varias
15 “defensas innatas”, es decir, mecanismos protectores. Una forma principal de tal defensa innata es limpiar estas superficies con líquido. Normalmente, la cantidad de la capa de líquido 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 contraión (Cl^- y/o HCO_3^-). Muchas enfermedades de las superficies mucosas
20 son producidas por demasiado poco líquido protector sobre aquellas superficies mucosas creado por un desequilibrio entre la secreción (demasiado poco) y la absorción (relativamente mucho). Los defectuosos procesos de transporte de sales que caracterizan estas disfunciones de la mucosa residen en la capa epitelial de la superficie mucosa.

25 Un enfoque 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 media en la etapa limitante de la tasa de Na^+ y la absorción de líquido es el canal de Na^+ epitelial (ENaC). El ENaC está situado sobre la superficie apical del epitelio, es decir, la superficie de separación del entorno de la superficie mucosa. Por tanto, para inhibir la absorción de Na^+ y de líquido mediada por ENaC, un bloqueador de ENaC de la clase amilorida (que bloquea el
30 dominio extracelular de ENaC) debe administrarse a la superficie mucosa y, lo que es más importante, mantenerse en su lugar, para lograr utilidad terapéutica. La presente invención describe enfermedades caracterizadas por demasiado poco líquido sobre superficies mucosas y bloqueadores de los canales de sodio “tópicos” diseñados para presentar la elevada potencia, reducida absorción de la mucosa y lenta disociación (“desatamiento” o desprendimiento) de ENaC requerida para la terapia de estas enfermedades.

35 La bronquitis crónica (BC), que incluye la forma genética letal más común de la bronquitis crónica, la fibrosis quística (FQ), son enfermedades que reflejan el fallo del cuerpo en limpiar el moco normalmente de los pulmones, que por último lugar produce infección crónica de las vías respiratorias. En el pulmón normal, la defensa primaria contra la infección intrapulmonar de las vías respiratorias (bronquitis crónica) está mediada por el aclaramiento continuo de
40 moco de las superficies de las vías respiratorias bronquiales. Esta función en la salud elimina eficazmente del pulmón toxinas potencialmente perjudiciales y patógenos. Datos recientes indican que el problema inicial, es decir, el “defecto básico” en tanto BC como FQ es el fallo en eliminar moco de las superficies de las vías respiratorias. El fallo en eliminar moco refleja un desequilibrio entre la cantidad de líquido y mucina sobre las superficies de las vías respiratorias. Este “líquido de las superficies de las vías respiratorias” (LSVR) está principalmente compuesto por sal
45 y agua en proporciones similares a plasma (es decir, isotónico). Las macromoléculas de mucina se organizan en una “capa de moco” bien definida que normalmente atrapa bacterias inhaladas y es transportada fuera del pulmón mediante las acciones de los 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 moco como LSVR sobre las superficies de las vías respiratorias. Esto produce una reducción relativa en LSVR, que conduce a concentración de
50 moco, reducción en la actividad lubricante del LPC y un fallo en limpiar el moco mediante actividad ciliar a la boca. La reducción en el aclaramiento mecánico de moco del pulmón conduce a la colonización bacteriana crónica de moco adherente a las superficies de las vías respiratorias. Es la retención crónica de bacterias, el fallo de las sustancias antimicrobianas locales para matar bacterias atrapadas en moco en una base crónica y las consecuentes respuestas inflamatorias crónicas del cuerpo a este tipo de infección superficial los que conducen a los síndromes de
55 BC y FQ.

La actual población aquejada en los EE.UU. es de 12.000.000 de pacientes con la forma adquirida (principalmente de la exposición al humo del tabaco) de bronquitis crónica y aproximadamente 30.000 pacientes con la forma genética, la fibrosis quística. Números aproximadamente iguales de ambas poblaciones están presentes en Europa.

En Asia hay poca FQ, pero la incidencia de BC es alta y, al igual que en el resto del mundo, está aumentando.

Actualmente hay una gran necesidad médica sin cumplir de productos que traten específicamente BC y FQ al nivel del defecto básico que causa estas enfermedades. Las actuales terapias para bronquitis crónica y fibrosis quística se basan en tratar los síntomas y/o los efectos tardíos de estas enfermedades. Así, para bronquitis crónica, agonistas β , esteroides inhalados, agentes anticolinérgicos y teofilinas orales e inhibidores de fosfodiesterasa están todos en desarrollo. Sin embargo, ninguno de estos fármacos trata eficazmente el problema fundamental del fallo en limpiar moco del pulmón. Similarmente, en fibrosis quística se usa el mismo espectro de agentes farmacológicos. Estas estrategias se han complementado por estrategias más recientes diseñadas para limpiar el pulmón con FQ del ADN ("Pulmozyme"; Genentech) que se ha depositado en el pulmón por neutrófilos que han intentado inútilmente destruir las bacterias que crecen en masas de mocos adherentes y mediante el uso de antibióticos inhalados ("TOBI") diseñados para aumentar los mecanismos de destrucción de los propios pulmones para librarse las placas de mocos adherentes de bacterias. Un principio general del cuerpo es que si la lesión inicial no se trata, en este caso retención/obstrucción de moco, las infecciones bacterianas se volverán crónicas y cada vez más resistentes a la terapia antimicrobiana. Así, una necesidad terapéutica importante sin satisfacer para tanto las enfermedades pulmonares BC como FQ es un medio eficaz de rehidratación del moco de las vías respiratorias (es decir, restaurar/expandir el volumen de LSVR) y promover su aclaramiento, con bacterias, del pulmón.

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 superficies mucosas. Estos compuestos, tipificados por los diuréticos muy conocidos amilorida, benzamil y fenamil, son eficaces. Sin embargo, estos compuestos sufren la significativa desventaja de que son (1) relativamente impotentes, que es importante debido a que la masa de fármaco que puede inhalarse por el pulmón está limitada; (2) rápidamente absorbidos, que limita la semivida del fármaco sobre la superficie mucosa; y (3) son libremente dissociables de ENaC. La suma de estas desventajas personificadas en estos diuréticos muy conocidos hace que compuestos con potencia insuficiente y/o semivida eficaz sobre las superficies mucosas tengan un beneficio terapéutico para hidratar superficies mucosas.

Claramente, lo que se necesitan son fármacos que sean más eficaces en la restauración del aclaramiento de moco de los pulmones de pacientes con BC/FQ. El valor de estas nuevas terapias se reflejará en mejoras en la calidad y duración de la vida para tanto las poblaciones con FQ como con BC.

Otras superficies mucosas en y sobre el cuerpo presentan sutiles diferencias en la fisiología normal de los líquidos 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 xerostomía (boca seca), la cavidad bucal se reduce en líquido debido a un fallo de las glándulas sublingual parótida y submandibular para secretar líquido a pesar de la absorción de líquido mediada por el transporte de Na^+ continuada (ENaC) de la cavidad bucal. Similarmente, la queratoconjuntivitis seca (ojo seco) se produce por un fallo en las glándulas lagrimales para secretar líquido en la cara de la absorción de líquido dependiente de Na^+ continuada sobre superficies de conjunción. En rinosinusitis hay un desequilibrio, como en BC, entre la secreción de mucina y la relativa reducción de LSVR. Finalmente, en el tubo gastrointestinal, el fallo en secretar C1- (y líquido) en el intestino delgado proximal, combinado con elevada absorción de Na^+ (y líquido) en el íleon terminal, conduce al síndrome de obstrucción intestinal distal (SOID). En pacientes ancianos, la excesiva absorción de Na^+ (y volumen) en el colon descendente produce estreñimiento y diverticulitis.

Cincuenta millones de estadounidenses y cientos de millones de otros en el mundo sufren hipertensión arterial y las secuelas posteriores que conducen a insuficiencia cardíaca congestiva y mortalidad creciente. Es la principal causa de mortalidad en el mundo occidental y hay una necesidad de nuevas medicinas para tratar estas enfermedades. Así, además, algunos de los novedosos bloqueadores de los canales de sodio de la presente invención pueden diseñarse para elegir como diana el riñón y como tales pueden usarse como 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 HMGCoA reductasa, bloqueadores de canales de calcio y otros agentes cardiovasculares.

RESUMEN DE LA INVENCION

Es un objetivo de la presente invención proporcionar compuestos que sean más potentes y/o se absorban menos rápidamente de superficies mucosas, y/o sean menos reversibles con respecto a compuestos conocidos.

Es otro aspecto de la presente invención proporcionar compuestos que sean más potentes y/o se absorban menos

rápida y/o presenten menos reversibilidad, con respecto a compuestos tales como amilorida, benzamil y fenamil. Por tanto, los compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada sobre superficies mucosas con respecto a compuestos conocidos.

- 5 Es otro objetivo de la presente invención proporcionar compuestos que (1) sean absorbidos menos rápidamente de superficies mucosas, especialmente superficies de las vías respiratorias, con respecto a compuestos conocidos y; (2) cuando se absorban de superficies mucosas después de la administración a las superficies mucosas, se conviertan *in vivo* en derivados metabólicos de los mismos que tienen eficacia reducida en bloquear canales de sodio con respecto al compuesto parental administrado. Es otro objetivo de la presente invención proporcionar
- 10 compuestos que sean más potentes y/o se absorban menos rápidamente y/o presenten menos reversibilidad, con respecto a compuestos tales como amilorida, benzamil y fenamil. Por tanto, tales compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada sobre superficies mucosas con respecto a compuestos previos.

Es otro objetivo de la presente invención proporcionar compuestos que eligen como diana el riñón para su uso en el

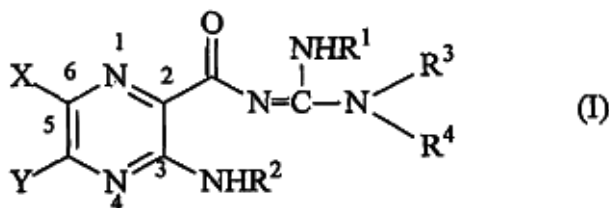
15 tratamiento de enfermedad cardiovascular.

Es otro objetivo de la presente invención proporcionar usos que se aprovechan de las propiedades farmacológicas de los compuestos descritos anteriormente.

- 20 En particular, es un objetivo de la presente invención proporcionar usos que se basan en la hidratación de superficies mucosas.

En particular, es un objetivo de la presente invención proporcionar usos para tratar enfermedad cardiovascular.

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



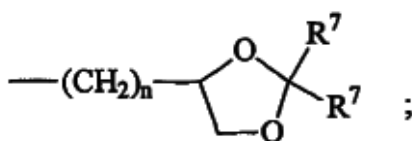
- 30 en la que

X es hidrógeno, halógeno, trifluorometilo, alquilo C₁-C₇, fenilo sin sustituir o sustituido, alquiltio C₁-C₇, fenil-alquiltio C₁-C₇, alquil C₁-C₇-sulfonilo o fenil-alquil C₁-C₇-sulfonilo;

- 35 Y es hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi C₁-C₇, alquiltio C₁-C₇, halógeno, alquilo C₁-C₇, grupo fenilo sin sustituir o sustituido o -N(R²)₂;

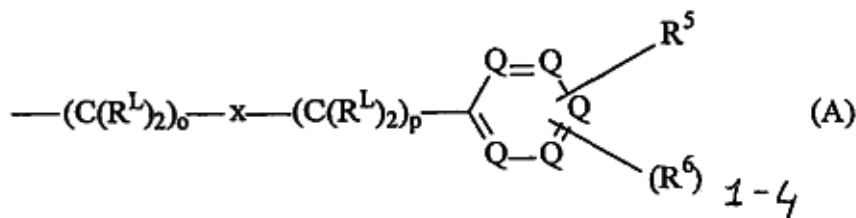
R¹ es hidrógeno o alquilo C₁-C₇;

- 40 cada R² es, independientemente, -R⁷, -(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z₉-R⁷, -(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, o



- 45 R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno, un grupo representado por la fórmula (A), alquilo C₁-C₇,

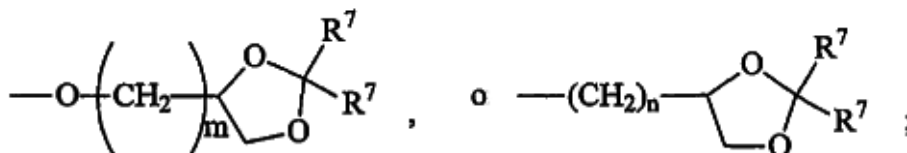
hidroxialquilo C₁-C₇, fenilo, fenilalquilo C₁-C₇, (halofenil)-alquilo C₁-C₇, -(alquilfenilalquilo), (alcoxfenil)-alquilo, naftalquilo o piridilalquilo, con la condición de que al menos uno de R³ y R⁴ sea un grupo representado por la fórmula (A):



5

en la que

10 cada R^L es, independientemente, -R⁷, -(CH₂)_n-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z-R⁷, -O-(CH₂)_m-Z-R⁷, -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, -O-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -OSO₃H, -O-glucurónido, -O-glucosa,



15

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

cada p es un número entero de cero a 10;

20

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-, -NR¹⁰-, -C(=O)-, -CHOH-, -C(=N-R¹⁰)-, -CHNR⁷R¹⁰-, o representa un enlace sencillo;

25

30 cada R⁵ es, independientemente, -Enlace-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CAP, -Enlace-(CH₂CH₂O)_m-CH₂-CAP, -Enlace-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂-CAP, -Enlace-(CH₂)_m-Z-R⁷-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-Z-R⁷-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-NR¹³-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-(CHOR⁸)_m-CH₂-NR¹³-(Z)_g-CAP, -Enlace-(CH₂)_nNR¹³-(CH₂)_m(CHOR⁸)_nCH₂NR¹³-(Z)_g-CAP, -Enlace-(CH₂)_m-Z-R⁷-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-NH-C(=O)-NH-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_m-C(=O)NR¹³-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-Z-R⁷-(CH₂)_m-Z-R⁷-CAP, o -Enlace-Z_g-(CH₂)_m-Het-(CH₂)_m-CAP;

cada Enlace es, independientemente, -O-, -(CH₂)_m-, -O(CH₂)_m-, -NR¹³-C(=O)-NR¹³-, -NR¹³-C(=O)-(CH₂)_m-, -C(=O)NR¹³-(CH₂)_m-, -(CH₂)_n-Z_g-(CH₂)_n-, -S-, -SO-, -SO₂-, -SO₂NR⁷-, -SO₂NR¹⁰- o -Het-;

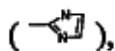
35

cada CAP es, independientemente, -CR¹⁰-(CH₂)_m-R⁹-(CH₂)_m-R⁹, cada Ar es, independientemente, fenilo, fenilo

sustituido, en el que dicho sustituyente se selecciona de 1-3 grupos, independientemente, del grupo que consiste en -OH, -OCH₃, -NR¹³R¹³, -Cl, -F y -CH₃, o heteroarilo;

40

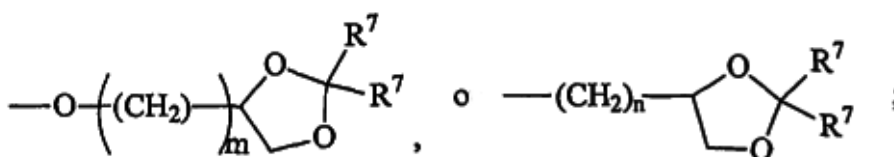
en la que heteroarilo está seleccionado del grupo que consiste en piridina, pirazina, tinazina, furilo, furfural, tienilo, tetrazol, tiazolidindiona e imidazoilo



pirrol, furano, tiofeno, piridina, quinolina, indol, adenina, pirazol, imidazol, tiazol, isoxazol, indol, bencimidazol, purina, quinolina, isoquinolina, piridazina, pirimidina, pirazina, 1,2,3-triazina, 1,2,4-triazina, 1,3,5-triazina, cinolina, ftalazina, quinazolina, quinoxalina y pteridina;

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

10



en la que si dos R^6 son $-OR^{11}$ y están situados adyacentes entre sí sobre un anillo de fenilo, los restos alquilo de los dos R^6 pueden unirse juntos para formar un grupo metilendioxi;

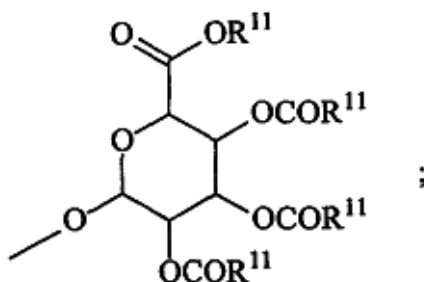
15

con la condición de que cuando al menos dos $-CH_2OR^8$ estén situados adyacentes entre sí, los grupos R^8 puedan unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono- o di-sustituido cíclico,

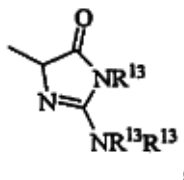
cada R^7 es, independientemente, hidrógeno alquilo, fenilo, fenilo sustituido o $-CH_2(CHOR^8)_m-R^{10}$;

20

cada R^8 es, independientemente, hidrógeno, alquilo, $-C(=O)-R^{11}$, glucurónido, 2-tetrahidropiraniolo, o



- 25 cada R^9 es, independientemente, $-CO_2R^{13}$, tiazolidindiona, oxazolidindiona, $-O-C(=S)NR^{13}R^{13}$, $-Z_gR^{13}$, $-C(=O)OAr$, $-C(=O)NR^{13}Ar$, imidazolina, tetrazol, tetrazolamida, $-SO_2NHR^{13}$, $-SO_2NH-C(R^{13}R^{13})-(Z)_g-R^{13}$, $-C(=O)NR^{10}Ar$, $-SO_2NR^7R^7$,



30

cada R^{10} es, independientemente, $-H$, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^{13}$, $-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-C(=O)R^{13}$ o $-(CH_2)_m-(CHOH)_n-CH_2OH$;

cada Z es, independientemente, $-CHOH-$, $-C(=O)-$, $-CHNR^{13}R^{13}-$, $-C=NR^{13}-$ o $-NR^{13}-$;

35

cada R^{11} es, independientemente, alquilo;

cada R^{12} es, independientemente, $-SO_2CH_3$, $-CO_2R^{13}$, $-C(=O)NR^{13}R^{13}$, $-C(=O)R^{13}$ o $-CH_2-(CHOH)_n-CH_2OH$;

cada R^{13} es, independientemente, $-R^7$;

cada Het es, independientemente, $-NR^{13}$ -, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-O-$, $-SO_2NR^{13}$ -, $-NHSO_2-$, $-NR^{13}CO-$ o $-CONR^{13}-$;

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

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

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

10

cada Q es, independientemente, $C-R^5$, $C-R^6$, o un átomo de nitrógeno, en el que como máximo tres Q en un anillo son átomos de nitrógeno;

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

con la condición de que si V está unido directamente a un átomo de nitrógeno, entonces V también puede ser, independientemente, R^7 , R^{10} o $(R^{11})_2$;

20 en la que si dos grupos $-CH_2OR^8$ se localizan 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 di-sustituido cíclico;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, e

25 incluidos todos los enantiómeros, diaestereómeros y mezclas racémicas de los mismos.

La presente también proporciona composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto descrito anteriormente.

30 La presente invención también proporciona un uso para promover la hidratación de superficies mucosas, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a una superficie mucosa de un sujeto.

35 La presente invención también proporciona un uso para restaurar la defensa de la mucosa, que comprende:

administrar tópicamente una cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I) a una superficie mucosa de un sujeto en necesidad del mismo.

40 La presente invención también proporciona un uso para bloquear ENaC, que comprende:

poner en contacto canales de sodio con una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I).

45 La presente invención también proporciona un uso para promover el aclaramiento de moco en superficies mucosas, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a una superficie mucosa de un sujeto.

50 La presente invención también proporciona un uso para tratar bronquitis crónica, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

55 La presente invención también proporciona un uso para tratar fibrosis quística, que comprende:

administrar una cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un uso para tratar rinosinusitis, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por una fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

5 La presente invención también proporciona un uso para tratar deshidratación nasal, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a las fosas nasales de un sujeto en necesidad del mismo.

10 En una realización específica, la deshidratación nasal se provoca administrando oxígeno seco al sujeto.

La presente invención también proporciona un uso para tratar sinusitis, que comprende:

15 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un uso para tratar neumonía, que comprende:

20 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un uso para prevenir neumonía inducida por ventilador, que comprende:

25 administrar un compuesto eficaz representado por la fórmula (I) a un sujeto por medio de un ventilador.

La presente invención también proporciona tratar asma, que comprende:

30 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar discinesia ciliar primaria, que comprende:

35 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar otitis media, que comprende:

40 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar la inducción de esputo para fines de diagnóstico, que comprende:

administrar una cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

45 La presente invención también proporciona tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

50 La presente invención también proporciona tratar enfisema, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

55 La presente invención también proporciona tratar ojo seco, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) al ojo del sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona promover la hidratación ocular, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) al ojo del sujeto.

5 La presente invención también proporciona tratar promover la hidratación de la córnea, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) al ojo del sujeto.

La presente invención también proporciona tratar enfermedad de Sjögren, que comprende:

10

administrar una cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar sequedad vaginal, que comprende:

15 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) al tracto vaginal de un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar piel seca, que comprende:

20 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a la piel de un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar boca seca (xerostomía), que comprende:

25 administrar una cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I) a la boca del sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar síndrome de obstrucción intestinal distal, que comprende:

30 administrar una cantidad eficaz del compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar esofagitis, que comprende:

35 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar estreñimiento, que comprende:

40 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo. En una realización de este uso, el compuesto se administra tanto por vía oral como por un supositorio o enema.

La presente invención también proporciona tratar diverticulitis crónica, que comprende:

45 administrar una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona tratar hipertensión, que comprende administrar el compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

50

La presente invención también proporciona un uso para reducir tensión arterial, que comprende administrar el compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

55 La presente invención también proporciona un uso para tratar edema, que comprende administrar el compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un uso para promover diuresis, que comprende administrar el compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un uso para promover natriuresis, que comprende administrar el compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un uso para promover saluresis, que comprende administrar el compuesto representado por la fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

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

15 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 tienen eficacia reducida en bloquear los canales de sodio con respecto al compuesto administrado parental, después de absorberse de 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.

La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos englobados por la fórmula (1) eligen como diana el riñón y así pueden usarse como agentes cardiovasculares.

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

Ejemplos de halógeno incluyen flúor, cloro, bromo y yodo. Cloro y bromo son los halógenos preferidos. El cloro es particularmente preferido. Esta descripción es aplicable al término "halógeno" como se usa en toda la presente divulgación.

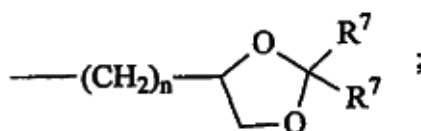
35 Como se usa en el presente documento, el término "alquilo inferior" significa un grupo alquilo que tiene menos de 8 átomos de carbono. Este intervalo incluye todos los valores específicos de átomos de carbono y subintervalos intermedios, concretamente 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 átomos de carbono. El término "alquilo" engloba todos los tipos de tales grupos, por ejemplo, grupos alquilo lineal, ramificado y cíclico. Esta descripción es aplicable 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, etc.

40 Sustituyentes para el grupo fenilo incluyen halógenos. Sustituyentes de halógeno particularmente preferidos son cloro y bromo.

Y puede ser hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi inferior, alquiltio inferior, halógeno, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, arilo mononuclear o -N(R²)₂. El resto alquilo de los grupos alcoxi inferior es el mismo que se ha descrito anteriormente. Ejemplos de arilo mononuclear incluyen grupos fenilo. El grupo fenilo puede estar sin sustituir o sustituido como se ha descrito anteriormente. La identidad preferida de Y es -N(R²)₂. Particularmente se prefieren compuestos tales en los que cada R² es hidrógeno.

R¹ puede ser hidrógeno o alquilo inferior. Hidrógeno se prefiere para R¹.

50 Cada R² puede ser, independientemente, -R⁷, -(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z₉-R⁷, -(CH₂)_m-NR¹⁰, CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, o



55

Hidrógeno y alquilo inferior, particularmente alquilo C₁-C₃, se prefieren para R². Se prefiere particularmente hidrógeno.

5 R³ y R⁴ 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, naftil-alquilo inferior o piridil-alquilo inferior, a condición de que al menos uno de R³ y R⁴ sea un grupo representado por la fórmula (A).

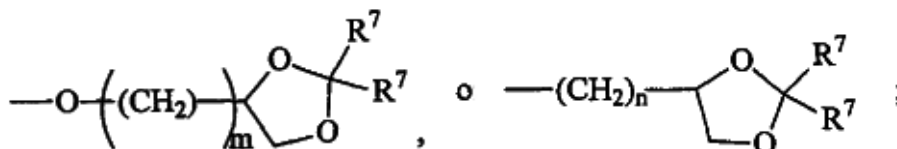
10 Compuestos preferidos son aquellos en los que uno de R³ y R⁴ es hidrógeno y el otro se representa por la fórmula (A).

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 cero a 10, sujeto a la condición de que la suma de o y p en la cadena sea de 1 a 10. Así, 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 enlace en la cadena de alquileo, x, puede ser, independientemente, O, NR¹⁰, C(=O), CHOH, C(=N-R¹⁰), CHNR⁷R¹⁰, o representa un enlace sencillo.

20 Por tanto, si x representa un enlace sencillo, la cadena de alquileo unida al anillo se representa por la fórmula -(C(R^L)₂)_{o+p}- en que la suma o+p es de 1 a 10.

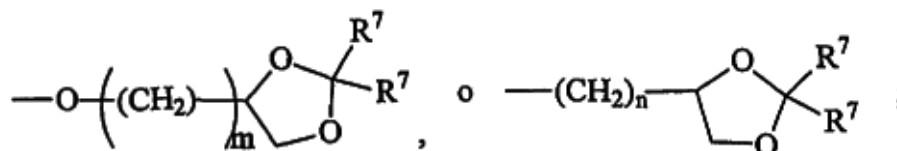
Cada R^L puede ser, independientemente, -R⁷, -(CH₂)_n-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, (CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰,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



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

35 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 a ese 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, siendo los otros grupos R^L en la cadena hidrógenos. Incluso más preferentemente, solo un grupo R^L en una cadena de alquileo es distinto de hidrógeno, siendo los otros grupos R^L en la cadena hidrógenos. En estas realizaciones es preferible que x represente un enlace sencillo.

40 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 -(CH₂)_o-x-(CH₂)_p-.



Como se trata anteriormente, R⁶ puede ser hidrógeno. Por tanto, 1, 2, 3 ó 4 grupos R⁶ pueden ser distintos de hidrógeno. Preferentemente como máximo 3 de los grupos R⁶ 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.

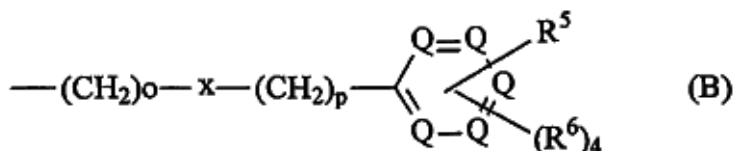
Cada m es un número entero de 1 a 7. Por tanto, cada m puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7.

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

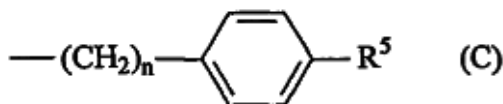
Cada Q en la fórmula (A) es C-R⁵, C-R⁶, o un átomo de nitrógeno, siendo como máximo tres Q en un anillo átomos de nitrógeno. Así, puede haber 1, 2 ó 3 átomos de nitrógeno en un anillo. Preferentemente, como máximo dos Q son átomos de nitrógeno. Más preferentemente, como máximo un Q es un átomo de nitrógeno. En una realización particular, el átomo de nitrógeno está en la posición 3 del anillo. En otra realización de la invención, cada Q es tanto C-R⁵ como C-R⁶, es decir, no hay átomos de nitrógeno en el anillo.

Más ejemplos específicos de grupos adecuados representados por la fórmula (A) se muestran en las siguientes fórmulas (B)-(E):

15

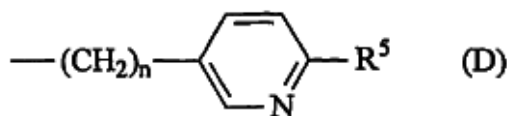


en la que o, x, p, R⁵ y R⁶ son como se han definido anteriormente;



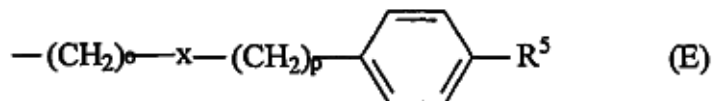
20

en la que n es un número entero de 1 a 10 y R⁵ es como se ha definido anteriormente;



25

en la que n es un número entero de 1 a 10 y R⁵ es como se ha definido anteriormente;



30 en la que o, x, p, y R⁵ son como se han definido anteriormente.

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

En otra realización preferida, R² es hidrógeno.

35

En otra realización preferida, R¹ es hidrógeno.

En otra realización preferida, X es cloro.

40 En otra realización preferida, R³ es hidrógeno.

En otra realización preferida, R⁴ es hidrógeno.

En otra realización preferida, o es 4.

En otra realización preferida, p es 0.

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

En otra realización preferida, x representa un enlace sencillo.

En otra realización preferida, R⁶ es hidrógeno.

10

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

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

15 En una realización preferida de la presente invención:

X es halógeno;

Y es -N(R¹)₂;

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

20 R² es -R⁷, -OR⁷, CH₂OR⁷ o -CO₂R⁷;

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

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

En otra realización preferida de la presente invención:

25

X es cloro o bromo;

Y es -N(R⁷)₂;

R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

como máximo tres R⁶ son distintos de hidrógeno como se ha descrito anteriormente;

30 como máximo tres R¹ son distintos de hidrógeno como se ha descrito anteriormente; y

como máximo 2 Q son átomos de nitrógeno.

En otra realización preferida de la presente invención:

35 Y es -NH₂;

En otra realización preferida de la presente invención:

R⁴ es hidrógeno;

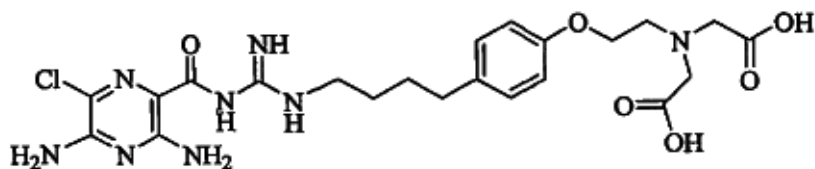
40 como máximo un R¹ es distinto de hidrógeno como se ha descrito anteriormente;

como máximo dos R⁶ son distintos de hidrógeno como se ha descrito anteriormente; y

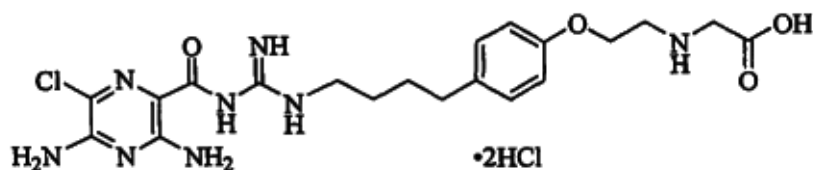
como máximo 1 Q es un átomo de nitrógeno.

En otra realización preferida de la presente invención, el compuesto de fórmula (1) se representa por la fórmula:

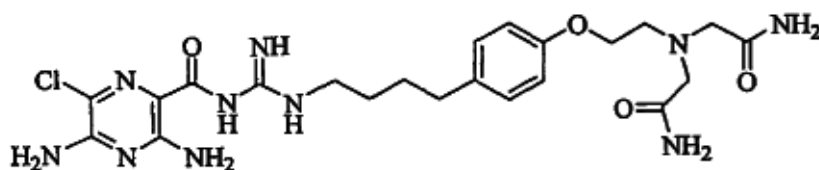
45



En otra realización preferida de la presente invención, el compuesto de fórmula (1) se representa por la fórmula:

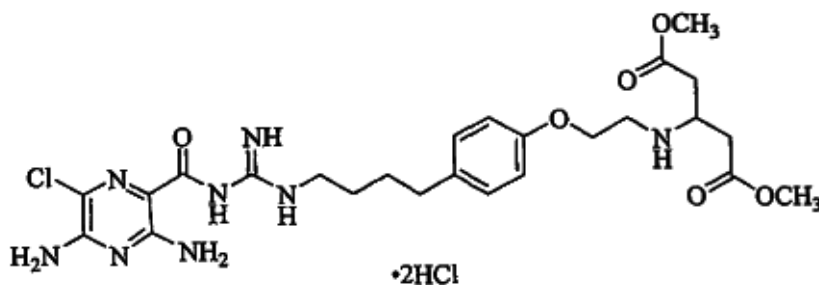


En otra realización preferida de la presente invención, el compuesto de fórmula (1) se representa por la fórmula:



5

En otra realización preferida de la presente invención, el compuesto de fórmula (1) se representa por la fórmula:



10

Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse y usarse como 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 parental 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 y similares; (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 alginico, ácido poliglutámico, ácido naftalenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico y similares; y (c) sales formadas a partir de aniones elementales, por ejemplo, cloro, bromo, y yodo.

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 teoría particular alguna, se cree que los compuestos de fórmula (I) funcionan *in vivo* de bloqueadores de los canales de sodio. Bloqueando los canales de sodio epiteliales presentes en 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 superficies mucosas, reequilibra el sistema, y así trata la enfermedad.

La presente invención también proporciona usos que se aprovechan de las propiedades de los compuestos de fórmula (I) tratados anteriormente. Así, los sujetos que pueden tratarse por los compuestos de la presente invención incluyen pacientes aquejados de fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad respiratoria obstructiva crónica, pacientes artificialmente ventilados, pacientes con neumonía aguda, etc. 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 superficies de la mucosa respiratoria mediante aerosol (líquido o polvos secos) o lavado.

Los sujetos que pueden tratarse por los compuestos de la presente invención también incluyen pacientes a los que se administra oxígeno suplementario nasalmente (una pauta que tiende a secar las superficies de las vías respiratorias); pacientes aquejados de una enfermedad o respuesta alérgica (por ejemplo, una respuesta alérgica al polen, polvo, pelo o partículas de animal, insectos o partículas de insecto, etc.) que afecta las superficies de las vías respiratorias nasales; pacientes aquejados de una infección bacteriana (por ejemplo, infecciones por estafilococos tales como infecciones por *Staphylococcus aureus*, infecciones por *Hemophilus influenza*, infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, etc.) de las superficies de las vías respiratorias nasales; pacientes aquejados de una enfermedad inflamatoria que afecta las superficies de las vías respiratorias nasales; o pacientes aquejados de sinusitis (en los que el agente activo o agentes 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 combinado, rinosinusitis. La invención puede administrarse a superficies rinosinusales por administración tópica, que incluye aerosoles y gotas.

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

Los compuestos de la presente invención también son útiles para tratar una variedad de funciones relacionadas con el sistema cardiovascular. Así, los compuestos de la presente invención son útiles para su 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 bloqueadores beta, inhibidores de ACE, inhibidores de HMGCoA reductasa, bloqueadores de canales de calcio y otros agentes cardiovasculares para tratar hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva y reducir mortalidad cardiovascular.

La presente invención se refiere principalmente 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, se emplean composiciones de base libre para proporcionar 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 está disponible para inducir una respuesta fisiológica, pero sirve de depósito de fármaco biodisponible que se disuelve gradualmente en 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) se incluye en la composición en una cantidad eficaz para inhibir la reabsorción de agua por superficies de la mucosa.

Los compuestos de la presente invención también pueden usarse conjuntamente con un agonista de receptor de P2Y2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (también algunas veces denominado un "agente activo" en el presente documento). La composición puede comprender además un agonista de receptor de P2Y2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (también algunas veces denominado un "agente activo" en el presente documento). El agonista de receptor de 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. Agonistas de receptores de 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.

También pueden usarse broncodilatadores en combinación con compuestos de la presente invención. Estos broncodilatadores incluyen, agonistas β -adrenérgicos que incluyen, pero no se limitan a, epinefrina, isoproterenol, fenoterol, albuterol, terbutalina, pirbuterol, bitolterol, metaproterenol, iosetarina, xinafoato de salmeterol, además de agentes anticolinérgicos que incluyen, pero no se limitan a, bromuro de ipratropio, además de compuestos tales como teofilina y aminofilina. Estos compuestos pueden administrarse según técnicas conocidas, tanto antes de

como simultáneamente con los compuestos activos descritos en el presente documento.

Otro aspecto de la presente invención es una formulación farmacéutica que comprende un compuesto activo como se ha descrito anteriormente en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una disolución acuosa de 5 vehículo). En general, el compuesto activo se incluye en la composición en una cantidad eficaz para tratar superficies de la mucosa, tales como inhibiendo la reabsorción de agua por superficies de la mucosa, que incluyen las vías respiratorias y otras superficies.

Los compuestos activos desvelados en el presente documento pueden administrarse a superficies de la mucosa por 10 cualquier medio adecuado, que incluye tópicamente, por vía oral, rectalmente, vaginalmente, ocularmente y dérmicamente, etc. Por ejemplo, para el tratamiento de estreñimiento, los compuestos activos pueden administrarse por vía oral o rectalmente a la superficie de la mucosa gastrointestinal. El compuesto activo puede combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable en cualquier forma adecuada, tal como solución salina fisiológica o diluida estéril o disolución tópica, como una gotita, comprimido o similares para administración por vía oral, como un 15 supositorio para administración rectal o genito-uretral, etc. Los excipientes pueden incluirse en la formulación para potenciar la solubilidad de los compuestos activos, según se desee.

Los compuestos activos desvelados en el presente documento pueden administrarse a las superficies de las vías respiratorias de un paciente por cualquier medio adecuado, que incluye como un espray, niebla o gotitas de los 20 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. nº 5.789.391 a Jacobus.

Agentes activos particulados sólidos o líquidos preparados para poner en práctica la presente invención podrían 25 incluir, como se observa anteriormente, partículas de tamaño respirable o no respirable; es decir, para partículas respirables, partículas de un tamaño suficientemente pequeño para pasar a través de la boca y la laringe tras la inhalación y en los bronquios y alveolos de los pulmones, y para partículas no respirables, partículas suficientemente grandes para ser retenidas en las fosas nasales en vez de pasar por la laringe y en los bronquios y alveolos de los pulmones. En general, las partículas que oscilan de aproximadamente 1 a 5 micrómetros de tamaño (más 30 particularmente, menos de aproximadamente 4,7 micrómetros de tamaño) son respirables. Las partículas de tamaño no respirable son mayores de aproximadamente 5 micrómetros de tamaño, hasta el tamaño de gotitas visibles. Así, para administración nasal, un tamaño de partícula en el intervalo de 10-500 µm puede usarse para garantizar la retención en la fosa nasal.

35 En la fabricación de una formulación según la invención, los agentes activos o las sales fisiológicamente aceptables o bases libres 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 se formula preferentemente con el compuesto como una formulación en dosis unitaria, por ejemplo, una cápsula, que puede contener del 0,5% al 99% en peso del 40 compuesto activo. Uno o más compuestos activos pueden incorporarse en las formulaciones de la invención, formulaciones que pueden prepararse por cualquiera de las técnicas muy conocidas de la farmacia que consisten esencialmente en mezclar los componentes.

Las composiciones que contienen partículas secas respirables o no respirables de agente activo micronizado 45 pueden prepararse moliendo el agente activo seco con un mortero y pistilo, y luego pasando la composición micronizada a través de un tamiz de 400 de malla para romper o separar aglomerados grandes.

La composición de agente activo particulado 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 50 cualquier relación adecuada (por ejemplo, una relación en peso de 1 a 1).

Los compuestos activos desvelados en el presente documento pueden administrarse a superficies de las vías respiratorias, que incluyen las fosas nasales, senos y pulmones de un sujeto, por un medio adecuado conocido en la materia, tal como por gotas nasales, nieblas, etc. En una realización de la invención, los compuestos activos de la 55 presente invención se administran por lavado transbroncoscópico. En una realización preferida de la invención, 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 el sujeto inhala. 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 los desvelados en las patentes de EE.UU. n° 5.740.794; 5.654.007; 5.458.135; 5.775.320; y 5.785.049. El solicitante piensa específicamente que las divulgaciones de todas las referencias de patentes citadas en el presente documento se incorporan por referencia en el presente documento en su totalidad. También pueden emplearse inhaladores tales como aquellos desarrollados por Dura Pharmaceuticals, Inc., San Diego, California, EE.UU., que incluyen, pero no se limitan a, los 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, pero no se limitan a, los 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 por 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 tanto por medio de la aceleración de gas comprimido, normalmente aire u oxígeno, a través de un estrecho orificio de venturi como por medio de agitación ultrasónica. Formulaciones adecuadas para su uso en nebulizadores consisten en 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 pirógenos) o disolución alcohólica acuosa diluida. También pueden usarse vehículos de perfluorocarburo. Aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no se ha esterilizado, 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 asimismo producirse con cualquier generador de aerosol de medicamento particulado sólido. Los generadores de aerosol para administrar medicamentos particulados sólidos a un sujeto producen partículas que son respirables, como se ha explicado anteriormente, y generan un volumen de aerosol que contiene la dosis medida predeterminada a una tasa adecuada para administración humana. Un tipo ilustrativo de generador de aerosol particulado sólido es un insuflador. Formulaciones adecuadas para administración por insuflación incluyen polvos finamente triturados que pueden administrarse por medio de un insuflador o tomarse en la fosa nasal en el modo de una inhalación por la nariz. En el insuflador, el polvo (por ejemplo, una dosis medida del mismo eficaz para llevar a cabo los tratamientos descritos en el presente documento) está contenido en cápsulas o cartuchos, normalmente hechos de gelatina o plástico, que o bien 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 tanto únicamente por el principio activo como por la mezcla en 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 medidas. Los inhaladores de dosis medidas son dispensadores de aerosol presurizados que normalmente contienen una formulación en suspensión o en 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 medido, normalmente de 10 a 150 μ l, para producir un spray de partículas finas que contiene el principio activo. 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 tasa 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 el presente 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.

En otra realización, 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 de 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 proporcionarse como una unidad preenvasada mediante cualquier medio adecuado (por ejemplo, encapsulando una cápsula de gelatina).

En una realización de la invención, la composición de agente activo particulado puede contener tanto una base libre de agente activo como una sal farmacéuticamente aceptable para proporcionar tanto una liberación inmediata como una liberación sostenida del agente activo para la disolución en las secreciones de moco de la nariz. Una composición tal sirve para proporcionar tanto un alivio inmediato al paciente como un alivio sostenido con el tiempo. Se espera que el alivio sostenido, disminuyendo el número de administraciones diarias requeridas, aumente el cumplimiento del paciente con el transcurso de los tratamientos de agente activo.

Formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración a las vías respiratorias incluyen formulaciones de disoluciones, emulsiones, suspensiones y extractos. Véase generalmente, J. Nairn, Solutions, Emulsions, Suspensions and Extracts, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, capítulo 86 (19ª ed 1995). Formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración nasal pueden prepararse como se describe en las patentes de EE.UU. nº 4.389.393 a Schor; 5.707.644 a Illum; 4.294.829 a Suzuki; y 4.835.142 a Suzuki.

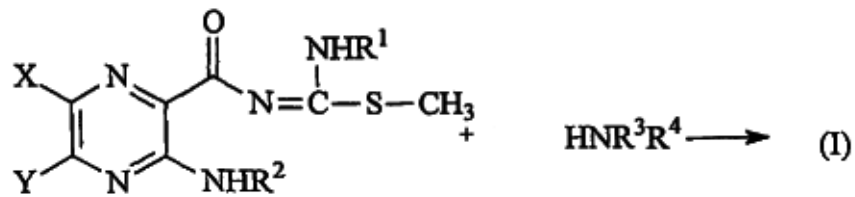
Las nieblas o aerosoles de partículas líquidas que comprenden el compuesto activo pueden producirse mediante cualquier medio adecuado, tal como mediante un simple aerosol nasal con el agente activo en un vehículo acuoso farmacéuticamente aceptable, tal como una solución salina estéril o agua estéril. La administración puede ser con un nebulizador de aerosol accionado a presión o un nebulizador ultrasónico. Véanse, por ejemplo las patentes de EE.UU. nº 4.501.729 y 5.656.256.

Formulaciones adecuadas para uso en una gotita nasal o botella de espray o 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. Normalmente el vehículo es agua (y lo más preferentemente agua estéril sin pirógenos) o disolución alcohólica acuosa diluida, preferentemente preparada en una disolución del 0,12% al 0,8% de cloruro sódico. Aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no se esteriliza, por ejemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, aromatizantes, aceites volátiles, agentes de tamponamiento, agentes osmóticamente activos (por ejemplo, manitol, xilitol, eritritol) y tensioactivos.

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

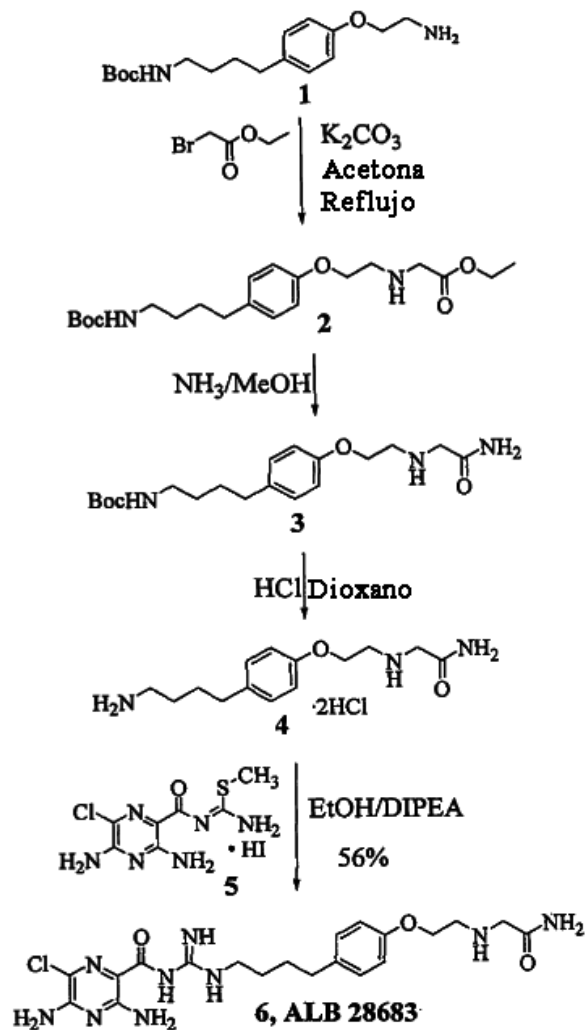
La composición particulada puede contener opcionalmente un dispersante que sirve para facilitar la formación de un aerosol. Un dispersante adecuado es lactosa, que puede mezclarse con el agente activo en cualquier relación adecuada (por ejemplo, una relación de 1 a 1 en peso).

Los compuestos de fórmula (I) pueden sintetizarse según procedimientos conocidos en la técnica. Un procedimiento de síntesis representativo se muestra en el siguiente esquema.

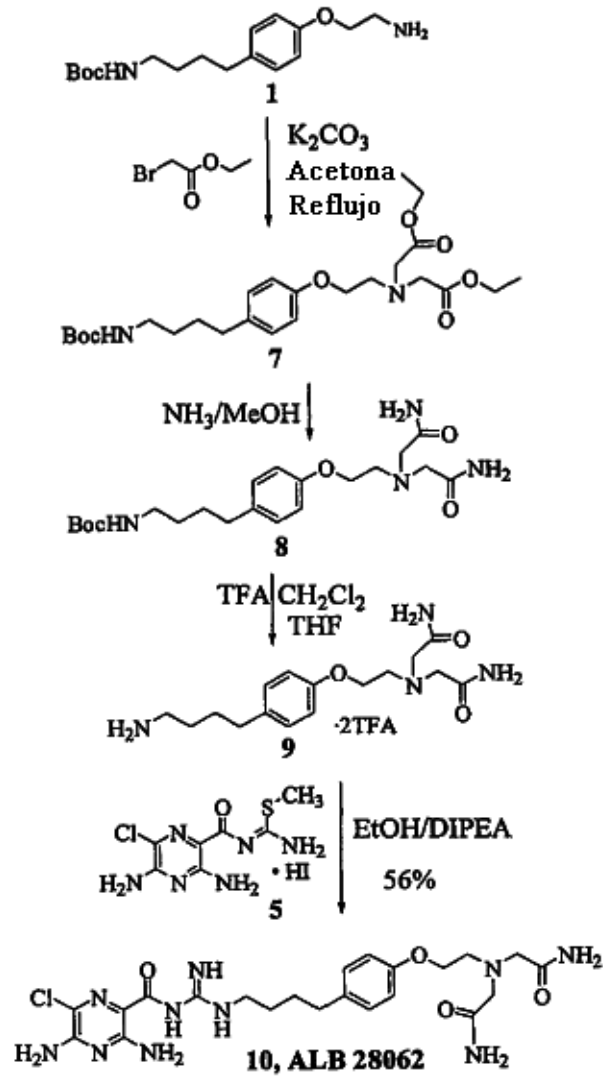


Estos procedimientos se describen en, por ejemplo, E.J. Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and Its Analogs" (Capítulo 3) en Amiloride and Its Analogs, pág. 25-36. Otros procedimientos de preparación de los compuestos se describen en, por ejemplo, el documento U.S. 3.313.813. Véanse en particular los Procedimientos A, B, C y D descritos en el documento U.S. 3.313.813. Otros procedimientos útiles para la preparación de estos compuestos, especialmente para la preparación del novedoso fragmento de HNR³R⁴, se describen en, por ejemplo, los documentos U.S. 6.858.614; U.S. 6.858.615; las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. US2004/0162296A1 y US2005/008009A1. Los Esquemas 1 a 5 son representativos, pero no se limitan a, procedimientos usados para preparar los bloqueadores de los canales de sodio descritos en el presente documento.

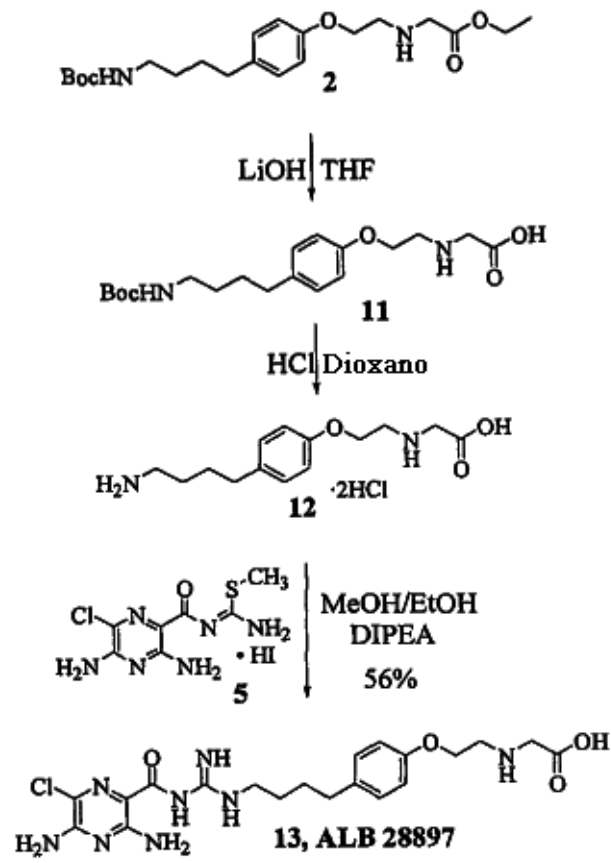
Esquema 1: Síntesis de ALB 28683



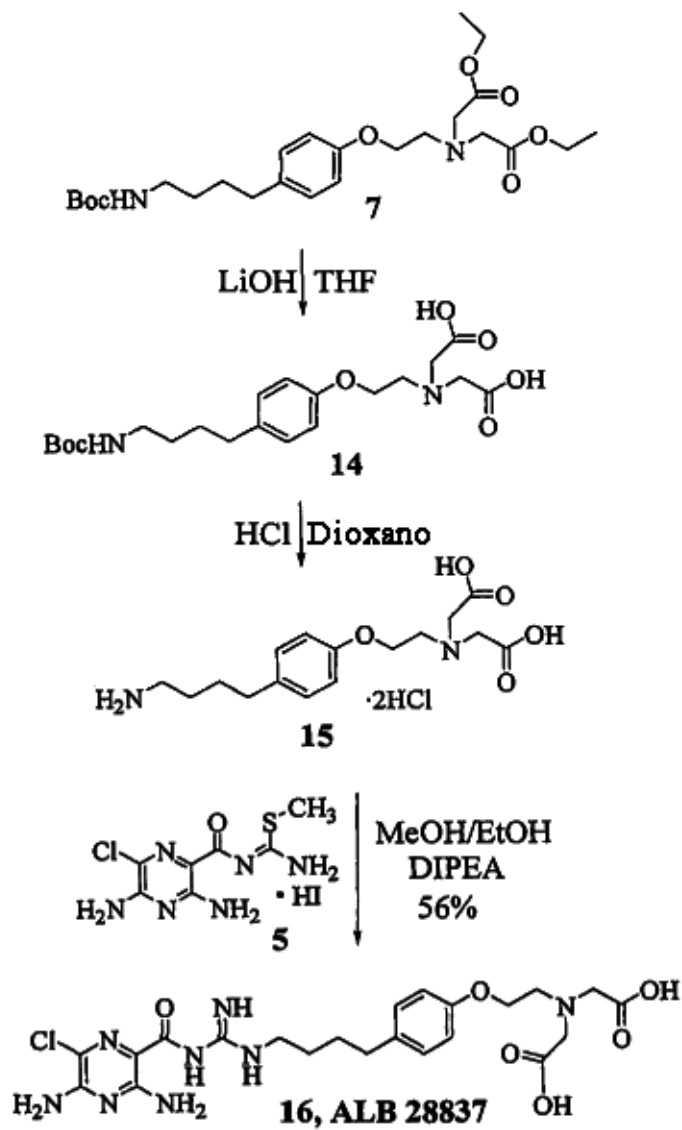
Esquema 2: Síntesis de ALB 28062



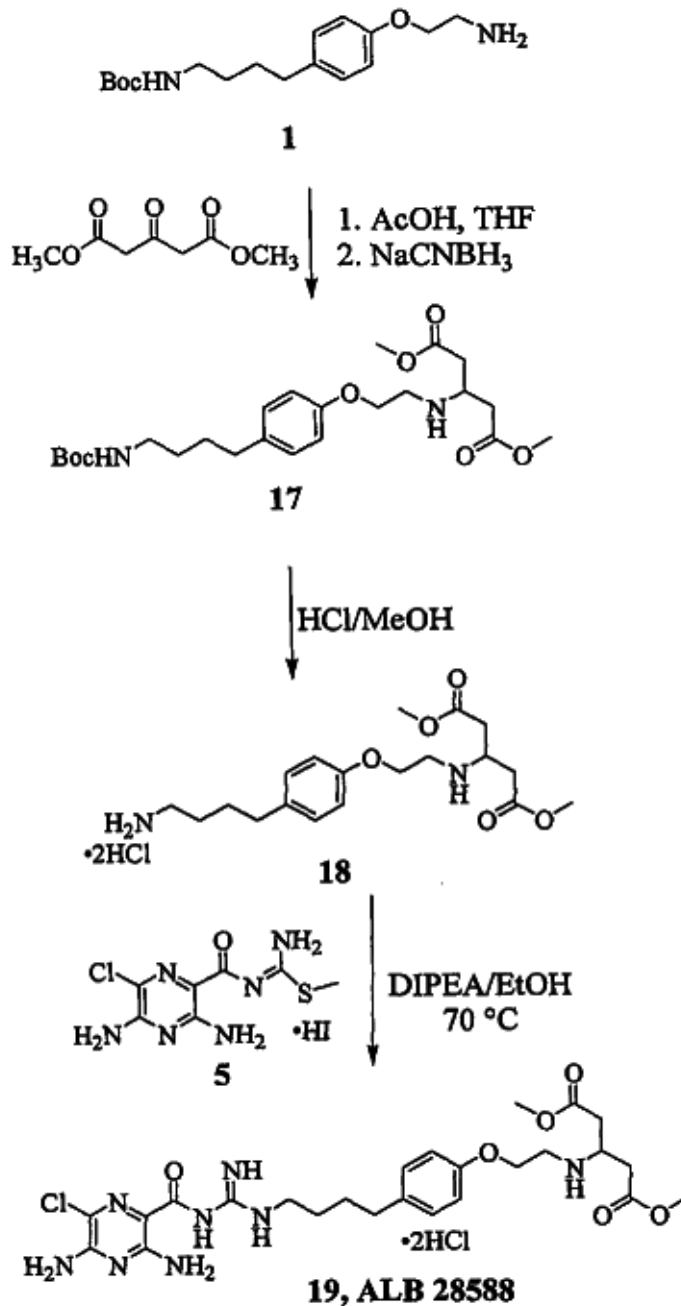
Esquema 3: Síntesis de ALB 28897



Esquema 4: Síntesis de ALB 28837



Esquema 5: Síntesis de ALB 28588



5 Pueden usarse varios ensayos para caracterizar los compuestos de la presente invención. Ensayos representativos se tratan a continuación.

Medida *in vitro* de la actividad y reversibilidad del bloqueo de canales de sodio

10 Un ensayo usado para evaluar el mecanismo de acción y/o la potencia de los compuestos de la presente invención implica la determinación de la inhibición del fármaco lumenal de corrientes de sodio epitelial de las vías respiratorias medida bajo corriente de cortocircuito (I_{sc}) usando monocapas epiteliales de las vías respiratorias montadas en

- cámaras de Ussing. Las células obtenidas a partir de vías respiratorias de ser humano, perro, oveja o roedor recientemente extirpadas se siembran sobre insertos porosos Snapwell™ (CoStar) de 0,4 micrómetros, se cultivan en las condiciones de la superficie de separación aire-líquido (ALI) en medio hormonalmente definido y se ensayan para la actividad del transporte de sodio (I_{CC}) mientras se bañan en bicarbonato de Krebs-Ringer (KBR) en cámaras de Ussing. Todas las adiciones de fármaco de prueba son al baño luminal con protocolos de adición de dosis semilogarítmicas (de 1×10^{-11} M a 3×10^{-5} M), y se registra el cambio acumulado en I_{CC} (inhibición). Todos los fármacos se preparan en sulfóxido de dimetilo como disoluciones madre a una concentración de 1×10^{-2} M y se almacenan a -20°C . Normalmente 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 luminal se cambia tres veces con disolución KBR nueva 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 de referencia 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.
- 15 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

20

(1) Ensayo de desaparición apical

- Se siembran células bronquiales (células de perro, ser humano, oveja o roedor) a una densidad de $0,25 \times 10^6/\text{cm}^2$ sobre una membrana porosa recubierta con colágeno Transwell-Col con un área de crecimiento de $1,13 \text{ cm}^2$ cultivadas en una superficie de separación aire-líquido en medio hormonalmente definido que promueve un epitelio polarizado. 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 tasas 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 tasa de desaparición se realiza usando el decaimiento exponencial de una fase de la regresión no lineal ("Prism V 3.0").

40

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. Concentraciones equimolares de compuestos experimentales y 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 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.

50

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 µl de KBR, que contiene compuesto de prueba 10 µM) se coloca sobre la superficie luminal epitelial. Se obtienen muestras secuenciales de 5 a 10 µl de los compartimentos lumenales y serosos para análisis por HPLC de (1) la masa del compuesto de prueba que permea del baño luminal a seroso y (2) la posible formación de metabolitos a partir del compuesto parental. 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 tasa de desaparición y/o formación de compuestos de metabolitos novedosos sobre la superficie luminal 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 parental.

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 "pura" y una alícuota se sometió 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 ha descrito anteriormente. Luego se realizan, como anteriormente, el análisis de la desaparición de compuestos, tasas 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, pág. 2191-2196, incorporado en el presente documento por referencia.

Procedimientos

Preparación de animales: Ovejas hembra adultas (que oscilan en peso de 25 a 35 kg) se sujetaron en una posición vertical en un arnés para el cuerpo especializado adaptado a un carrito de la compra modificado. Las cabezas de los animales se inmovilizaron y se indujo anestesia local de las fosas nasales con 2% de lidocaína. Los animales se intubaron entonces nasalmente con un tubo endotraqueal (TET) de 7,5 mm de diámetro interno. El manguito del TET se colocó justo debajo de las cuerdas vocales y su posición se verificó con un broncoscopio flexible. Después de la intubación, los animales se dejaron equilibrar durante aproximadamente 20 minutos antes de iniciar las mediciones de aclaramiento mucociliar.

Administración de radio-aerosol: Se generaron aerosoles de ^{99m}Tc-albúmina de suero humano (3,1 mg/ml; que contiene aproximadamente 20 mCi) usando un nebulizador Raindrop que produce una gotita con una mediana del diámetro aerodinámico de 3,6 µm. El nebulizador se conectó a un sistema de dosimetría que consiste en una válvula de solenoide y una fuente de aire comprimido (20 psi (0,14 MPa)). La salida del nebulizador se dirigió a un conector en T de plástico; un extremo del cual se conectó al tubo endotraqueal, el otro se conectó a un respirador de pistón. El sistema se activó durante un segundo al inicio del ciclo inspiratorio del respirador. El respirador se fijó a un volumen tidal de 500 ml, una relación inspiratoria con respecto a espiratoria de 1:1, y a una tasa de 20 respiraciones por minuto para maximizar la deposición en las vías respiratorias centrales. La oveja respiró el aerosol radio-marcado durante 5 minutos. Se usó una cámara gamma para medir el aclaramiento de ^{99m}Tc-albúmina de suero humano de las vías respiratorias. La cámara se colocó encima del lomo del animal con la oveja en una posición vertical natural soportada en un carrito de manera que el campo de imagen fuera perpendicular a la médula espinal del animal. Los marcadores radio-marcados externos se colocaron sobre la oveja para garantizar el apropiado alineamiento bajo la cámara gamma. Todas las imágenes se almacenaron en un ordenador integrado en la cámara gamma. Se delineó una región de interés sobre la imagen correspondiente al pulmón derecho de las ovejas y se

registraron los recuentos. Los recuentos se corrigieron para la desintegración y se expresaron como porcentaje de radiactividad presente en la imagen de referencia inicial. El pulmón izquierdo se excluyó del análisis debido a que sus contornos están superpuestos sobre el estómago y los recuentos pueden tragarse y entrar en el estómago como moco radio-marcado.

5

Protocolo de tratamiento (evaluación de la actividad a t cero): Se obtuvo una imagen de deposición de referencia inmediatamente después de la administración de radio-aerosol. A tiempo cero, después de la adquisición de la imagen de referencia, el control de vehículo (agua destilada), el positivo control (amilorida) o compuestos experimentales se aerosolizaron de un volumen de 4 ml usando un nebulizador Pari LC JetPlus para animales de respiración libre. El nebulizador se accionó por aire comprimido con un flujo de 8 litros por minuto. El tiempo para administrar la disolución fue 10 a 12 minutos. Los animales se desentubaron inmediatamente tras la administración de la dosis total con el fin de prevenir falsas elevaciones en los recuentos producidos por la aspiración de radio-trazados en exceso del TET. Las imágenes en serie del pulmón se obtuvieron a intervalos de 15 minutos durante las 2 primeras horas después de la dosificación y cada hora durante las 6 siguientes horas después de la dosificación durante un periodo de observación total de 8 horas. Un periodo de lavado de al menos 7 días separó las sesiones de dosificación con diferentes agentes experimentales.

Protocolo de tratamiento (evaluación de la actividad a t 4horas): La siguiente variación del protocolo estándar se usó para evaluar la durabilidad de la respuesta tras una única exposición a control de vehículo (agua destilada), compuestos de control positivo (amilorida o benzamil) o agentes en investigación. A tiempo cero, el control de vehículo (agua destilada), el control positivo (amilorida) o los compuestos en investigación se aerosolizaron de un volumen de 4 ml usando un nebulizador Pari LC JetPlus para animales de respiración libre. El nebulizador se accionó por aire comprimido con un flujo de 8 litros por minuto. El tiempo para administrar la disolución fue 10 a 12 minutos. Los animales se sujetaron en una posición vertical en un arnés para el cuerpo especializado durante 4 horas. Al final del periodo de 4 horas, los animales recibieron una dosis única de ^{99m}Tc-albúmina de suero humano aerosolizada (3,1 mg/ml; que contiene aproximadamente 20 mCi) de un nebulizador Raindrop. Los animales se desentubaron inmediatamente tras la administración de la dosis total de radio-trazador. Se obtuvo una imagen de deposición de referencia inmediatamente después de la administración del radio-aerosol.

Las imágenes en serie del pulmón se obtuvieron a intervalos de 15 minutos durante las 2 primeras horas después de la administración del radio-trazador (que representa las horas 4 a 6 después de la administración de fármaco) y cada hora durante las 2 horas siguientes después de la dosificación durante un periodo de observación total de 4 horas. Un periodo de lavado de al menos 7 días separó las sesiones de dosificación con diferentes agentes experimentales.

35

Estadística: Los datos se analizaron usando SYSTAT for Windows, versión 5. Los datos se analizaron usando un ANOVA repetido bilateral (para evaluar efectos globales), seguido de una prueba de la t para datos emparejados para identificar diferencias entre pares específicos. La significancia se aceptó cuando p fue inferior a o igual a 0,05. Los valores de la pendiente (calculados a partir de los datos recogidos durante los 45 minutos iniciales después de la dosificación en la evaluación a t cero) para curvas de AMC medias se calcularon usando regresión lineal por mínimos cuadrados para evaluar diferencias en las tasas iniciales durante la rápida fase de aclaramiento.

40

EJEMPLOS

Habiendo descrito generalmente la presente invención, otro entendimiento puede obtenerse por referencia a ciertos ejemplos específicos que se proporcionan en el presente documento para fines de ilustración solo.

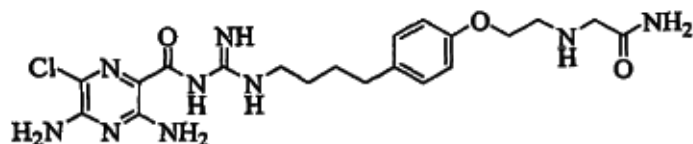
Preparación de bloqueadores de los canales de sodio

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 en tanto un Bruker WM 360 (RMN ¹H a 360 MHz y RMN ¹³C a 90 MHz) como 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 90 g de gel de sílice (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 de 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.

55

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

Síntesis de 2-[2-(4-[4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil]fenoxi)etilamino]acetamida (ALB 28683)



ALB 28683

10

Éster etílico del ácido {2-[4-(4-*terc*-butoxicarbonilaminobutil]fenoxi)etilamino}acético (2)

Una suspensión del éster *terc*-butílico del ácido {4-[2-(2-aminoetoxi)fenil]butil}carbámico 1 (0,42 g, 1,36 mmoles),
 15 cuya preparación se informó previamente (véanse los Procedimientos experimentales Report to Parion, Inc. fechado el 30 de enero de 2003), K₂CO₃ en polvo (0,37 g, 2,74 mmoles) y acetona (15 ml) se calentó a 55 °C. A la suspensión calentada se añadió gota a gota durante seis horas una disolución de acetato de 2-bromoetilo (0,16 ml, 1,36 mmoles) en acetona (15 ml). Una vez se había completado esta adición, la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió entonces a temperatura ambiente y el sólido se separó por filtración a
 20 vacío, y se lavó con acetona (3 x 10 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron. El residuo se sometió a purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con una mezcla de acetato de etilo y hexanos (0-75%, v/v) proporcionando el producto deseado 2 (0,55 g, rendimiento cuantitativo) como un aceite viscoso marrón. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,28 (t, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,50 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 2,56 (t, 2H), 3,00 (t, 2H), 3,16 (m, 2H), 3,50 (s, 2H), 4,05 (t, 2H), 4,12 (m, 1H), 4,20 (q, 2H), 4,50 (a, 1H), 6,80 (d, 2H), 7,08 (d, 2H). *m/z* (ESI) 395.

25

Éster *terc*-butílico del ácido (4-[4-[2-(carbamoilmetilamino)etoxi]fenil]butil}carbámico (3)

Una disolución de 2 (0,27 g, 0,685 mmoles) disuelta en amoniaco metanólico 7 N (25 ml) se agitó en un tubo cerrado
 30 a temperatura ambiente durante la noche. Después de este tiempo, el análisis por CCF indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se concentró y se secó adicionalmente a vacío proporcionando el producto deseado 3 (0,25 g, rendimiento cuantitativo) como un aceite viscoso amarillo que se usó directamente sin más purificación. *m/z* (ESI) 366.

35 Sal de diclorhidrato de 2-(2-[4-(4-aminobutil]fenoxi)etilamino]acetamida (4)

El compuesto 3 (0,25 g, 0,68 mmoles) se disolvió en THF (3 ml), se trató con HCl 4 N en dioxano (10 ml) y la
 reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, el análisis por CCF indicó una
 40 reacción completa. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se añadió metanol (2 ml) al residuo resultante. El precipitado resultante se recogió por filtración a vacío y adicionalmente se secó en una estufa a vacío proporcionando 4 (0,154 g, rendimiento global del 67% para dos etapas) como un sólido marrón claro. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,70 (m, 4H), 2,65 (m, 2H), 2,95 (m, 2H), 3,27 (m, 2H), 3,52 (t, 2H), 3,90 (s, 2H), 4,30 (t, 2H), 6,92 (d, 2H), 7,18 (d, 2H). *m/z* (ESI) 266.

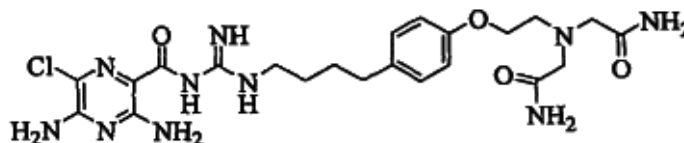
45 2-[2-(4-[4-[N'-(3,5-Diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil]-fenoxi)etilamino]acetamida (6, ALB 28683)

Una disolución compuesta por el compuesto 4 (0,065 g, 0,194 mmoles), base de Hunig (0,17 ml, 0,97 mmoles) y
 etanol (6 ml) se calentó a 65 °C durante 30 min, luego se añadió yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-
 50 carbonil)-2-metilisotiourea (5, 0,072 g, 0,213 mmoles). La disolución resultante se agitó continuamente a 65 °C de temperatura durante tres horas adicionales, luego se enfrió a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó entonces mediante evaporación, y el residuo resultante se cromatografió en columna sobre gel de sílice eluyendo

con una mezcla de metanol (0-22%), hidróxido de amonio (0-2,2%) y diclorometano (100-75,8%). Esto proporcionó el compuesto 6 (0,078 g, 84%) como un sólido amarillo. p.f. 92-94 °C (descompuesto). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,54 (m, 4H), 2,51 (m, 2H), 2,89 (m, 2H), 3,20 (s, 2H), 3,31 (m, 2H), 4,00 (m, 2H), 6,89 (d, 2H), 7,08 (a, 2H), 7,12 (d, 2H), 7,57 (a, 2H), 9,08 (a, 1H). *m/z* (ESI) 478.

5

Síntesis de 2-{carbamoilmetil-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etil]amino}acetamida (ALB 28062)



ALB 28062

10

Éster etílico del ácido ({2-[4-(4-*tert*-butoxicarbonilaminobutil)fenoxi]etil}etoxicarbonilmetil-amino)acético (7)

Una suspensión compuesta por el compuesto 1 (2,82 g, 9,14 mmoles), K₂CO₃ en polvo (3,78 g, 27,4 mmoles), acetato de 2-bromoetilo (3,16 ml, 27,4 mmoles) y acetona (40 ml) se calentó a reflujo durante la noche. Después de este tiempo, la reacción se enfrió, el sólido se separó por filtración a vacío y la torta se lavó con acetona (3 x 10 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron. El residuo se sometió a purificación por cromatografía en columna eluyendo con una mezcla de acetato de etilo y hexanos (0-75%, v/v) proporcionando el producto deseado 7 (4,18 g, rendimiento del 95%) como un aceite viscoso marrón. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 1,24 (t, 6H), 1,43 (s, 9H), 1,47 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 2,58 (t, 2H), 3,18 (m, 4H), 3,68 (s, 4H), 4,15 (m, 5H), 4,50 (a, 1H), 6,78 (d, 2H), 7,08 (d, 2H). *m/z* (ESI) 481.

20

Éster *tert*-butílico del ácido (4-{4-[2-(bis-carbamoilmetilamino)etoxi]fenil}butil)carbámico (8)

Una disolución de 7 (1,08 g, 2,24 mmoles) disuelta en amoniaco metanólico 7 N (30 ml) se calentó en un tubo cerrado a 65 °C durante la noche. Después de enfriarse a temperatura ambiente, la mezcla se concentró a vacío. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con una mezcla de metanol (0-10%) y diclorometano proporcionando el compuesto deseado 8 (0,45 g, 47%) como un sólido marrón claro. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,58 (m, 4H), 2,58 (m, 2H), 3,06 (m, 2H), 3,35 (m, 8H), 4,10 (t, 2H), 6,86 (d, 2H), 7,10 (d, 2H). *m/z* (ESI) 422.

30

Sal de trifluoroacetato de 2-({2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]etil}carbamoilmetilamino)acetamida (9)

Una disolución de 8 (0,22 g, 0,52 mmoles) disuelta en un disolvente mixto de THF (5 ml) y diclorometano (10 ml) se trató con TFA (6 ml) a temperatura ambiente durante tres horas. La mezcla de reacción se concentró entonces y adicionalmente se secó a vacío proporcionando el compuesto deseado 9 (0,323 g, rendimiento cuantitativo) como un aceite viscoso marrón que se usó directamente sin más purificación. RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 1,70 (m, 4H), 2,62 (m, 2H), 2,94 (m, 2H), 3,72 (m, 2H), 4,13 (s, 4H), 4,36 (m, 2H), 6,89 (d, 2H), 7,18 (d, 2H). *m/z* (ESI) 323.

35

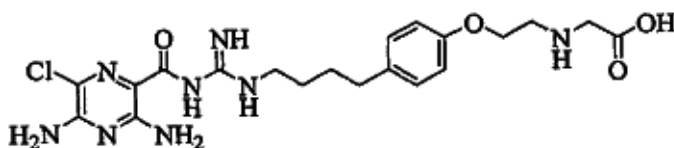
2-{Carbamoilmetil-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etil]amino}acetamida (10, ALB 28062)

40

Siguiendo el procedimiento usado para preparar el compuesto 6, el compuesto 10 se preparó a partir del compuesto 9 con un rendimiento del 47% como un sólido amarillo claro. p.f. 98-100 °C (descompuesto). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,56 (m, 4H), 2,50 (m, 2H), 2,88 (t, 2H), 3,16 (m, 2H), 3,31 (s, 4H), 4,08 (t, 2H), 6,62 (a, 2H), 6,83 (d, 2H), 7,10 (d, 2H), 7,66 (a, 2H), 9,10 (a, 2H). *m/z* (APCI) 535.

45

Síntesis de ácido [2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)etilamino]acético (ALB 28897)

**ALB 28897****Ácido {2-[4-(4-terc-butoxicarbonilaminobutil)fenoxi]etilamino}acético (11)**

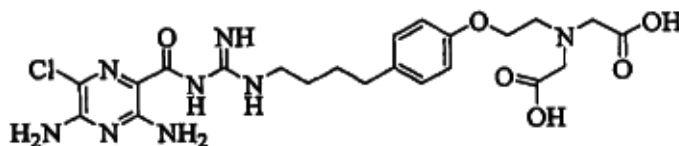
5 El compuesto 2 (0,28 g, 0,71 mmoles) disuelto en THF (5 ml) se trató con LiOH (89 mg, 2,13 mmoles, disuelto en 2 ml de agua) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se neutralizó con disolución acuosa de HCl 2 N a pH 5 y se concentró a vacío. El residuo resultante se co-evaporó con etanol dos veces, y luego se cargó sobre gel de sílice en una columna. El producto se eluyó con una mezcla de metanol (0-22%), hidróxido de amonio (0-2,2%) y diclorometano (100-75,8%) proporcionando el producto deseado 11 (0,25 g, rendimiento del 96%) como un sólido blanco. RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 1,42 (s, 9H), 1,48 (m, 2H), 1,62 (m, 2H), 2,58 (t, 2H), 3,06 (m, 2H), 3,45 (m, 2H), 3,70 (s, 2H), 4,26 (m, 2H), 6,90 (d, 2H), 7,16 (d, 2H). *m/z* (ESI) 367.

Ácido {2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]etilamino}acético (12)

15 Siguiendo el procedimiento usado para preparar el compuesto 4, el compuesto 12 se preparó a partir del compuesto 11 con un rendimiento del 69% como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,70 (m, 4H), 2,62 (m, 2H), 2,95 (m, 2H), 3,53 (m, 2H), 4,02 (s, 2H), 4,30 (m, 2H), 6,92 (d, 2H), 7,18 (d, 2H). *m/z* (ESI) 267.

Ácido [2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}-fenoxi)etilamino]acético (13, ALB 28897)

20 Siguiendo el procedimiento usado para preparar el compuesto 6, el compuesto 13 se preparó a partir del compuesto 12 con un rendimiento del 17% como un sólido amarillo. p.f. 110-112 °C (descompuesto). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,55 (m, 4H), 2,52 (m, 2H), 3,33 (m, 4H), 3,96 (s, 2H), 4,26 (m, 2H), 6,89 (d, 2H), 7,16 (d, 2H), 7,34 (a, 2H), 8,82 (a, 2H), 9,30 (a, 3H), 10,52 (a, 1H). *m/z* (ESI) 479.

Síntesis de ácido {carboximetil-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etil]amino}acético (ALB 28837)**ALB 28837**

30

Ácido ({2-[4-(4-terc-butoxicarbonilaminobutil)fenoxi]etil}carboximetil-amino)acético (14)

35 Siguiendo el procedimiento usado para preparar el compuesto 11, el compuesto 14 se preparó a partir del compuesto 7 con rendimiento cuantitativo con un sólido blanco ceroso. RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 1,46 (s, 9H), 1,55 (m, 4H), 2,56 (m, 2H), 3,06 (m, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,78 (s, 4H), 3,90 (m, 2H), 6,90 (d, 2H), 7,10 (d, 2H). *m/z* (ESI) 325 [M-Boc + H]⁺.

Ácido ({2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]etil}carboximetilamino)acético (15)

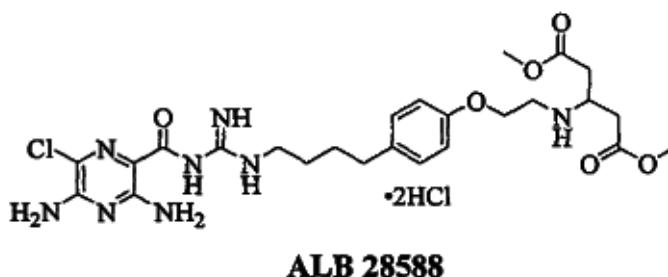
40

Siguiendo el procedimiento usado para preparar el compuesto 12, el compuesto 15 se preparó a partir del compuesto 14 con rendimiento cuantitativo como un sólido gris oscuro. RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 1,69 (m, 4H), 2,60 (m, 2H), 2,90 (m, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,92 (s, 4H), 4,30 (m, 2H), 6,89 (d, 2H), 7,15 (d, 2H). *m/z* (ESI) 325.

45

Ácido({carboximetil-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]-butil}fenoxi)etil]amino}acético (16, ALB 28837)

5 Siguiendo el procedimiento usado para preparar el compuesto 13, el compuesto 16 se preparó a partir del compuesto 15 con un rendimiento del 12% como un sólido amarillo. p.f. 215-218 °C (descompuesto). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,56 (m, 4H), 2,50 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 3,26 (m, 2H), 3,49 (s, 4H), 3,94 (m, 2H), 6,82 (d, 2H), 7,18 (d, 2H), 7,50-7,90 (a, 6H). *m/z* (ESI) 537.

Síntesis de éster dimetilico del ácido 3-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etilamino]pentanodioico (ALB 28588)**Éster dimetilico del ácido 3-(2-[4-(4-*tert*-butoxicarbonilaminobutil)fenoxi]etilamino}pentanodioico (17)**

15 Se añadieron secuencialmente dicarboxilato de dimetilacetona (1,43 ml, 9,69 mmoles) y ácido acético glacial (0,56 ml, 9,70 mmoles) a una disolución de éster *tert*-butílico del ácido {4-[4-(2-aminoetoxi)fenil]-butilcarbámico (1) (1,0 g, 3,24 mmoles) en tetrahidrofurano (20 ml). La reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, luego se enfrió a -30 °C. Se añadió cianoborohidruro de sodio (0,61 g, 9,70 mmoles) en tres porciones y la reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de este tiempo, la reacción se inactivó mediante la adición de agua (5 ml). Los volátiles se eliminaron entonces a vacío dando un aceite. Este aceite se diluyó con agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (3 x 10 ml) y luego salmuera (3 x 10 ml), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron dando 2 (0,576 g, rendimiento del 38%) como un aceite transparente: RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 20 1,46-1,52 (m, 2H), 1,55-1,64 (m, 2H), 2,56-2,58 (m, 4H), 2,64-2,65 (m, 2H), 2,72-2,79 (m, 2H), 2,88-2,93 (m, 2H), 25 3,74 (d, 6H), 3,88-3,93 (m, 1H), 4,44-4,49 (m, 2H), 6,40 (a, 1H), 6,85 (d, 2H), 7,09 (d, 2H); *m/z* (ESI) 467.

Sal de diclorhidrato de éster dimetilico del ácido 3-(2-[4-(4-aminobutil)fenoxi]etilamino}pentanodioico (18)

30 Se agitaron juntos éster dimetilico del ácido 3-(2-[4-(4-*tert*-butoxicarbonilaminobutil)fenoxi]etilamino}pentanodioico (2) (0,57 g, 1,22 mmoles) y HCl metanólico saturado a temperatura ambiente durante 3 horas. La posterior evaporación del disolvente, seguido de secar adicionalmente bajo alto vacío durante 12 horas, proporcionó el compuesto 18 (0,47 g, rendimiento del 88%) como un aceite viscoso: RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1,46-1,52 (m, 2H), 1,55-1,64 (m, 2H), 2,56-2,58 (m, 4H), 2,64-2,65 (m, 2H), 2,72-2,79 (m, 2H), 2,88-2,93 (m, 2H), 3,74 (d, 6H), 35 3,88-3,93 (m, 1H), 4,44-4,49 (m, 2H), 6,40 (a, 1H), 6,85 (d, 2H), 7,09 (d, 2H), 8,27 (a, 2H).

Éster dimetilico del ácido 3-[2-(4-{4-[N'-(3,5-diamino-6-cloropirazin-2-carbonil)guanidino]butil}fenoxi)etilamino]pentanodioico (19, ALB 28588)

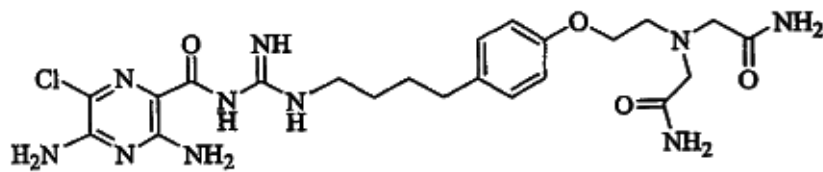
40 Se añadieron secuencialmente yodhidrato de 1-(3,5-diamino-6-cloropirazinoil)-2-metilisotiurea 5 (0,45 g, 1,16 mmoles) y diisopropiletilamina (0,96 ml, 5,5 mmoles) a una disolución de 18 (0,47 g, 1,28 mmoles) en etanol (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 6 horas, se enfrió y se concentró a presión reducida. La posterior purificación por cromatografía en columna con un gradiente del 1-10% (10% de hidróxido de amonio en metanol)/diclorometano proporcionó la base libre del compuesto elegido como diana 19. Este material se trató con 45 HCl metanólico saturado (2 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida proporcionando 19 (0,045 g, rendimiento del 5%) como un polvo amarillo. p.f. 84-88 °C; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,54-1,62 (m, 4H), 2,57 (t, 2H), 2,84 (dd, 2H), 3,01 (dd, 2H), 3,31-3,41 (m, 4H), 3,64 (s, 6H), 3,86-3,95 (m, 3H), 4,25 (t, 2H), 6,91 (d, 2H), 7,16 (d, 2H), 7,4 (a, 2H), 8,73-8,97 (m, 2H), 9,25 (m, 1H), 9,39 (a, 2H), 10,5 (s, 1H); *m/z* (ESI) 579.

50

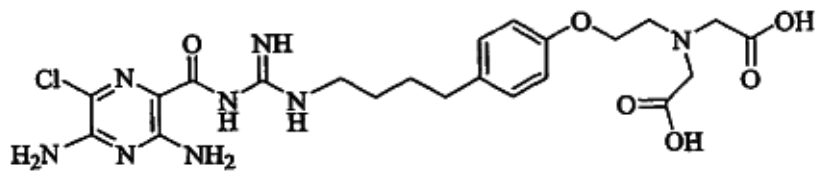
Actividad de bloqueo de los canales de sodio

Los compuestos enumerados en la siguiente tabla se probaron para potencia en epitelios bronquiales caninos usando el ensayo *in vitro* descrito anteriormente. Los resultados para los compuestos de la presente invención se informan como valores de veces de potenciamiento con respecto a amilorida.

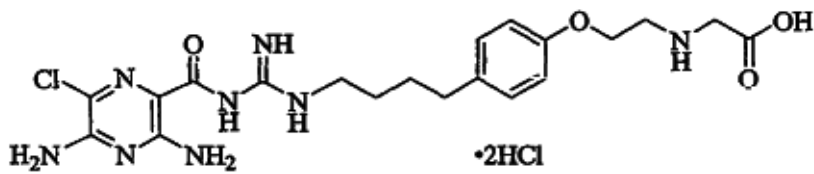
Compuesto	Veces de amilorida
1	77
2	16
3	10
4	81



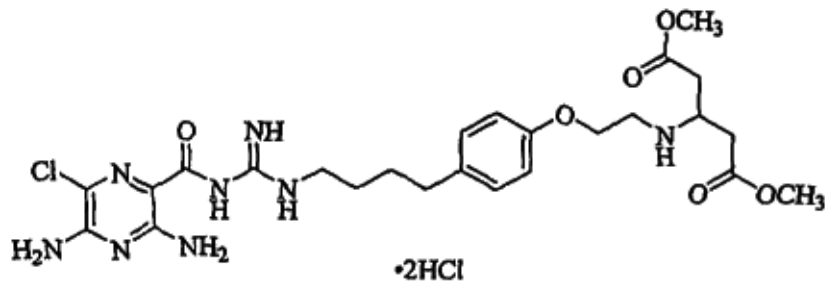
1



2



3



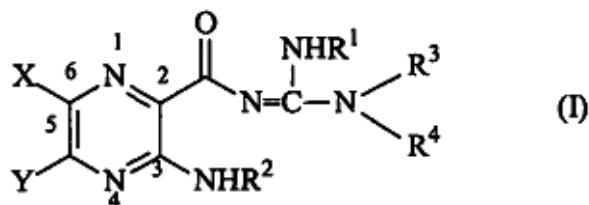
4

10

Obviamente, numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención son posibles en vista de las enseñanzas anteriores.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula (I):



5

en la que

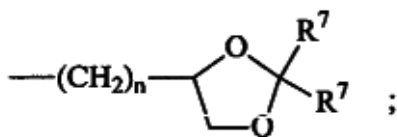
X es hidrógeno, halógeno, trifluorometilo, alquilo C₁-C₇, fenilo sin sustituir o sustituido, alquiltio C₁-C₇, fenilalquiltio C₁-C₇, alquil C₁-C₇-sulfonilo o fenilalquil C₁-C₇-sulfonilo;

Y es hidrógeno, hidroxilo, mercapto, alcoxi C₁-C₇, alquiltio C₁-C₇, halógeno, alquilo C₁-C₇, grupo fenilo sin sustituir o sustituido o -N(R²)₂;

15 R¹ es hidrógeno o alquilo C₁-C₇;

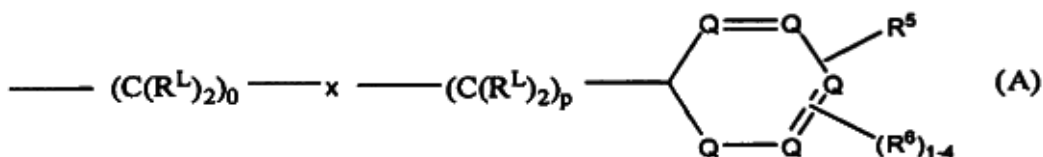
cada R² es, independientemente, -R⁷, -(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z_g-R⁷, -(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, o

20



R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno, un grupo representado por la fórmula (A), alquilo C₁-C₇, hidroxialquilo C₁-C₇, fenilo, fenil-alquilo C₁-C₇, (halofenil)-alquilo C₁-C₇, (alquilfenilalquilo) C₁-C₇, (alcoxi C₁-C₇-fenil)-alquilo C₁-C₇, naftil-alquilo C₁-C₇ o piridil-alquilo C₁-C₇, con la condición de que al menos uno de R³ y R⁴ sea un grupo representado por la fórmula (A):

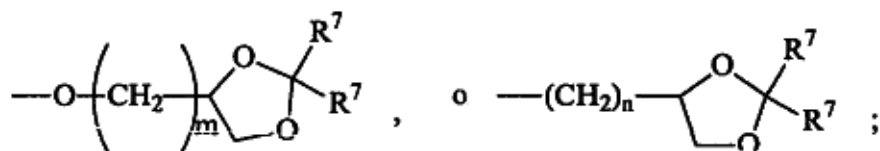
25



30 en la que

cada R^L es, independientemente, -R⁷, -(CH₂)_n-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-Z_g-R⁷, -O-(CH₂)_m-Z_g-R⁷, -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, -O-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -OSO₃H, -O-glucurónico, -O-glucosa,

35



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

5 cada p es un número entero de cero a 10;

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

10 cada x es, independientemente, -O-, -NR¹⁰-, -C(=O)-, -CHOH-, -C(=N-R¹⁰)-, -CHNR⁷R¹⁰-, o representa un enlace sencillo;

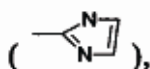
15 cada R⁵ es, independientemente, -Enlace-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CAP, -Enlace-(CH₂CH₂O)_m-CH₂-CAP, -Enlace-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂-CAP, -Enlace-(CH₂)_m-(Z)_g-CAP, -Enlace-(CH₂)_n(Z)_g-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-NR¹³-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-(CHOR⁸)_mCH₂-NR¹³-(Z)_g-CAP, -Enlace-

20 C(=O)NR¹³-(CH₂)_m(CHOR⁸)_nCH₂NR¹³-(Z)_g-CAP, -Enlace-(CH₂)_m-(Z)_g-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-NH-C(=O)-NH-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_m-C(=O)NR¹³-(CH₂)_m-CAP, -Enlace-(CH₂)_n-(Z)_g-(CH₂)_m-(Z)_g-CAP, o -Enlace-Z_g-(CH₂)_m-Het-(CH₂)_m-CAP;

cada CAP es, independientemente, -CR¹⁰-(CH₂)_m-R⁹-(CH₂)_m-R⁹;

25 cada Ar es, independientemente, fenilo, fenilo sustituido, en el que dicho sustituyente se selecciona de 1-3 grupos, independientemente, del grupo que consiste en -OH, -OCH₃, -NR¹³R¹³, -Cl, -F y -CH₃, o heteroarilo;

en la que heteroarilo está seleccionado del grupo que consiste en piridina, pirazina, tinazina, furilo, furfural, tienilo, tetrazol, tiazolidindiona e imidazoilo

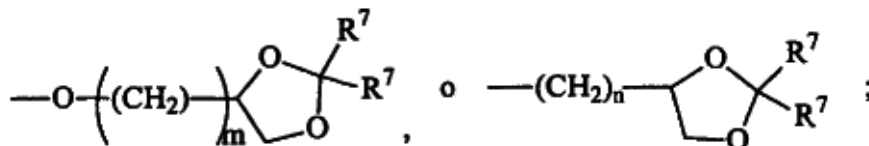


30

pirrol, furano, tiofeno, piridina, quinolina, indol, adenina, pirazol, imidazol, tiazol, isoxazol, indol, bencimidazol, purina, quinolina, isoquinolina, piridazina, pirimidina, pirazina, 1,2,3-triazina, 1,2,4-triazina, 1,3,5-triazina, cinolina, ftalazina, quinazolina, quinoxalina y pterdina;

35

40 cada R⁶ es, independientemente, -R⁷, -OR⁷, -OR¹¹, -N(R⁷)₂, -(CH₂)_m-OR⁸, -O-(CH₂)_m-OR⁸, -(CH₂)_n-NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -O-(CH₂CH₂O)_m-R⁸, -(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂CH₂O)_m-CH₂CH₂NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-C(=O)NR⁷R¹⁰, -O-(CH₂)_m-C(=O)NR⁷R¹⁰, -(CH₂)_n-(Z)_g-R⁷, -O-(CH₂)_m-(Z)_g-R⁷, -(CH₂)_n-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -O-(CH₂)_m-NR¹⁰-CH₂(CHOR⁸)(CHOR⁸)_n-CH₂OR⁸, -(CH₂)_n-CO₂R⁷, -O-(CH₂)_m-CO₂R⁷, -OSO₃H, -O-glucurónico, -O-glucosa,

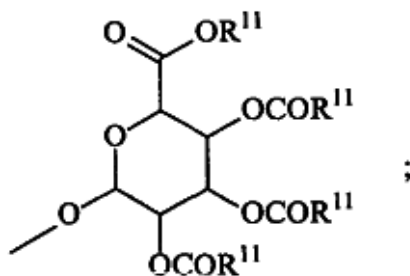


45 en la que si dos R⁶ son -OR¹¹ y están situados adyacentes entre sí sobre un anillo de fenilo, los restos alquilo de los dos R⁶ pueden unirse juntos para formar un grupo metilendioxi;

con la condición de que cuando al menos dos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ estén situados adyacentes entre sí, los grupos R^8 puedan unirse para formar un 1,3-dioxano o 1,3-dioxolano mono- o di-sustituido cíclico,

5 cada R^7 es, independientemente, hidrógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_7$, fenilo, fenilo sustituido;

cada R^8 es, independientemente, hidrógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_7$, $-\text{C}(=\text{O})\text{-R}^{11}$, glucurónido, 2-tetrahidropiranilo, o



10

cada R^9 es, independientemente, $-\text{CO}_2\text{R}^{13}$, tiazolindindiona, oxazolindindiona, $-\text{O-C}(=\text{S})\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{OAr}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{13}\text{Ar}$, imidazolina, tetrazol, tetrazolamida, $-\text{SO}_2\text{NHR}^{13}$, $-\text{SO}_2\text{NH-C}(\text{R}^{13}\text{R}^{13})\text{-}(\text{Z})_g\text{-R}^{13}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{10}\text{Ar}$, $-\text{SO}_2\text{NR}^7\text{R}^7$;

15 cada R^{10} es, independientemente, $-\text{H}$, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{R}^{13}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{13}$ o $-(\text{CH}_2)_m\text{-(CHOH)}_n\text{-CH}_2\text{OH}$;

cada Z es, independientemente, $-\text{CHOH-}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{-}$, $-\text{CHNR}^{13}\text{R}^{13}$, $-\text{C}=\text{NR}^{13}$ o $-\text{NR}^{13}\text{-}$;

cada R^{11} es, independientemente, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_7$;

20

cada R^{12} es, independientemente, $-\text{SO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CO}_2\text{R}^{13}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{13}\text{R}^{13}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{13}$ o $-\text{CH}_2\text{-(CHOH)}_n\text{-CH}_2\text{OH}$;

cada R^{13} es, independientemente, $-\text{R}^7$;

25 cada Het es, independientemente, $-\text{NR}^{13}\text{-}$, $-\text{S-}$, $-\text{SO-}$, $-\text{SO}_2\text{-}$, $-\text{O-}$, $-\text{SO}_2\text{NR}^{13}\text{-}$, $-\text{NHSO}_2\text{-}$, $-\text{NR}^{13}\text{CO-}$ o $-\text{CONR}^{13}\text{-}$;

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 cero a 7;

cada Q es, independientemente, C-R^5 , C-R^6 , o un átomo de nitrógeno, en el que como máximo tres Q en un anillo son átomos de nitrógeno;

35

cada V es, independientemente, $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^7\text{R}^{10}$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-NR}^7\text{R}^7$, $-(\text{CH}_2)_m\text{-}$

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

40

con la condición de que si V está unido directamente a un átomo de nitrógeno, entonces V también puede ser, independientemente, R^7 , R^{10} o $(\text{R}^{11})_2$;

45 en el que si dos grupos $-\text{CH}_2\text{OR}^8$ se localizan 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 di-sustituido cíclico;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, e

incluidos todos los enantiómeros, diaestereómeros y mezclas racémicas de los mismos.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que
- Y es -NH₂,
 5 R² es hidrógeno
 R¹ es hidrógeno,
 X es cloro,
 R³ es hidrógeno,
 cada R⁴ es hidrógeno,
 10 x representa un enlace sencillo, y
 cada R⁶ es hidrógeno.
3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹³ es hidrógeno.
- 15 4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que un Q es un átomo de nitrógeno.
5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dos Q son un átomo de nitrógeno.
6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que tres Q son un átomo de nitrógeno.
 20 7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que ningún Q es un átomo de nitrógeno.
8. Una composición que comprende:
- 25 el compuesto de la reivindicación 1; y
 un agonista de receptor de P2Y2.
9. Una composición que comprende:
- 30 el compuesto de la reivindicación 1; y
 un broncodilatador.
- 35 10. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
11. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso en promover la hidratación de superficies de la mucosa.
 40 12. El compuesto de la reivindicación 1 para uso tópico en restaurar la defensa de la mucosa.
13. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso en bloquear canales de sodio.
- 45 14. Compuesto de la reivindicación 1 para su uso como un medicamento.
15. Compuesto de la reivindicación 1 para:
- tratar bronquitis crónica, fibrosis quística, sinusitis, sequedad vaginal, ojo seco, enfermedad de Sjögren, síndrome
 50 de obstrucción intestinal distal, piel seca, esofagitis, boca seca (xerostomía), asma, discinesia ciliar primaria, otitis media, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, neumonía, estreñimiento, diverticulitis crónica, rinosinusitis, hipertensión, edema,
- reducir la tensión arterial,
 55 - prevenir la neumonía inducida por ventilador,
 en un sujeto en necesidad del mismo.

16. El compuesto de la reivindicación 1 para su uso en promover diuresis, natriuresis, saluresis, hidratación ocular, hidratación de la córnea, el aclaramiento de moco en superficies de la mucosa, tratar deshidratación nasal, inducir esputo para fines de diagnóstico.