

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 619 954**

51 Int. Cl.:

C07D 241/26 (2006.01)

A61K 31/4965 (2006.01)

A61P 11/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.12.2013** **PCT/US2013/075108**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014** **WO14099676**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2013** **E 13814392 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2016** **EP 2931713**

54 Título: **Derivados de cloropiracinocarboxamida útiles para el tratamiento de enfermedades favorecidas por una hidratación mucosa insuficiente**

30 Prioridad:

17.12.2012 US 201261738248 P

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

27.06.2017

73 Titular/es:

PARION SCIENCES, INC. (100.0%)
2800 Meridian Parkway Suite 195
Durham, NC 27713, US

72 Inventor/es:

JOHNSON, MICHAEL, R.

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 619 954 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

Derivados de cloropiracinocarboxamida útiles para el tratamiento de enfermedades favorecidas por una hidratación mucosa insuficiente

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos, incluyendo 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida y compuestos relacionados y sus sales farmacéuticamente aceptables, útiles como bloqueadores de canales del sodio, composiciones que contienen los mismos, su utilidad en métodos terapéuticos y usos para los mismos y procedimientos para preparar los mismos.

10 Antecedentes de la invención

Las superficies mucosas en la interfase entre el ambiente y el cuerpo han evolucionado a un número de mecanismos de "defensa innata", es decir, protectores. Una forma principal de tal defensa innata es lavar estas superficies con líquido. Típicamente, la cantidad de la capa de líquido sobre una superficie mucosa refleja el equilibrio entre la secreción de líquidos epiteliales, que a menudo refleja la secreción de aniones (Cl^- y/o HCO_3^-) acoplada con agua (y un ion conjugado catiónico), y la absorción de líquidos epiteliales, que a menudo refleja la absorción de Na^+ , acoplada con agua y un anión conjugado (Cl^- y/o HCO_3^-). Muchas enfermedades de las superficies mucosas están provocadas por demasiado poco líquido protector sobre esas superficie mucosas creado por un desequilibrio entre la secreción (demasiado poca) y la absorción (relativamente demasiada). Los procesos de transporte de sales defectuoso que caracterizan a estas disfunciones mucosas residen en la capa epitelial de la superficie mucosa.

Un enfoque para reponer la capa líquida protectora sobre superficies mucosas es "reequilibrar" el sistema mediante el bloqueo de un canal de Na^+ y la absorción de líquidos. La proteína epitelial que media en la etapa limitante de la velocidad de absorción de Na^+ y lípidos es el canal epitelial del Na^+ ("ENaC"). El ENaC está situado en la superficie apical del epitelio, es decir la interfase superficie mucosa-ambiente. Idealmente, para inhibir la absorción de Na^+ y líquidos mediada por ENaC, un bloqueante de ENaC de la clase de la amilorida se aportará a la superficie mucosa y se mantendrá en esta zona hasta conseguir un beneficio terapéutico máximo.

Se ha presentado el uso de bloqueantes de ENaC para una variedad de enfermedades que se aplacan mediante un incremento de la hidratación mucosa. En particular, se ha presentado el uso de bloqueantes de ENaC en el tratamiento de enfermedades respiratorias tales como bronquitis crónica (CB), fibrosis quística (CF) y COPD, que reflejan la ineficacia del cuerpo para depurar moco normalmente de los pulmones y finalmente dan como resultado una infección crónica de las vías respiratorias. Véase *Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in CF airway disease*, R. C. Boucher, Journal of Internal Medicine, Vol. 261, Edición 1, enero de 2007, páginas 5-16; y Cystic fibrosis: a disease of vulnerability to airway surface dehydration, R.C. Boucher, Trends in Molecular Medicine, Vol. 13, Edición 6, junio de 2007, páginas 231-240.

Los datos indican que el problema inicial tanto en la bronquitis crónica como en la fibrosis quística es la ineficacia para depurar moco de las superficies de las vías respiratorias. La ineficacia para depurar moco refleja un desequilibrio en las cantidades de moco como líquido superficial de las vías respiratorias (ASL) sobre las superficies de las vías respiratorias. Este desequilibrio da como resultado una reducción relativa en el ASL que conduce a concentración de moco, reducción en la actividad lubricante del líquido periciliar (PCL), adherencia de moco a la superficie de las vías respiratorias e ineficacia para depurar moco a través de actividad ciliar hacia la boca. La reducción en la depuración de moco conduce a la colonización bacteriana crónica de moco adherido a las superficies de las vías respiratorias. La retención crónica de bacterias, la incapacidad de las sustancias antimicrobianas locales para destruir bacterias atrapadas en el moco de forma crónica y la consiguiente respuesta inflamatoria crónica de este tipo de infección superficial se manifiestan en bronquitis crónica y fibrosis quística.

Actualmente, existe una gran necesidad médica sin resolver de productos que traten específicamente la variedad de enfermedades que se mejoran mediante un incremento de la hidratación mucosa, incluyendo bronquitis crónica, COPD y fibrosis quística, entre otras. Las terapias actuales para bronquitis crónica, COPD y fibrosis quística se enfocan a tratar los síntomas y/o los efectos tardíos de estas enfermedades. Sin embargo, ninguna de estas terapias tratan eficazmente el problema fundamental de la ineficacia para depurar moco del pulmón.

55 R.C. Boucher, en el documento U.S. 6.264.975, describe el uso de bloqueantes de canales del sodio de piracinoilguanidina para hidratar superficies mucosas tipificados por los diuréticos muy conocidos amilorida, benzamilo y fenamilo. Sin embargo, estos compuestos son relativamente impotentes, considerando la masa de fármaco limitada que puede ser inhalada al pulmón; (2) se absorben rápidamente y de ese modo exhiben una

semivida indeseablemente corta sobre la superficie mucosa; y (3) son libremente dissociable a partir de ENaC. Se necesitan fármacos más potentes con semividas más prolongadas sobre la superficie mucosa.

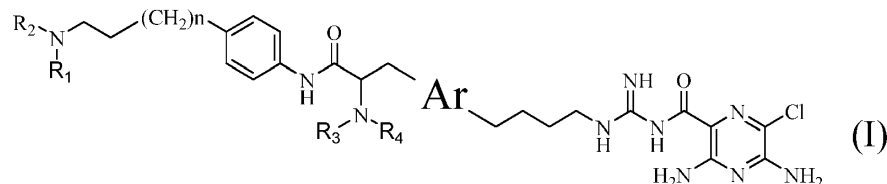
Demasiado poco líquido superficial protector sobre otras superficies mucosas es una patofisiología común de un número de enfermedades. Por ejemplo, en la xerostomía (boca seca), la cavidad oral se agota de líquido debido a una ineficacia de las glándulas parótida, sublingual y submandibular para secretar líquido a pesar de la absorción mediada por transporte de Na^+ (ENaC) continuado desde la cavidad oral. La queratoconjuntivitis seca (ojo seco) está provocada por la ineficacia de las glándulas lagrimales para secretar líquido en presencia de una absorción de líquido dependiente de Na^+ continuada sobre superficies conjuntivales. En la rinosinusitis, existe un desequilibrio entre la secreción de mucina y el agotamiento relativo de ASL. La ineficacia para secretar Cl^- (y líquido) en el intestino delgado proximal, combinada con un incremento de la absorción de Na^+ (y líquido) en el íleon terminal conduce al síndrome de obstrucción intestinal distal (DIOS). En pacientes ancianos, la excesiva absorción de Na^+ (y volumen) en el colon descendente produce estreñimiento y diverticulitis.

La bibliografía publicada incluye un número de solicitudes de patente y patentes concedidas a Parion Sciences Inc., dirigidas a análogos de piracinoilguanidina como bloqueantes de canales del sodio. Ejemplos de tales publicaciones incluyen las Publicaciones PCT N° WO2003/070182, WO2003/070184, WO2004/073629, WO2005/025496, WO2005/016879, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2006/023573, WO2006/023617, WO2007/018640, WO2007/146869, WO2008/031028, WO2008/031048, y las Patentes de EE. UU. N° 6858614, 6858615, 6903105, 7064129, 7186833, 7189719, 7192958, 7192959, 7192960, 7241766, 7247636, 7247637, 7317013, 7332496, 7368447, 7368450, 7368451, 7375102, 7388013, 7399766, 7410968, 7807834, 7842697 y 7868010.

Sigue existiendo una necesidad de nuevos compuestos bloqueantes de canales del sodio con potencia y eficacia intensificadas sobre tejidos mucosos. También sigue habiendo una necesidad de nuevos compuestos bloqueantes de canales del sodio que proporcionan efecto terapéutico, pero minimicen o eliminen el inicio o el avance de hipercalcemia en los receptores.

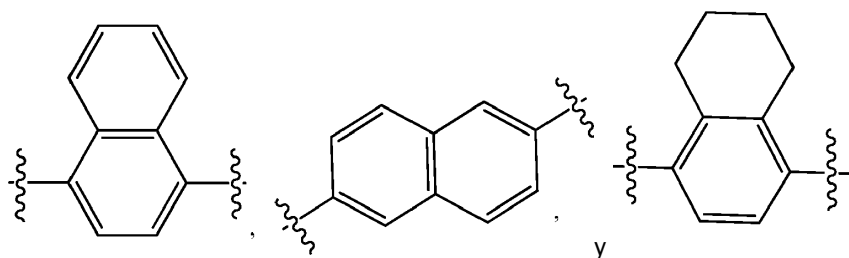
Sumario de la invención

Esta invención proporciona compuestos de la fórmula I:



en la que:

Ar se selecciona del grupo de:



n es un número entero seleccionado de 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

R^1 se selecciona de hidrógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$ y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^2 es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Esta invención también proporciona solvatos e hidratos, estereoisómeros individuales, incluyendo isómeros ópticos (enantiómeros y diastereoisómeros) e isómeros geométricos (isomería cis/trans), mezclas de estereoisómeros, y tautómeros de compuestos de la fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, así como composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, siendo todos útiles en métodos de tratamiento, y métodos para su preparación.

Esta invención también proporciona el compuesto 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, así como isómeros ópticos (enantiómeros y diastereoisómeros) e isómeros geométricos (isomería cis/trans), mezclas de estereoisómeros, y tautómeros de los mismos, así como composiciones farmacéuticas que comprende el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, siendo todos útiles en métodos de tratamiento, y métodos para su preparación.

Breve descripción de los dibujos

Una valoración más completa de la invención y muchas de las ventajas de la misma se puede obtener fácilmente mediante referencia a la información de la presente junto con las siguientes figuras:

La **FIG. 1** es una gráfica del efecto del Compuesto 33 sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación.

La **FIG. 2** es una gráfica del efecto del Compuesto 123 sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación.

La **FIG. 3** es una gráfica del efecto del Compuesto 48 sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación.

La **FIG. 4** es una gráfica del efecto del Compuesto 33 sobre MCC ovina a las 8 horas después de la dosificación.

La **FIG. 5** es una gráfica del efecto del Compuesto 152 sobre MCC ovina a las 8 horas después de la dosificación.

La **FIG. 6** es una gráfica de la intensificación del Compuesto 33 sobre MCC ovina a las 8 horas después de la dosificación mediante solución salina hipertónica.

La **FIG. 7** es una gráfica del efecto del Ejemplo comparativo I sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación.

La **FIG. 8** es una gráfica del efecto del Ejemplo comparativo 1 sobre los niveles de potasio plasmático en ovejas.

La **FIG. 9** es una gráfica que compara la actividad del Ejemplo comparativo 1 y el Compuesto 33 sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación..

La **FIG. 10** es una gráfica que compara el efecto sobre los niveles de K^+ en plasma de oveja del Ejemplo comparativo 1 y el Compuesto 33.

La **FIG. 11** es una gráfica que compara la actividad del Ejemplo comparativo 1 y el Compuesto 123 sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación.

La **FIG. 12** es una gráfica que compara el efecto sobre los niveles de K^+ en plasma de oveja del Ejemplo comparativo 1 y el Compuesto 123.

La **FIG. 13** es una gráfica que compara la actividad del Ejemplo comparativo 1 y el Compuesto 48 sobre MCC ovina a las 4 horas después de la dosificación.

La **FIG. 14** es una gráfica que compara el efecto sobre los niveles de K^+ en plasma de oveja del Ejemplo comparativo 1 y el Compuesto 48.

Descripción detallada de la invención

Según se usan en la presente, los siguientes términos se definen según se indica.

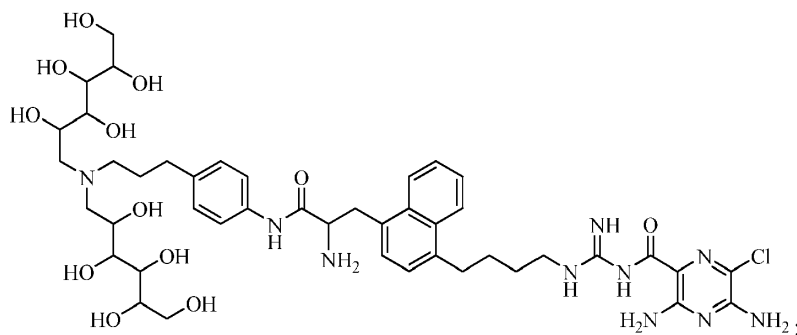
"Un compuesto de la invención" significa un compuesto de Fórmula I o una sal, particularmente una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

"Un compuesto de Fórmula I" significa un compuesto que tiene la fórmula estructural indicada en la presente como Fórmula I. Compuestos de Fórmula I incluyen solvatos e hidratos (es decir, aductos de un compuesto de Fórmula I con un disolvente). En las realizaciones en las que un compuesto de Fórmula I incluye uno o más centros quirales, la expresión pretende abarcar cada estereoisómero individual incluyendo isómeros ópticos (enantiómeros y diastereoisómeros) e isómeros geométricos (isomería cis/trans) y mezclas de estereoisómeros. Además, los compuestos de Fórmula I también incluyen tautómeros de la fórmula o las fórmulas representadas.

A lo largo de la descripción y los ejemplos, los compuestos se nombran usando principios de nomenclatura estándar de la IUPAC, cuando sea posible, incluyendo el uso del programa de software ChemDraw Ultra 11.0 para nombrar compuestos, vendido por CambridgeSoft Corp./PerkinElmer.

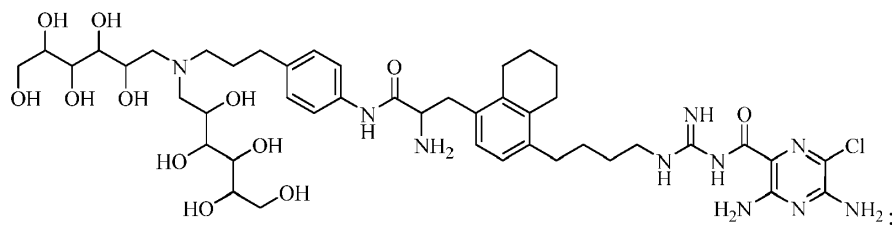
En algunas representaciones de la estructura química en las que los átomos de carbono no tienen un número suficiente de variables ligadas representadas para producir una valencia de cuatro, se debe suponer que los restantes sustituyentes de carbono necesarios para proporcionar una valencia de cuatro son hidrógeno. De forma similar, en algunas estructuras químicas en las que se traza un enlace sin especificar el grupo terminal, tal enlace es indicativo de un grupo metilo (Me, -CH₃), como es convencional en la especialidad.

En una realización, el compuesto de Fórmula (I) es 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida, que tiene la estructura:



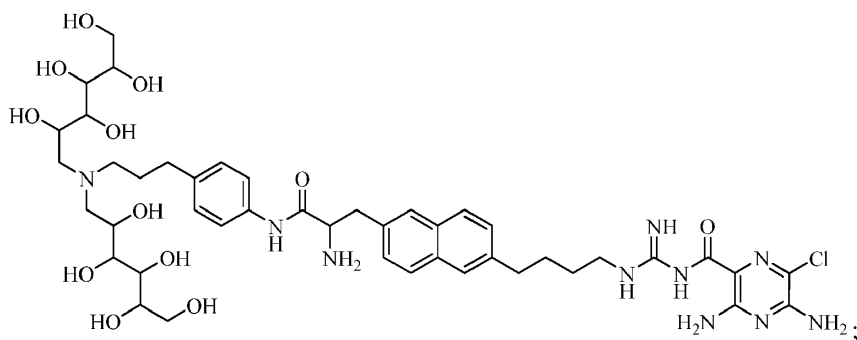
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto de Fórmula (I) es 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida, que tiene la estructura:



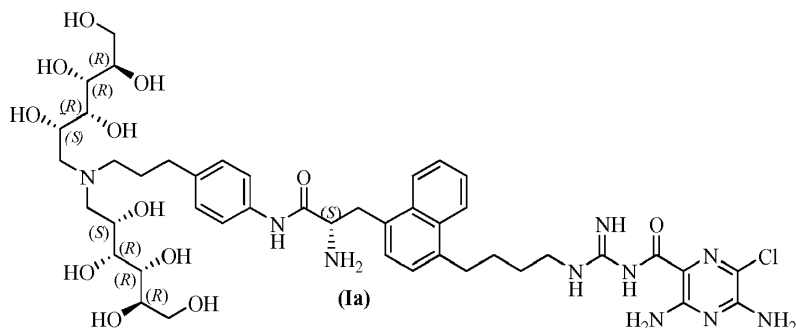
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización adicional, el compuesto de Fórmula (I) es 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-(2-amino-3-(4-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida, que tiene la estructura:



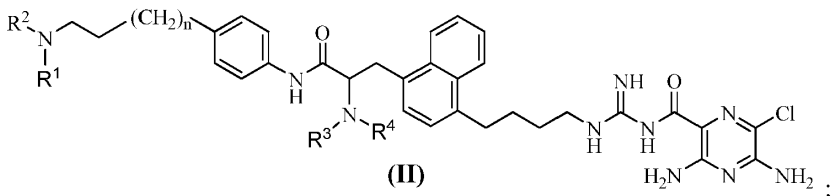
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En otra realización, el compuesto de Fórmula (I) es 3,5-diamino-N-(N-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida, que tiene la fórmula:

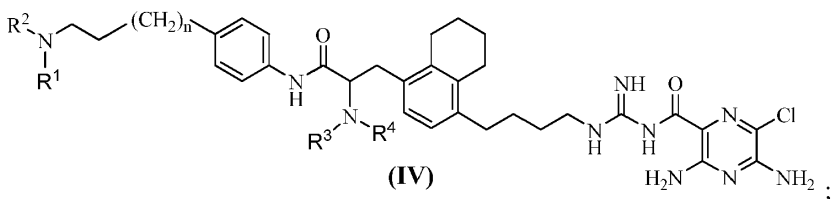
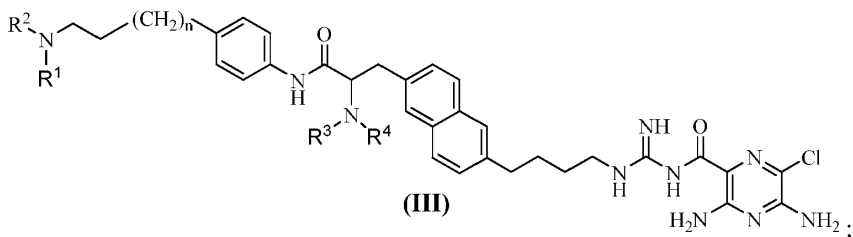


- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tres realizaciones independientes comprenden compuestos de Fórmula (II), Fórmula (III) y Fórmula (IV), respectivamente:



15



- 20 en las que:

n es un número entero seleccionado de 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

R¹ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R² es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), hay una realización adicional en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

10 R¹ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R² es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

15 Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), hay una realización adicional en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

R¹ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₈;

20 R² es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25 Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), hay otra realización en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

R¹ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁-C₈;

R² es hidrógeno;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

30 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), hay otra realización más en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

35 R¹ y R² son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), existe otra realización en la que:

5 n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

R^1 y R^2 son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^3 y R^4 son hidrógeno;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), hay otra realización en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

15 R^1 y R^2 son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, alquilo C_1 - C_3 ;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 Dentro de cada grupo de compuestos representados independientemente por las Fórmulas (I), (II), (III) y (IV), hay una realización adicional en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

R^1 y R^2 son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^3 es hidrógeno; y

25 R^4 es alquilo C_1 - C_3 ;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

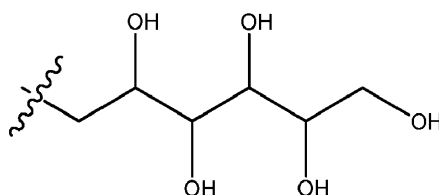
30 Grupos alquilo polihidroxilados de esta invención son aquellos en los que una cadena alquílica de 3 a 8 átomos de carbono está sustituida por dos o más grupos hidroxilo. Ejemplos de grupos alquilo polihidroxilados son butano-1,4-diol; butano-1,2,2-triol; butano-1,1,2,3,-tetraol; pentano-1,2,3,4-tetraol; hexano-1,2,3,4,5-pentaol; heptano-1,2,3,4,5,6-hexaol; y octano-1,2,3,4,5,6,7-heptaol.

35 Una realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente son los compuestos en los que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula $-CH_2-(CHR^5)_n-H$, en la que n es un número entero seleccionado de 2, 3, 4, 5, 6 o 7 y R^5 es independientemente en cada caso H u OH, con la condición de que al menos dos de los grupos R^5 son OH.

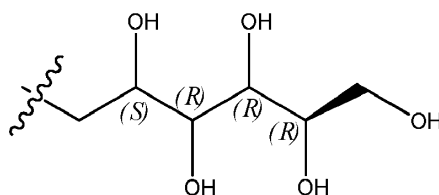
40 Otra realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente son los compuestos en los que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula $-CH_2-CHOH-(CHR^6)_m-H$, en la que m es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y R^6 es independientemente en cada caso H o OH, con la condición de que al menos uno de los grupos R^6 sea OH.

45 Una realización más dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente comprende compuestos en los que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula $-CH_2-(CHOH)_n-CH_2OH$, en la que n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Otra realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente comprende compuestos en los que n es un número entero seleccionado de 2, 3, 4 o 5. Otra realización dentro de cada grupo comprende compuestos en los que n es un número entero seleccionado de 3, 4 o 5.

En otra realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente, la cadena representada por la fórmula $-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$ es 2,3,4,5,6-pentahidroxihexano, que tiene la fórmula:

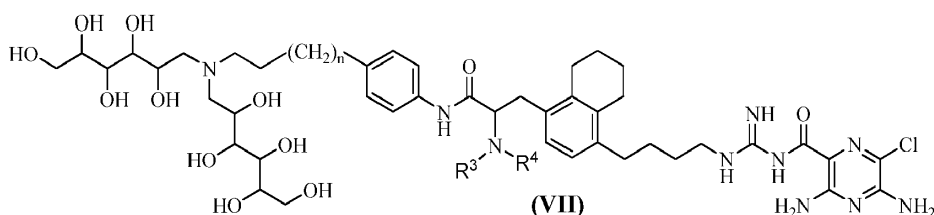
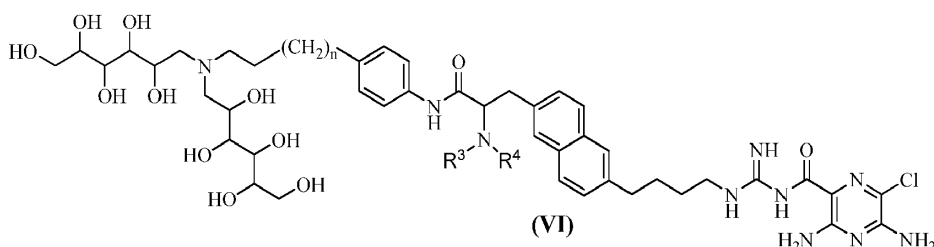
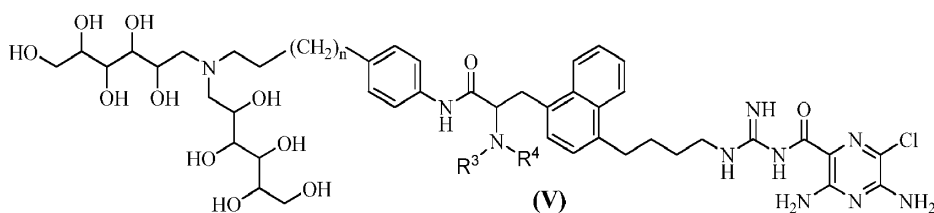


5 En una realización adicional dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente, la cadena representada por la fórmula $-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$ es de la fórmula:



Tres realizaciones independientes adicionales incluyen compuestos de Fórmula (V), Fórmula (VI) y Fórmula (VII), respectivamente:

10



15 en las que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6; y

R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 Dentro de cada realización representada por las Fórmulas (V), (VI) y (VII) hay una realización adicional en la que n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6; y R^3 y R^4 son cada uno hidrógeno; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Dentro de cada realización representada por las Fórmulas (V), (VI) y (VII) hay otra realización en la que n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6; y R^3 y R^4 son cada uno alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25

Dentro de cada una de las realizaciones descritas en la presente, hay una realización adicional en la que n es un número entero seleccionado de 1, 2 o 3. Dentro de cada una de las realizaciones descritas en la presente, hay una realización adicional en la que n es un número entero seleccionado de 4, 5 o 6. Dentro de cada una de las realizaciones descritas en la presente, hay seis realizaciones independientes adicionales en las que n es un número entero de, respectivamente, 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

Los compuestos de la presente, incluyendo los de las Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), pueden estar en la forma de una base libre o una sal, particularmente una sal farmacéuticamente aceptable. Para una revisión de sales farmacéuticamente aceptables, véase Berge y cols., J. Pharma Sci. (1977) 66:1-19.

Sales farmacéuticamente aceptables formadas a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos incluyen, por ejemplo, hidrocloreto, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, nitrato, sulfamato, fosfato, hidrogenofosfato, acetato, trifluoroacetato, maleato, malato, fumarato, lactato, tartrato, citrato, formato, gluconato, succinato, piruvato, tanato, ascorbato, palmitato, salicilato, estearato, ftalato, alginato, poliglutamato, oxalato, oxaloacetato, sacarato, benzoato, alquil- o arilsulfonatos (p. ej., metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato o naftalenosulfonato) e isetionato; complejos formados con aminoácidos tales como lisina, arginina, ácido glutámico, glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina y leucina. Los compuestos de la invención también pueden estar en la forma de sales formadas a partir de aniones elementales seleccionados de cloro, bromo o yodo.

Para el uso terapéutico, las sales de los ingredientes activos de los compuestos de Fórmula I serán farmacéuticamente aceptables, es decir serán sales derivadas de un ácido farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, también pueden encontrar uso sales de ácidos que no son farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, en la preparación o la purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Las sales de trifluoroacetato, por ejemplo, pueden encontrar tal uso. Todas las sales, se deriven o no de un ácido farmacéuticamente aceptable, están dentro del alcance de la presente invención.

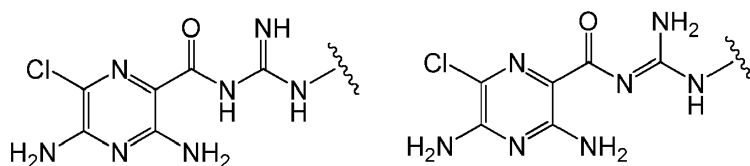
El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no ser superponibles con la pareja de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles con su pareja de imagen especular.

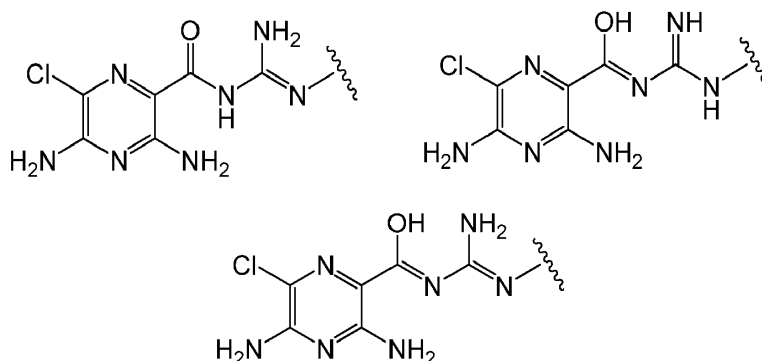
El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio. "Diastereoisómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centro de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereoisómeros tienen diferentes propiedades físicas, p. ej. puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereoisómeros se pueden separar bajo procedimientos analíticos tales como electroforesis y cromatografía. "Enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que no son imágenes especulares superponibles entre sí.

Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en la presente siguen generalmente S. P. Parker, Ed., MCGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York.

Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de girar el plano de luz polarizada en el plano. Al describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S se usan para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su centro o centros quirales. Un estereoisómero específico también se puede denominar un enantiómero y una mezcla de tales isómeros se llama a menudo una mezcla enantiómera. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina una mezcla racémica o un racemato, que se puede presentar cuando no haya estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químicos. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantiómeras.

El término "tautómeros" se refiere a un tipo de estereoisómero en el que la migración de un átomo de hidrógeno da como resultado dos o más estructuras. Los compuestos de Fórmula I pueden existir en diferentes formas tautómeras. Un experto en la especialidad reconocerá que las amidinas, las amidas, las guanidinas, las ureas, las tioureas, los heterociclos y similares pueden existir en formas tautómeras. A modo de ejemplo, los compuestos de Fórmula I pueden existir en diversas formas tautómeras según se muestra a continuación:





Todas las posibles formas tautómeras de las amidinas, las amidas, las guanidinas, las ureas, las tioureas, los heterociclos y similares de todas las realizaciones de Fórmula I están dentro del alcance de esta invención. Los tautómeros existen en equilibrio y así se entenderá por los expertos en la especialidad que la representación de un solo tautómero en las fórmulas proporcionadas se refiere igualmente a todos los posibles tautómeros.

Se ha de entender que todos los enantiómeros, los diastereoisómeros y las mezclas racémicas, los tautómeros, los polimorfos, los pseudopolimorfos de los compuestos dentro del alcance de la Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables son abarcados por la presente invención. Todas las mezclas de tales enantiómeros y diastereoisómeros, incluyendo mezclas enantiómeramente enriquecidas y mezclas y diastereoisómeramente enriquecidas, están dentro del alcance de la presente invención. Las mezclas enantiómeramente enriquecidas son mezclas en las que la relación del enantiómero especificado al enantiómero alternativo es mayor de 50:50. Más particularmente, una mezcla enantiómeramente enriquecida comprende al menos aproximadamente 75% del enantiómero especificado y preferiblemente al menos aproximadamente 85% del enantiómero especificado. En una realización, la mezcla enantiómeramente enriquecida está sustancialmente libre de otro enantiómero. De forma similar, las mezclas diastereoisómeramente enriquecidas son mezclas de diastereoisómeros en las que la cantidad del diastereoisómero especificado es mayor que la cantidad de cada diastereoisómero alternativo. Más particularmente, una mezcla diastereoisómeramente enriquecida comprende al menos aproximadamente 75% del diastereoisómero especificado y preferiblemente al menos aproximadamente 85% del diastereoisómero especificado. En una realización, la mezcla diastereoisómeramente enriquecida está sustancialmente libre de todos los otros diastereoisómeros. Se entenderá por los expertos en la especialidad que el término "sustancialmente libre de" indica menos de 5% de presencia de otros diastereoisómeros, preferiblemente menos de 1%, más preferiblemente menos de 0,1%. En otras realizaciones, no estarán presentes otros diastereoisómeros o la cantidad de cualesquiera otros diastereoisómeros presente estará por debajo del nivel de detección. Los estereoisómeros se pueden separar mediante técnicas conocidas en la especialidad, incluyendo cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y cristalización de sales quirales.

Un solo estereoisómero, p. ej. un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero se puede obtener mediante la resolución de la mezcla racémica usando un método tal como la formación de diastereoisómeros usando agentes de resolución ópticamente activos ("Stereochemistry of Carbon Compounds," (1962) de E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C. H., (1975) J. Chromatogr., 113:(3) 283-302). Las mezclas racémicas de compuestos quirales de la invención se pueden separar y aislar mediante cualquier método conocido, incluyendo: (1) formación de sales diastereoisómeras iónicas con compuestos quirales y separación mediante cristalización fraccionada u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoisómeros con reactivos de derivación quirales, separación de los diastereoisómeros y conversión en los estereoisómeros puros y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente bajo condiciones quirales.

En una realización, la presente invención proporciona una mezcla o composición enantiómeramente que comprende 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como el isómero predominante.

Otras realizaciones comprenden las mezclas o composiciones enantiómeramente enriquecidas que comprenden, respectivamente, los compuestos de Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como el isómero predominante en cada una de sus mezclas respectivas.

En otra realización, la presente invención proporciona una mezcla o composición enantiómeramente enriquecida de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, sustancialmente libre de otros.

Otras cuatro realizaciones comprenden las mezclas o composiciones enantiómeramente enriquecidas que comprenden, respectivamente, los compuestos de Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus

sales farmacéuticamente aceptables, sustancialmente libres de otros isómeros en cada una de sus mezclas respectivas.

5 También se proporciona en la presente cada uno de los compuestos y grupos de compuestos descritos en la presente, incluyendo los de las Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso como un medicamento.

10 Un compuesto de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir como diferentes polimorfos o pseudopolimorfos. Según se usa en la presente, polimorfismo cristalino significa la capacidad de un compuesto cristalino para existir en diferentes estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino puede resultar de diferencias en el empaquetamiento cristalino (polimorfismo de empaquetamiento) o diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (polimorfismo de conformación). Según se usa en la presente, el pseudopolimorfismo cristalino también incluye la capacidad de un hidrato o solvato de un compuesto para existir en diferentes estructuras cristalinas. Los pseudopolimorfos de esta invención pueden existir debido a diferencias en el empaquetamiento cristalino (pseudopolimorfismo de empaquetamiento) o debido a diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (pseudopolimorfismo de conformación). Esta invención comprende todos los polimorfos y pseudopolimorfos de los compuestos de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 Un compuesto de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables también pueden existir como un sólido amorfo. Según se usa en la presente, un sólido amorfo es un sólido en el que no hay un orden de largo alcance de las posiciones de los átomos en el sólido. Esta definición se aplica también cuando el tamaño del cristal es de dos nanómetros o menos. También se pueden usar aditivos, incluyendo disolventes, para crear las formas amorfas de esta invención. Esta invención, incluyendo todas las composiciones farmacéuticas, los métodos de tratamiento, los productos de combinación y sus usos descritos en la presente, comprende todas las formas amorfas de los compuestos de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Usos

30 Los compuestos de la invención exhiben actividad como bloqueantes de canales del sodio. Sin querer limitarse por ninguna teoría particular, se cree que los compuestos de la invención pueden funcionar *in vivo* al bloquear canales del sodio epiteliales presentes en superficies mucosas y de ese modo reducir la absorción de agua por las superficies mucosas. Este efecto incrementa el volumen de líquidos protectores sobre superficies mucosas y reequilibra el sistema.

35 Como consecuencia, los compuestos de la invención son útiles como medicamentos, particularmente para el tratamiento de afecciones clínicas para las que puede estar indicado un bloqueante de canales del sodio. Tales afecciones incluyen afecciones pulmonares tales como enfermedades asociadas con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), incluyendo exacerbaciones agudas de COPD, asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis y bronquiolitis asociada a trasplantes, incluyendo bronquiolitis asociada a trasplantes de pulmón y médula ósea, en un ser humano que lo necesite. Los compuestos de la invención también pueden ser útiles para tratar traqueobronquitis asociada al respirador y/o prevenir la neumonía asociada al respirador en pacientes con respirador. La presente memoria descriptiva divulga métodos para tratar cada una de las afecciones descritas en la presente en un mamífero que lo necesite, preferiblemente en un ser humano que lo necesite, comprendiendo cada método administrar a dicho mamífero una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. También se divulgan (a) un método para reducir exacerbaciones de COPD en un mamífero que lo necesite; (b) un método para reducir exacerbaciones de CF en un mamífero que lo necesite; (c) un método para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero que lo necesite, (d) un método para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero que sufre COPD, (e) un método para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero que sufre CF, (f) un método para reducir infecciones de las vías respiratorias en un mamífero que lo necesite.

55 También se divulga un método para estimular, intensificar o mejorar la depuración mucociliar en un mamífero, comprendiendo el método administrar a un mamífero que lo necesite una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Se entenderá que la depuración mucociliar incluye las acciones mucociliares naturales implicadas en la transferencia o la depuración de moco en las vías respiratorias, incluyendo los mecanismos de autodepuración de los bronquios. Por lo tanto, también se divulga un método para mejorar la depuración de moco en las vías respiratorias de un mamífero que lo necesite.

60 Adicionalmente, los bloqueantes de canales del sodio pueden estar indicados para el tratamiento de afecciones que se aplacan mediante un incremento de la hidratación mucosa en superficies mucosas distintas a las superficies mucosas pulmonares. Ejemplos de tales afecciones incluyen boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluyendo deshidratación nasal causada por la administración de

oxígeno seco, ojo seco, enfermedad de Sjogren, otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento y diverticulitis crónica. Los compuestos de la invención también se pueden usar para promover la hidratación ocular o corneal.

5 Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en métodos para obtener una muestra de esputos procedente de un ser humano. El método se puede llevar a cabo al administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención a al menos un pulmón del paciente y a continuación inducir y recoger una muestra de esputos de ese ser humano.

10 Según esto, en un aspecto, la presente memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de una afección en un mamífero, tal como un ser humano, para la que está indicado un bloqueante de canales del sodio.

En otras realizaciones, la presente memoria descriptiva divulga cada uno de los métodos descritos en la presente con el beneficio adicional de minimizar o eliminar la hipercalemia en el receptor del método. También se divulgan
15 realizaciones que comprenden cada uno de los métodos descritos en la presente en los que se consiga un índice terapéutico mejorado.

Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", según se usan en la presente, se refieren a invertir, aliviar, inhibir el
20 avance de o prevenir el trastorno o la afección o uno o más síntomas de tal trastorno o afección.

Todos los métodos terapéuticos descritos en la presente se llevan a cabo al administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención, un compuesto de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, a un sujeto (típicamente un mamífero y preferiblemente un ser humano) que necesite el tratamiento.

25 En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de una afección que se aplaca mediante un incremento de la hidratación mucosa en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de una enfermedad asociada con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización particular, la presente memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de
30 la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización particular, la presente memoria descriptiva divulga un método para reducir la frecuencia, la gravedad o la duración de la exacerbación aguda de COPD o para el tratamiento de uno o más síntomas de exacerbación aguda de COPD en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de
35 bronquiectasia (incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística) en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la bronquitis, incluyendo y bronquitis aguda y crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de tos
40 posviral en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la fibrosis quística en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento del enfisema en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la neumonía en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una
45 realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de panbronquiolitis en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de bronquiolitis asociada a trasplantes, incluyendo bronquiolitis asociada a trasplante de pulmón y médula ósea en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para tratar traqueobronquitis asociada al respirador y/o prevenir la neumonía asociada
50 al respirador en un ser humano con respirador que lo necesite.

Esta memoria descriptiva divulga métodos específicos para tratar una enfermedad seleccionada del grupo de obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística), bronquitis
55 aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplantes y traqueobronquitis asociada al respirador o prevenir la neumonía asociada al respirador en un ser humano que lo necesite, comprendiendo cada método administrar a dicho ser humano una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula 1(a), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En realizaciones adicionales para cada método de tratamiento, la forma de sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrocloreto o una sal de a
60 hidroxinaftoato del compuesto de Fórmula (1a). En otra realización dentro de cada método de tratamiento, se usa la base libre del compuesto de Fórmula (1a).

En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la boca seca (xerostomía) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un
65 método para el tratamiento de la piel seca en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la sequedad vaginal en un mamífero,

particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la sinusitis, la rinosinusitis o la deshidratación nasal, incluyendo la deshidratación nasal causada por la administración de oxígeno seco, en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento del ojo seco o la enfermedad de Sjogren o promover la hidratación ocular o corneal en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la otitis media en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento de la discinesia ciliar primaria, en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la memoria descriptiva divulga un método para el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, la esofagitis, el estreñimiento o la diverticulitis crónica en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite.

También se proporciona un compuesto de la invención para el uso en terapia médica, particularmente para el uso en el tratamiento de una afección en un mamífero, tal como un ser humano, para la que está indicado un bloqueante de canales del sodio. Todos los usos terapéuticos descritos en la presente se llevan a cabo al administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención al sujeto que necesite el tratamiento. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de una afección pulmonar tal como una enfermedad asociada con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización particular, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en la reducción de la frecuencia, la gravedad o la duración de la exacerbación aguda de COPD o para el tratamiento de uno o más síntomas de la exacerbación aguda de COPD, en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento del asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para el uso en el tratamiento de la bronquiectasia, incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística, o bronquitis, incluyendo bronquitis aguda y bronquitis crónica, en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para el uso en el tratamiento de la tos posviral, en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para el uso en el tratamiento de la fibrosis quística en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento del enfisema en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la neumonía en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de panbronquiolitis o la bronquiolitis asociada a trasplantes, incluyendo bronquiolitis asociada a trasplante de pulmón y médula ósea en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la traqueobronquitis asociada al respirador o prevenir la neumonía asociada al respirador en un ser humano con respirador que lo necesite.

En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de una afección aplacada por un incremento de la hidratación mucosa es superficies mucosas de un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para el uso en el tratamiento de la boca seca (xerostomía) en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para el uso en el tratamiento de la piel seca en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para el uso en el tratamiento de la sequedad vaginal en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la sinusitis, la rinosinusitis o la deshidratación nasal, incluyendo la deshidratación nasal causada por la administración de oxígeno seco en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento del ojo seco o la enfermedad de Sjogren o promover la hidratación ocular o corneal en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la otitis media en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la discinesia ciliar primaria en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para el uso en el tratamiento de la obstrucción intestinal distal, la esofagitis, el estreñimiento o la diverticulitis crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite.

La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección en un mamífero, tal como un ser humano, para la que está indicado un bloqueante de canales del sodio. En una realización, se proporciona el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades asociadas con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), las exacerbaciones agudas de COPD, el asma, la bronquiectasia (incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística), bronquitis (incluyendo bronquitis aguda y bronquitis crónica), la tos posviral, la fibrosis

quística, el enfisema, la neumonía, la panbronquiolitis, la bronquiolitis asociada a trasplantes, (incluyendo bronquiolitis asociada a trasplantes de pulmón y médula ósea), traqueobronquitis asociada al respirador o prevenir la neumonía asociada al respirador.

- 5 En una realización particular, se proporciona el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección aplacada por un incremento de la hidratación mucosa en superficies mucosas, el tratamiento de la boca seca (xerostomía), la piel seca, la sequedad vaginal, la sinusitis, la rinosinusitis, la deshidratación nasal, incluyendo la deshidratación nasal causada por la administración de oxígeno seco, el tratamiento del ojo seco, la enfermedad de Sjogren, promover la hidratación ocular o corneal, el tratamiento de la otitis media, la discinesia ciliar primaria, el síndrome de obstrucción intestinal distal, la esofagitis, el estreñimiento o la diverticulitis crónica

- 15 Los términos "cantidad eficaz", "cantidad farmacéuticamente eficaz", "dosis eficaz" y "dosis farmacéuticamente eficaz", según se usan en la presente, se refieren a una cantidad de compuesto de la invención que es suficiente en el sujeto al que se administra, para provocar la respuesta biológica o médica de un cultivo celular, un tejido, un sistema o un mamífero (incluyendo un ser humano) que se está buscando, a modo de ejemplo por un investigador o profesional clínico. El término también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para intensificar una función fisiológica normal. En una realización, la cantidad eficaz es la cantidad necesaria para proporcionar un nivel deseado de fármaco en las secreciones y los tejidos de las vías respiratorias y los pulmones, o alternativamente, en la corriente sanguínea de un sujeto que se va a tratar para dar una respuesta fisiológica anticipada o un efecto biológico deseado cuando tal composición se administra mediante inhalación. Por ejemplo, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para el tratamiento de una afección para la que está indicado un bloqueante de canales del sodio es suficiente en el sujeto al que se administra para tratar la afección particular. En una realización, una cantidad eficaz es una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para el tratamiento de COPD o fibrosis quística en un ser humano.

- 30 La cantidad eficaz precisa de los compuestos de la invención dependerá de un número de factores incluyendo pero no limitados a la especie, la edad y el peso del sujeto que se trate, la afección precisa que requiere tratamiento y su gravedad, la biodisponibilidad, la potencia y otras propiedades del compuesto específico que se administra, la naturaleza de la formulación, la vía de administración y el dispositivo de aporte y finalmente estará a discreción del médico o veterinario a cargo. Una guía adicional con respecto a la dosis apropiada se puede encontrar al considerar la dosificación de otros bloqueantes de canales del sodio, tales como amilorida, prestando además la debida atención a cualesquiera diferencias en la potencia entre la amilorida y los compuestos de la presente invención.

- 35 Una dosis farmacéuticamente eficaz administrada tópicamente a las superficies de las vías respiratorias de un sujeto (p. ej., mediante inhalación) de un compuesto de la invención para el tratamiento de un ser humano de 70 kg puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg. En otra realización, la dosis farmacéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1.000 µg. Típicamente, la dosis diaria administrada tópicamente a las superficies de las vías respiratorias será una cantidad suficiente para conseguir una concentración disuelta de agente activo sobre las superficies de las vías respiratorias de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} o 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} o 10^{-1} moles/litro, más preferiblemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro. La selección de la dosis específica para un paciente será determinada por el médico, el profesional clínico o el veterinario a cargo de experiencia normal en la especialidad basándose en un número de factores incluyendo los apuntados anteriormente. En una realización particular, la dosis de un compuesto de la invención para el tratamiento de un ser humano de 70 kg estará en el intervalo de aproximadamente 10 nanogramos (ng) a aproximadamente 10 mg. En otra realización, la dosis eficaz sería de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1.000 µg. En una realización, la dosis de un compuesto de la invención para el tratamiento de un ser humano de 70 kg estaría en el intervalo de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 0,5 mg. En una realización adicional, la dosis será de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 60 µg. En otra realización, la dosis farmacéuticamente eficaz será de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 µg. En otra realización, la dosis farmacéuticamente eficaz será de aproximadamente 5 µg a aproximadamente 50 µg. Otra realización tendrá una dosis eficaz de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 40 µg. En dos realizaciones más, la dosis farmacéuticamente eficaz será de aproximadamente 15 µg a aproximadamente 50 µg, de aproximadamente 15 µg a aproximadamente 30 µg, respectivamente. Se entenderá que en cada uno de estos intervalos de dosis, se incluyen todas las dosis incrementales en el intervalo. A modo de ejemplo, el intervalo de 0,5-50 µg incluye dosis individuales de: 0,5 µg, 0,6 µg, 0,7 µg, 0,8 µg, 0,9 µg, 1,0 µg, 1,1 µg, 1,2 µg, 1,3 µg, 1,4 µg, 1,5 µg, 1,6 µg, 1,7 µg, 1,8 µg, 1,9 µg, 2,0 µg, 2,1 µg, 2,2 µg, 2,3 µg, 2,4 µg, 2,5 µg, 2,6 µg, 2,7 µg, 2,8 µg, 2,9 µg, 3,0 µg, 3,1 µg, 3,2 µg, 3,3 µg, 3,4 µg, 3,5 µg, 3,6 µg, 3,7 µg, 3,8 µg, 3,9 µg, 4,0 µg, 4,1 µg, 4,2 µg, 4,3 µg, 4,4 µg, 4,5 µg, 4,6 µg, 4,7 µg, 4,8 µg, 4,9 µg, 5,0 µg, 5,1 µg, 5,2 µg, 5,3 µg, 5,4 µg, 5,5 µg, 5,6 µg, 5,7 µg, 5,8 µg, 5,9 µg, 6,0 µg, 6,1 µg, 6,2 µg, 6,3 µg, 6,4 µg, 6,5 µg, 6,6 µg, 6,7 µg, 6,8 µg, 6,9 µg, 7,0 µg, 7,1 µg, 7,2 µg, 7,3 µg, 7,4 µg, 7,5 µg, 7,6 µg, 7,7 µg, 7,8 µg, 7,9 µg, 8,0 µg, 8,1 µg, 8,2 µg, 8,3 µg, 8,4 µg, 8,5 µg, 8,6 µg, 8,7 µg, 8,8 µg, 8,9 µg, 9,0 µg, 9,1 µg, 9,2 µg, 9,3 µg, 9,4 µg, 9,5 µg, 9,6 µg, 9,7 µg, 9,8 µg, 9,9 µg, 10,0 µg, 10,1 µg, 10,2 µg, 10,3 µg, 10,4 µg, 10,5 µg, 10,6 µg, 10,7 µg, 10,8 µg, 10,9 µg, 11,0 µg, 11,1 µg, 11,2 µg, 11,3 µg, 11,4 µg, 11,5 µg, 11,6 µg, 11,7 µg, 11,8 µg, 11,9 µg, 12,0 µg, 12,1 µg, 12,2 µg, 12,3 µg, 12,4 µg, 12,5 µg, 12,6 µg, 12,7 µg, 12,8 µg, 12,9 µg, 13,0 µg, 13,1 µg, 13,2 µg, 13,3 µg, 13,4 µg, 13,5 µg, 13,6 µg, 13,7 µg, 13,8 µg, 13,9 µg, 14,0 µg, 14,1 µg, 14,2 µg, 14,3 µg, 14,4 µg, 14,5 µg, 14,6 µg, 14,7 µg, 14,8 µg, 14,9 µg, 15,0 µg, 15,1 µg, 15,2 µg, 15,3 µg, 15,4 µg, 15,5 µg,

15,6 µg, 15,7 µg, 15,8 µg, 15,9 µg, 16,0 µg, 16,1 µg, 16,2 µg, 16,3 µg, 16,4 µg, 16,5 µg, 16,6 µg, 16,7 µg, 16,8 µg, 16,9 µg, 17,0 µg, 17,1 µg, 17,2 µg, 17,3 µg, 17,4 µg, 17,5 µg, 17,6 µg, 17,7 µg, 17,8 µg, 17,9 µg, 18,0 µg, 18,1 µg, 18,2 µg, 18,3 µg, 18,4 µg, 18,5 µg, 18,6 µg, 18,7 µg, 18,8 µg, 18,9 µg, 19,0 µg, 19,1 µg, 19,2 µg, 19,3 µg, 19,4 µg, 19,5 µg, 19,6 µg, 19,7 µg, 19,8 µg, 19,9 µg, 20,0 µg, 20,1 µg, 20,2 µg, 20,3 µg, 20,4 µg, 20,5 µg, 20,6 µg, 20,7 µg, 20,8 µg, 20,9 µg, 21,0 µg, 21,1 µg, 21,2 µg, 21,3 µg, 21,4 µg, 21,5 µg, 21,6 µg, 21,7 µg, 21,8 µg, 21,9 µg, 22,0 µg, 22,1 µg, 22,2 µg, 22,3 µg, 22,4 µg, 22,5 µg, 22,6 µg, 22,7 µg, 22,8 µg, 22,9 µg, 23,0 µg, 23,1 µg, 23,2 µg, 23,3 µg, 23,4 µg, 23,5 µg, 23,6 µg, 23,7 µg, 23,8 µg, 23,9 µg, 24,0 µg, 24,1 µg, 24,2 µg, 24,3 µg, 24,4 µg, 24,5 µg, 24,6 µg, 24,7 µg, 24,8 µg, 24,9 µg, 25,0 µg, 25,1 µg, 25,2 µg, 25,3 µg, 25,4 µg, 25,5 µg, 25,6 µg, 25,7 µg, 25,8 µg, 25,9 µg, 26,0 µg, 26,1 µg, 26,2 µg, 26,3 µg, 26,4 µg, 26,5 µg, 26,6 µg, 26,7 µg, 26,8 µg, 26,9 µg, 27,0 µg, 27,1 µg, 27,2 µg, 27,3 µg, 27,4 µg, 27,5 µg, 27,6 µg, 27,7 µg, 27,8 µg, 27,9 µg, 28,0 µg, 28,1 µg, 28,2 µg, 28,3 µg, 28,4 µg, 28,5 µg, 28,6 µg, 28,7 µg, 28,8 µg, 28,9 µg, 29,0 µg, 29,1 µg, 29,2 µg, 29,3 µg, 29,4 µg, 29,5 µg, 29,6 µg, 29,7 µg, 29,8 µg, 29,9 µg, 30,0 µg, 30,1 µg, 30,2 µg, 30,3 µg, 30,4 µg, 30,5 µg, 30,6 µg, 30,7 µg, 30,8 µg, 30,9 µg, 31,0 µg, 31,1 µg, 31,2 µg, 31,3 µg, 31,4 µg, 31,5 µg, 31,6 µg, 31,7 µg, 31,8 µg, 31,9 µg, 32,0 µg, 32,1 µg, 32,2 µg, 32,3 µg, 32,4 µg, 32,5 µg, 32,6 µg, 32,7 µg, 32,8 µg, 32,9 µg, 33,0 µg, 33,1 µg, 33,2 µg, 33,3 µg, 33,4 µg, 33,5 µg, 33,6 µg, 33,7 µg, 33,8 µg, 33,9 µg, 34,0 µg, 34,1 µg, 34,2 µg, 34,3 µg, 34,4 µg, 34,5 µg, 34,6 µg, 34,7 µg, 34,8 µg, 34,9 µg, 35,0 µg, 35,1 µg, 35,2 µg, 35,3 µg, 35,4 µg, 35,5 µg, 35,6 µg, 35,7 µg, 35,8 µg, 35,9 µg, 36,0 µg, 36,1 µg, 36,2 µg, 36,3 µg, 36,4 µg, 36,5 µg, 36,6 µg, 36,7 µg, 36,8 µg, 36,9 µg, 37,0 µg, 37,1 µg, 37,2 µg, 37,3 µg, 37,4 µg, 37,5 µg, 37,6 µg, 37,7 µg, 37,8 µg, 37,9 µg, 38,0 µg, 38,1 µg, 38,2 µg, 38,3 µg, 38,4 µg, 38,5 µg, 38,6 µg, 38,7 µg, 38,8 µg, 38,9 µg, 39,0 µg, 39,1 µg, 39,2 µg, 39,3 µg, 39,4 µg, 39,5 µg, 39,6 µg, 39,7 µg, 39,8 µg, 39,9 µg, 40,0 µg, 40,1 µg, 40,2 µg, 40,3 µg, 40,4 µg, 40,5 µg, 40,6 µg, 40,7 µg, 40,8 µg, 40,9 µg, 41,0 µg, 41,1 µg, 41,2 µg, 41,3 µg, 41,4 µg, 41,5 µg, 41,6 µg, 41,7 µg, 41,8 µg, 41,9 µg, 42,0 µg, 42,1 µg, 42,2 µg, 42,3 µg, 42,4 µg, 42,5 µg, 42,6 µg, 42,7 µg, 42,8 µg, 42,9 µg, 43,0 µg, 43,1 µg, 43,2 µg, 43,3 µg, 43,4 µg, 43,5 µg, 43,6 µg, 43,7 µg, 43,8 µg, 43,9 µg, 44,0 µg, 44,1 µg, 44,2 µg, 44,3 µg, 44,4 µg, 44,5 µg, 44,6 µg, 44,7 µg, 44,8 µg, 44,9 µg, 45,0 µg, 45,1 µg, 45,2 µg, 45,3 µg, 45,4 µg, 45,5 µg, 45,6 µg, 45,7 µg, 45,8 µg, 45,9 µg, 46,0 µg, 46,1 µg, 46,2 µg, 46,3 µg, 46,4 µg, 46,5 µg, 46,6 µg, 46,7 µg, 46,8 µg, 46,9 µg, 47,0 µg, 47,1 µg, 47,2 µg, 47,3 µg, 47,4 µg, 47,5 µg, 47,6 µg, 47,7 µg, 47,8 µg, 47,9 µg, 48,0 µg, 48,1 µg, 48,2 µg, 48,3 µg, 48,4 µg, 48,5 µg, 48,6 µg, 48,7 µg, 48,8 µg, 48,9 µg, 49,0 µg, 49,1 µg, 49,2 µg, 49,3 µg, 49,4 µg, 49,5 µg, 49,6 µg, 49,7 µg, 49,8 µg, 49,9 µg y 50 µg.

Las dosis sugeridas precedentes se pueden ajustar usando cálculos convencionales si el compuesto se administra a través de una vía diferente. La determinación de una dosis apropiada para la administración por otras vías está dentro de la experiencia de los expertos en la especialidad a la luz de la descripción precedente y el conocimiento general de la especialidad.

El aporte de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención puede implicar el aporte de una sola forma de dosificación o múltiples dosis unitarias que se pueden aportar contemporáneamente o separadas en el tiempo a lo largo de un período indicado, tal como 24 horas. Una dosis de un compuesto de la invención (solo o en la forma de una composición que comprende el mismo) se puede administrar de una a diez veces al día. Típicamente, un compuesto de la invención (solo o en la forma de una composición que comprende el mismo) se administrará cuatro, tres, dos o una vez al día (24 horas).

Los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención también son útiles para tratar infecciones transmitidas por el aire. Ejemplos de infecciones transmitidas por el aire incluyen, por ejemplo, RSV. Los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención también son útiles para tratar infección por carbunco. La presente invención se refiere al uso de los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención para el tratamiento profiláctico, profiláctico posterior a la exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o afecciones provocadas por patógenos. En una realización preferida, la presente invención se refiere al uso de los compuestos de Fórmula (I) para el tratamiento profiláctico, profiláctico posterior a la exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o afecciones provocadas por patógenos que se pueden usar en bioterrorismo.

En los últimos años, se han puesto en marcha una variedad de programas de investigación y medidas de biodefensa para hacer frente a las preocupaciones sobre el uso de agentes biológicos en actos de terrorismo. Estas medidas están destinadas a tratar problemas relativos al bioterrorismo o al uso de microorganismos o toxinas biológicas para matar personas, difundir el miedo y alterar la sociedad. Por ejemplo, the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) ha desarrollado un Strategic Plan for Biodefense Research que esboza planes para tratar necesidades de investigación en la amplia área del bioterrorismo y enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. Según el plan, la exposición deliberada de la población civil de los Estados Unidos a esporas de *Bacillus anthracis* revelaba un hueco en la preparación global del país contra el bioterrorismo. Por otra parte, el informe detalla que estos ataques descubrían una necesidad no satisfecha de pruebas para diagnosticar rápidamente, vacunas e inmunoterapias para prevenir u fármacos y productos biológicos para curar una enfermedad provocada por agentes de bioterrorismo.

Gran parte del foco de los diversos esfuerzos de investigación se ha dirigido a estudiar la biología de los patógenos identificados como potencialmente peligrosos con agentes de bioterrorismo, estudiar la respuesta del hospedador contra tales agentes, desarrollar vacunas contra enfermedades infecciosas, evaluar las terapias disponibles actualmente y bajo investigación contra tales agentes y desarrollar diagnósticos para identificar signos y síntomas de agentes amenazantes. Tales esfuerzos son loables pero, dado el gran número de agentes patógenos que se ha

identificado como potencialmente disponible para bioterrorismo, estos esfuerzos todavía no han podido proporcionar respuestas satisfactorias para todas las posibles amenazas de bioterrorismo. Adicionalmente, muchos de los patógenos identificados como potencialmente peligrosos como agentes de bioterrorismo no proporcionan incentivos económicos adecuados para el desarrollo de medidas terapéuticas o preventivas por la industria. Por otra parte, incluso si estuvieran disponibles medidas preventivas tales como vacunas para cada patógeno que se puede usar en bioterrorismo, el coste de administrar todas estas vacunas a la población general es prohibitivo.

Hasta que estén disponibles tratamientos convenientes y eficaces contra cada amenaza de bioterrorismo, existe una necesidad importante de tratamientos preventivos, profilácticos o terapéuticos que puedan prevenir o reducir el riesgo de infección por agentes patógenos.

La presente memoria descriptiva divulga tales métodos de tratamiento profiláctico. En un aspecto, se proporciona un método de tratamiento profiláctico que comprende administrar una cantidad profilácticamente eficaz de los compuestos de Fórmula (I) a un individuo que necesite tratamiento profiláctico contra una infección por uno o más patógenos transmitidos por el aire. Un ejemplo particular de un patógeno de transmisión aérea es el carbunco.

En otro aspecto, se divulga un método de tratamiento profiláctico para reducir el riesgo de infección procedente de un patógeno de transmisión aérea que puede provocar una enfermedad en un ser humano, comprendiendo dicho método administrar una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula (I) a los pulmones del ser humano que puede tener riesgo de infección por el patógeno de transmisión aérea pero es asintomático para la enfermedad, en el que la cantidad eficaz de un bloqueante de canales del sodio y osmolito son suficientes para reducir el riesgo de infección en el ser humano. Un ejemplo particular de un patógeno de transmisión aérea es el carbunco.

En otro aspecto, se divulga un método de tratamiento profiláctico posterior a la exposición o de tratamiento terapéutico para tratar la infección por un patógeno de transmisión aérea que comprende administrar una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula (I) a los pulmones de un individuo que necesite tal tratamiento contra la infección por un patógeno de transmisión aérea. Los patógenos contra los que se puede proteger mediante los métodos de exposición profiláctica posterior, rescate y tratamiento terapéutico de la invención incluyen cualesquiera patógenos que puedan entrar en el cuerpo a través de la boca, la nariz o las vías respiratorias nasales, avanzando sí hasta el interior de los pulmones. Típicamente, los patógenos serán patógenos de transmisión aérea, bien naturalmente o bien mediante aerosolización. Los patógenos pueden ser naturales o pueden haber sido introducidos en el ambiente intencionadamente después de la aerosolización u otro método para introducir los patógenos en el ambiente. Muchos patógenos que no son transmitidos naturalmente en el aire se han aerosolizado o se pueden aerosolizar para el uso en bioterrorismo. Los patógenos para los que puede ser útil el tratamiento de la invención incluyen, pero no se limitan a, patógenos prioritarios de categoría A, B y C según se indica por el NIAID. Estas categorías corresponden generalmente a las listas compiladas por los Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Según se indica por los CDC, los agentes de Categoría A son los que se pueden diseminar o transmitir fácilmente de persona a persona, provocar alta mortalidad, con potencial para un impacto importante sobre la salud pública. Los agentes de Categoría B son próximos en prioridad e incluyen los que son moderadamente fáciles de diseminar y provocan morbilidad moderada y baja mortalidad. La Categoría C consiste en patógenos emergentes que se podrían manipular para la diseminación en masa en el futuro debido a su disponibilidad, facilidad de producción y diseminación y potencial de alta morbilidad y mortalidad. Ejemplos particulares de estos patógenos son el carbunco y la peste. Patógenos adicionales contra los que se puede proteger o se puede reducir el riesgo de infección de los mismos incluyen virus de la gripe, rinovirus, adenovirus y virus respiratorios sincitiales y similares. Un patógeno adicional contra el que se puede proteger es el coronavirus que se cree que provoca el síndrome respiratorio agudo grave (SARS).

La presente memoria descriptiva también divulga el uso de bloqueantes de canales del sodio de Fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para prevenir, aplacar y/o tratar efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio provocados por la exposición a materiales radiológicos, particularmente aerosoles respirables que contienen radionúclidos procedentes de ataques nucleares, tales como la detonación de dispositivos de dispersión radiológica (RDD) o accidentes, tales como desastres en centrales nucleares. Como tal, se proporciona en la presente un método para prevenir, aplacar y/o tratar efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio y/u otros órganos corporales provocados por aerosoles respirables que contienen radionúclidos en un receptor que lo necesite, incluyendo en un ser humano que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar a dicho ser humano una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Una preocupación principal asociada con la planificación del manejo de las consecuencias para exposiciones de miembros del público a aerosoles respirables que contienen radionúclidos procedentes de ataques nucleares, tales como la detonación de dispositivos de dispersión radiológica (RDD) o accidentes, tales como desastres en centrales nucleares, es cómo prevenir, mitigar o tratar efectos deterministas potenciales sobre la salud del tracto respiratorio, principalmente el pulmón. Es necesario tener fármacos, técnicas y procedimientos y personal entrenado preparado para manejar y tratar a estos individuos muy contaminados internamente.

La investigación se ha conducido a determinar modos en los que prevenir, mitigar o tratar un daño potencial al tracto respiratorio y diversos órganos del cuerpo que está provocado por radionúclidos depositados internamente. Hasta la

fecha, la mayoría de la atención de la investigación se ha enfocado a estrategias diseñadas para mitigar efectos sobre la salud procedentes de radionúclidos depositados internamente al acelerar su excreción o retirada. Estas estrategias se han enfocado a formas químicas solubles que sean capaces de alcanzar la corriente sanguínea y se depositen en zonas sistémicas remotas específicas para un radioelemento dado. Tales enfoques no funcionarán en casos en los que el radionúclido depositado esté en una forma relativamente insoluble. Los estudios han mostrado que muchos, si no la mayoría de las formas fisicoquímicas de radionúclidos dispersados procedentes de RDD, estarán en una forma relativamente insoluble.

El único método conocido para reducir eficazmente la dosis de radiación a los pulmones procedente de aerosoles radiactivos insolubles inhalados en el lavado broncoalveolar o BAL. Se ha observado que esta técnica, que se adaptaba a partir de la que ya está en uso para el tratamiento de pacientes con proteinosis alveolar, es un procedimiento repetible seguro, incluso cuando se realiza a lo largo de un período prolongado. Aunque hay variaciones en el procedimiento, el método básico para el BAL es anestesiarse al sujeto, seguido por la introducción lenta de solución salina isotónica en un solo lóbulo del pulmón hasta que se alcanza la capacidad funcional residual. A continuación, volúmenes adicionales se añaden y se drenan por gravedad.

Los resultados de los estudios que usan BAL en animales indican que aproximadamente 40% del contenido pulmonar profundo se puede retirar mediante una secuencia razonable de BAL. En algunos estudios, había una variabilidad considerable entre animales en la cantidad de radionúclido recuperado. Las razones de la variabilidad no se entienden actualmente.

Además, basándose en un estudio en animales, se cree que una reducción de dosis significativa a partir de una terapia con BAL da como resultado la mitigación de efectos sobre la salud debidos a la inhalación de radionúclidos insolubles. En el estudio, perros adultos inhalaban partículas de ^{144}Ce -FAP insolubles. A dos grupos de perros se les dieron contenidos de ^{144}Ce que se sabe que provocan neumonitis y fibrosis pulmonar por radiación (aproximadamente 2 MBq/kg de masa corporal), tratándose un grupo con 10 lavados unilateral entre 2 y 56 días después de la exposición, el otro sin tratar. Un tercer grupo se expuso a un nivel de ^{144}Ce comparable al observado en el grupo tratado con BAL después del tratamiento (aproximadamente 1 MBq/kg), pero estos animales no se trataron. Se dejó que todos los animales vivieran sus vidas, que se prolongaron hasta 16 años. Debido a que hay variabilidad en el contenido pulmonar inicial de ^{144}Ce entre los perros de cada grupo, los grados de dosificación y las dosis acumulativas para cada grupo se solapan. No obstante, el efecto del BAL en la reducción del riesgo de neumonitis/fibrosis será evidente a partir de las curvas de supervivencia. En los perros no tratados con contenidos pulmonares de 1,5-2,5 MBq/kg, el tiempo de supervivencia medio era 370 ± 65 d. Para los perros tratados, la supervivencia media era 1270 ± 240 d, que era significativamente diferente estadísticamente. El tercer grupo, que recibía contenidos pulmonares de ^{144}Ce de 0,6-1,4 MBq tenía un tiempo de supervivencia medio de 1800 ± 230 , que no era estadísticamente diferente del grupo tratado. Igualmente importante para la supervivencia incrementada, los perros en el grupo no tratado de dosis alta moría de efectos deterministas en el pulmón (neumonitis/fibrosis) mientras que los perros tratados no lo hacían. En cambio, los perros tratados, como los perros del grupo no tratado de dosis baja, tenían en gran parte tumores pulmonares (hemangiosarcoma o carcinoma). Por lo tanto, la reducción en la dosis resultante de tratamiento con BAL parece haber producido efectos biológicos en el pulmón que eran predecible basándose en las dosis de radiación que recibían los pulmones.

Basándose en estos resultados, se cree que disminuir la dosis radiológica residual adicionalmente mediante cualquier método o combinación de métodos para intensificar la depuración de partículas del pulmón disminuiría adicionalmente la probabilidad de efectos sobre la salud del pulmón. Sin embargo, el BAL es un procedimiento que tiene muchas desventajas. El BAL es un procedimiento muy invasivo que se debe realizar en centros médicos especializados por neumólogos entrenados. Como tal, un procedimiento de BAL es costoso. Dadas las desventajas del BAL, no es una opción de tratamiento que esté disponible fácilmente e inmediatamente para personas que necesiten una retirada acelerada de partículas radiactivas, por ejemplo, en el caso de un ataque nuclear. En el caso de un ataque nuclear o un accidente nuclear, se necesita un tratamiento inmediato y administrado de forma relativamente fácil para personas que se han expuesto o están en riesgo de ser expuestas. Se ha mostrado que los bloqueantes de canales del sodio administrados como un aerosol de inhalación restauran la hidratación de superficies de las vías respiratorias. Tal hidratación de superficies de las vías respiratorias ayuda a depurar del pulmón secreciones mucosas acumuladas y materia en partículas asociada. Como tal, sin querer limitarse por ninguna teoría particular, se cree que se pueden usar bloqueantes de canales del sodio para acelerar la retirada de partículas radiactivas de los conductos respiratorios.

Según se analiza anteriormente, el mayor riesgo para los pulmones después de un ataque radiológico, tal como una bomba sucia, resulta de la inhalación y la retención de partículas radiactivas insolubles. Como resultado de la retención de partículas radiactivas, la exposición acumulativa al pulmón se incrementa significativamente, dando como resultado finalmente fibrosis pulmonar/neumonitis y potencialmente muerte. Las partículas insolubles no pueden ser depuradas sistémicamente mediante agentes quelantes debido a que estas partículas no están en solución. Hasta la fecha, la retirada física de materia en partículas a través de BAL es el único régimen terapéutico que se muestra que es eficaz para mitigar la enfermedad pulmonar inducida por radiación. Según se analiza anteriormente, el BAL no es una solución de tratamiento realista para reducir los efectos de partículas radiactivas que se han inhalado en el cuerpo. Como tal, es deseable proporcionar un régimen terapéutico que ayude

eficazmente a depurar partículas radiactivas de los conductos respiratorios y que, a diferencia del BAL, sea relativamente simple de administrar y aumentable a escala en un entorno de exposición a radiación a gran escala. Además, también es deseable que el régimen terapéutico esté fácilmente disponible para un número de personas en un período relativamente corto.

En un aspecto de la presente divulgación, un método para prevenir, mitigar y/o tratar efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio y/u otros órganos corporales provocados por aerosoles respirables que contienen radionúclidos comprende administrar una cantidad eficaz de un bloqueante de canales del sodio de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables a un individuo que lo necesite. En una característica de este aspecto, el bloqueante de canales del sodio se administra junto con un osmolito. Con respecto también a esta característica, el osmolito es solución salina hipertónica (HS). En una característica adicional, el bloqueante de canales del sodio y el osmolito se administran junto con un modulador del transporte iónico. Con respecto también a esta característica, el modulador del transporte iónico se puede seleccionar del grupo que consiste en β -agonistas, potenciadores de CFTR, agonistas de receptores purinérgicos, lubiprostonas e inhibidores de proteasas. En otra característica de este aspecto, los radionúclidos se seleccionan del grupo que consiste en cobalto-60, cesio-137, iridio-192, radio-226, fósforo-32, estroncio-89 y 90, yodo-125, talio-201, plomo-210, torio-234, uranio-238, plutonio, cobalto-58, cromo-51, americio y curio. En una característica adicional, los radionúclidos proceden de un dispositivo de eliminación de residuos radiactivos. En otra característica adicional más, el bloqueante de canales del sodio o su sal farmacéuticamente aceptable se administra en una suspensión en aerosol de partículas respirables que inhala el individuo. En una característica adicional, el bloqueante de canales del sodio o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se administra después de la exposición a los radionúclidos.

Composiciones

Aunque es posible que un compuesto de la invención se administre solo, en algunas realizaciones es preferible presentarlo en la forma de una composición, particularmente una composición (formulación) farmacéutica. Así, en otro aspecto, la invención proporciona composiciones y particularmente composiciones farmacéuticas (tales como una composición farmacéutica inhalable) que comprenden una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la invención como un ingrediente activo y un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. El término "ingrediente activo", según se emplea en la presente, se refiere a cualquier compuesto de la invención o combinación de dos o más compuestos de la invención en una composición farmacéutica. También se proporcionan realizaciones específicas en las que una composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, independientemente o en combinación con un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, independientemente o en combinación, en un diluyente. En realizaciones separadas, la composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmulas (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en solución salina hipertónica, agua estéril y solución salina hipertónica, respectivamente, en donde la concentración salina puede ser como se describe en la presente. En una realización, la concentración salina es 0,17% p/v y en otra es 2,8% p/v.

También se proporciona un estuche que comprende i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; ii) uno o más excipientes, portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables; iii) instrucciones para administrar el compuesto del grupo i) y los excipientes, portadores o diluyentes del grupo ii) a un sujeto que lo necesite; y iv) un recipiente. Un sujeto que lo necesite incluye cualquier sujeto que necesite los métodos de tratamiento descritos en la presente, incluyendo particularmente un sujeto humano que lo necesite. Realizaciones adicionales también comprenden un dispositivo de aerosolización seleccionado del grupo de un nebulizador, incluyendo nebulizadores de malla vibratoria y nebulizadores de chorro, un inhalador de polvo seco, incluyendo inhaladores de polvo seco activo y pasivo y un inhalador de dosis medidas, incluyendo inhaladores de dosis medida presurizados, de polvo seco y de nebulización suave.

En una realización un estuche comprende i) de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg de un compuesto de Fórmula (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, por dosis; ii) de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de diluyente por dosis; iii) instrucciones para administrar el compuesto del grupo i) y el diluyente del grupo ii) a un sujeto que lo necesite; y iv) un recipiente. En una realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina, según se describe en la presente, por dosis. En una realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina hipotónica por dosis. En otra realización, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina hipertónica por dosis. En una realización adicional más, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de agua estéril por dosis.

También se proporciona un estuche que comprende i) una solución que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; disuelta en un diluyente farmacéuticamente aceptable; iii) instrucciones para administrar la solución del grupo i) a un sujeto que lo necesite; y iii) un recipiente.

También se proporciona un estuche que comprende i) una solución que comprende de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg de un compuesto de Fórmula (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; disuelta en un diluyente farmacéuticamente aceptable; iii) instrucciones para administrar la solución del grupo i) a un sujeto que lo necesite; y iii) un recipiente. En una realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 ml de una solución salina, según se describe anteriormente, por dosis.

Otra realización comprende un estuche que comprende i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; en una formulación en polvo seco adecuada para la inhalación ii) opcionalmente, uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables adecuados para la inhalación; iii) instrucciones para administrar el compuesto del grupo i) y los excipientes o portadores del grupo ii) a un sujeto que lo necesite; y iv) un recipiente. En una realización adicional, el estuche también comprende un inhalador de polvo seco adecuado para aportar la formulación de polvo seco a un receptor. El inhalador de polvo seco puede ser, en realizaciones adicionales, un inhalador de una sola dosis o un inhalador de múltiples dosis.

Realizaciones adicionales de cada uno de los estuches descritos en la presente incluyen aquellas en las que la concentración del compuesto de Fórmula (I), (Ia), (II), (III), (IV), (V), (VI) y (VII), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, por dosis, es uno de los intervalos de dosis eficaz descritos en la presente, incluyendo a) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1.000 µg; b) de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 0,5 mg; y c) de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 50 µg.

Para cada uno de los estuches descritos anteriormente, hay una realización adicional en la que el diluyente es solución salina hipertónica de las concentraciones descritas en la presente. En otra realización para cada estuche el diluyente es solución salina hipotónica de las concentraciones descritas en la presente. En una realización adicional para cada estuche, el diluyente es agua estéril adecuada para inhalación.

El excipiente o excipientes, diluyente o diluyentes o portador o portadores farmacéuticamente aceptables deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de la misma. Generalmente, el excipiente o excipientes, diluyente o diluyentes o portador o portadores farmacéuticamente aceptables empleados en la formulación farmacéutica son "atóxicos", lo que significa que se consideran seguros para el consumo en la cantidad aportada en la formulación, e "inertes", lo que significa que no reaccionan apreciablemente con o dan como resultado un efecto no deseado sobre la actividad terapéutica del ingrediente o los ingredientes activos. Excipientes, diluyentes y portadores farmacéuticamente aceptables son convencionales en la especialidad y se pueden seleccionar usando técnicas convencionales, basándose en la vía de administración deseada. Véase REMINGTON'S, PHARMACEUTICAL SCIENCES, Lippincott Williams & Wilkins; 21^a Ed (1 de mayo de 2005). Preferiblemente, el excipiente o excipientes, diluyente o diluyentes o portador o portadores farmacéuticamente aceptables son considerados generalmente como seguros (GRAS) según la FDA.

Las composiciones farmacéuticas según la invención incluyen las adecuadas para la administración oral; la administración parenteral, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa e intraarticular; la administración tópica, incluyendo la administración tópica a la piel, los ojos, los oídos, etc.; la administración vaginal o rectal; y la administración al tracto respiratorio, incluyendo las fosas y los senos nasales, las vías respiratorias orales y extratorácicas y los pulmones, incluyendo mediante el uso de aerosoles que se pueden aportar por medio de diversos tipos de inhaladores de polvo seco, inhaladores de dosis medidas presurizados, inhaladores de nebulización suave, nebulizadores o insufladores. La vía de administración más adecuada puede depender de varios factores incluyendo el paciente y la afección o el trastorno que se trate.

Las formulaciones se pueden presentar en forma de dosificación unitaria o a granel como por ejemplo en el caso de formulaciones que se van a medir mediante un inhalador y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la especialidad de la farmacia. Generalmente, los métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el portador, diluyente o excipiente y opcionalmente uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan al asociar uniformemente e íntimamente el ingrediente activo con uno o más portadores, diluyentes o excipientes líquidos o portadores, diluyentes o excipientes sólidos finamente divididos o ambos y, a continuación, si es necesario, conformar el producto en la formulación deseada.

En una realización preferida, la composición es una composición farmacéutica inhalable que es adecuada para la inhalación y el aporte al espacio endobronquial. Típicamente, tal composición está en la forma de un aerosol que comprende partículas para el aporte usando un nebulizador, un inhalador de dosis medidas presurizado (MDI), un inhalador de nebulización suave o un inhalador de polvo seco (DPI). La formulación en aerosol usada en los métodos de la presente invención puede ser un líquido (p. ej., una solución) adecuado para la administración

mediante un nebulizador, un inhalador de nebulización suave o MDI o un polvo seco adecuado para la administración mediante un MDI o DPI.

Los aerosoles usados para administrar medicamentos al tracto respiratorio típicamente están polidispersos; esto es, están comprendidos por partículas de muchos tamaños diferentes. La distribución del tamaño de partícula se describe típicamente mediante el diámetro aerodinámico medio en masa (MMAD) y la desviación estándar geométrica (GSD). Para el aporte óptimo de fármaco al espacio endobronquial, el MMAD está en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 μm y preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 μm y el GSD es menor de 3 y preferiblemente menor de aproximadamente 2. Los aerosoles que tienen un MMAD por encima de 10 μm son generalmente demasiado grandes cuando se inhalan para alcanzar los pulmones. Los aerosoles con un GSD mayor de aproximadamente 3 no se prefieren para el aporte pulmonar ya que aportan un alto porcentaje del medicamento a la cavidad oral. Para alcanzar estos tamaños de partícula en la formulación en polvo, las partículas del ingrediente activo se pueden reducir en tamaño usando técnicas convencionales tales como micronización o secado por pulverización. Ejemplos no limitativos de otros procedimientos o técnicas que se pueden usar para producir partículas respirables incluyen secado por pulverización, precipitación, un fluido supercrítico y criodesecación. La fracción deseada se puede separar mediante clasificación por aire o tamizado. En una realización, las partículas serán cristalinas. Para las formulaciones líquidas, el tamaño de partícula se determina mediante la selección de un modelo particular de nebulizador, inhalador de nebulización suave o MDI.

Las distribuciones del tamaño de partícula del aerosol se determinan usando dispositivos muy conocidos en la especialidad, por ejemplo un impactador de cascada de Anderson de múltiples fases u otro método adecuado tal como los citados específicamente dentro del Capítulo 601 de la Farmacopea de EE. UU. como dispositivos característicos para aerosoles emitidos a partir de inhaladores de dosis medidas y de polvo seco.

Las composiciones de polvo seco para el aporte tópico al pulmón mediante inhalación se pueden formular sin excipiente o portador e incluyendo en cambio solamente los ingredientes activos en una forma de polvo seco que tiene un tamaño de partícula adecuado para la inhalación. Las composiciones de polvo seco también pueden contener una mezcla del ingrediente activo y una base de polvo adecuada (sustancia portadora/diluyente/excipiente) adecuada tal como mono-, di- o polisacáridos (p. ej., lactosa o almidón). La lactosa es típicamente el excipiente preferido para formulaciones de polvo seco. Cuando se emplea un excipiente sólido tal como lactosa, generalmente el tamaño de partícula del excipiente será mucho mayor que el ingrediente para ayudar a la dispersión de la formulación en el inhalador.

Ejemplos de inhaladores en polvo seco incluyen inhaladores de múltiples dosis de depósito, inhaladores de múltiples dosis premedidas, inhaladores basados en cápsulas e inhaladores desechables de una sola dosis. Un inhalador de depósito contiene un gran número de dosis (p. ej. 60) en un recipiente. Antes de la inhalación, el paciente acciona el inhalador lo que hace que el indicador mida una dosis de medicamento desde el depósito y la prepare para la inhalación. Ejemplos de DPI de depósito incluyen el Turbohaler® de AstraZeneca y el ClickHaler® de Vectura.

En un inhalador de dosis múltiples premedidas, cada dosis individual se ha fabricado en un recipiente separado y el accionamiento del inhalador antes de la inhalación hace que una nueva dosis de fármaco se libere desde su recipiente y se prepare para la inhalación. Ejemplos de inhaladores DPI de múltiples dosis incluyen, pero no se limitan a, Diskus® de GSK, Gyrohaler® de Vectura y Prohaler® de Valois. Durante la inhalación, el flujo inspiratorio del paciente acelera la salida de polvo del dispositivo y hacia el interior de la cavidad oral. Para un inhalador de cápsula, la formulación está en una cápsula y se almacena fuera del inhalador. El paciente pone una cápsula en el inhalador, acciona el inhalador (perfora la cápsula), y a continuación inhala. Ejemplos incluyen el Rotohaler™ (GlaxoSmithKline), Spinhaler™ (Novartis), HandiHaler™ (IB), TurboSpin™ (PH&T). Con inhaladores desechables de una sola dosis, el paciente acciona el inhalador para prepararlo para la inhalación, inhala y a continuación desecha el inhalador y el envase. Ejemplos incluyen el Twincer™ (U Groningen), OneDose™ (GFE) y Manta Inhaler™ (Manta Devices).

Generalmente, los inhaladores de polvo seco utilizan características de flujo turbulento de la trayectoria del polvo para hacer que los agregados de excipiente-fármaco se dispersen y las partículas de ingrediente activo se depositan en los pulmones. Sin embargo, ciertos inhaladores de polvo seco utilizan una cámara de dispersión ciclónica para producir partículas del tamaño respirable deseado. En una cámara de dispersión ciclónica, el fármaco entra en una dispersión con conformación de moneda tangencialmente de modo que la trayectoria del aire y el fármaco se mueven a lo largo de la pared circular externa. A medida que la formulación de fármaco se mueve a lo largo de esta pared circular rebota alrededor y los aglomerados se rompen por fuerzas de impacto. La trayectoria del aire se mueve en espiral hacia el centro de la cámara saliendo verticalmente. Las partículas que tienen tamaños aerodinámicos suficientemente pequeños pueden seguir la trayectoria del aire y salir de la cámara. En efecto, la cámara de dispersión funciona como un pequeño molino de chorro. Dependiendo de las especificidades de la formulación, se pueden añadir a la formulación grandes cantidades de lactosa para ayudar a la dispersión a través de impacto con las partículas de API.

El inhalador desechable de una sola dosis Twincer™ parece funcionar usando una cámara de dispersión ciclónica con conformación de moneda denominada "clasificador por aire". Véase la Solicitud de Patente de EE. UU.

Publicada N° 2006/0237010 de Rijksuniversiteit Groningen. Documentos publicados por la Universidad de Groningen han indicado que una dosis de 60 mg de sulfometato de colistina micronizado puro se podría aportar eficazmente como un polvo seco inhalable utilizando esta tecnología.

- 5 En realizaciones preferidas, la formulación en aerosol se aporta como un polvo seco usando un inhalador de polvo seco en el que las partículas emitidas desde el inhalador tienen un MMAD en el intervalo de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 μm y un GSD aproximadamente menor de 2.

10 Ejemplos de inhaladores de polvo seco y dispositivos de dispersión de polvo seco adecuados para el uso en el aporte de compuestos y composiciones según la presente invención incluyen los divulgados en los documentos US7520278; US7322354; US7246617; US7231920; US7219665; US7207330; US6880555; US5,522,385; US6845772; US6637431; US6329034; US5.458.135; US4.805.811; y la Solicitud de Patente de EE. UU. Publicada N° 2006/0237010.

15 En una realización, la formulación farmacéutica según la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para el aporte mediante un dispositivo de tipo Diskus®. El dispositivo Diskus® comprende una tira alargada formada por una lámina de base que tiene una pluralidad de rebajes separados a lo largo de su longitud y una lámina de tapa cerrada a la misma herméticamente pero separablemente para definir una pluralidad de recipientes, teniendo cada recipiente en el mismo una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo bien solo o bien mezclado con uno o más portadores o excipientes (p. ej., lactosa) y/o otros agentes terapéuticamente activos. Preferiblemente, la tira es suficiente flexible para ser arrollada como un rollo. La lámina de tapa y la lámina de base tendrán preferiblemente porciones extremas delanteras que no se cierran entre sí y al menos una de las porciones extremas delanteras está construida para estar conectada a medios de arrollamiento. Además, preferiblemente, el cierre hermético entra las láminas de base y tapa se extiende sobre toda su anchura. Para preparar la dosis para inhalación, la lámina de tapa preferiblemente se puede separar de la lámina de base en una dirección longitudinal desde un primer extremo de la lámina de base.

30 En una realización, la formulación farmacéutica según la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para el aporte usando un inhalador desechable de una sola dosis y particularmente el inhalador Twincer™. El inhalador Twincer™ comprende un blíster de estratificado de papel de aluminio con uno o más rebajes y una lámina de tapa cerrada al mismo herméticamente pero separablemente para definir una pluralidad de recipientes. Cada recipiente tiene en el mismo una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente o ingredientes activos bien solos o bien mezclados con uno o más portadores o excipientes (p. ej., lactosa). La lámina de tapa preferiblemente tendrá una porción extrema delantera que está construida para protegerla del cuerpo del inhalador. El paciente accionaría el dispositivo y de ese modo administraría la formulación en aerosol al 1) retirar la envuelta externa del envase, 2) tirar de la lengüeta de papel de aluminio para descubrir el fármaco del blíster y 3) inhalar el fármaco del blíster.

40 En otra realización, la formulación farmacéutica según la invención es un polvo seco para inhalación en la que el polvo seco se formula en micropartículas según se describe en la Publicación PCT N° WO2009/015286 o el documento WO2007/114881, ambos de NexBio. Tales micropartículas se forman generalmente al añadir un ion conjugado a una solución que contiene un compuesto de la invención en un disolvente, añadir un antidisolvente a la solución; y enfriar gradualmente la solución hasta una temperatura por debajo de aproximadamente 25°C, para formar una composición que contiene micropartículas que comprenden el compuesto. Las micropartículas que comprenden el compuesto se pueden separar entonces de la solución por cualesquiera medios adecuados tales como sedimentación, filtración o liofilización. Iones conjugados, disolventes y antidisolventes adecuados para preparar micropartículas de los compuestos de la invención se describen en el documento WO2009/015286.

50 En otra realización, una composición farmacéutica según la invención se aporta como un polvo seco usando un inhalador de dosis medidas. Ejemplos no limitativos de inhaladores y dispositivos de dosis medidas incluyen los divulgados en los documentos US5.261.538, US5.544.647, US5.622.163, US4.955.371, US3.565.070, US3.361306 y US6.116.234 y US7.108.159. En una realización preferida, un compuesto de la invención se aporta como un polvo seco usando un inhalador de dosis medidas en el que las partículas emitidas tienen un MMAD que está en el intervalo de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 μm y un GSD que es menor de aproximadamente 2.

55 Las formulaciones en aerosol líquido para el aporte al espacio endobronquial o al pulmón mediante inhalación se pueden formular, por ejemplo, como soluciones o suspensiones acuosas o como aerosoles aportados desde envases presurizados, tales como inhaladores de dosis medidas, con el uso de propelentes licuados adecuados, inhaladores de nebulización suave o nebulizadores. Tales composiciones en aerosol adecuadas para la inhalación pueden ser bien una suspensión o bien una solución y generalmente contienen el ingrediente o los ingredientes activos junto con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable (p. ej., agua (destilada o estéril), solución salina, solución salina hipertónica o etanol) y opcionalmente uno o más de otros agentes terapéuticamente activos.

65 Las composiciones en aerosol para el aporte mediante inhaladores de dosis medidas presurizados típicamente comprenden además un propelente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales propelentes incluyen un fluorocarbono o un clorofluorocarbono que contiene hidrógeno o mezclas de los mismos, particularmente

hidrofluoroalcanos, p. ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, especialmente 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano o una mezcla de los mismos. La composición en aerosol puede estar libre de excipiente o puede contener opcionalmente excipientes de formulación adicionales muy conocidos en la especialidad tales como tensioactivos, p. ej., ácido oleico o lecitina, y codisolventes, p. ej., etanol.

5 Las formulaciones presurizadas generalmente se retendrán en un bote (p. ej., un bote de aluminio) cerrado con una válvula (p. ej., una válvula medidora) y montado en un accionador provisto de una boquilla.

En otra realización, una composición farmacéutica según la invención se aporta como un líquido usando un inhalador de dosis medidas. Ejemplos no limitativos de inhaladores y dispositivos de dosis medidas incluyen los

10 divulgados en las Patentes de EE. UU. N° 6.253.762, 6.413.497, 7.601.336, 7.481.995, 6.743.413 y 7.105.152. En una realización preferida, un compuesto de la invención se aporta como un polvo seco usando un inhalador de dosis medidas en el que las partículas emitidas tienen un MMAD que está en el intervalo de aproximadamente 1 μm a aproximadamente 5 μm y un GSD que es menor de aproximadamente 2.

En una realización, la formulación en aerosol es adecuada para la aerosolización mediante un nebulizador de chorro o un nebulizador ultrasónico incluyendo nebulizadores de placa porosa estáticos y vibratorios. Las formulaciones en aerosol líquido se pueden generar al solubilizar o reconstituir una formulación de partículas sólidas o se pueden formular con un vehículo acuoso con la adición de agentes tales como un ácido o un álcali, sales tamponadoras y agentes de ajuste de la isotonicidad. Se pueden esterilizar mediante técnicas dentro del procedimiento de

15 fabricación, tales como filtración, o procedimientos terminales tales como calentamiento en un autoclave o irradiación y. También se pueden presentar en forma no estéril.

Los pacientes pueden ser sensibles al pH, la osmolalidad y el contenido iónico de una solución nebulizada. Por lo tanto, estos parámetros se deben ajustar para ser compatibles con el ingrediente activo y tolerables para los

25 pacientes. La solución o suspensión de ingrediente activo más preferida contendrá una concentración de cloro >30 mM a pH 4,5-7,4, preferiblemente 5,0-5,5 y una osmolalidad de aproximadamente 800-1.600 mOsm/kg. El pH de la solución se puede controlar bien mediante valoración con ácidos comunes (ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, por ejemplo) o bases (hidróxido sódico, por ejemplo) o a través del uso de tampones. Tampones comúnmente usados incluyen tampones de citrato, tales como tampones de ácido cítrico/citrato sódico, tampones de acetato, tales como

30 tampones de ácido acético/acetato sódico, tampones de fosfato. Las intensidades de los tampones pueden variar de 2 mM a 50 mM.

Tampones de acetato, fosfato y citrato útiles incluyen acetato sódico, trihidrato de acetato sódico, acetato amónico, acetato potásico, fosfato sódico, fosfato sódico dibásico, hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato potásico, hidrogenofosfato potásico, fosfato potásico, citrato sódico y citrato potásico. Otros tampones que se pueden utilizar incluyen hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido amónico, aminometilpropanol, trometamina, tetrahidroxipropilendiamina, ácido cítrico, ácido acético, ácido hidroxitricarboxílico o una de sus sales, tales como una de sus sales de citrato o citrato sódico, ácido láctico y sales de ácido láctico incluyendo lactato sódico, lactato potásico, lactato de litio, lactato cálcico, lactato magnésico, lactato bórico, lactato de aluminio, lactato de cinc, lactato de plata, lactato de cobre, lactato de hierro, lactato de manganeso, lactato amónico, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, diisopropanolamina, así como sus combinaciones y similares.

35 40

Tales formulaciones se pueden administrar usando nebulizadores disponibles comercialmente u otro atomizador que pueda romper la formulación en partículas o gotículas adecuadas para la deposición en el tracto respiratorio.

45 Ejemplos no limitativos de nebulizadores que se pueden emplear para el aporte en aerosol de una composición de la invención incluyen nebulizadores de chorro neumático, nebulizadores de chorro ventilados o de aspiración intensificada o nebulizadores ultrasónicos incluyendo nebulizadores de placa porosa estáticos o vibratorios. Nebulizadores disponibles comercialmente incluye el nebulizador Aeroneb® Go (Aerogen) y el nebulizador eFlow (Pari Pharma).

50

Un nebulizador de chorro utiliza una corriente de alta velocidad de aire que se inyecta a través de una columna de agua para generar gotículas. Las partículas inadecuadas para la inhalación impactan sobre las paredes o pantallas aerodinámicas. Un nebulizador ventilado o de aspiración intensificada funciona esencialmente del mismo modo que un nebulizador de chorro excepto que el aire inhalado pasa a través de la zona de generación de gotículas primaria

55 para incrementar la velocidad de salida del nebulizador mientras el paciente inhala.

En un nebulizador ultrasónico, la vibración de un cristal piezoeléctrico crea inestabilidades superficiales en el depósito de fármaco que hacen que se forman gotículas. En los nebulizadores de placa porosa, los campos de presión generados por energía sónica empujan al líquido a través de los poros de la malla donde se rompe en gotículas mediante fragmentación de Rayleigh. La energía sónica puede ser suministrada por un cuerno o una placa vibratorios conducidos por un cristal piezoeléctrico o por la vibración de la propia malla. Ejemplos no limitativos de atomizadores incluyen cualquier atomizador de fluidos o tobera simple o doble que produzca gotículas de un tamaño apropiado. Un atomizador de fluidos simple funciona al empujar a un líquido a través de uno o más orificios, donde el chorro de líquido se fragmenta en gotículas. Los atomizadores de fluidos dobles funcionan bien empujando tanto un gas como un líquido a través de uno o más orificios o bien haciendo chocar un chorro de líquido contra otro chorro bien de líquido o bien de gas.

60 65

La elección del nebulizador que aerosoliza la formulación en aerosol es importante en la administración del ingrediente o los ingredientes activos. Diferentes nebulizadores tienen diferentes eficacias basándose en su diseño y principio operativo y son sensibles a las propiedades físicas y químicas de la formulación. Por ejemplo, dos formulaciones con diferentes tensiones superficiales pueden tener diferentes distribuciones del tamaño de partícula. Adicionalmente, propiedades de la formulación tales como el pH, la osmolalidad y el contenido de iones penetrantes pueden afectar a la tolerabilidad de la medicación, de modo que las realizaciones preferidas se ajusten a ciertos intervalos de estas propiedades.

En una realización preferida, la formulación para nebulización se aporta al espacio endobronquial como un aerosol que tiene un MMAD entre aproximadamente 1 μm y aproximadamente 5 μm y un GSD menor de 2 usando un nebulizador apropiado. Para que sea óptimamente eficaz y para evitar efectos secundarios sobre el sistema respiratorio superior y sistémicos, el aerosol no debe tener un MMAD mayor de aproximadamente 5 μm y no debe tener un GSD mayor de aproximadamente 2. Si un aerosol tiene un MMAD mayor de aproximadamente 5 μm o un GSD mayor de aproximadamente 2, un gran porcentaje de la dosis se puede depositar en las vías respiratorias superiores disminuyendo la cantidad de fármaco aportada a la zona deseada del tracto respiratorio inferior. Si el MMAD del aerosol es menor de aproximadamente 1 μm , entonces un gran porcentaje de las partículas puede quedar suspendido en el aire inhalado y a continuación se puede exhalar durante la espiración.

Los compuestos de la invención también se pueden administrar mediante lavado transbroncoscópico.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El ingrediente activo también se puede presentar como un saquito, una embolada, un electuario o una pasta.

Un comprimido se puede elaborar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos elaborados por compresión se pueden preparar al comprimir en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma que fluye libremente tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden elaborar al moldear en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente revestidos o ranurados y se pueden formular a fin de proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo de los mismos.

Las formulaciones para la administración tópica en la boca, por ejemplo bucalmente o sublingualmente, incluyen pastillas para chupar, que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada tal como sacarosa y goma arábica o tragacanto y pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica.

Las formulaciones para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de dosis unitaria o múltiples dosis, por ejemplo ampollas y viales cerrados herméticamente, y se pueden almacenar en un estado criodesecación (liofilizado) que requiere solamente la adición del portador líquido estéril, por ejemplo solución salina o agua para inyección, inmediatamente antes del uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente.

Los fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires se pueden preparar en forma unitaria de dosificación de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Los jarabes se pueden preparar al disolver el ingrediente activo en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que los elixires se preparan a través del uso de un vehículo alcohólico farmacéuticamente aceptable. Las suspensiones se pueden formular al dispersar el ingrediente activo en un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se pueden incorporar en las composiciones orales líquidas solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes estearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes tales como aceite de hierbabuena o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

También se pueden emplear sistemas de aporte liposómicos tales como vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares como medios de aporte para los compuestos de la invención. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos tales como colesterol, estearilamina y fosfatidilcolinas.

Las composiciones farmacéuticas para la administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites. Las composiciones diseñadas para el tratamiento de los ojos u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, se pueden aplicar

como una pomada o crema tópica. Cuando se formula como una pomada, el ingrediente activo se puede emplear con una base de pomada parafínica o una miscible con agua. Alternativamente, el ingrediente activo se puede formular en una crema con una base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

- 5 Otras composiciones diseñadas para la administración tópica a los ojos o los oídos incluyen gotas oculares y gotas para los oídos en las que el ingrediente activo se disuelve o se suspende en un portador adecuado, tal como, por ejemplo, un disolvente acuoso, incluyendo solución salina.

10 Las composiciones diseñadas para la administración nasal incluyen aerosoles, soluciones, suspensiones, pulverizaciones, nebulizaciones y gotas. Las formulaciones aerosolizables para la administración nasal se pueden formular casi de los mismos modos que las formulaciones aerosolizables para inhalación con la condición de que se preferirán partículas de tamaño no respirable en las formulaciones para la administración nasal. Típicamente, se pueden emplear partículas de aproximadamente 5 micras de tamaño, hasta el tamaño de gotículas visibles. Así, para la administración nasal, se puede usar un tamaño de partícula en el intervalo de 10-500 μm para asegurar la retención en la fosa nasal.

También se pueden emplear parches transdérmicos, que están diseñados para permanecer en contacto con la epidermis del paciente durante un período prolongado y promover la absorción del ingrediente activo a su través.

- 20 Las composiciones para la administración vaginal o rectal incluyen pomadas, cremas, supositorios y enemas, todos los cuales se pueden formular usando técnicas convencional.

25 En otro aspecto, la invención proporciona un método para promover la hidratación de superficies mucosas o restaurar la defensa mucosa en un ser humano que lo necesite, que comprende administrar al ser humano una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, en donde dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz. En una realización preferida, el método comprende administrar la composición farmacéutica como una composición inhalable que comprende una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para alcanzar una concentración disuelta del compuesto sobre las superficies de las vías respiratorias de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} o 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} o 10^{-1} Moles/litro, más preferiblemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

30 En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar uno de: una enfermedad asociada con la obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplantes y traqueobronquitis asociada al respirador o prevenir neumonía asociada al respirador en un ser humano que lo necesite, que comprende administrar al ser humano una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, en donde dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz. En una realización preferida, el método comprende administrar la composición farmacéutica como una composición inhalable que comprende una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para alcanzar una concentración disuelta del compuesto sobre las superficies de las vías respiratorias de aproximadamente 10^{-9} , 10^{-8} o 10^{-7} a aproximadamente 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} o 10^{-1} moles/litro, más preferiblemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

45 En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar uno cualquiera de boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis o deshidratación nasal, incluyendo deshidratación nasal causada por la administración de oxígeno seco, ojo seco o enfermedad de Sjogren, promover la hidratación ocular o corneal, tratar el síndrome de obstrucción intestinal distal, tratar la otitis media, la discinesia ciliar primaria, el síndrome de obstrucción intestinal distal, la esofagitis, el estreñimiento o la diverticulitis crónica en un ser humano que lo necesite, que comprende administrar al ser humano una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, en donde dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz.

50 Formulaciones de dosificación unitaria preferidas para los compuestos de la invención son las que contienen una cantidad eficaz del ingrediente activo o una fracción apropiada del mismo.

55 Se debe entender que además de los ingredientes mencionados particularmente anteriormente, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la especialidad teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo las adecuadas para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

60 Las composiciones de la presente invención se pueden formular para liberación inmediata, controlada o sostenida según se desee para la afección particular que se trate y la vía de administración deseada. Por ejemplo, una formulación de liberación controlada para la administración oral se puede desear para el tratamiento del estreñimiento a fin de maximizar el aporte de agente activo al colon. Tales formulaciones y excipientes adecuados para las mismas son muy conocidos en la especialidad de la farmacia. Debido a que la base libre del compuesto generalmente es menos soluble en soluciones acuosas que la sal, las composiciones que comprenden una base

libre de un compuesto de Fórmula I se pueden emplear para proporcionar una liberación más sostenida del agente activo aportado mediante inhalación a los pulmones. Un agente activo presente en los pulmones en forma de partículas que no se haya disuelto en solución no está disponible para inducir una respuesta fisiológica, pero sirve como un depósito de fármaco biodisponible que se disuelve gradualmente en solución. Como otro ejemplo, una formulación puede emplear tanto una base libre como una forma salina de un compuesto de la invención para proporcionar tanto liberación inmediata como liberación sostenida del ingrediente activo para la disolución en las secreciones mucosas de, por ejemplo, la nariz.

Combinaciones

Los compuestos de la invención se pueden formular y/o usar en combinación con otros agentes terapéuticamente activos. Ejemplos de otros agentes terapéuticamente activos que se pueden formular o usar en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, osmolitos, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas (incluyendo β_2 -agonistas selectivos), agonistas del receptor P2Y2, agonistas δ de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), otros bloqueantes de canales del sodio epiteliales (bloqueantes de receptores de ENaC), moduladores de regulador de la conductancia transmembranaria de la fibrosis quística (CFTR), inhibidores de cinasa, agentes antiinfecciosos, antihistamínicos, macrólidos antiinflamatorios no antibióticos, inhibidores de elastasa y proteasa y agentes modificadores del moco o la mucina, tales como tensioactivos. Además, para indicaciones cardiovasculares, los compuestos de la invención se puede usar en combinación con β -bloqueantes, inhibidores de ACE, inhibidores de HMGCoA reductasa, bloqueantes de canales del calcio y otros agentes cardiovasculares.

La presente invención proporciona así, como otro aspecto, una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticamente activos seleccionados de osmolitos, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas (incluyendo β_2 -agonistas selectivos), agonistas del receptor P2Y2, agonistas δ del PPAR, bloqueantes de receptores de ENaC, moduladores de regulador de la conductancia transmembranaria de la fibrosis quística (CFTR), inhibidores de cinasa, agentes antiinfecciosos, antihistamínicos, macrólidos antiinflamatorios no antibióticos, inhibidores de elastasa y proteasa y agentes modificadores del moco o la mucina, tales como tensioactivos. La presente invención proporciona así, como otro aspecto, una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticamente activos seleccionados de bloqueantes β , inhibidores de ACE, inhibidores de HMGCoA reductasa y bloqueantes de canales del calcio. El uso de los compuestos de la invención en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos (particularmente osmolitos) puede disminuir la dosis del compuesto de la invención que se requiere para hidratar suficientemente superficies mucosas, reduciendo de ese modo el potencial de efectos secundarios no deseados atribuibles al bloqueo sistémico de canales del sodio tal como, por ejemplo, en los riñones.

Los "osmolitos", según la presente invención, son moléculas o compuestos que son osmóticamente activos. Las moléculas y los compuestos "osmóticamente activos" son impermeables a la membrana (es decir, esencialmente no absorbibles) sobre la superficie epitelial de las vías respiratorias o pulmonar. Los términos "superficie de las vías respiratorias" y "superficie pulmonar", según se usan en la presente, incluyen superficies de las vías respiratorias pulmonares tales como los bronquios y los bronquiolos, las superficies alveolares y las superficies nasales y sinusales. Osmolitos adecuados incluyen osmolitos iónicos (es decir, sales) y osmolitos no iónicos (es decir, azúcares, alcoholes sacáricos y osmolitos orgánicos). En general, los osmolitos (tanto iónicos como no iónicos) usados en combinación con los compuestos de la invención son preferiblemente osmolitos que no promueven o de hecho detienen o retardan el crecimiento bacteriano. Osmolitos adecuados para el uso en la presente invención puede estar en forma racémica o en la forma de un enantiómero, diastereoisómero, tautómero, polimorfo o pseudopolimorfo.

Ejemplos de osmolitos iónicos útiles en la presente invención incluyen cualquier sal de un anión farmacéuticamente aceptable y un catión farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, cualquiera (o ambos) del anión y el catión es osmóticamente activo y no está sometido a un transporte activo rápido, con relación a las superficies de las vías respiratorias a las que se administra. Tales compuestos incluyen, pero no se limitan a, aniones y cationes que están contenidos en sales comercializadas aprobadas por la FDA, véase, p. ej., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II, pg. 1457 (19ª Ed. 1995) y se pueden usar en cualquier combinación como se sabe en la especialidad.

Ejemplos específicos de aniones osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato cálcico, camsilato (canforsulfonato), carbonato, cloruro, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato (1,2-etanodisulfonato), estolato (laurilsulfato), esilato (1,2-etanodisulfonato), fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato (*p*-glicolamidofenilarsonato), hexilresorcinato, hidrabamina (*N,N'*-di(deshidroabietil)etilendiamina), hidrobromuro, hidrocloreuro, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, nitrito, pamoato (embonato), pantotenato, fosfato o difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato (8-

cloroteofilinato), trietoduro, bicarbonato, etc. Aniones preferidos incluyen cloruro, sulfato, nitrato, gluconato, yoduro, bicarbonato, bromuro y fosfato.

Ejemplos específicos de cationes osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes orgánicos tales como benzetina (*N,N'*-dibenciletilendiamina), cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (*N*-metil-D-glucamina), procaína, D-lisina, L-lisina, D-arginina, L-arginina, trietilamonio, N-metil-D-glicerol y similares; y cationes metálicos tales como aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc, hierro, amonio y similares. Cationes orgánicos preferidos incluyen cationes orgánicos de 3 carbonos, 4 carbonos, 5 carbonos y 6 carbonos. Cationes preferidos incluyen sodio, potasio, colina, litio, meglumina, D-lisina, amonio, magnesio y calcio.

Ejemplos específicos de osmolitos iónicos que se pueden usar en combinación con un compuesto de la invención incluyen, pero no se limitan a, cloruro sódico (particularmente solución salina hipertónica), cloruro potásico, cloruro de colina, yoduro de colina, cloruro de litio, cloruro de meglumina, cloruro de L-lisina, cloruro de D-lisina, cloruro amónico, sulfato potásico, nitrato potásico, gluconato potásico, yoduro potásico, cloruro férrico, cloruro ferroso, bromuro potásico y combinaciones de cualesquiera dos o más de los precedentes. En una realización, la presente invención proporciona una combinación de un compuesto de la invención y dos sales osmóticamente activas diferentes. Cuando se usan sales diferentes, uno del anión o el catión puede ser igual entre las diferentes sales. La solución salina hipertónica es un osmolito iónico preferidos para el uso en combinación con los compuestos de la invención.

Osmolitos no iónicos incluyen azúcares, alcoholes sacáricos y osmolitos orgánicos. Azúcares y alcoholes sacáricos útiles como osmolitos en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, azúcares de 3 carbonos (p. ej., glicerol, dihidroxiacetona); azúcares de 4 carbonos (p. ej., las formas tanto D como L de eritrosa, treosa y eritrosa); azúcares de 5 carbonos (p. ej., las formas tanto D como L de ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, psicosa, fructosa, sorbosa y tagatosa); y azúcares de 6 carbonos (p. ej., las formas tanto D como L de altosa, alosa, glucosa, manosa, gulosa, idosa, galactosa y talosa y las formas D y L de aloheptulosa, alohepulososa, glucoheptulosa, manoheptulosa, guloheptulosa, idoheptulosa, galactoheptulosa, taloheptulosa). Azúcares adicionales útiles en la práctica de la presente invención incluyen rafinosa, oligosacáridos de la serie de la rafinosa y estaquiosa. Las formas tanto D como L de la forma reducida de cada azúcar/alcohol sacárico también son adecuadas para la presente invención. Por ejemplo, la glucosa, cuando se reduce, se convierte en sorbitol; un osmolito dentro del alcance de la invención. Según esto, el sorbitol y otras formas reducidas de azúcares/alcoholes sacáricos (p. ej., manitol, dulcitol, arabitól) son osmolitos adecuados para el uso en la presente invención. El manitol es un osmolito no iónico preferido para el uso en combinación con los compuestos de la invención.

"Osmolitos orgánicos" se usa generalmente para referirse a moléculas que controlan la osmolalidad intracelular en el riñón. Véanse, p. ej., J. S. Handler y cols., *Comp. Biochem. Physiol.* 117, 301-306 (1997); M. Burg, *Am. J. Physiol.* 268, F983-F996 (1995). Los osmolitos orgánicos incluyen, pero no se limitan a, tres clases principales de compuestos: polioles (alcoholes polihidroxilados), metilaminas y aminoácidos. Osmolitos orgánicos poliólicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, inositol, mioinositol y sorbitol. Osmolitos orgánicos metilamínicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, colina, betaína, carnitina (formas L, D y DL), fosforilcolina, lisofosforilcolina, glicerofosforilcolina, creatina y fosfato de creatina. Osmolitos orgánicos de aminoácido adecuados incluyen, pero no se limitan a, las formas D y L de glicina, alanina, glutamina, glutamato, aspartato, prolina y taurina. Osmolitos orgánicos adicionales adecuados para el uso en la presente invención incluyen tihulosa y sarcosina. Se prefieren osmolitos orgánicos de mamífero, siendo los más preferidos los osmolitos orgánicos humanos. Sin embargo, ciertos osmolitos orgánicos son de origen bacteriano, de levadura y animales marinos y estos compuestos también se pueden emplear en la presente invención.

Se pueden usar precursores de osmolitos en combinación con los compuestos de la invención. Un "precursor de osmolito", según se usa en la presente, se refiere a un compuesto que se convierte en un osmolito mediante una etapa metabólica, bien catabólica o bien anabólica. Ejemplos de precursores de osmolitos incluyen, pero no se limitan a, glucosa, polímeros de glucosa, glicerol, colina, fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina y fosfatos inorgánicos, que son precursores de polioles y metilaminas. Precursores de osmolitos de aminoácido incluyen proteínas, péptidos y poliaminoácidos, que se hidrolizan para dar aminoácidos osmolíticos y precursores metabólicos que se pueden convertir en aminoácidos osmolíticos mediante una etapa metabólica tal como transaminación. Por ejemplo, un precursor del aminoácido glutamina es poli-L-glutamina y un precursor de glutamato es el poli-ácido L-glutámico.

También se pueden emplear osmolitos o precursores de osmolitos químicamente modificados. Tales modificaciones químicas implican conectar el osmolito (o precursor) a un grupo químico adicional que altera o intensifica el efecto del osmolito o el precursor de osmolito (p. ej., inhibe la degradación de la molécula de osmolito). Tales modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y se conocen en la especialidad. (Véanse, por ejemplo, las Pat. EE. UU. N° 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. y cols., *J. Med. Chem.* 19:113-117 (1976); Bodor, N. y cols., *J. Pharm. Sci.* 67:1045-1050 (1978); Bodor, N. y cols., *J. Med. Chem.* 26:313-318 (1983); Bodor, N. y cols., *J. Pharm. Sci.* 75:29-35 (1986).

Osmolitos preferidos para usar en combinación con los compuestos de la invención incluyen cloruro sódico, particularmente solución salina hipertónica y manitol.

Para la formulación de solución salina hipertónica al 7% y >7%, pueden ser particularmente útiles formulaciones que contienen aniones bicarbonato, especialmente para trastornos respiratorios con disfunción del regulador de la conductancia transmembranaria de la fibrosis quística (CFTR) tales como CF o COPD. Hallazgos recientes indican que, aunque la relación relativa de conductancia de HCO_3^- /conductancia de Cl^- esté entre 0,1 y 0,2 para canales de CFTR simples activados con cAMP y ATP, la relación en el conducto sudoríparo puede variar virtualmente de 0 a casi 1,0, dependiendo de las condiciones de estimulación. Esto es, combinar cAMP + cGMP + α -cetoglutarato puede dar conductancia de HCO_3^- de CFTR casi igual a la de la conductancia de Cl^- (Quiton y cols. Physiology, Vol. 22, N° 3, 212-225, junio de 2007). Por otra parte, las formulaciones de solución salina hipertónica al 7% y >7% que contienen aniones bicarbonato pueden ser particularmente útiles debido a un mejor control del pH en el líquido superficial de las vías respiratorias. En primer lugar, se ha observado que se produce acidificación de las vías respiratorias en la CF (Tate y cols. 2002) y que la ausencia de secreción de bicarbonato dependiente de CFTR puede conducir a una capacidad deteriorada para responder a afecciones de las vías respiratorias asociadas con la acidificación de la capa de líquido superficial de las vías respiratorias (Coakley y cols. 2003). En segundo lugar, la adición de solución HS sin bicarbonato a la superficie del pulmón puede diluir adicionalmente las concentraciones de bicarbonato y potencialmente reducir el pH o la capacidad para responder a la acidificación de las vías respiratorias dentro de la capa de líquido superficial de las vías respiratorias. Por lo tanto, la adición de aniones bicarbonato a HS puede ayudar a mantener o mejorar el pH de la capa de líquido superficial de las vías respiratorias en pacientes con CF.

Debido a esta evidencia, la inclusión de anión bicarbonato en la formulación de solución salina hipertónica al 7% o >7% administrada mediante el método de esta invención sería particularmente útil. Las formulaciones que contienen concentraciones de hasta 30 a 200 mM de aniones bicarbonato son de particular interés para soluciones HS al 7% o >7%.

Se entiende que la solución salina hipertónica tiene una concentración de sal mayor que la de solución salina normal (NS), es decir mayor de 9 g/l o 0,9% p/v y la solución salina hipotónica tiene una concentración de sal menor que la de solución salina normal, tal como de aproximadamente 1 g/l o 0,1% p/v a aproximadamente 8 g/l o 0,8% p/v. Las soluciones salinas hipertónicas útiles en las formulaciones y los métodos de tratamiento de la presente pueden tener una concentración de sal de aproximadamente 1% a aproximadamente 23,4% (p/v). En una realización, la solución salina hipertónica tiene una concentración de sal de aproximadamente 60 g/l (6% p/v) a aproximadamente 100 g/l (10% p/v). En otra realización, la solución salina tiene una concentración de sal de aproximadamente 70 g/l (7% p/v) a aproximadamente 100 g/l (10% p/v). En realizaciones adicionales, la solución salina tiene concentraciones de sal de a) de aproximadamente 0,5 g/l (0,05% p/v) a aproximadamente 70 g/l (7% p/v); b) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 60 g/l (6% p/v); c) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 50 g/l (5% p/v); d) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 40 g/l (4% p/v); e) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 30 g/l (3% p/v); y f) de aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) a aproximadamente 20 g/l (2% p/v).

Concentraciones específicas de soluciones salinas útiles en las formulaciones y los métodos de tratamiento de la presente incluyen, independientemente, las que tienen concentraciones de sal de 1 g/l (0,1% p/v), 2 g/l (0,2% p/v), 3 g/l (0,3% p/v), 4 g/l (0,4% p/v), 5 g/l (0,5% p/v), 6 g/l (0,6% p/v), 7 g/l (0,7% p/v), 8 g/l (0,8% p/v), 9 g/l (0,9% p/v), 10 g/l (1% p/v), 20 g/l (2% p/v), 30 g/l (3% p/v), 40 g/l (4% p/v), 50 g/l (5% p/v), 60 g/l (6% p/v), 70 g/l (7% p/v), 80 g/l (8% p/v), 90 g/l (9% p/v), 100 g/l (10% p/v), 110 g/l (11% p/v), 120 g/l (12% p/v), 130 g/l (13% p/v), 140 g/l (14% p/v), 150 g/l (15% p/v), 160 g/l (16% p/v), 170 g/l (17% p/v), 180 g/l (18% p/v), 190 g/l (19% p/v), 200 g/l (20% p/v), 210 g/l (21% p/v), 220 g/l (22% p/v) y 230 g/l (23% p/v). También se pueden usar concentraciones de solución salina entre cada una de estas concentraciones/porcentajes listados, tales como una solución salina de 1,7 g/l (0,17% p/v), 1,25 g/l (1,25% p/v), 1,5 g/l (1,5% p/v), 2,5 g/l (2,5% p/v), 2,8 g/l (2,8% p/v), 3,5 g/l (3,5% p/v), 4,5 g/l (4,5% p/v) y 7,5 g/l (7,5% p/v).

Una concentración útil específica de soluciones salinas hipotónicas incluye las de aproximadamente 0,12 g/l (0,012% p/v) a aproximadamente 8,5 g/l (0,85% p/v). Se puede usar cualquier concentración dentro de este intervalo, tal como, sobre una base de p/v, 0,05%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,225% (1/4 NS), 0,25%, 0,3% (1/3 NS), 0,35%, 0,4%, 0,45% (1/2 NS), 0,5%, 0,55%, 0,6% (2/3 NS), 0,65%, 0,675% (3/4 NS), 0,7%, 0,75% y 0,8%.

Cada uno de los intervalos y las concentraciones específicas de solución salina descritos en la presente se pueden usar con las formulaciones, los métodos de tratamiento, los regímenes y los estuches descritos en la presente.

También se proponen dentro del alcance de esta invención osmolitos o precursores de osmolito modificados químicamente. Tales modificaciones químicas implican conectar al osmolito (o precursor) un grupo químico adicional que altere o intensifique el efecto del osmolito o precursor de osmolito (p. ej., inhiba la degradación de la molécula de osmolito). Tales modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y son conocidas en la especialidad. (Véanse, por ejemplo, las Pat. EE. UU. N° 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. y cols., J. Med. Chem. 19:113-117 (1976); Bodor, N. y cols., J. Pharm. Sci. 67:1045-1050 (1978); Bodor, N. y cols., J. Med. Chem. 26:313-

318 (1983); Bodor, N. y cols., J. Pharm. Sci. 75:29-35 (1986), cada uno incorporado en la presente mediante referencia.

Agentes antiinflamatorios adecuados para el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen corticosteroides y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), particularmente inhibidores de fosfodiesterasa (PDE). Ejemplos de corticosteroides para el uso en la presente invención incluyen corticosteroides o profármacos de los mismos orales o inhalados. Ejemplos específicos incluyen, pero no se limitan a, ciclesonida, desisobutirilciclesonida, budesonida, flunisolida, mometasona y ésteres de la misma (p. ej., furoato de mometasona), propionato de fluticasona, furoato de fluticasona, beclometasona, metilprednisolona, prednisolona, dexametasona, éster S-fluorometílico de ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonyl)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, éster S-(2-oxo-tetrahydro-furan-3S-ílico) de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, ésteres de beclometasona (p. ej., el éster de 17-propionato o el éster de 17,21-dipropionato, éster fluorometílico, acetónido de triamcinolona, rofleponida o cualquier combinación o subgrupo de los mismos. Corticosteroides preferidos para la formulación o el uso en combinación con los compuestos de la invención se seleccionan de ciclesonida, desisobutirilciclesonida, budesonida, mometasona, propionato de fluticasona y furoato de fluticasona o cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

NSAID para el uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, cromoglicato sódico, nedocromilo sódico, inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) (p. ej., teofilina, aminofilina, inhibidores de PDE4, inhibidores de PDE3/PDE4 mixtos o inhibidores de PDE4/PDE7 mixtos), antagonistas de leucotrienos, inhibidores de la síntesis de leucotrienos (p. ej., inhibidores de 5 LO y FLAP), inhibidores de óxido nítrico sintasa (iNOS), inhibidores de proteasas (p. ej., inhibidores de tripsina, inhibidores de elastasa de neutrófilos e inhibidores de metaloproteasa), antagonistas de integrina β 2 y agonistas y antagonistas de receptores de adenosina (p. ej., agonistas de adenosina 2a), antagonistas de citocinas (p. ej., antagonistas de quimiocinas) o inhibidores de la síntesis de citocinas (p. ej., antagonistas del receptor de prostaglandina D2 (CRTH2)). Ejemplos de modificadores leucotriénicos adecuados para la administración mediante el método de esta invención incluyen montelukast, zileutona y zafirlukast.

El inhibidor de PDE4, el inhibidor de PDE3/PDE4 mixto o el inhibidor de PDE4/PDE7 mixto puede ser cualquier compuesto que se sepa que inhiba la enzima PDE4 o que se descubra que actúe como un inhibidor de PDE4 y que sean inhibidores de PDE4 selectivos (es decir, compuestos que no inhiban apreciablemente otros miembros de la familia de PDE). Ejemplos de inhibidores de PDE4 específicos para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, roflumilast, pumafentrina, arofilina, cilomilast, tofomilast, oglemilast, tolafeentrina, piclamilast, ibudilast, apremilast, 2-[4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetil)-1-naftalenil]-2-piridinil]-4-(3-piridinil)-1(2H)-ftalacinona (T2585), N-(3,5-dicloro-4-piridinil)-1-[(4-fluorofenil)metil]-5-hidroxi- α -oxo-1H-indol-3-acetamida (AWD-12-281, 4-[(2R)-2-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-2-feniletil]-piridina (CDP-840), ácido 2-[4-[[[2-(1,3-benzodioxol-5-iloxi)-3-piridinil]carbonyl]amino]metil]-3-fluorofenoxi]-(2R)-propanoico (CP-671305), N-(4,6-dimetil-2-pirimidinil)-4-[4,5,6,7-tetrahidro-2-(4-metoxi-3-metilfenil)-5-(4-metil-1-piperacil)-1H-indol-1-il]-bencenosulfonamida, (2E)-2-butenodioato (YM-393059), 9-[(2-fluorofenil)metil]-N-metil-2-(trifluorometil)-9H-purin-6-amina (NCS-613), N-(2,5-dicloro-3-piridinil)-8-metoxi-5-quinolinocarboxamida (D-4418), N-[(3R)-9-amino-3,4,6,7-tetrahidro-4-oxo-1-fenilpirrolo[3,2,1-][1,4]benzodiazepin-3-il]-3H-purin-6-amina (PD-168787), hidrocloreuro de 3-[[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]metil]-N-etil-8-(1-metiletil)-3H-purin-6-amina (V-11294A), N-(3,5-dicloro-1-oxido-4-piridinil)-8-metoxi-2-(trifluorometil)-5-quinolinocarboxamida (Sch351591), 5-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-3-[(3-metilfenil)metil]-(3S,5S)-2-piperidinona (HT-0712), 5-(2-((1R,4R)-4-amino-1-(3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil)ciclohexil)etnil)-pirimidin-2-amina, cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ol] y 4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetil)-1-naftalenil]-1-(2-metoxietil)-2(1H)-piridinona (T-440) y cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

Antagonistas de leucotrienos e inhibidores de la síntesis de leucotrienos incluyen zafirlukast, montelukast sódico, zileutona y pranlukast.

Agentes anticolinérgicos para la formulación o el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, antagonistas de receptores muscarínicos, incluyendo particularmente panantagonistas y antagonista de los receptores M₃. Compuestos ejemplares incluyen los alcaloides de las plantas de belladona, tales como atropina, escopolamina, homatropina, hiosciamina y las diversas formas incluyendo sales de los mismos (p. ej., atropina anhidra, sulfato de atropina, óxido o HCl de atropina, nitrato de metilatropina, hidrobromuro de homatropina, metilbromuro de homatropina, hidrobromuro de hiosciamina, sulfato de hiosciamina, hidrobromuro de escopolamina, metilbromuro de escopolamina) o cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

Anticolinérgicos adicionales para la formulación y el uso en combinación con metantelina, bromuro de propantelina, metilbromuro de anisotropina o Valpin 50, bromuro de acridinio, glicopirrolato (Robinul), yoduro de isopropamida, bromuro de mepenzolato, cloruro de tridihexetilo, metilsulfato de hexociclo, HCl de ciclopentolato, tropicamida, CCl de trihexifenidilo, pirenzepina, telencepina y metoctramina o cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

Anticolinérgicos preferidos para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen (bromuro de) ipratropio, (bromuro de) oxitropio y (bromuro de) y tiotropio o cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

Ejemplos de β -agonistas para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, salmeterol, R-salmeterol y sus sales de xinafoato, albuterol o R-albuterol (base libre o sulfato), levalbuterol, salbutamol, (fumarato de) formoterol, fenoterol, procaterol, pirbuterol, metaproterenol, terbutalina y sus sales y cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

Agonistas del receptor P2Y₂ para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención se pueden emplear 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 del receptor P2Y₂ adecuados son conocidos en la especialidad y se describen, por ejemplo, en las columnas 9-10 de la Patente de EE. UU. N° 6.264.975 y también en las Patentes de EE. UU. N° 5.656.256 y 5.292.498.

Agonistas de P2Y₂ que se pueden administrar mediante los métodos de esta invención incluyen agonistas del receptor P2Y₂ tales como agonistas del receptor P2Y₂ de ATP, UTP, UTP- γ -S y dinucleotídicos (p. ej. denufosol o dicaufosol) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. El agonista del receptor P2Y₂ típicamente está incluido 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 del receptor P2Y₂ adecuados se describen en, pero no limitado a, la Pat. EE. UU. N° 6.264.975, la Pat. EE. UU. N° 5.656.256, la Pat. EE. UU. N° 5.292.498, la Pat. EE. UU. N° 6.348.589, la Pat. EE. UU. N° 6.818.629, la Pat. EE. UU. N° 6.977.246, la Pat. EE. UU. N° 7.223.744, la Pat. EE. UU. N° 7.531.525 y la Sol. Pat. EE. UU. 2009/0306009, cada una de las cuales se incorpora en la presente mediante referencia.

Terapias y formulaciones combinadas en la presente pueden incluir agonistas de adenosina 2b (A2b), además, incluyendo BAY 60-6583, NECA (N-etilcarboxamidoadenosina), (S)-PHPNECA, LUF-5835 y LUF-5845. Agonistas de A2b que se pueden usar son descritos por Volpini y cols., Journal of Medicinal Chemistry 45 (15): 3271-9 (2002); Volpini y cols., Current Pharmaceutical Design 8 (26): 2285-98 (2002); Baraldi y cols., Journal of Medicinal Chemistry 47 (6): Cacciari y cols., 1434-47 (2004); Mini Reviews in Medicinal Chemistry 5 (12): 1053-60 (Dic. 2005); Baraldi y cols., Current Medicinal Chemistry 13 (28): 3467-82 (2006); Beukers y cols., Medicinal Research Reviews 26 (5): 667-98 (Sept. 2006); Elzein y cols., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16 (2): 302-6 (En. 2006); Carotti, y cols., Journal of Medicinal Chemistry 49 (1): 282-99 (En. 2006); Tabrizi y cols., Bioorganic & Medicinal Chemistry 16 (5): 2419-30 (Marzo 2008); y Stefanachi, y cols., Bioorganic & Medicinal Chemistry 16 (6): 2852-69 (Marzo 2008).

Ejemplos de otros bloqueantes de receptores de ENaC para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan, a amilorida y sus derivados tales como los compuestos descritos en la Patente de EE. UU. N° 6858615 y las Publicaciones PCT N° WO2003/070182, WO2004/073629, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2007/018640 y WO2007/146869, todas de Parion Sciences, Inc.

Los bloqueantes de ENaC de molécula pequeña son capaces de prevenir directamente el transporte de sodio a través del poro del canal ENaC. Un bloqueante de ENaC que se puede administrar en las combinaciones de la presente incluye, pero no se limita a, amilorida, benzamilo, fenamilo y análogos de amilorida como los ejemplificados por la Pat. EE. UU. N° 6.858.614, la Pat. EE. UU. N° 6.858.615, la Pat. EE. UU. N° 6.903.105, la Pat. EE. UU. N° 6.995.160, la Pat. EE. UU. N° 7.026.325, la Pat. EE. UU. N° 7.030.117, la Pat. EE. UU. N° 7.064.129, la Pat. EE. UU. N° 7.186.833, la Pat. EE. UU. N° 7.189.719, la Pat. EE. UU. N° 7.192.958, la Pat. EE. UU. N° 7.192.959, la Pat. EE. UU. N° 7.241.766, la Pat. EE. UU. N° 7.247.636, la Pat. EE. UU. N° 7.247.637, la Pat. EE. UU. N° 7.317.013, la Pat. EE. UU. N° 7.332.496, la Pat. EE. UU. N° 7.345.044, la Pat. EE. UU. N° 7.368.447, la Pat. EE. UU. N° 7.368.450, la Pat. EE. UU. N° 7.368.451, la Pat. EE. UU. N° 7.375.107, la Pat. EE. UU. N° 7.399.766, la Pat. EE. UU. N° 7.410.968, la Pat. EE. UU. N° 7.820.678, la Pat. EE. UU. N° 7.842.697, la Pat. EE. UU. N° 7.868.010, la Pat. EE. UU. N° 7.875.619.

Esta bien descrito que la proteólisis de ENaC incrementa el transporte de sodio a través de ENaC. Un inhibidor de proteasa bloquea la actividad de proteasas endógenas de las vías respiratorias, evitando de ese modo la escisión y activación de ENaC. Proteasas que pueden escindir ENaC incluyen furina, meprina, matriptasa, tripsina, proteasas asociadas a canales (CAP) y elastasas de neutrófilos. Inhibidores de proteasas que pueden inhibir la actividad proteolítica de estas proteasas que se pueden administrar en las combinaciones de la presente incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de camostat, prostasina, furina, aprotinina, leupeptina y tripsina.

Las combinaciones de la presente pueden incluir uno o más ácidos nucleicos (o poli(ácidos nucleicos)) adecuados, incluyendo, pero no limitados a, un oligonucleótido antisentido, siARN, miARN, un mimético de miARN, antagomir, ribozima, un aptámero y ácidos nucleicos oligonucleotídicos de reclamo. Véase, p. ej., la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. N° 20100316628. En general, tales ácidos nucleicos pueden tener de 17 o 19 nucleótidos de longitud hasta 23, 25 o 27 nucleótidos de longitud o más. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en la Patente de EE. UU. N° 7.517.865 y las Solicitudes de Patente de EE. UU. N° 20100215588; 20100316628; 20110008366; y 20110104255. En general, los siARNs tienen de 17 o 19 nucleótidos de longitud hasta 23, 25 o 27 nucleótidos de longitud o más.

Compuestos que modulan la actividad de CFTR que se pueden administrar en las combinaciones de esta invención incluyen, pero no se limitan a, los compuestos descritos en los documentos US 2009/0246137 A1, US 2009/0253736 A1, US 2010/0227888 A1, Patente número 7.645.789, US 2009/0246820 A1, US 2009/0221597 A1, US 2010/0184739 A1, US 2010/0130547 A1, US 2010/0168094 A1 y la patente emitida: 7.553.855; US 7.772.259 B2, US 7.405.233 B2, US 2009/0203752, US 7.499.570.

Agentes modificadores del moco o la mucina útiles en las combinaciones y los métodos de la presente incluyen agentes reductores, tensioactivos y detergentes, expectorantes y agentes desoxirribonucleasa.

Las proteínas de la mucina se organizan en polímeros de alto peso molecular a través de la formación de enlaces covalentes (disulfuro) y no covalentes. La ruptura de los enlaces covalentes con agentes reductores es un método bien establecido para reducir la propiedades viscoelásticas del moco en *vitro* y se predice que minimiza la adherencia del moco y mejora la depuración en *vivo*. Se sabe bien que los agentes reductores disminuyen la viscosidad del moco en *vitro* y se usan comúnmente como un adyuvante para procesar muestras de esputos.

Ejemplos de agentes reductores incluyen moléculas que contienen sulfuro o fosfinas capaces de reducir enlaces disulfuro proteínicos incluyendo, pero no limitados a, proteínas que contienen N-acetilcisteína, N-acistelina, carbocisteína, glutatona, ditiotretol, tiorredoxina, y tris(2-carboxietil)fosfina.

La N-acetilcisteína (NAC) está aprobada para el uso junto con fisioterapia torácica para liberar moco viscoso o espeso de las vías respiratorias. Estudios clínicos que evalúan los efectos de NAC oral o inhalada en la CF y la COPD han presentado mejoras en las propiedades reológicas del moco y tendencias hacia mejoras en la función pulmonar y disminuciones en las exacerbaciones pulmonares⁹. Sin embargo, la preponderancia de datos clínicos sugiere que la NAC es en el mejor de los casos un agente terapéutico marginalmente eficaz para tratar obstrucción mucosa de las vías respiratorias cuando se administra oralmente o mediante inhalación. Una reciente revisión de Cochrane de la bibliografía clínica existente sobre el uso de NAC no encontró una evidencia para apoyar la eficacia de NAC para CF. El beneficio clínico marginal de la NAC refleja:

La NAC es un agente reducto relativamente ineficaz que solo es parcialmente activo sobre la superficie de las vías respiratorias. Se requieren concentraciones muy altas de NAC (200 mM o 3,26%) para reducir completamente Muc5B, una mucina de las vías respiratorias formadora de gel principal, en *vitro*. Por otra parte, en el ambiente de pH de la superficie de las vías respiratorias (medido en el intervalo de pH 6,0 a 7,2 en vías respiratorias con CF y COPD), la NAC existe solo parcialmente en su estado reactivo como un tiolato cargado negativamente. Así, en la clínica, la NAC se administra a concentraciones muy altas. Sin embargo, se predice que los dispositivos de aerosol actuales no serán capaces de alcanzar concentraciones terapéuticas ni siquiera de una solución de Mucomyst al 20% sobre superficies distales de las vías respiratorias en los dominios temporales relativamente cortos (7,5 - 15 minutos) típicamente usados.

En estudios no clínicos, la NAC marcada con ¹⁴C, administrada mediante inhalación, exhibe una eliminación rápida de los pulmones con una semivida que varía de 6 a 36 minutos.

La NAC se administra como una solución de inhalación hipertónica muy concentrada (20% o 1,22 molar) y se ha presentado que provoca broncoconstricción y tos. En muchos casos, se recomienda que la NAC se administre con un broncodilatador para mejorar la tolerabilidad de este agente.

Así, agentes reductores tales como NAC no son muy adecuados para la administración de aerosol en embolada. Sin embargo, se anticipa que el aporte de agentes reductores mediante una infusión de aerosol pulmonar incrementaría la eficacia, mientras que permitiría una disminución en la concentración de agente reductor en la solución de inhalación (se predice que incrementa la tolerabilidad).

Los tensioactivos y detergentes son agentes de extensión que se muestra que disminuyen la viscoelasticidad del moco, mejorando la capacidad de depuración. Ejemplos de tensioactivos incluyen dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), PF, ácido palmítico, palmitoiloleoilfosfatidilglicerol, proteínas asociadas a tensioactivos (p. ej. SP-A, B o C) o se pueden derivar de animales (p. ej. de lavado pulmonar de vaca o ternero o extraídos de pulmón de cerdo picado) o sus combinaciones. Véanse, p. ej., las Patentes de EE. UU. N° 7.897.577, 5.876.970, 5.614.216, 5.100.806 y 4.312.860. Ejemplos productos tensioactivos incluyen Exosurf[®] Neonatal (palmitato de colfoscerilo), Pumactant[®] (DPPC y fosfatidilglicerol de huevo), tensioactivo KL-4, Venticute[®] (lusulptida, tensioactivo rSP-C), Alveofact[®] (bovactant), Curosurf[®] (poractant alfa), Infasurf[®] (calfactant), Newfacten[®] (tensioactivo bovino modificado), Surface[®], Natsurf[™] (tensioactivo de etoxilato de alcohol no iónico) y Survanta[®] (beractant). Ejemplos de detergentes incluyen, pero no se limitan a, Tween-80 y triton-X 100.

Se puede usar cualquier expectorante adecuado, incluyendo, pero no limitado a, guaifenesina (véase, p. ej., la Patente de EE. UU. N° 7.345.051). Se puede usar cualquier desoxirribonucleasa adecuada, incluyendo, pero no limitada, dornasa alfa (véase, p. ej., Patente de EE. UU. N° 7.482.024).

Ejemplos de inhibidores de cinasas incluyen inhibidores de NFkB, PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa), p38-MAP cinasa y Rho cinasa.

Agentes antiinfecciosos para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen antivirales y antibióticos. Ejemplos de antivirales adecuados incluyen Tamiflu® (oseltamivir) y Relenza® (zanamivir). Ejemplos de antibióticos adecuados incluyen, pero no se limitan a, aztreonam (arginina o lisina), fosfomicina y aminoglucósidos tales como tobramicina o cualquier combinación o subgrupo de los mismos. Agentes antiinfecciosos adicionales que se pueden usar en la presente incluyen aminoglucósidos, daptomicina, fluoroquinolonas, cetólidos, carbapenems, cefalosporinas, eritromicina, linezolda, penicilinas, azitromicina, clindamicina, oxazolidinonas, tetraciclinas y vancomicina.

Ejemplos antibióticos de carbapenam útiles son impenam, panipenam, meropenam, biapenam, MK-826 (L-749,345), DA-1131, ER-35786, lenapenam, S-4661, CS-834 (profármco de R-95867), KR-21056 (profármaco de KR-21012), L-084 (profármaco de LJC 11036) y ceftolozano (CXA-101).

Antihistamínicos (es decir, antagonistas del receptor H1) para la formulación y el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a: etanolaminas tales como HCl de difenhidramina, maleato de carbinoxamina, doxilamina, fumarato de clemastina, HCl de difenilhidramina y dimenhidrinato; etilendiaminas tales como maleato de pirilamina (metpiramina), HCl de tripeleennamina, citrato de tripeleennamina y antazolina; alquilaminas tales como feniramina, clorofeniramina, bromofeniramina, dexclorfeniramina, triprolidina y acrivastina; piridinas tales como metapirileno, piperacinas tales como HCl de hidroxicina, pamoato de hidroxicina, HCl de ciclicina HCl, lactato de ciclicina, HCl de medicina y HCl de cetiricina; piperidinas tales como astemisol, HCl de levocabastina, loratadina, descarboetoxiloratadina, terfenadina y HCl de fexofenadina; tri- y tetraciclinas tales como prometacina, clorprometacina, trimepricina y azatadina; y HCl de acelastina cualquier combinación o subgrupo de los mismos.

Ejemplos de otras clases de agentes terapéuticos adecuadas para el uso en las combinaciones y los métodos de la presente incluyen antivirales tales como ribavirina, agentes antifúngicos tales como anfotericina, intraconazol y voriconazol, agentes contra el rechazo tales como ciclosporina, tacrolimus y sirolimus, broncodilatadores incluyendo, pero no limitados a, agentes anticolinérgicos tales como atrovent, siARNs, vectores para terapia génica, aptámeros, agonistas del receptor de endotelina, alfa-1-antitripsina y prostacilinas.

En los métodos de tratamiento y los usos descritos anteriormente, un compuesto de la invención se puede emplear solo o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos. Típicamente, cualquier agente terapéuticamente activo que tenga un efecto terapéutico en la enfermedad o afección que se trata con el compuesto de la invención se puede utilizar en combinación con los compuestos de la invención, con tal de que el agente terapéuticamente activo particular sea compatible con la terapia que emplea un compuesto de la invención. Agentes terapéuticamente activos típicos que son adecuados para el uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen los agentes descritos anteriormente.

En una realización preferida, los compuestos de la invención se usan en combinación con uno o más osmolitos, particularmente solución salina hipertónica o manitol.

En otro aspecto, la memoria descriptiva divulga métodos para el tratamiento y los usos que se describen anteriormente, que comprenden administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y al menos un agente terapéuticamente activo diferente. Los compuestos de la invención y al menos un agente terapéuticamente activo adicional se pueden emplear en combinación concomitantemente o secuencialmente en cualquier combinación terapéuticamente apropiada. La administración de un compuesto de la invención con uno o más de otros agentes terapéuticamente activos puede ser mediante la administración concomitantemente en 1) una composición farmacéutica unitaria, tal como las composiciones descritas anteriormente o 2) composiciones farmacéuticas separadas que incluyen cada una uno o más de los ingredientes activos integrantes. Los componentes de la combinación se pueden administrar separadamente de un modo secuencial en el que el compuesto de la invención se administra en primer lugar y el otro agente terapéuticamente activo se administra en segundo lugar o viceversa.

Cuando el compuesto de la invención se administra en combinación con uno o más osmolitos, la administración de cada componente es preferiblemente concomitante y puede ser en una composición unitaria o en composiciones separadas. En una realización, el compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran concomitantemente mediante lavado transbroncoscópico. En otra realización, el compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran concomitantemente mediante inhalación.

Cuando un compuesto de la invención se usa en combinación con otro agente terapéuticamente activo, la dosis de cada compuesto puede diferir de aquella cuando el compuesto de la invención se usa solo. Las dosis apropiadas serán determinadas fácilmente por un experto normal en la especialidad. La dosis apropiada del compuesto de la invención, el otro o los otros agentes terapéuticamente activos y las cronologías de administración relativas se

seleccionarán a fin de alcanzar el efecto terapéutico combinado deseado y estarán dentro de la experiencia y la discreción del médico, profesional clínico o veterinario a cargo.

5 Procedimientos experimentales. La presente invención también proporciona procedimientos para preparar los compuestos de la invención y los productos intermedios sintéticos útiles en tales procedimientos, según se describe con detalle posteriormente.

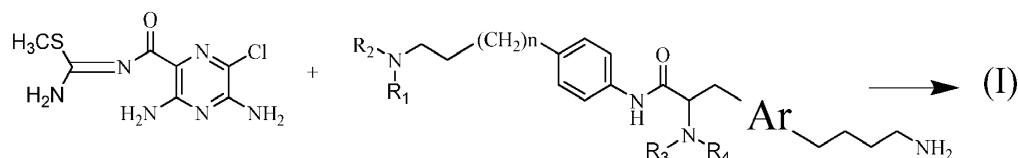
10 Ciertas abreviaturas y acrónimos se usan para describir los procedimientos sintéticos y los detalles experimentales. Aunque la mayoría de estos serán entendidos por un experto en la especialidad, la siguiente tabla contiene una lista de muchas de estas abreviaturas y acrónimos.

Abreviatura	Significado
AcOH	Ácido acético
AIBN	Azobisisobutironitrilo
DIAD	Azidodicarboxilato de diisopropilo
DIPEA	N,N-Diisopropiletilamina
DCE	dicloroetano
DCM	diclorometano
DMF	dimetilformamida
Et	Etilo
EtOAc o EA	acetato de etilo
EtOH	Etanol
ESI	ionización por electropulverización
HATU	hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
iPrOH	Alcohol isopropílico
i.t. o IT	intratraqueal
Me	Metilo
MeOH	metanol
AcOH	Ácido acético
m/z o m/e	relación de masa a carga
MH ⁺	masa más 1
MH ⁻	masa menos 1
MIC	concentración inhibidora mínima
MS o ms	espectro de masas
ta o t. a.	temperatura ambiente
R _f	Factor de retardo
t-Bu	terc-butilo
THF	tetrahidrofurano
TLC o tlc	cromatografía en capa fina
δ	partes por millón por debajo del campo del tetrametilsilano
Cbz	Benciloxycarbonilo, es decir -(CO)O-bencilo
AUC	Área bajo la curva o el pico
MTBE	Metil-tec-butil-éter
t _R	Tiempo de retención
GC-MS	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
% en peso	Porcentaje en peso
h	Horas

Abreviatura	Significado
min.	Minutos
MHz	megahercios
TFA	Ácido trifluoroacético
UV	Ultravioleta
Boc	<i>tert</i> -butiloxycarbonilo
DIAD	Azodicarboxilato de diisopropilo
AcOH	Ácido acético
DIPEA	N,N-Diisopropiletilamina o base de Hünig
Ph ₃ P	Trifenilfosfina

Los compuestos de Fórmula I se pueden sintetizar usando técnicas conocidas en la especialidad. Un procedimiento sintético representativo se ilustra en el Esquema 1 posteriormente.

Esquema 1



Estos procedimientos se describen in, por ejemplo, en E. J. Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and Its Analogs" (Cap. 3) en Amiloride and Its Analogs, pp. 25-36. Otros procedimientos para preparar análogos de amilorida se describen, por ejemplo, en la Patente de EE. UU. N° 3.318.813, de Cragoe, particularmente en los métodos A, B, C y D de la patente '813. Otros procedimientos adicionales que se pueden adaptar para la preparación de los compuestos de la invención se describen en las Publicaciones PCT N° WO2003/07182, WO2005/108644, WO2005/022935, US 7,064,129, US 6,858,615, US 6,903,105, WO 2004/073629, WO 2007/146869 y WO 2007/018640, concedidas todas a Parion Sciences, Inc.

La preparación de N'-3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (2) se puede observar en el documento WO 2009/074575.

Generalmente, los compuestos de la invención se puede preparar convenientemente al tratar un compuesto de Fórmula II con una amina de Fórmula III. Más específicamente, los compuestos de Fórmula 2 se tratan con la amina de Fórmula 3 en un disolvente adecuado tal como metanol, etanol o tetrahidrofurano y una base tal como trietilamina (TEA) o diisopropiletilamina (DIPEA), con calentamiento hasta temperatura elevada, p. ej., 70°C. Se pueden llevar a cabo purificación adicional, resolución de estereoisómeros, cristalización y/o preparación de formas salinas usando técnicas convencionales.

Como será evidente para los expertos en la especialidad, en ciertos casos, los compuestos de partida o intermedios en la síntesis pueden poseer otros grupos funcionales que proporcionan centros reactivos alternativos. La interferencia de tales grupos funcionales se puede evitar mediante la utilización de grupos protectores apropiados, tales como grupos protectores de amina o alcohol y, cuando sea aplicable, priorizando apropiadamente las etapas sintéticas. Grupos protectores adecuados serán evidentes para los expertos en la especialidad. Se conocen bien en la especialidad métodos para instalar y retirar tales grupos protectores y tales técnicas convencionales también se pueden emplear en los procedimientos de esta invención.

Los siguientes ejemplos específicos se proporcionan en la presente con propósitos de ilustración.

Material y métodos. Todos los reactivos y disolventes se adquirieron de Aldrich Chemical Corp., Chem-Impex International Inc. y TCI chemical industry Co. Ltd. Los espectros de NMR se obtuvieron bien en un Bruker AC 400 (¹H NMR a 400 MHz y ¹³C NMR a 100 MHz) o bien en un Bruker AC 300 (¹H NMR at 300 MHz y ¹³C NMR at 75 MHz). Los espectros de protones se refirieron al tetrametilsilano como un patrón interno y los espectros de carbono se refirieron a CDCl₃, CD₃OD o DMSO-*d*₆ (adquiridos de Aldrich o Cambridge Isotope Laboratories, a menos que se especifique otra cosa). La cromatografía de desarrollo rápido se realizó en un sistema Combiflash (Combiflash Rf, Teledyne Isco) cargado con columna de gel de sílice (Redi Sep. Rf, Teledyne Isco) o columna en fase inversa (columna de alta resolución Gold C18). Los espectros de masas de ESI se obtuvieron con un espectrómetro de masas Shimadzu LCMS-2010 EV. Los análisis de HPLC se obtuvieron usando una columna analítica Waters XTerra

ES 2 619 954 T3

MS C18 de 5 μm 4,6x150 mm detectada a 220 nm (a menos que se especifique otra cosa) en un sistema de HPLC Shimadzu Prominence. El siguiente programa temporal se usó con un caudal de 1,0 ml por minuto:

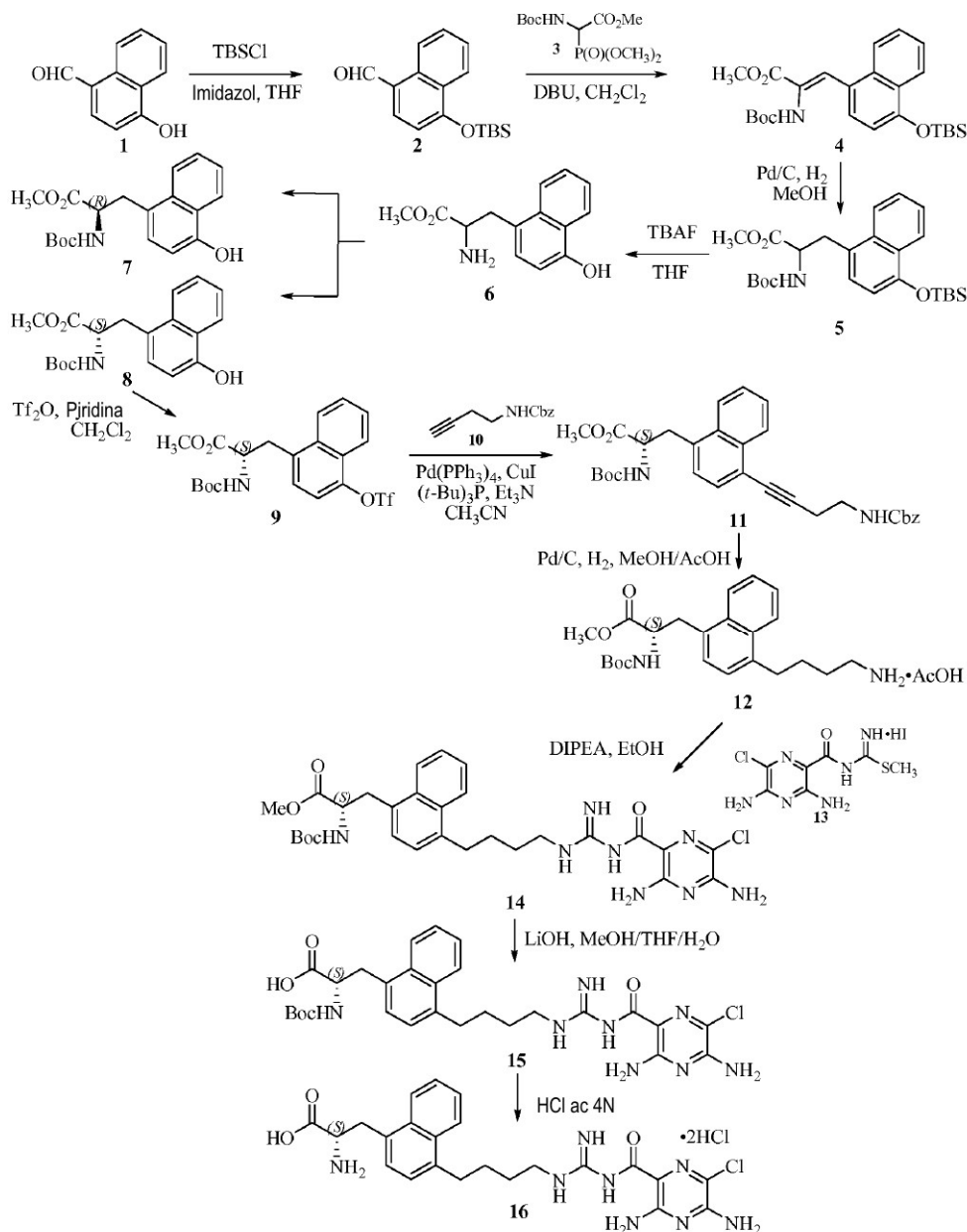
Tiempo (min)	Porcentaje de A (H ₂ O con 0,05% de TFA)	Porcentaje de B (CH ₃ CN con 0,05% de TFA)
2,50	90	10
20,00	10	90
30,00	10	90
32,50	90	10

- 5 Los análisis de UPLC se obtuvieron usando una columna analítica Waters ACQUITY UPLC HSS T3 de 1,8 μm 2,1x100 mm detectada a 220 nm (a menos que se especifique otra cosa) en un sistema de UFLC Shimadzu Prominence. El siguiente programa temporal se uso con un caudal de 0,3 ml por minuto:

Tiempo (min)	Porcentaje de A (H ₂ O con 0,05% de NH ₄ COOH y 0,1% de HCOOH)	Porcentaje de B (CH ₃ CN/agua 80:20% con 0,05% de NH ₄ COOH y 0,1% de HCOOH)
1,00	90	10
4,00	30	70
5,00	30	70
5,50	90	10
6,50	90	10

1. Preparación de la sal de hidrocloreto de ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)naftalen-1-il)propanoico (16)

Esquema 2



- 5 Preparación de 4-(*tert*-butyldimethylsiloxy)naphthaleno-1-carbaldehído (2); Una solución de 4-hidroxinaftaleno-1-carbaldehído (1) (10,0 g, 58,1 mmol) en THF seco (200 ml) se enfrió hasta 0°C y se añadieron secuencialmente imidazol (12,0 g, 174 mmol) y cloruro de *tert*-butyldimethylsiloxy (TBSCl) (13,1 g, 87,1 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 h, la mezcla de reacción se filtró y el disolvente se evaporó. El residuo se recogió en EtOAc (500 ml), se lavó con NH_4Cl acuoso saturado (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se retiró bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (2% de EtOAc/hexano), dando 2 (14,8 g, 90%) como un sólido amarillo claro: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 10,22 (s, 1H), 9,30 (d, $J = 8,10$ Hz, 1H), 8,27 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,86 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,69 (ddd, $J = 8,4, 7,0, 1,3$ Hz, 1H), 7,57 (ddd, $J = 8,4, 7,0, 1,3$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 1,10 (s, 9H), 0,36 (s, 6H)
- 10

Preparación de (Z)-2-(*terc*-butiloxicarbonil)amino-3-[1-(*terc*-butildimetilsililoxi)naftalen-4-il]acrilato de metilo (4);

Una solución de (MeO)₂P(O)CH(NHBoc)CO₂Me, 3 (23,0 g, 52,7 mmol) en CH₂Cl₂ seco (100 ml) se cargó con DBU (10,1 ml, 67,3 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min a 0°C. Una solución de 1 (14,8 g, 51,74 mmol) en CH₂Cl₂ seco (60 ml) se añadió lentamente a través de una jeringa y la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente a lo largo de 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó rápidamente con NH₄Cl acuoso saturado (2 x 150 ml) y salmuera (200 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (20% de EtOAc/hexano con 1% de NEt₃), dando 4 (20,0 g, 85%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,23 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H), 7,93 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Hz, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,53-7,47 (m, 2H), 6,85 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,05 (brs, 1H), 3,88 (s, 3H), 1,30 (s, 9H), 1,09 (s, 9H), 0,30 (s, 6H).

Preparación de 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-(4-(*terc*-butildimetilsililoxi)naftalen-1-il)propanoato de metilo (5);

Una suspensión de 4 (17,2 g, 37,6 mmol) y Pd al 10%/C (3,40 g) en EtOH (200 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm, globo) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar 5 (17,0 g, 99%) como un sólido blanco: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,23 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,99 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,57-7,44 (m, 2H), 7,10 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,07-4,94 (brs, 1H), 4,74-4,61 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,55-3,17 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,18 (s, 9H), 0,30 (s, 6H).

Preparación de 2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-(4-hidroxi-naftalen-1-il)propanoato de metilo (6);

Una solución de 5 (17,0 g, 37,0 mmol) en THF seco (200 ml) a 0°C se cargó con fluoruro de tetrabutilamonio (48,1 ml, 48,1 mmol). La solución resultante se agitó durante 15 min y se desactivó con NH₄Cl acuoso saturado (150 ml). Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (2 x 150 ml) y salmuera (200 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (25% de EtOAc/hexano), dando el rotámero 6 (14,0 g, 94%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,23 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,57-7,44 (m, 2H), 7,07 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,68 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,55 (brs, 1H), 5,14-4,85 (brs, 1H), 4,77-4,51 (m, 1H), 3,78-3,31 (m, 5H), 1,40 (s, 6H), 1,10 (s, 3H).

Preparación del Compuestos 7 y 8;

Se usó una columna CHIRALPAK AD 5 cm D.I. x 50 cm L, partícula 20 μ para separar enantiómeros usando el sistema isocrático IPA/Heptano (7,5% con 0,4% de DEA). 8,0 g del compuesto racémico 6 se purificaron mediante la columna para suministrar el isómero *S* 8 (3,5 g, 44% de rendimiento) como un sólido blanco y el isómero *R* 7 (2,2 g, 28%) como un sólido blanco.

Preparación de (S)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)-3-[4-(trifluorometilsulfoniloxi)naftalen-1-il]propanoato de metilo (9);

Una solución del compuesto 8 (1,22 g, 3,53 mmol) en piridina (20 ml) se cargó con triflato (0,9 ml, 5,30 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la concentración, la mezcla de reacción se repartió entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para suministrar el compuesto 9 (1,51 g, 89%) como un aceite pardo: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,19-8,07 (m, 2H), 7,69-7,64 (m, 2H), 7,38 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,28 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 5,12-5,06 (brs, 1H), 4,78-4,67 (m, 1H), 3,68-3,46 (m, 5H), 1,39 (s, 8H), 1,25 (s, 1H).

Preparación de (S)-3-[4-[4-(*benciloxicarbonilamino*)but-1-inil]naftalen-1-il]-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo (11);

Una solución del compuesto 9 (1,50 g, 3,14 mmol) en CH₃CN anhidro (60 ml) se cargó con TEA (1,27 ml, 12,6 mmol), 10% de (*t*-Bu)₃P en hexanos (1,27 ml, 0,62 mmol), but-3-inilcarbamato de *bencilo* (10, 948 mg, 4,71 mmol) y CuI (30 mg, 0,16 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 min y se cargó Pd(PPh₃)₄ (363 mg, 0,31 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo/hexanos 60:40) para suministrar el compuesto 11 (1,30 g, 78%) como un aceite pardo: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,33 (dd, *J* = 7,5, 2,2 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 7,5, 2,2 Hz, 1H), 7,58-7,51 (m, 2H), 7,52 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,35-7,29 (m, 5H), 7,19 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,16-5,12 (m, 1H), 5,13 (s, 2H), 5,07-4,99 (m, 1H), 4,74-4,65 (m, 1H), 3,59 (s, 3H), 3,91-3,42 (m, 2H), 3,53 (d, *J* = 6,2 Hz, 2H), 2,79 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,39 (s, 8H), 1,25 (s, 1H).

Preparación de sal de ácido acético de (S)-3-(4-(4-aminobutil)naftalen-1-il)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo (12);

5 Una suspensión de 11 (1,00 g, 1,88 mmol) y Pd al 10%/C (200 mg) en una mezcla de MeOH (20 ml) y AcOH (2 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 12 (820 mg, 95%) como un sólido blanco: ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 8,17-8,05 (m, 2H), 7,62-7,48 (m, 2H), 7,27 (brs, 2H), 4,47 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 3,75-3,51 (m, 5H), 3,13 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,93 (t, $J = 7,66$ Hz, 2H), 1,93 (s, 3H), 1,88-1,65 (m, 4H), 1,34 (s, 7H), 1,01 (s, 2H).

10 Preparación de (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-14-[3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino]butil)naftalen-1-il)propanoato de metilo (14);

15 Una solución de la sal de amina 12 (815 mg, 1,77 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (13, 1,1 g, 2,83 mmol) en EtOH (6,0 ml) se cargó con DIPEA (2,50 ml, 14,2 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar la guanidina 14 (870 mg, 80%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,17-8,07 (m, 2H), 7,58-7,48 (m, 2H), 7,26 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H), 4,56-3,68 (m, 1H), 3,75-3,68 (m, 1H), 3,64 (s, 2H), 3,58-3,43 (m, 2H), 3,13 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,98 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,86-1,70 (m, 4H), 1,33 (s, 7H), 0,98 (s, 2H).

Ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)naftalen-1-il)propanoico (15);

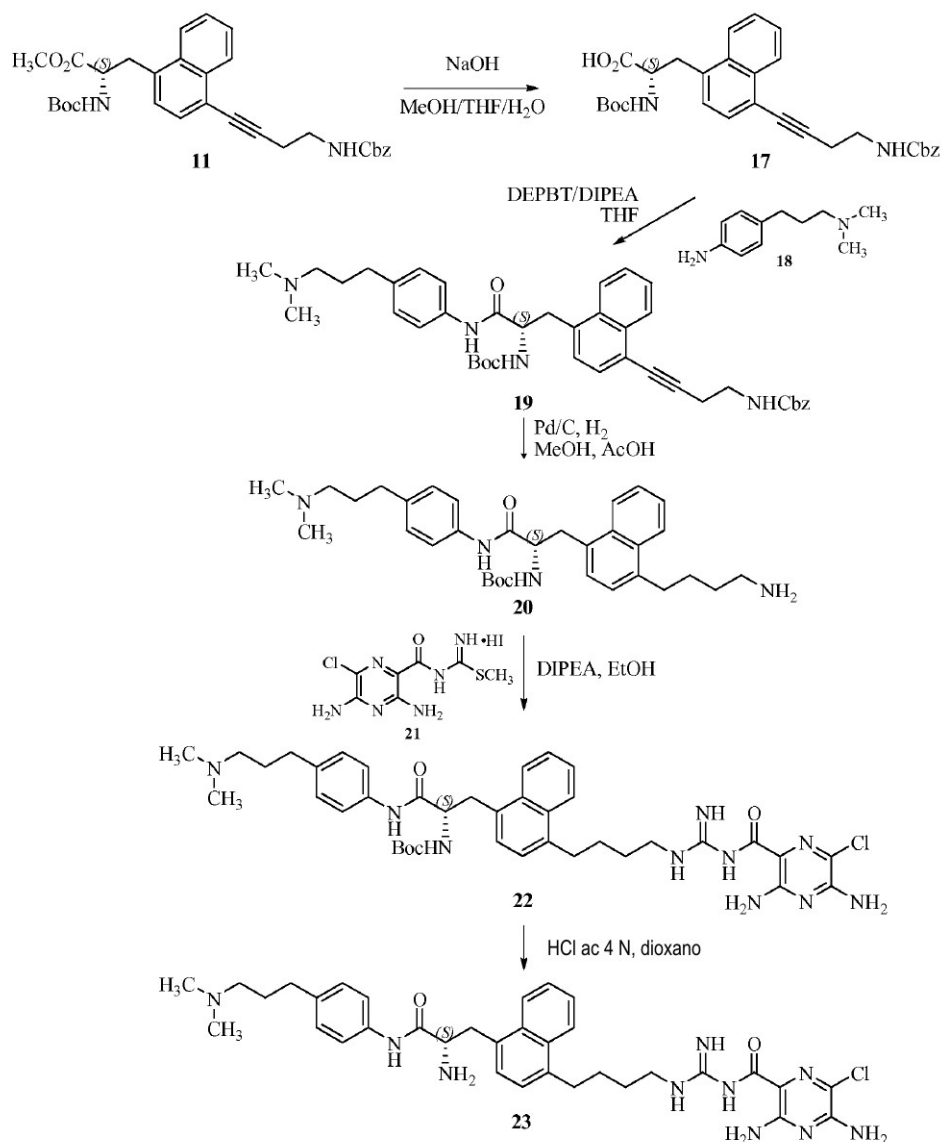
25 Una solución del éster metílico 14 (510 mg, 0,83 mmol) en una mezcla de THF (3 ml), metanol (3 ml) y agua (1 ml) se cargó con LiOH sólido (120 mg, 4,99 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Cuando la TLC de la mezcla de reacción mostraba la terminación de la reacción, el pH de la mezcla de reacción se llevó hasta 9-10 mediante la adición de HCl 1 N (acuoso) y el disolvente orgánico se retiró. El pH de la parte acuosa se ajustó hasta 5-6 y el precipitado resultante se extrajo con diclorometano. La parte acuosa se extrajo con DCM (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron para suministrar el compuesto 15 (375 mg, 76%) como un sólido blanco: ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,22-8,02 (m, 2H), 7,59-7,47 (m, 2H), 7,34-7,22 (m, 2H), 6,82 (brs, 2H), 4,19-4,06 (m, 1H), 3,59-3,46 (m, 1H), 3,25-3,13 (m, 2H), 3,09-2,94 (m, 10H), 1,80-1,55 (m, 4H), 1,28 (s, 7H), 0,93 (s, 2H).

35 Preparación de la sal de HCl de ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)naftalen-1-il)propanoico (16);

40 Se añadió HCl 4 N en dioxano (8,0 ml) a 15 (258 mg, 0,43 mmol) seguido por agua (4,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se evaporó y el residuo se liofilizó para dar el compuesto 16 (250 mg, 99%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,54 (brs, 1H), 9,33 (t, $J = 5,92$ Hz, 1H), 9,03-8,80 (m, 2H), 8,60 (brs, 3H), 8,17 (ddd, $J = 10,1, 7,6, 4,5$ Hz, 2H), 7,59 (ddd, $J = 9,2, 6,7, 4,5$ Hz, 2H), 7,46-7,36 (m, 2H), 7,34 (dd, $J = 9,9, 7,5$ Hz, 2H), 4,13-4,02 (m, 1H), 3,75-3,44 (m, 3H), 3,43-3,33 (m, 2H), 3,09 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 1,81-1,62 (m, 4H).

2. Preparación de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(3-(dimetilamino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (23)

Esquema 3



5 Preparación de (S)-3-{4-[4-(benciloxycarbonilamino)but-1-inil]naftalen-1-il}-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoato de metilo (17);

Una solución del éster metílico 11 (1,71 g, 3,22 mmol) en una mezcla de THF (21 ml), metanol (21 ml) y agua (7,0 ml) se cargó con NaOH sólido (1,29 g, 32,3 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Cuando la TLC de la mezcla de reacción mostraba la terminación de la reacción, el pH de la mezcla de reacción se llevaba hasta 9-10 mediante la adición de HCl 1 N (acuoso) y el disolvente orgánico se retiraba. El pH de la parte acuosa se ajustó hasta 5-6 y el precipitado resultante se extrajo con diclorometano. La parte acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron para suministrar el compuesto 17 (1,55 g, 93%) como un sólido pardo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,32 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 8,13-8,05 (m, 1H), 7,58-7,48 (m, 4H), 7,38-7,29 (m, 5H), 5,21-5,15 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,07-4,93 (m, 1H), 4,70-4,54 (m, 1H), 3,77-3,62 (m, 1H), 3,57-3,35 (m, 2H), 2,84-2,68 (m, 2H), 1,37 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 19;

El compuesto 18 (100 mg, 0,56 mmol) en THF (2,5 ml) se cargó con DEPBT (218 mg, 0,72 mmol), 17 (289 mg, 0,56 mmol) y DIPEA (0,3 ml, 1,68 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó rápidamente con NaHCO_3 acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (8% de metanol/ CH_2Cl_2), dando la amida 19 (250 mg, 66%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,34 (dd, $J = 8,3, 1,4$ Hz, 1H), 8,21 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,61-7,47 (m, 4H), 7,39-7,27 (m, 5H), 7,16 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,05 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 5,36-5,19 (m, 2H), 5,12 (s, 2H), 4,36-4,53 (m, 1H), 3,66-3,42 (m, 4H), 2,79 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 2,57 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,40 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,32 (s, 6H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 20;

Una suspensión de 19 (210 mg, 0,31 mmol) y Pd al 10%/C (150 mg) en una mezcla de MeOH (3,0 ml) y AcOH (0,3 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 22 que se neutralizó con trietilamina y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (CMA, 80:18:2) dando la amina libre 20 (130 mg, 77%) como un sólido blanco: ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 8,24 (dd, $J = 8,1, 2,1$ Hz, 1H), 8,08 (dd, $J = 8,2, 1,5$ Hz, 1H), 7,58-7,47 (m, 2H), 7,33-7,20 (m, 4H), 7,07-7,05 (m, 2H), 4,53 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,66-3,55 (m, 2H), 3,09 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,82 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,57 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,35 (dd, $J = 10,5, 7,5$ Hz, 2H), 2,24 (s, 6H), 1,84-1,61 (m, 6H), 1,36 (s, 7H), 1,10 (s, 2H).

Preparación de 22;

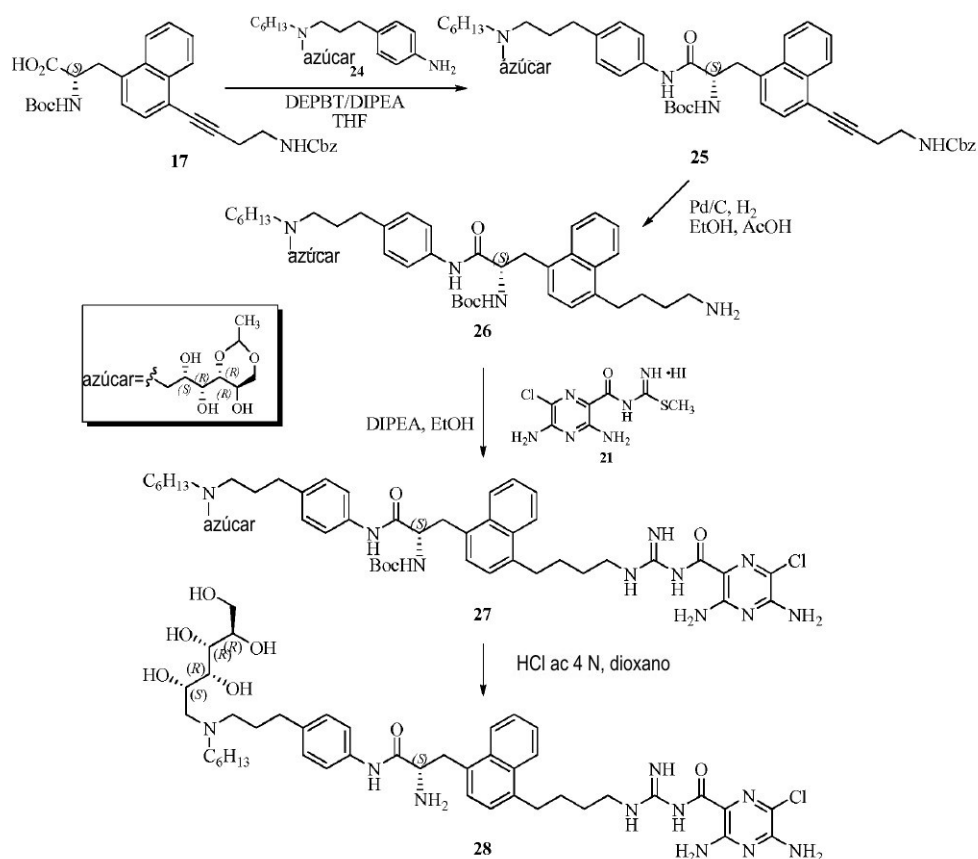
Una solución de la amina 20 (122 mg, 0,22 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (21, 139 mg, 0,35 mmol) en EtOH (4,0 ml) se cargó con DIPEA (0,31 ml, 1,76 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar la guanidina 22 (111 mg, 66%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,23 (dd, $J = 7,5, 2,4$ Hz, 1H), 8,10 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,57-7,48 (m, 2H), 7,29 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,24 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,13-7,05 (m, 2H), 4,53 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 3,60-3,37 (m, 2H), 3,23 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 3,15-3,03 (m, 2H), 2,55 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,29 (dd, $J = 9,7, 7,6$ Hz, 2H), 2,21 (s, 6H), 1,86-1,64 (m, 6H), 1,36 (s, 7H), 1,12 (s, 2H).

Preparación de la sal de HCl del Compuesto 23 (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(3-(dimetilamino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidatoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida

Se añadió HCl 4 N en dioxano (3,0 ml) a 22 (100 mg, 0,13 mmol) seguido por agua (1,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se retiró y se neutralizó con NaOH 1 N (acuoso), el sólido resultante se lavó con agua y se trató de nuevo con HCl 1 N (acuoso), el agua se retiró y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 22 (65 mg, 65%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 10,50 (s, 1H), 10,48 (s, 1H), 10,46-10,40 (m, 1H), 9,26 (t, $J = 4,9$ Hz, 1H), 9,01-8,74 (m, 2H), 8,61 (brs, 1H), 8,35 (dd, $J = 6,6, 3,4$ Hz, 1H), 8,13 (dd, $J = 6,5, 3,3$ Hz, 1H), 7,58 (ddd, $J = 9,9, 6,6, 3,6$ Hz, 2H), 7,42 (brs, 1H), 7,40 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,28 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,29-4,20 (m, 1H), 3,64-3,49 (m, 2H), 3,12-3,03 (m, 2H), 3,02-2,94 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 2,56 (t, $J = 8,1$ Hz, 2H), 1,97-1,88 (m, 2H), 1,79-1,61 (m, 4H).

3. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida (28)

Esquema 4



5

Preparación del Compuesto 25;

El compuesto 24 (165 mg, 0,38 mmol) en THF (10 ml) se cargó con DEPBT (148 mg, 0,48 mmol), 17 (200 mg, 0,38 mmol) y DIPEA (0,2 ml, 1,14 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó rápidamente con NaHCO_3 acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (8% de metanol/ CH_2Cl_2), dando la amida 25 (210 mg, 60%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,35 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,21 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,63-7,52 (m, 2H), 7,51 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,44-7,39 (m, 1H), 7,37-7,27 (m, 6H), 7,16-7,02 (m, 3H), 5,24-5,16 (m, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,68 (ddd, J = 11,3, 10,3, 5,1 Hz, 1H), 4,56 (q, J = 7,2 Hz, 1H), 4,19-4,09 (m, 1H), 3,90-3,76 (m, 5H), 3,74-3,68 (m, 1H), 3,63-3,46 (m, 5H), 3,45-3,24 (m, 3H), 2,80 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,70-2,35 (m, 8H), 1,81-1,67 (m, 2H), 1,63-1,53 (m, 1H), 1,35-1,20 (m, 6H), 1,21 (s, 9H), 1,31 (d, J = 5,1 Hz, 3H), 0,87 (t, J = 6,2 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 26;

Una suspensión de 25 (280 mg, 0,30 mmol) y Pd al 10%/C (560 mg) en una mezcla de EtOH (9,0 ml) y AcOH (1,0 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 22, que se neutralizó con NaHCO_3 y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (CMA, 80:18:2) dando la amina libre 26 (160 mg, 67%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,29 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,60 (t, J = 6,9

Hz, 1H), 7,55 (ddd, $J = 8,2, 6,9, 1,1$ Hz, 1H), 7,24 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,18 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,02-7,96 (m, 1H), 7,95-6,88 (m, 2H), 6,77-6,69 (m, 1H), 5,56-5,35 (m, 1H), 4,68 (q, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,61-4,53 (m, 1H), 4,12 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 1H), 3,89-3,80 (m, 2H), 3,74 (t, $J = 3,3$ Hz, 2H), 3,46 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 3,39 (t, $J = 10,7$ Hz, 2H), 3,18 - 3,09 (m, 1H), 3,02-2,92 (m, 1H), 2,68 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,61-2,47 (m, 5H), 2,46-2,37 (m, 4H), 1,77-1,63 (m, 4H), 1,33 (d, $J = 5,1$ Hz, 3H), 1,31-1,20 (m, 8H), 1,21 (s, 9H), 0,88 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 27;

Una solución de la amina 26 (155 mg, 0,20 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (21, 123 mg, 0,31 mmol) en EtOH (8,0 ml) se cargó con DIPEA (0,28 ml, 1,56 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) seguida por cromatografía en fase inversa (Gold C18) para suministrar la guanidina 27 (100 mg, 51%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,23 (dd, $J = 8,8, 2,5$ Hz, 1H), 8,10 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,56-7,49 (m, 2H), 7,29 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,24 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,08 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 4,67 (q, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,56-4,50 (m, 1H), 4,04 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 1H), 3,92-3,86 (m, 1H), 3,82-3,74 (m, 2H), 3,51-3,46 (m, 1H), 3,25 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,15-3,06 (m, 2H), 2,71 (dd, $J = 13,2, 5,2$ Hz, 1H), 2,60-2,45 (m, 6H), 1,87-1,63 (m, 6H), 1,48-1,40 (m, 6H), 1,33-1,26 (m, 6H), 1,23 (d, $J = 5,1$ Hz, 3H), 1,20 (s, 9H), 0,89 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H).

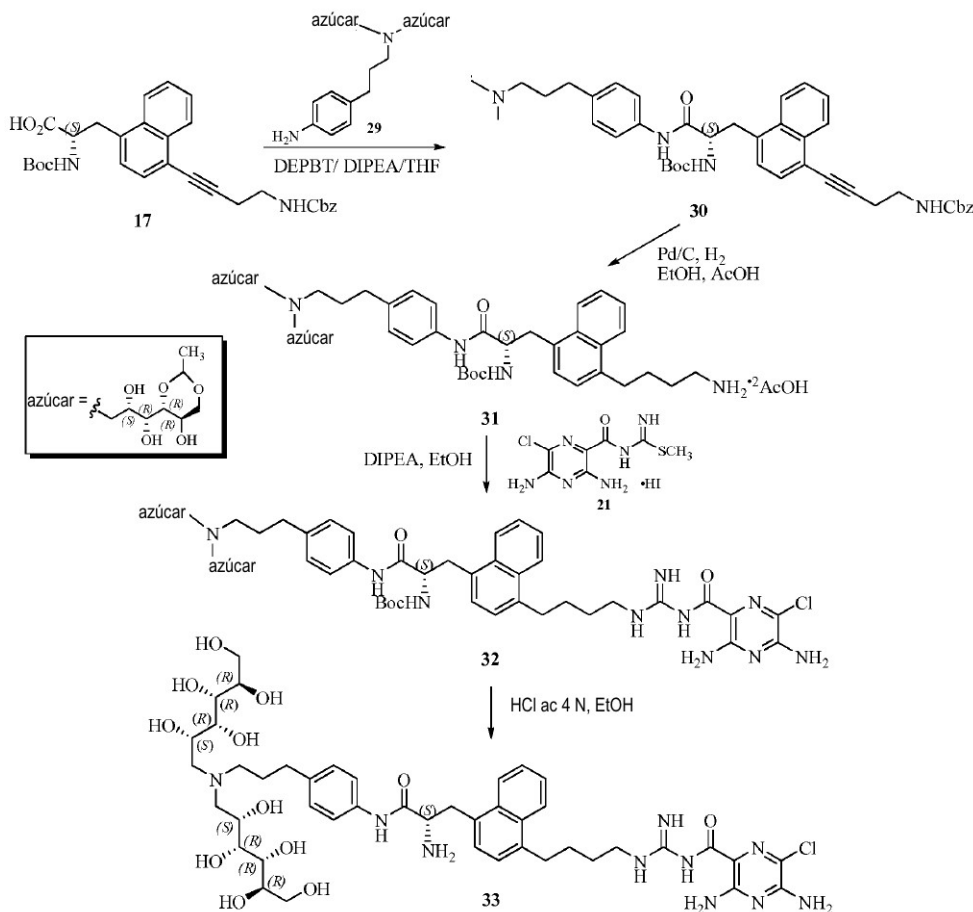
Preparación de la sal de HCl del Compuesto 28 - 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida;

Se añadió HCl 4 N en agua (3,0 ml) a 27 (80 mg, 0,08 mmol) en etanol (0,5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 6 h. El disolvente se retiró, se añadió HCl 4 N adicional y la mezcla se calentó a 40°C durante otras 4 h. El disolvente se retiró, se añadió agua y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 28 (78 mg, 99%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,58 (brs, 1H), 10,56 (brs, 1H), 9,70-9,58 (m, 1H), 9,38-9,31 (m, 1H), 9,04-8,84 (m, 2H), 8,70 (brs, 1H), 8,43-8,34 (m, 1H), 8,16-8,08 (m, 1H), 7,62-7,52 (m, 2H), 7,46-7,37 (m, 4H), 7,34 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 5,52-5,46 (m, 1H), 4,85-4,76 (m, 1H), 4,68-4,52 (m, 2H), 4,49-4,37 (m, 1H), 4,32-4,22 (m, 1H), 4,05-3,97 (m, 1H), 3,72-3,43 (m, 6H), 3,17-2,97 (m, 8H), 2,02-1,90 (m, 2H), 1,77-1,54 (m, 6H), 1,33-1,21 (m, 6H), 0,86 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,23 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 8,17 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,62-7,53 (m, 2H), 7,41-7,36 (m, 1H), 7,35-7,32 (m, 1H), 7,31-7,25 (m, 2H), 7,21-7,12 (m, 2H), 4,35-4,25 (m, 1H), 4,17-4,02 (m, 1H), 3,86-3,75 (m, 2H), 3,73-3,59 (m, 6H), 3,23-3,08 (m, 9H), 2,73-2,60 (m, 2H), 2,11-1,97 (m, 2H), 1,91-1,75 (m, 4H), 1,74-1,62 (m, 2H), 1,44-1,30 (m, 6H), 0,92 (t, $J = 6,6$ Hz, 3H)

4. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidoyl)-6-cloropiracino-2-carboxamida (33)

Esquema 5



5

Preparación del Compuesto 30:

El Compuesto 29 (290 mg, 0,54 mmol) en THF (8,0 ml) se cargó con DEPBT (210 mg, 0,70 mmol), 17 (311 mg, 0,60 mmol) y DIPEA (0,28 ml, 1,62 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó rápidamente con NaHCO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (8% de metanol/CH₂Cl₂), dando la amida 30 (400 mg, 72%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,36-8,26 (m, 1H), 8,20-8,09 (m, 1H), 8,03-7,85 (m, 1H), 7,61-7,46 (m, 1H), 7,49 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,38-7,28 (m, 5H), 7,18-6,96 (m, 4H), 5,51-5,36 (m, 1H), 5,32-5,21 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 4,67 (q, J = 5,1 Hz, 2H), 4,66-4,53 (m, 1H), 4,11 (dd, J = 10,4, 5,2 Hz, 2H), 4,06-3,96 (m, 2H), 3,93-3,86 (m, 2H), 3,86-3,77 (m, 2H), 3,68-3,56 (m, 2H), 3,56-3,44 (m, 6H), 3,39 (t, J = 10,4 Hz, 2H), 3,05 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 2,96-2,88 (m, 2H), 2,79 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,64-2,61 (m, 4H), 1,93-1,72 (m, 4H), 1,48-1,40 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 1,29 (d, J = 5,1 Hz, 6H).

15

Preparación del Compuesto 31:

Una suspensión de 30 (400 mg, 0,39 mmol) y Pd al 10%/C (210 mg) en una mezcla de EtOH (54 ml) y AcOH (6,0 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 31 (333 mg, 84%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,25 (dd, J = 7,5, 2,5 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 7,60-7,51 (m, 2H), 7,36-7,32 (m, 1H), 7,31 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,26 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,70 (q, J = 4,9 Hz, 2H), 4,54 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,18-4,10 (m, 2H),

20

4,06 (dd, $J = 10,6, 5,3$ Hz, 2H), 3,87-3,82 (m, 2H), 3,81-3,68 (m, 3H), 3,53 (dd, $J = 9,5, 1,8$ Hz, 2H), 3,39 (t, $J = 9,2$ Hz, 3H), 3,35-3,30 (m, 2H), 3,15-3,08 (m, 2H), 2,92 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 2,09-2,00 (m, 4H), 2,77-2,58 (m, 2H), 1,95 (s, 6H), 1,88-1,60 (m, 4H), 1,36 (s, 9H), 1,25 (d, $J = 4,9$ Hz, 6H).

5 Preparación de 32;

Una solución de 31 (370 mg, 0,36 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (21, 226 mg, 0,58 mmol) en EtOH (12 ml) se cargó con DIPEA (0,51 ml, 2,88 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 32 (250 mg, 63%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,23 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 8,13-8,03 (m, 1H), 7,54-7,49 (m, 2H), 7,30-7,20 (m, 4H), 7,13-7,04 (m, 2H), 4,67 (q, $J = 4,9$ Hz, 2H), 4,54-4,49 (m, 1H), 4,03 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 2H), 3,91-3,84 (m, 2H), 3,82-3,72 (m, 5H), 3,48-3,43 (m, 5H), 3,41-3,34 (m, 2H), 3,13-3,10 (m, 2H), 2,68-2,50 (m, 8H), 1,87-1,67 (m, 6H), 1,36 (s, 9H), 1,23 (d, $J = 4,9$ Hz, 6H).

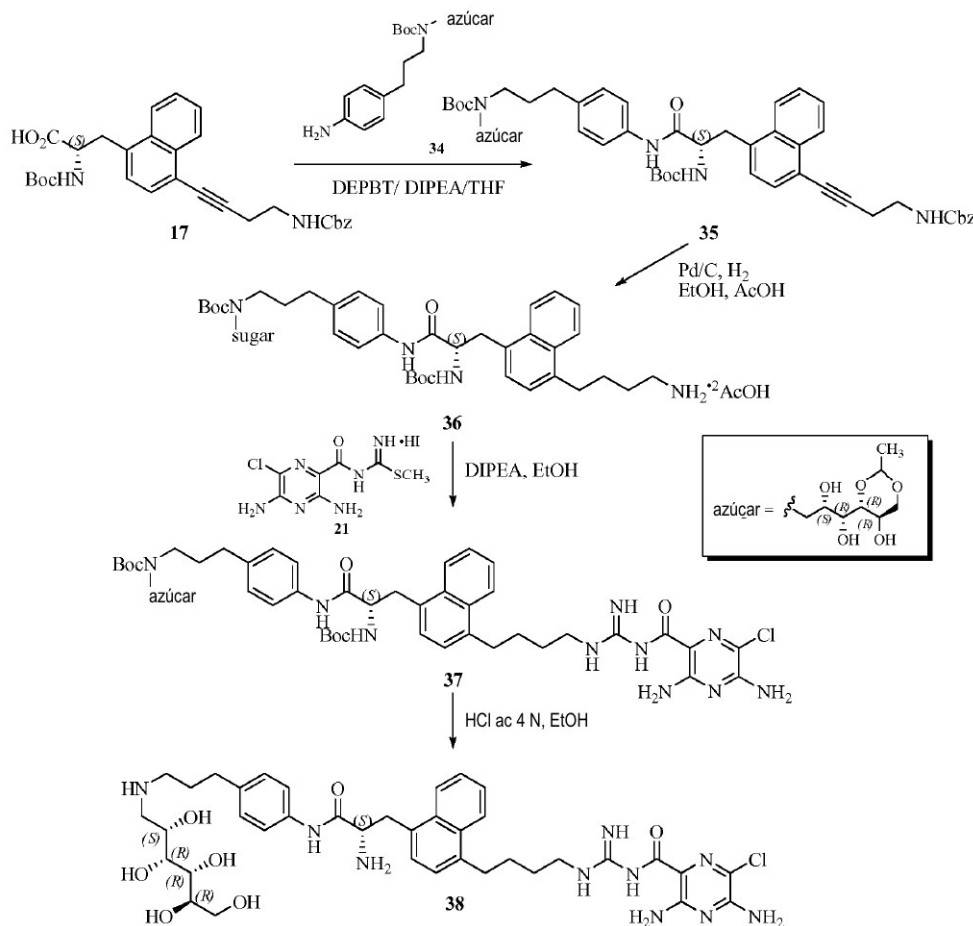
Preparación de la sal de HCl de 33 -3 ,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidato)-6-cloropiracino-2-carboxamida

Se añadió HCl 4 N en agua (6,0 ml) a 32 (200 mg, 0,18 mmol) en etanol (2,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 8 h. El disolvente se retiró, se añadió HCl 4 N adicional y la mezcla se calentó a 40°C durante otras 6 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 33 (138 mg, 59%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,48 (brs, 1H), 10,45-10,41 (m, 1H), 9,25-9,19 (m, 1H), 8,95-8,85 (m, 1H), 8,81-8,69 (m, 1H), 8,64-8,46 (m, 4H), 8,36-8,29 (m, 1H), 8,18-8,10 (m, 1H), 7,62-7,55 (m, 2H), 7,46-7,38 (m, 4H), 7,34 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,28 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,18 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 5,48-5,39 (m, 2H), 4,87-4,75 (m, 2H), 4,68-4,33 (m, 4H), 4,28-4,17 (m, 1H), 4,05-3,93 (m, 2H), 3,72-3,65 (m, 2H), 3,62-3,53 (m, 4H), 3,52-3,35 (m, 8H), 3,27-3,13 (m, 6H), 3,3.10-3,00 (m, 2H), 2,62-2,48 (m, 4H), 2,03-1,90 (m, 2H), 1,78-1,61 (m, 4H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,24-8,20 (m, 1H), 8,18-8,15 (m, 1H), 7,57 (td, $J = 4,6, 1,5$ Hz, 2H), 7,38 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,28 (dd, $J = 8,4, 2,6$ Hz, 2H), 7,16 (dd, $J = 8,4, 2,0$ Hz, 2H), 4,28 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,19-4,13 (m, 1H), 4,12-4,07 (m, 1H), 3,85-3,79 (m, 2H), 3,77 (dd, $J = 10,4, 5,2$ Hz, 2H), 3,73-3,60 (m, 6H), 3,49-3,45 (m, 2H), 3,42-3,34 (m, 6H), 3,26-3,23 (m, 1H), 3,19-3,13 (m, 2H), 3,14-3,11 (m, 1H), 2,74-2,59 (m, 2H), 2,14-2,00 (m, 2H), 1,90-1,72 (m, 4H).

5. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)propil)fenilamino)propil)naftalen-1-il)butil)carbamidimidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida (38)

Esquema 6



5 Preparación del Compuesto 35;

El Compuesto 34 (400 mg, 0,91 mmol) en THF (15 ml) se cargó con DEPBT (389 mg, 1,30 mmol), 17 (516 mg, 1,00 mmol) y DIPEA (0,52 ml, 3,00 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó rápidamente con NaHCO_3 acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (8% de metanol/ CH_2Cl_2), dando la amida 35 (700 mg, 83%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,35 (dd, $J = 8,2, 1,5$ Hz, 1H), 8,22 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,64-7,35 (m, 4H), 7,38-7,26 (m, 5H), 7,06 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,17-7,09 (m, 2H), 5,21-5,13 (m, 2H), 5,12 (s, 2H), 4,69 (q, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,55 (q, $J = 7,25$ Hz, 1H), 4,15 (dd, $J = 11,4, 5,6$ Hz, 1H), 4,11-4,02 (m, 1H), 4,07-3,92 (m, 1H), 3,88-3,77 (m, 1H), 3,73-3,67 (m, 1H), 3,64-3,49 (m, 5H), 3,41 (d, $J = 10,6$ Hz, 2H), 3,37-3,30 (m, 2H), 3,29-3,20 (m, 3H), 2,80 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,52 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 1,90-1,76 (m, 3H), 1,42 (s, 18 H), 1,32 (d, $J = 5,2$ Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 36;

Una suspensión de 35 (700 mg, 0,74 mmol) y Pd al 10%/C (400 mg) en una mezcla de EtOH (90 ml) y AcOH (10 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 36 (650 mg, 95%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,20 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,96 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,86-7,71 (m, 1H), 7,70-7,63 (m, 1H), 7,58-7,43 (m, 2H), 7,36-7,26 (m, 2H), 7,02-6,91 (m, 2H), 4,70-4,63 (m, 1H), 4,61-4,54 (m, 1H), 4,20-4,05 (m, 2H), 4,04-3,90 (m, 1H), 3,89-3,68 (m, 3H),

3,67-3,46 (m, 3H), 3,45-3,27 (m, 5H), 3,29-3,21 (m, 4H), 3,11-2,91 (m, 4H), 2,90-2,76 (m, 2H), 2,48 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,08 (s, 6H), 1,86-1,61 (m, 6H), 1,41 (s, 15H), 1,32 (d, $J = 5,1$ Hz, 3H), 1,25 (s, 3H).

Preparación de 37;

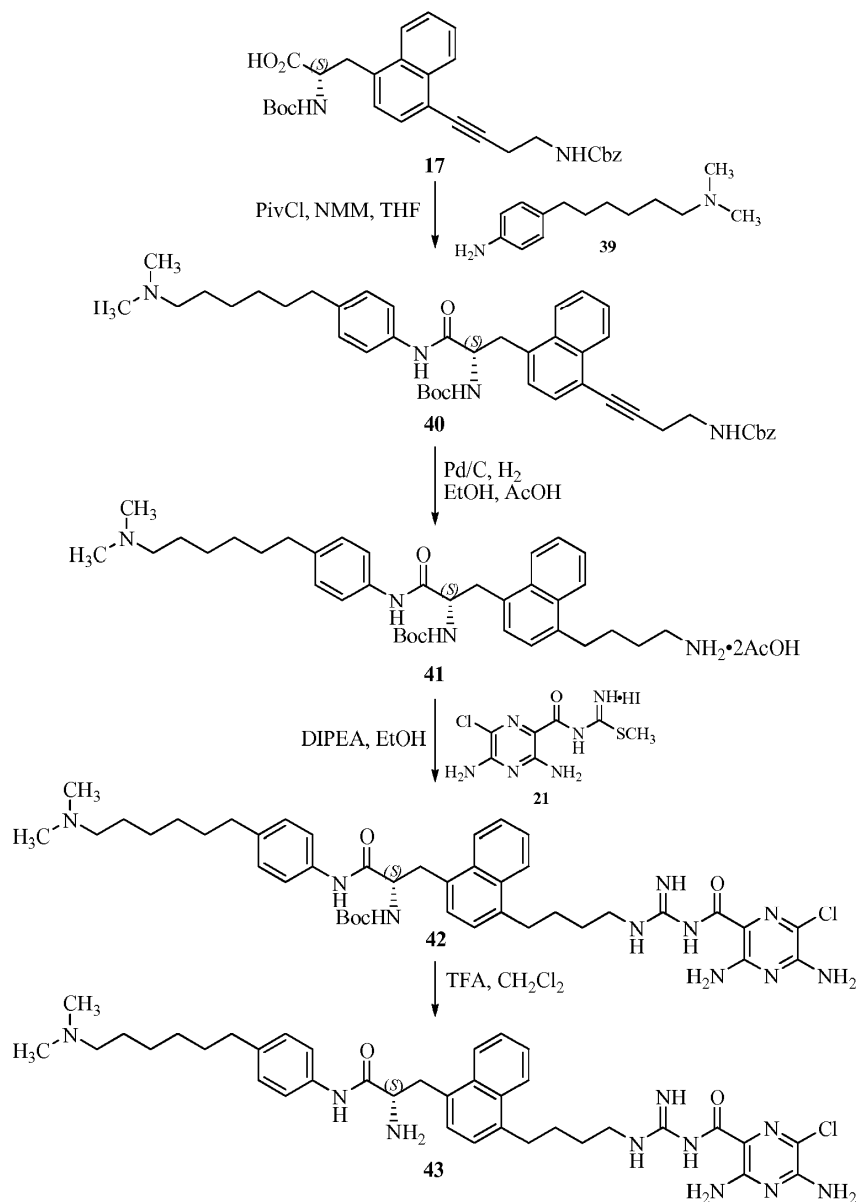
- 5 Una solución de 36 (650 mg, 0,70 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidatoato de metilo (21, 436 mg, 1,13 mmol) en EtOH (12 ml) se cargó con DIPEA (0,90 ml, 5,60 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 37 (444 mg, 62%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,23 (dd, $J = 7,7, 2,2$ Hz, 1H), 8,10 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,57-7,47 (m, 2H), 7,33-7,21 (m, 4H), 7,08 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 4,68 (q, $J = 5,0$ Hz, 1H), 4,53 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,04 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 1H), 4,03-3,93 (m, 1H), 3,25 (ddd, $J = 10,3, 9,2, 5,2$ Hz, H), 3,71-3,65 (m, 1H), 3,58-3,37 (m, 4H), 3,27-3,20 (m, 4H), 3,20-3,15 (m, 1H), 3,14-3,05 (m, 2H), 2,66 (q, $J = 7,5$ Hz, 1H), 2,53 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,89-1,76 (m, 4H), 1,76-1,64 (m, 2H), 1,36 (s, 6H), 1,42 (s, 9H), 1,25 (d, $J = 5,0$ Hz, 3H), 1,11 (s, 3H).

Preparación de la sal de HCl de 38 ;

- 15 Se añadió HCl 4 N en agua (6,0 ml) a 37 (240 mg, 0,23 mmol) en etanol (3,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 8 h. El disolvente se retiró, se añadió HCl 4 N adicional y la mezcla se calentó a 40°C durante otras 8 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 38 (251 mg, 64%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,50 (brs, 1H), 9,28 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 9,02-8,87 (m, 1H), 8,86-8,75 (m, 1H), 8,72-8,55 (m, 4H), 8,39-8,33 (m, 1H), 8,16-8,10 (m, 1H), 7,61-7,55 (m, 2H), 7,45-7,40 (m, 1H), 7,40 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,28 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 5,38 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 4,74 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 4,64-4,51 (m, 2H), 4,49-4,35 (m, 1H), 4,30-4,20 (m, 2H), 3,94-3,86 (m, 1H), 3,70-3,64 (m, 1H), 3,63-3,52 (m, 3H), 3,51-3,34 (m, 6H), 3,15-2,98 (m, 3H), 2,98-2,81 (m, 3H), 2,58 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,96-1,85 (m, 2H), 1,79-1,61 (m, 4H).
- 20
- 25 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,26-8,20 (m, 1H), 8,19-8,14 (m, 1H), 7,60-7,53 (m, 2H), 7,38 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,28 (dd, $J = 8,4, 2,0$ Hz, 2H), 7,14 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,29 (t, $J = 8,3$ Hz, 1H), 4,07-4,00 (m, 1H), 3,83 (dd, $J = 9,8, 1,5$ Hz, 1H), 3,77 (dd, $J = 9,8, 2,6$ Hz, 1H), 3,73-3,64 (m, 5H), 3,37 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,21-3,11 (m, 4H), 3,06-2,96 (m, 2H), 2,66 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,03-1,94 (m, 2H), 1,90-1,75 (m, 4H).

6. Preparación de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(6-(dimetilamino)hexil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida (43)

Esquema 7



5 Preparación del Compuesto 40;

Una solución del ácido 17 (880 mg, 1,70 mmol) en THF (30 ml) se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió NMM (0,37 ml, 3,40 mmol), seguido por PivCl (0,20 ml, 1,70 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió 39 (375 mg, 1,70 mmol, 15 ml THF) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante otros 10 min. La mezcla de reacción se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se retiró. El residuo se cargó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (4% de metanol en cloroformo) para suministrar la amida 40 (719 mg, 59%) como un sólido amarillo claro: [M + H]⁺ 720.

Preparación del Compuesto 41;

- 5 Una suspensión de 40 (719 mg, 1,00 mmol) y Pd al 10%/C (300 mg) en una mezcla de EtOH (110 ml) y AcOH (20 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 41 como un sólido amarillo (660 mg, 93%): $[M + H]^+$ 589.

Preparación del Compuesto 42;

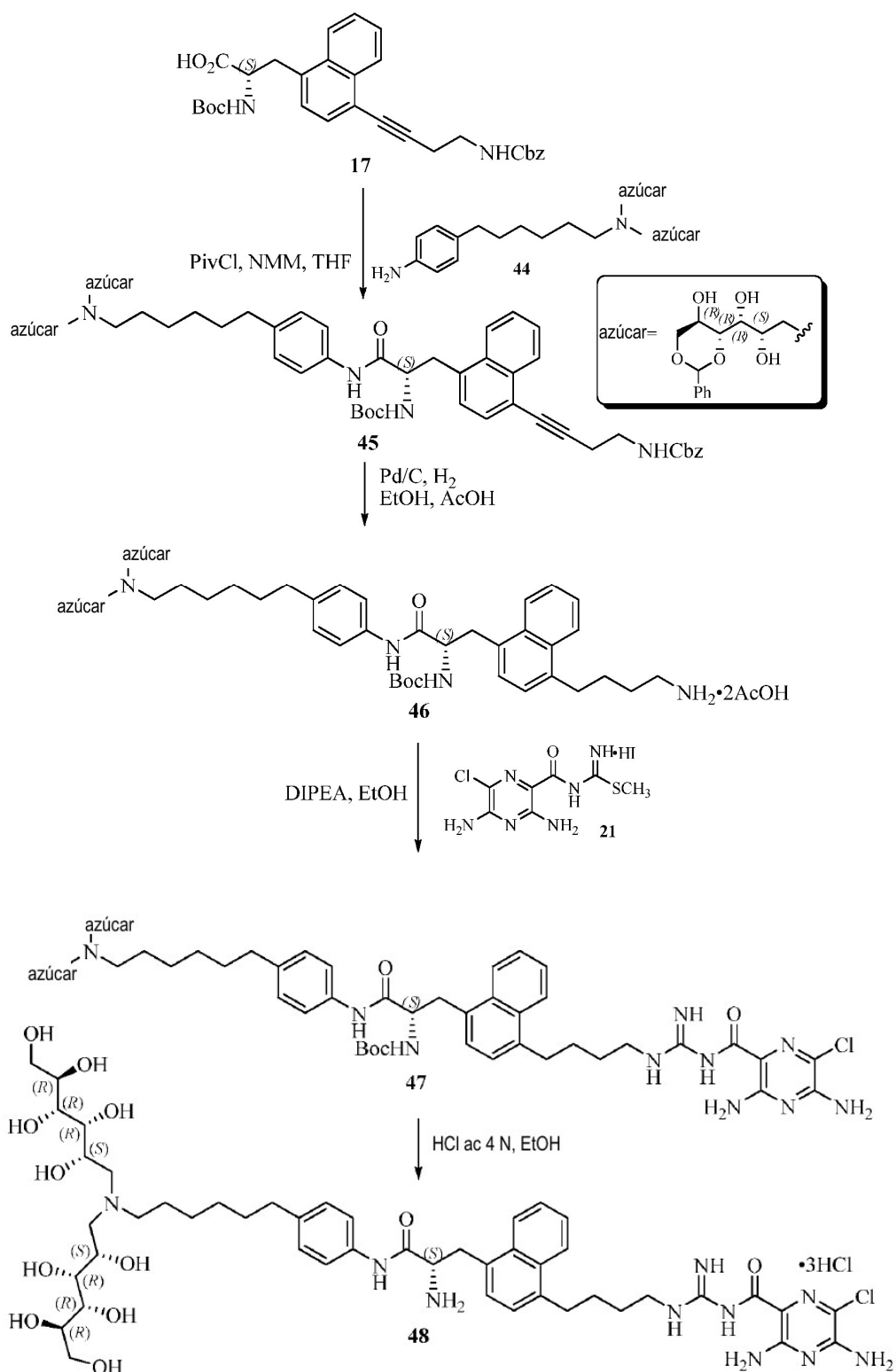
- 10 Una solución de amina 41 (660 mg, 0,93 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (21, 650 mg, 1,67 mmol) en EtOH (10 ml) se cargó con DIPEA (1,66 ml, 9,3 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para proporcionar la guanidina 42 (370 mg, 50%) como un sólido amarillo: $[M + H]^+$ 801.

Preparación de la sal de HCl del Compuesto 43 (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(2-amino-3-(4-(6-(dimetilamino)hexil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidato)-6-cloropiracino-2-carboxamida

- 15 Se añadió TFA (10 ml) a 42 (370 mg, 0,46 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, se añadió HCl 1 N adicional y el disolvente se retiró. La mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 43 (290 mg, 92%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,39 (brs, 2H), 9,25 (brs, 1H), 9,02-8,87 (m, 1H), 8,86-8,73 (m, 2H), 8,71-8,44 (m, 2H), 8,35 (brs, 1H), 8,13 (dd, *J* = 6,8, 3,8 Hz, 1H), 7,58 (dd, *J* = 6,5, 3,2 Hz, 2H), 7,42 (brs, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,27 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,26-4,18 (m, 1H), 3,65-3,48 (m, 2H), 3,39-3,32 (m, 3H), 3,06 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H), 2,99-2,91 (m, 2H), 2,69 (s, 6H), 1,77-1,56 (m, 6H), 1,52 (t, *J* = 8,2 Hz, 2H), 1,34-1,21 (m, 4H).
- 20
- 25 ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,22-8,17 (m, 1H), 8,16-8,12 (m, 1H), 7,58-7,51 (m, 2H), 7,36 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,30 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,04 Hz, 2H), 7,05 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 4,24 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 3,70-3,58 (m, 2H), 3,33 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,14 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 3,09-3,03 (m, 2H), 2,84 (s, 6H), 2,53 (t, *J* = 8,6 Hz, 2H), 1,88-1,73 (m, 4H), 1,72-1,63 (m, 2H), 1,61-1,52 (m, 2H), 1,41-1,32 (m, 4H).

7. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(6-bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)hexil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidoidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida

Esquema 8



Preparación del Compuesto 45;

Una solución del ácido 17 (900 mg, 1,74 mmol) en THF (40 ml) se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió NMM (0,38 ml, 3,48 mmol), seguido por PivCl (0,21 ml, 1,74 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió 44 (1,21 g, 1,74 mmol, 20 ml THF) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 10 min más. La mezcla de reacción se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se retiró. El residuo se cargó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (4% de metanol en cloroformo) para suministrar la amida 45 (2,00 g, impura) como un sólido amarillo claro: [M + H]⁺ 1196.

10 Preparación del Compuesto 46;

Una suspensión de 45 (2,00 g, impura) y Pd al 10%/C (400 mg) en una mezcla de EtOH (120 ml) y AcOH (20 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 46, que se neutralizó con NaHCO₃ y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (CMA, 80:18:2) dando la amina libre 46 como un sólido amarillo (500 mg, 27% a lo largo de dos etapas): [M + H]⁺ 1067.

Preparación del Compuesto 47;

Una solución de la amina 46 (500 mg, 0,47 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (21,330 mg, 0,84 mmol) en EtOH (20 ml) se cargó con DIPEA (0,84 ml, 94,70 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 47 (325 mg, 55%) como un sólido amarillo: [M + H]⁺ 1278.

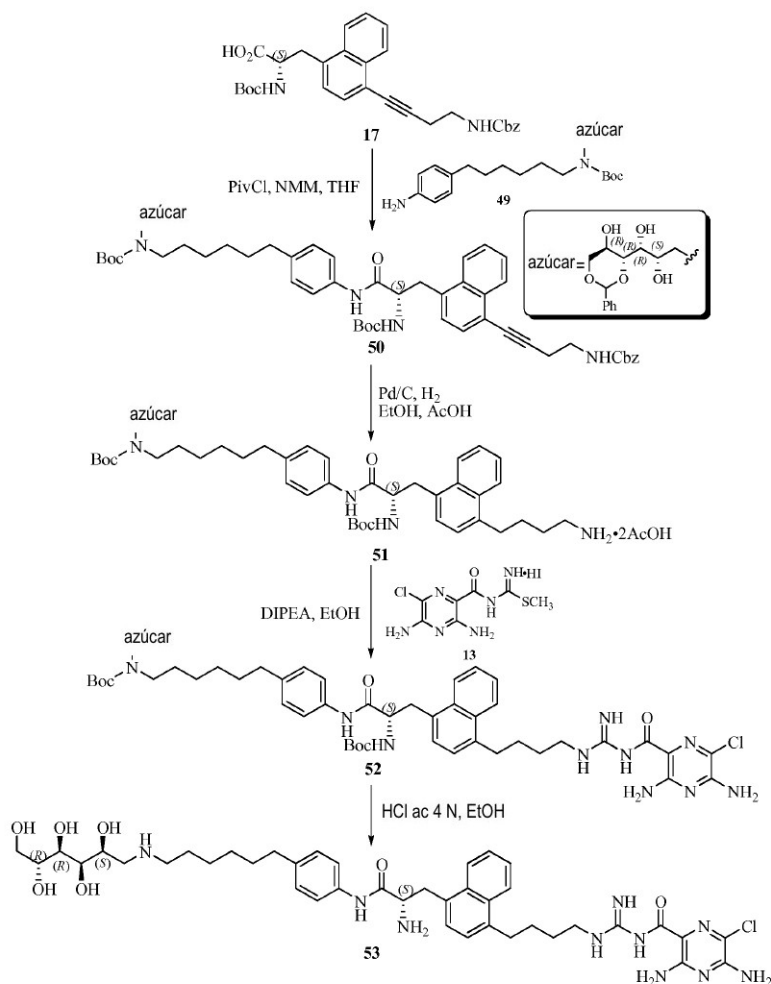
Preparación de la sal de HCl del Compuesto 48 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(6-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)hexil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida

Se añadió HCl 4 N en agua (20 ml) a 47 (325 mg, 0,25 mmol) en EtOH (2,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 48 (165 mg, 60%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,52 (brs, 1H), 10,44 (brs, 1H), 9,28 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 9,00-8,88 (m, 1H), 8,87-8,75 (m, 1H), 8,63 (brs, 2H), 8,60-8,50 (m, 1H), 8,39-8,33 (m, 1H), 8,17-8,11 (m, 1H), 7,58 (dd, *J* = 6,5, 3,3 Hz, 2H), 7,47-7,35 (m, 2H), 7,36 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,27 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 3,72-3,66 (m, 3H), 3,60 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 3,57 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 3,53-3,46 (m, 3H), 3,45-3,38 (m, 3H), 3,37-3,27 (m, 4H), 3,26-3,12 (m, 4H), 3,06 (t, *J* = 8,5 Hz, 2H), 1,76-1,60 (m, 6H), 1,58-1,47 (m, 2H), 1,35-1,23 (m, 4H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,23-8,18 (m, 1H), 8,17-8,12 (m, 1H), 7,59-7,52 (m, 2H), 7,36 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,04 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 4,25 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,18-4,10 (m, 2H), 3,83-3,79 (m, 2H), 3,77 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 3,74 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 3,71-3,60 (m, 8H), 3,49-3,41 (m, 2H), 3,40-3,33 (m, 4H), 3,32-3,30 (m, 1H), 3,25-3,19 (m, 1H), 3,18-3,10 (m, 2H), 2,52 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,88-1,69 (m, 6H), 1,62-1,53 (m, 2H), 1,44-1,30 (m, 4H).

8. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(6-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)hexil)fenilamino)propil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida

Esquema 9



5 Preparación del Compuesto 50;

Una solución del ácido 17 (950 mg, 1,84 mmol) en THF (30 ml) se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió NMM (0,40 ml, 3,68 mmol), seguido por PivCl (0,23 ml, 1,84 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió 49 (800 mg, 1,47 mmol, 10 ml THF) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 10 min más. La mezcla de reacción se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se retiró. El residuo se cargó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (4% de metanol en cloroformo) para suministrar la amida 50 (1,40 g, impura) como un sólido amarillo claro: [M + H]⁺ 1043.

Preparación del Compuesto 51;

Una suspensión de 50 (1,40 g, impuro) y Pd al 10%/C (400 mg) en una mezcla de EtOH (120 ml) y AcOH (20 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 51, directamente usada en la siguiente etapa (1,20 g, bruto): [M + H]⁺ 913.

Preparación del Compuesto 52;

Una solución de la amina 51 (1,20 g, 0,47 mmol, bruto) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (21, 723 mg, 1,86 mmol) en EtOH (20 ml) se cargó con DIPEA (2,00 ml, 11,6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 52 (500 mg, 24% a lo largo de tres etapas) como un sólido amarillo: [M + H]⁺ 1125.

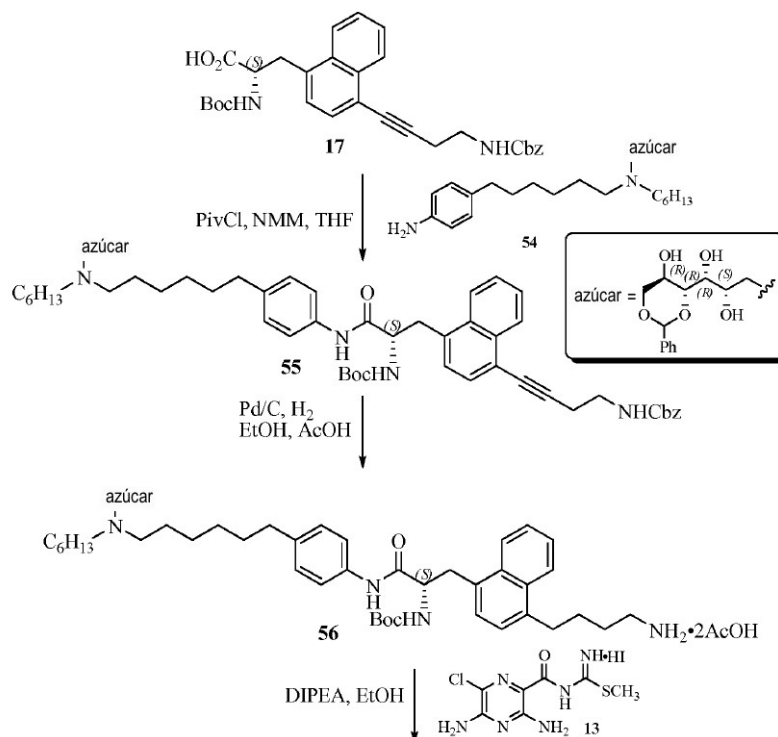
Preparación de la sal de HCl del Compuesto 53 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(6-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)hexil)fenilamino)propil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida

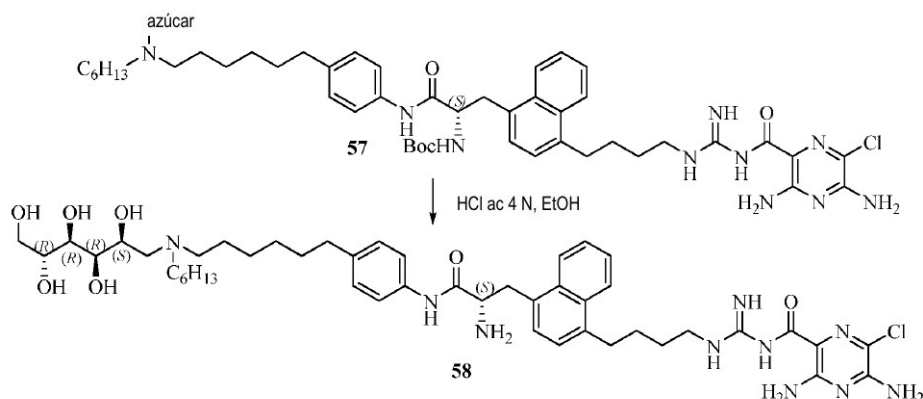
Se añadió HCl 4 N en agua (25 ml) a 52 (500 mg, 0,44 mmol) en EtOH (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 53 (170 mg, 41%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,52 (brs, 1H), 10,45-10,41 (m, 1H), 9,31-9,24 (m, 1H), 9,02-8,89 (m, 1H), 8,88-8,76 (m, 1H), 8,70-8,58 (m, 3H), 8,57-8,46 (m, 2H), 8,40-8,31 (m, 1H), 8,17-8,10 (m, 1H), 7,62-7,54 (m, 2H), 7,42 (brs, 2H), 7,36 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 7,33 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 7,27 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 5,41-5,35 (m, 1H), 4,79-4,72 (m, 1H), 4,62-4,53 (m, 2H), 4,47-4,38 (m, 1H), 4,29-4,19 (m, 1H), 3,94-3,87 (m, 1H), 3,63-3,52 (m, 3H), 3,50-3,39 (m, 3H), 3,38-3,32 (m, 2H), 3,12-2,96 (m, 3H), 2,97-2,90 (m, 1H), 2,89-2,80 (m, 2H), 1,77-1,56 (m, 6H), 1,54-1,45 (m, 2H), 1,35-1,20 (m, 4H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,24-8,20 (m, 1H), 8,19-8,14 (m, 1H), 7,60-7,53 (m, 2H), 7,38 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,33 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,24-7,18 (m, 2H), 7,07 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,31-4,22 (m, 1H), 4,08-4,01 (m, 1H), 3,84 (dd, *J* = 4,8, 1,3 Hz, 1H), 3,77 (dd, *J* = 10,1, 2,5 Hz, 1H), 3,71-3,62 (m, 5H), 3,36 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,19-3,12 (m, 4H), 3,03-2,96 (m, 2H), 2,55 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 1,90-1,74 (m, 4H), 1,73-1,64 (m, 2H), 1,63-1,53 (m, 2H), 1,45-1,31 (m, 4H).

9. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(6-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)hexil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida

Esquema 10





Preparación del Compuesto 55;

El Compuesto 54 (770 mg, 1,45 mmol) en THF (50 ml) se cargó con DEPBT (564 mg, 1,88 mmol), 17 (752 mg, 1,45 mmol) y DIPEA (0,77 ml, 4,35 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó rápidamente con NaHCO_3 acuoso saturado (2 x 100 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (5% de metanol/ CH_2Cl_2) y mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold), dando la amida 55 como un sólido amarillo (800 mg, 54%): $[\text{M} + \text{H}]^+$ 1027.

Preparación del Compuesto 56;

Una suspensión de 55 (800 mg, 0,78 mmol) y Pd al 10%/C (400 mg) en una mezcla de EtOH (120 ml) y AcOH (30 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 56 como un sólido amarillo (780 mg, 99%): $[\text{M} + \text{H}]^+$ 897.

Preparación del Compuesto 57;

Una solución de la sal de amina 56 (780 mg, 0,75 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (21, 466 mg, 1,20 mmol) en EtOH (20 ml) se cargó con DIPEA (1,37 ml, 7,67 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar la guanidina 57 (455 mg, 55%) como un sólido amarillo: $[\text{M} + \text{H}]^+$ 1110.

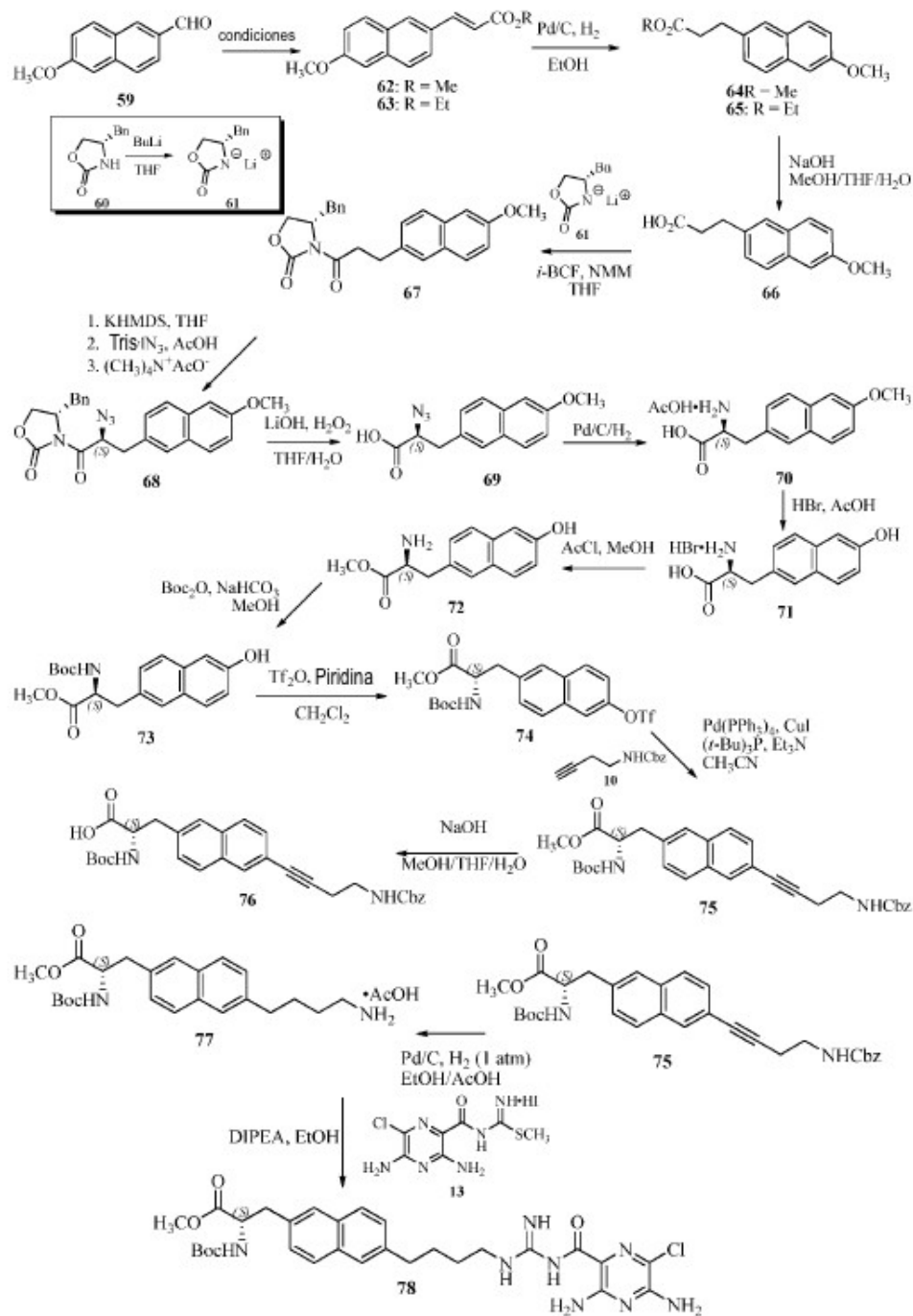
Preparación de la sal de HCl del Compuesto 58 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(6-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)hexil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidato)-6-cloropiracino-2-carboxamida

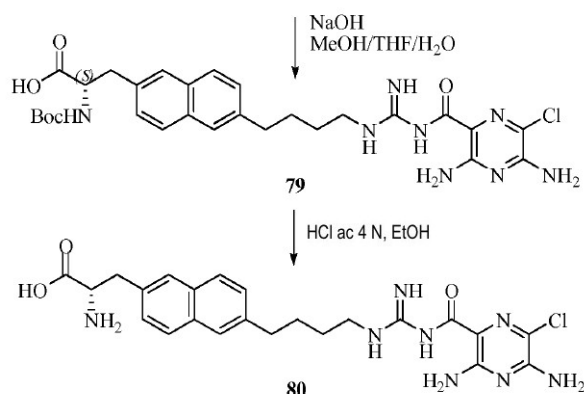
Se añadió HCl 4 N en agua (25 ml) a 57 (455 mg, 0,41 mmol) en etanol (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 58 (230 mg, 55%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,45 (brs, 1H), 9,30 (brs, 1H), 9,09-8,49 (m, 3H), 8,41-8,32 (m, 1H), 8,16-8,08 (m, 1H), 7,62-7,52 (m, 2H), 7,42 (brs, 2H), 7,37 (t, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,32 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 5,52-5,36 (m, 1H), 4,87-4,70 (m, 1H), 4,63-4,51 (m, 2H), 4,47-4,38 (m, 1H), 4,23 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H), 4,03-3,94 (m, 1H), 3,71-3,66 (m, 1H), 3,65-3,52 (m, 2H), 3,50-3,34 (m, 5H), 3,21 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 3,12 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 3,09-2,96 (m, 6H), 1,77-1,58 (m, 8H), 1,57-1,46 (m, 2H), 1,35-1,21 (m, 10H), 0,86 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,26-8,20 (m, 1H), 8,19-8,12 (m, 1H), 7,60-7,51 (m, 2H), 7,38 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,21 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,06 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,26 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 4,16-4,09 (m, 1H), 3,82 (dd, $J = 5,0, 1,5$ Hz, 1H), 3,78 (dd, $J = 11,3, 3,2$ Hz, 1H), 3,72-3,61 (m, 6H), 3,35 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 3,24-3,11 (m, 7H), 2,54 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,90-1,67 (m, 8H), 1,64-1,54 (m, 2H), 1,44-1,30 (m, 10H), 0,92 (t, $J = 6,7$ Hz, 3H).

10. Preparación de ácido (S)-2-amino-3-(6-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)naftalen-2-il)propanoico (80)

Esquema 11





Preparación del Compuesto 62;

El iluro de Wittig estable carbometoximetilentrifenilfosforano ($\text{Ph}_3\text{PCHCO}_2\text{Me}$, 43,0 g, 129 mmol) se añadió a una solución del aldehído 59 (20,0 g, 107 mmol) en CH_2Cl_2 (200 ml) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó 16 h a temperatura ambiente. La TLC controlaba la finalización de la reacción (16 h). Se retiró CH_2Cl_2 bajo presión reducida y FCC usando 10% de acetato de etilo-hexanos para proporcionar el correspondiente éster trans- α,β -insaturado 62 (24,0 g, 92%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,88-7,82 (m, 1H), 8,81 (d, J = 15,8 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,61 (dd, J = 8,8, 2,2 Hz, 1H), 7,15 (dd, J = 9,2, 2,2 Hz, 1H), 7,11 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 15,8 Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,82 (s, 3H).

Preparación del Compuesto 62 (ruta adicional);

Se añadió DBU (48,8 ml, 322 mmol) al fosonoacetato de trimetilo (55,6 ml, 381 mmol) en 250 ml de CH_2Cl_2 anhidro enfriado hasta 0°C y la mezcla se agitó durante 15 min. Se añadió gota a gota el aldehído 59 (40,0 g, 215 mmol) en 50 ml de CH_2Cl_2 . La temperatura de la mezcla de reacción se llevó hasta ta y la mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 16 h y a continuación se desactivó con 100 ml de agua. La mezcla se repartió y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron, se concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexanos/acetato de etilo 10:1) para proporcionar el éster trans- α,β -insaturado deseado 62 (48,0 g, 92%) como un sólido blanco.

Preparación del Compuesto 64;

Una suspensión del compuesto 62 (48,0 g, 196 mmol) y Pd al 10%/C (10 g) en EtOAc/THF (600 ml/75 ml) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 64 (46,5 g, 96%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,67 (d, J = 9,4 Hz, 2H), 7,57-7,54 (m, 1H), 7,29 (dd, J = 8,6, 1,8 Hz, 1H), 7,12 (dd, J = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 7,11-7,09 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 3,07 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 7,7 Hz, 2H).

Preparación del Compuesto 66;

Se añadió NaOH (45,6 g, 114 mmol) a una solución del éster metílico 64 (46,5 g, 191 mmol) en THF/MeOH/ H_2O (500 ml/500 ml/150 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró y el valor del pH se ajustó hasta 1 con HCl ac. 1 N; precipitaba un sólido blanco. El sólido se filtró, se lavó con agua y se secó bajo vacío para suministrar el ácido 66 (42,5 g, 97%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,14 (brs, 1H), 7,73 (dd, J = 9,5, 2,3 Hz, 2H), 7,64-7,61 (m, 1H), 7,35 (dd, J = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,26 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,12 (dd, J = 9,1, 2,5 Hz, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,94 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,60 (t, J = 7,6 Hz, 2H).

Preparación del Compuesto 67;

Se añadió *n*-butil-litio (110 ml, solución 2 M en ciclohexano) gota a gota a -78°C a una solución del compuesto 60 (39,3 g, 222 mmol) en THF seco (500 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h para dar una solución del compuesto 61. Se añadieron NMM (26,3 ml, 240 mmol) y PivCl (27,3 ml, 222 mmol) gota a gota a -78°C a otra solución del compuesto 66 (42,5 g, 185 mmol) en THF seco (1000 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 min a la misma temperatura y a continuación la solución preparada del compuesto 66 se añadió lentamente a -78°C . La

mezcla de reacción se agitó durante otros 10 min y a continuación se llevó hasta 0°C y se agitó durante 1 h seguido por una temperatura ambiente durante 30 min, se desactivó con NH₄Cl saturado, se concentró para retirar el THF y se repartió entre CH₂Cl₂ (1000 ml) y agua (1000 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 1.000 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂) para suministrar el compuesto 67 (45,0 g, 63%) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,64-7,61 (m, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,5, 1,8 Hz, 1H), 7,33-7,24 (m, 4H), 7,17-7,12 (m, 2H), 7,11-7,09 (m, 1H), 4,69-4,61 (m, 1H), 4,15 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,46-3,21 (m, 3H), 3,20-3,08 (m, 2H), 2,74 (dd, *J* = 13,6, 9,4 Hz, 1H).

Preparación del Compuesto 68;

- 10 Se añadió KHMDS (34,6 g, 174 mmol) en porciones a -78°C a una solución del compuesto 67 (45,0 g, 116 mmol) en THF seco (700 ml). Después de que la mezcla resultante se agitara durante 30 min, se añadió trisilazida (53,6 g, 174 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 min. A continuación, se añadió lentamente a la misma temperatura ácido acético (69,6 ml, 1158 mmol) seguido por acetato de tetrametilamonio (30,9 g, 232 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 24°C, se agitó durante 16 h, se desactivó con NaHCO₃ saturado (300 ml), se concentró para retirar THF y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/Hexano 10:90 seguido por DCM) para suministrar el compuesto 68 (31,0 g, 62%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,70 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 7,68-7,65 (m, 1H), 7,40 (dd, *J* = 8,6, 1,8 Hz, 1H), 7,36-7,23 (m, 3H), 7,20 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,19-7,17 (m, 1H), 7,13 (dd, *J* = 9,0, 2,6 Hz, 1H), 7,10 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,36 (dd, *J* = 9,0, 6,0 Hz, 1H), 4,58-4,50 (m, 1H), 4,11 (dd, *J* = 9,1, 2,6 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,91 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 3,34 (dd, *J* = 13,8, 6,5 Hz, 1H), 3,30 (dd, *J* = 13,0, 3,5 Hz, 1H), 3,19 (dd, *J* = 13,4, 8,6 Hz, 1H), 2,81 (dd, *J* = 13,4, 9,5 Hz, 1H).

Preparación del Compuesto 69;

- 25 Se añadió H₂O₂ (49 ml, 433 mmol) seguido por LiOH (6,04 g, 144 mmol) en porciones a 0°C a una solución del compuesto 68 (31,0 g, 72,1 mmol) en THF/H₂O (300 ml/100 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 10 min a la misma temperatura seguido por a ta durante 1 h y a continuación se desactivó con Na₂SO₃ saturado (200 ml), se concentró bajo presión reducida para retirar THF y se lavó con CH₂Cl₂ (500 ml). La capa acuosa se acidificó con HCl ac. 1 N y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se lavaron con MTBE para suministrar el compuesto 69 (15,0 g, 82%) como un sólido blancuzco: ¹H NMR (400 MHz, MeOD-*d*₃) δ 7,70 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,66-7,63 (m, 1H), 7,35 (dd, *J* = 8,6, 1,7 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,10 (dd, *J* = 9,1, 2,6 Hz, 1H), 4,25 (dd, *J* = 8,6, 5,3 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,29 (dd, *J* = 13,9, 5,1 Hz, 1H), 3,10 (dd, *J* = 14,3, 8,6 Hz, 1H).

Preparación del Compuesto 70;

- 35 Una suspensión del compuesto 69 (15,0 g, 55,1 mmol) y Pd al 10%/C (3,50 g) en AcOH/H₂O (300 ml/100 ml) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con AcOH/H₂O, seguido por MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal acética 70 (14,0 g, 83%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, TFA) δ 8,38-8,18 (m, 3H), 7,78 (dd, *J* = 11,4, 8,1 Hz, 2H), 7,75-7,70 (m, 1H), 7,41 (dd, *J* = 8,6, 1,6 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 7,18 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 4,33-4,23 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,33 (dq, *J* = 14,5, 5,9 Hz, 2H), 1,92 (s, 3H).

Preparación del Compuesto 71;

- 40 Se añadió ácido bromhídrico (140 ml) gota a gota a temperatura ambiente a una solución del compuesto 70 (14,0 g, 45,9 mmol) en ácido acético (140 ml) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró. El residuo pardo en bruto 71 (12,4 g, 87%) se usó directamente para la siguiente epata sin purificación: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,83 (brs, 1H), 9,71 (brs, 1H), 8,41 (brs, 1H), 8,25 (brs, 2H), 7,67 (dd, *J* = 13,8, 8,7 Hz, 2H), 7,64-7,61 (m, 1H), 7,29 (dd, *J* = 8,6, 1,7 Hz, 1H), 7,13-7,05 (m, 2H), 4,29-4,19 (m, 1H), 3,20 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H).

Preparación del Compuesto 72;

- 50 Se añadió cloruro de acetilo (38,4 ml, 540 mmol) a metanol seco (400 ml) a 0°C y a continuación se añadió el compuesto 71 (24,0 g, 77,2 mmol). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 4 h y se concentró. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (500 ml) y NaHCO₃ saturado (300 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para suministrar el compuesto 72 (16,6 g, 88%) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,62 (brs, 1H), 7,67 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,22 (dd, *J* = 8,2, 1,4 Hz, 1H), 7,09-7,06 (m, 1H), 7,04 (dd, *J* = 8,8, 2,6

Hz, 1H), 3,67 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H), 3,57 (s, 3H), 2,97 (dd, $J = 13,5, 6,1$ Hz, 1H), 2,86 (dd, $J = 13,2, 7,4$ Hz, 1H), 1,90 (brs, 2H).

Preparación del Compuesto 73;

- Se añadieron NaHCO_3 (22,8 g, 271 mmol) y Boc_2O (17,7 g, 81,3 mmol) a 0°C a una solución del compuesto 72 (16,6 g, 67,8 mmol) en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (360 ml/120 ml). La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (200 ml) y agua (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 400 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. La FCC usando 20% de acetato de etilo-hexanos seguida por CH_2Cl_2 daba el compuesto 73 (17,0 g, 73%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,60 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,49-7,43 (m, 1H), 7,15 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,09-6,99 (m, 2H), 6,31 (brs, 1H), 5,15-4,84 (m, 1H), 4,73-4,46 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,23 (dd, $J = 13,7, 5,3$ Hz, 1H), 3,14 (dd, $J = 13,7, 5,5$ Hz, 1H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 74;

- Se añadió piridina (16,5 ml, 203 mmol) a una solución del compuesto 73 (7,0 g, 20,3 mmol) en CH_2Cl_2 (300 ml) y se añadió triflato (5,11 ml, 30,4 mmol) a 0°C y se agitó a la misma temperatura durante 1 h seguido por una temperatura ambiente durante 2 h. Después de concentrarse, la mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (300 ml) y agua (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para suministrar el compuesto 74 (8,80 g, 91%) como un aceite pardo (piridina presente según se confirmaba por NMR). La reacción se siguió al usar LC-MS y la formación de producto se confirmó mediante los datos de LM-MS: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 7,85 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,80 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,71 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,66-7,63 (m, 1H), 7,37 (ddd, $J = 10,0, 7,3, 2,0$ Hz, 2H), 5,12-5,03 (m, 1H), 4,73-4,61 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,32 (dd, $J = 13,3, 5,3$ Hz, 1H), 3,20 (dd, $J = 13,3, 6,2$ Hz, 1H), 1,38 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 75;

- El Compuesto 74 (16,5 g, 34,6 mmol) y but-3-inilcarbamato de bencilo (17, 10,4 g, 51,9 mmol) en CH_3CN anhidro (450 ml) se desgasificaron con argón durante 10 min a ta, a continuación se añadieron TEA (19,3 ml, 138 mmol), 10% de (*t*-Bu) $_3\text{P}$ en hexanos (13,9 ml, 6,91 mmol) y CuI (0,33 g, 1,72 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 min y se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (3,99 g, 3,45 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante una columna (gel de sílice, hexanos/EA 75:25) para suministrar el compuesto 75 (14,1 g, 77%) como un sólido pardo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (brs, 1H), 7,68 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,53 (brs, 1H), 7,41 (dd, $J = 8,5, 1,6$ Hz, 1H), 7,38-7,28 (m, 5H), 7,27-7,22 (m, 1H), 5,26-5,17 (m, 1H), 5,13 (s, 2H), 5,06-4,99 (m, 1H), 4,70-4,59 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,46 (q, $J = 6,7$ Hz, 2H), 3,27 (dd, $J = 14,1, 5,9$ Hz, 1H), 3,16 (dd, $J = 13,2, 6,2$ Hz, 1H), 2,67 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,38 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 76;

- Se añadió NaOH (4,56 g, 114 mmol) a una solución del éster metílico 75 (12,1 g, 22,8 mmol) en $\text{THF}/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (150 ml/150 ml/50 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El valor del pH se ajustó hasta 9 con HCl ac 1 N y el disolvente orgánico se retiró. El valor del pH del residuo se ajustó hasta 5-6 y la suspensión se repartió entre CH_2Cl_2 (500 ml) y agua (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 400 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para suministrar el compuesto 76 (10,50 g, 89%) como un sólido pardo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,83 (s, 1H), 7,73-7,61 (m, 3H), 7,44-7,19 (m, 7H), 5,10 (s, 2H), 4,42-4,34 (m, 1H), 3,41-3,32 (m, 3H), 3,06 (dd, $J = 14,3, 9,3$ Hz, 1H), 2,64 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,31 (s, 7H), 1,21 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 77; SG-SJL-B-27

- Una suspensión de 75 (2,0 g, 3,77 mmol) y Pd al 10%/C (500 mg) en una mezcla de EtOH (90 ml) y AcOH (10 ml) se desgasificó y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH . El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal de amina 77 (1,60 mg, 93%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,73 (d, $J = 8,5, 1\text{H}$), 7,72 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,62 ((brs, 2H), 7,73 (ddd, $J = 10,0, 8,7, 2,7$ Hz, 2H), 4,44 (dd, $J = 8,8, 5,6$ Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,25 (dd, $J = 14,0, 6,6$ Hz, 1H), 3,04 (dd, $J = 13,5, 9,2$ Hz, 1H), 2,93 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,83 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,96 (s, 6H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,74-1,68 (m, 2H), 1,33 (s, 7H), 1,26 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 78; SG-SJL-B-30

Se añadió DIPEA (6,20 ml, 34,70 mmol) a temperatura ambiente a una solución de la sal de amina 77 (1,60 g, 3,47 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidotioato de metilo (13, 2,16 g, 5,56 mmol) en EtOH (40 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 1 h, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar la guanidina 78 (1,24 g, 59%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,71 (dd, *J* = 8,4, 2,8 Hz, 2H), 7,60 (brs, 2H), 7,34 (dd, *J* = 8,5, 1,9 Hz, 1H), 7,30 (dd, *J* = 8,7, 1,7 Hz, 1H), 4,45 (dd, *J* = 8,9, 5,7 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,28-3,26 (m, 1H), 3,25 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,22 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 3,04 (dd, *J* = 14,0, 9,2 Hz, 1H), 2,82 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,86 -1,77 (m, 2H), 1,73-1,63 (m, 2H), 1,32 (s, 7H), 1,23 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 79; SG-SJL-B-32

Se añadió NaOH sólido (324 mg, 8,00 mmol) a una solución del éster metílico 78 (1,24 g, 2,00 mmol) en una mezcla de THF (25 ml), metanol (25 ml) y agua (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La TLC de la mezcla de reacción mostraba la finalización de la reacción y a continuación el pH de la mezcla de reacción se llevó hasta pH 9-10 mediante la adición de HCl 1 N (acuoso) y el disolvente orgánico se retiró. El pH de la parte acuosa se ajustó hasta pH 5-6 y apareció un precipitado y se extrajo con diclorometano. La parte acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (2 X 50 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El compuesto sólido de color amarillo (79, 1,10 g, 92%) se secó bajo vacío: ¹H NMR ((400 MHz, CD₃OD) 7,70 (t, *J* = 9,4, 2H), 7,61 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 7,33 (dd, *J* = 8,4, 1,4 Hz, 2H), 4,38 (dd, *J* = 8,4, 5,1 Hz, 1H), 3,05 (dd, *J* = 14,1, 9,1 Hz, 1H), 2,84 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,35-3,34 (m, 3H), 1,88-1,79 (m, 2H), 1,76-1,67 (m, 2H), 1,32 (s, 7H), 1,21 (s, 2H).

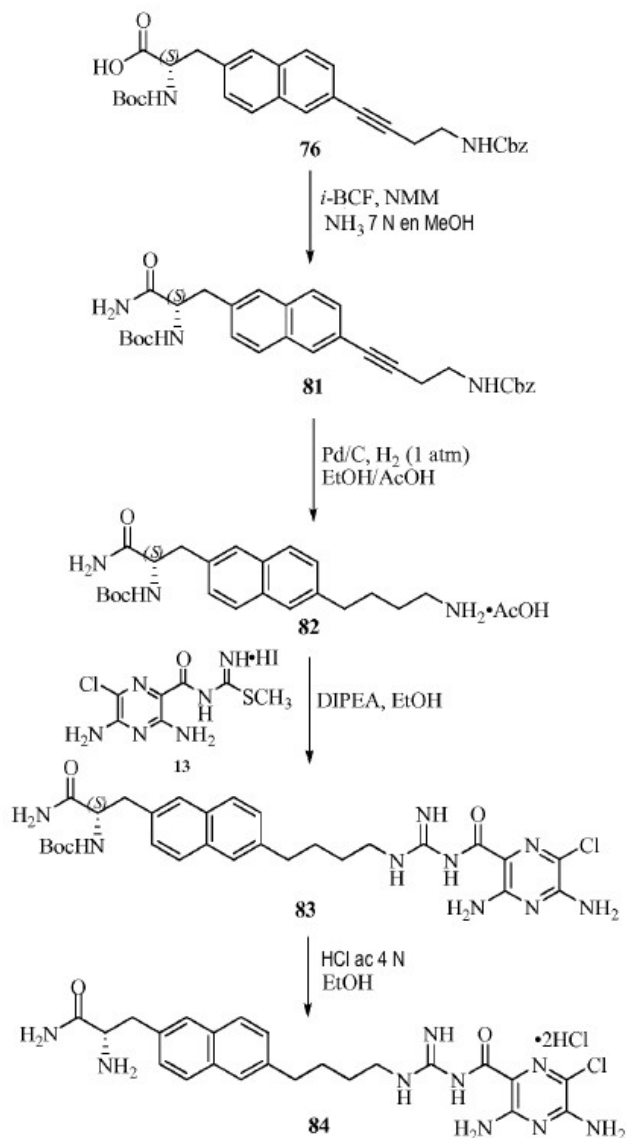
Preparación del Compuesto 80 – Sal de hidrocloreto de ácido (S)-2-amino-3-(6-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)naftalen-2-il)propanoico

Se añadió HCl 4 N en dioxano (25 ml) a 79 (1,10 g, 1,83 mmol) en EtOH (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, se purificó mediante una columna en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 80 (700 mg, 67%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 10,48 (s, 1H), 9,24 (brs, 1H), 8,99-8,86 (m, 1H), 8,84-8,70 (m, 1H), 8,38 (brs, 3H), 7,80 (t, *J* = 9,2 Hz, 2H), 7,73 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,45-7,35 (m, 4H), 4,25 (dd, *J* = 11,4, 5,9 Hz, 1H), 3,34 (q, *J* = 6,6 Hz, 2H), 3,27 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,79 (t, *J* = 7,70 Hz, 2H), 1,79-1,67 (m, 2H), 1,65-1,54 (m, 2H).

¹H NMR ((400 MHz, CD₃OD) 7,82 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,40 (ddd, *J* = 10,5, 8,6, 1,6 Hz, 2H), 4,33 (dd, *J* = 7,7, 5,2 Hz, 1H), 3,46 (dd, *J* = 14,9, 6,0 Hz, 1H), 3,37 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 3,33-3,29 (m, 1H), 2,87 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 1,90-1,80 (m, 2H), 1,79-1,71 (m, 2H).

11. Preparación de (S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(6-(2,3-diamino-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamimidoil)piracino-2-carboxamida (84)

Esquema 12



5 Preparación del Compuesto 81;

Una solución del ácido 76 (2,0 g, 3,87 mmol) en THF (80 ml) se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo, se añadió NMM (0,63 ml, 5,03 mmol) seguido por la adición gota a gota de $i\text{-BCF}$ (0,63 ml, 5,80 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió gota a gota NH_3 (7,0 N en metanol, 5,52 ml, 38,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h más. A continuación, la mezcla de reacción se llevó hasta ta y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se retiró. Se añadió agua a este residuo y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (3% de metanol en cloroformo) para suministrar la amida 81 (1,75 g, 88%) como un sólido amarillo claro: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,83 (s, 1H), 7,69 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 7,66 (s, 1H), 7,39 (dt, $J = 8,8, 1,9$ Hz, 2H), 7,35-7,21 (m, 5H), 5,09 (s, 2H), 4,40 (dd, $J = 9,6, 5,8$ Hz, 1H), 3,37 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 3,27 (dd, $J = 13,8, 5,2$ Hz, 1H), 2,97 (dd, $J = 13,7, 9,4$ Hz, 1H), 2,63 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,27 (s, 7H), 1,21 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 82;

- 5 Una suspensión de 81 (1,75 mg, 3,39 mmol) y Pd al 10%/C (600 mg) en una mezcla de EtOH (110 ml) y AcOH (15 ml) se degasificó y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal de amina 82 como un sólido blanco (1,40 g, 93%): ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,72 (dd, $J = 8,3, 5,6$ Hz, 2H), 7,66 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,38 (dd, $J = 8,6, 1,3$ Hz, 1H), 7,34 (dd, $J = 8,5, 1,5$ Hz, 1H), 4,38 (dd, $J = 9,0, 5,0$ Hz, 1H), 3,27 (dd, $J = 13,8, 5,0$ Hz, 1H), 2,93 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H), 2,83 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 3,01-2,95 (m, 1H), 1,96 (s, 3H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,29 (s, 7H), 1,23 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 83;

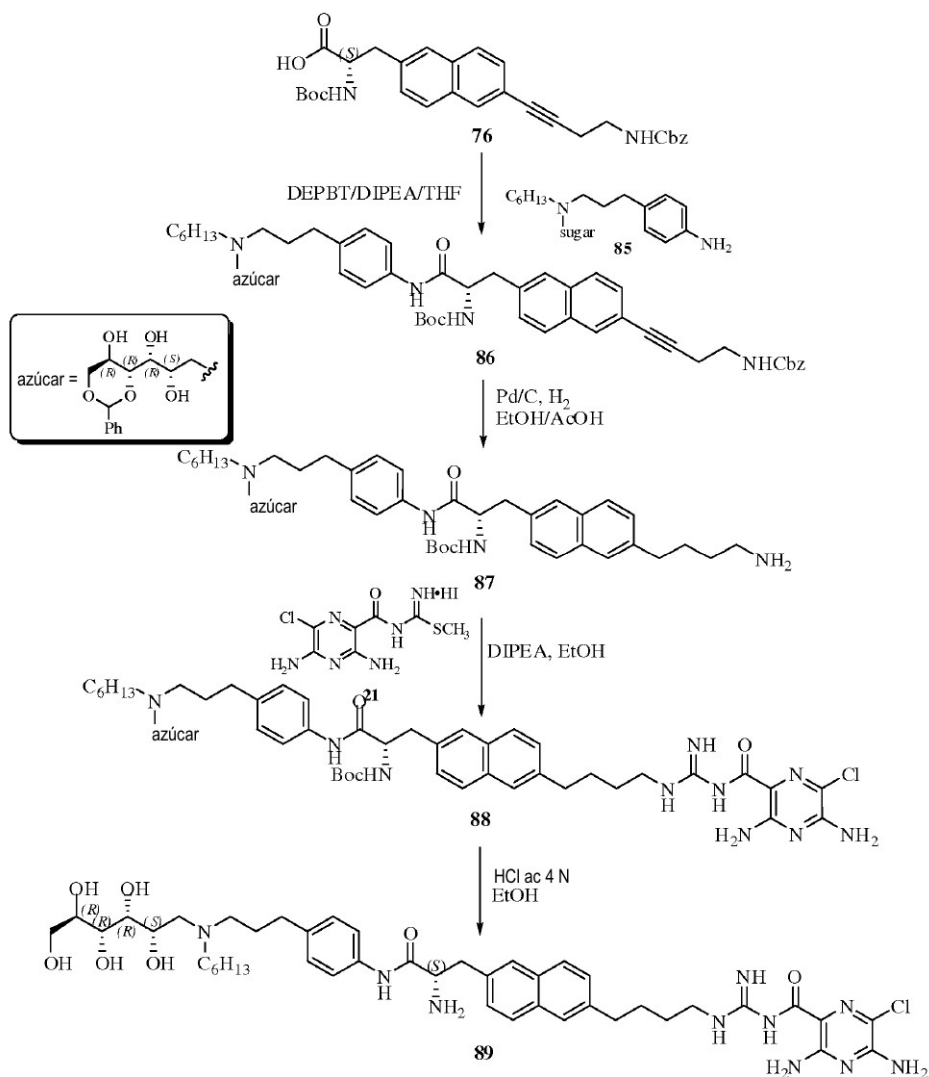
- 10 Se añadió DIPEA (5,64 ml, 31,5 mmol) a temperatura ambiente a una solución de la sal de amina 82 (1,40 g, 3,15 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidotioato de metilo (13, 1,96 g, 5,04 mmol) en EtOH (40 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar la guanidina 83 (1,15 g, 61%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,70 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,64 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,34 (dt, $J = 8,9, 1,9$ Hz, 2H), 4,38 (dd, $J = 9,0, 5,5$ Hz, 1H), 3,28-3,20 (m, 3H), 2,96 (dd, $J = 9,6, 14,1$ Hz, 1H), 2,81 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,85-1,76 (m, 2H), 1,70-1,61 (m, 2H), 1,27 (s, 7H), 1,20 (s, 2H).
- 15

Preparación del Compuesto sal de HCl de (S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(6-(2,3-diamino-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamididoil)piracino-2-carboxamida (84)

- 20 Se añadió HCl 4 N en dioxano (25 ml) a 83 (1,15 g, 1,92 mmol) en EtOH (6,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, se purificó mediante una columna en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 84 (310 mg, 28%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 10,56 (s, 1H), 9,38 (t, $J = 5,5$ Hz, 1H), 9,06-8,83 (m, 2H), 8,31 (brs, 3H), 8,02 (s, 1H), 7,79 (t, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,73 (s, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,46-7,36 (m, 4H), 4,06 (dd, $J = 11,5, 6,0$ Hz, 1H), 3,37 (q, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,27 (dd, $J = 6,6, 1,4$ Hz, 1H), 3,18 (dd, $J = 13,7, 6,9$ Hz, 1H), 2,79 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,79-1,69 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 2H).
- 25
- ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,79 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,41 (td, $J = 8,1, 1,6$ Hz, 2H), 4,18 (dd, $J = 8,1, 6,3$ Hz, 1H), 3,42-3,34 (m, 3H), 3,21 (dd, $J = 14,1, 8,0$ Hz, 1H), 2,86 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,91-1,80 (m, 2H), 1,79-1,71 (m, 2H).
- 30

12. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-2-amino-3-(4-(3-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamidiloil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (89)

Esquema 13



5

Preparación del Compuesto 86;

Se añadieron DEPBT (766 mg, 2,56 mmol), 76 (1,00 g, 1,97 mmol) y DIPEA (1,0 ml, 5,91 mmol) sucesivamente al compuesto 85 (1,10 g, 2,32 mmol) en THF (50 ml) y se agitaron a ta durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (2 X100 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (5% de metanol/CH₂Cl₂), dando la amida 86 como un producto sólido amarillo (1,19 g, 57%): ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): 7,82 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 7,73-7,61 (m, 4H), 7,51-7,43 (m, 2H), 7,39-7,19 (m, 10H), 7,05 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 5,52 (s, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,51 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 4,31-4,25 (m, 1H), 4,24 (dd, J = 11,0, 5,4 Hz, 1H), 4,01-3,91 (m, 2H), 3,88 (dd, J = 5,5, 2,1 Hz, 1H), 3,76 (dd, J = 9,3, 2,1 Hz, 1H), 3,61 (t, J = 10,6 Hz, 1H), 3,37 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,12-3,00 (m, 1H), 2,74 (dd, J = 13,2, 5,3 Hz, 1H), 2,64 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,57-2,37 (m, 7H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,31 (s, 9H), 1,29-1,16 (m, 8H), 0,86 (t, J = 6,9 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 87;

Una suspensión de 86 (1,19 g, mixture) y Pd al 10%/C (220 mg) en una mezcla de EtOH (110 ml) y AcOH (15 ml) se desgasificó y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal de amina 87 que a continuación se neutralizó con NaHCO₃ y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (CMA, 80:18:2) dando la amina libre 87 como un sólido amarillo (550 mg, 58%, a lo largo de dos etapas): ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,71 (t, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,62 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,49-7,45 (m, 3H), 7,40 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,36-7,28 (m, 5H), 7,09 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 5,55 (s, 1H), 4,51 (dd, *J* = 15,6, 8,4 Hz, 1H), 4,25 (dd, *J* = 10,6, 5,4 Hz, 1H), 4,17-4,03 (m, 2H), 3,98-3,90 (m, 2H), 3,81-3,74 (m, 1H), 3,63 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,27-3,20 (m, 1H), 3,09-2,98 (m, 5H), 2,93 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,83 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,61-2,54 (m, 2H), 1,95-1,86 (m, 2H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,74-1,65 (m, 2H), 1,57-1,47 (m, 2H), 1,39-1,19 (m, 7H), 1,33 (s, 9 H), 0,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H).

Preparación de 88;

Se añadió DIPEA (1,15 ml, 6,44 mmol) a temperatura ambiente a una solución de la amina 87 (550 mg, 0,65 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (21, 400 mg, 1,04 mmol) en EtOH (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) seguido por una columna en fase inversa (Gold C18) para suministrar la guanidina 88 (333 mg, 48%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,69 (dd, *J* = 8,6, 3,5 Hz, 2H), 7,66 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,48-7,44 (m, 2H), 7,35 (ddd, *J* = 10,4, 8,6, 1,6 Hz, 2H), 7,33-7,28 (m, 5H), 7,04 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 5,52 (s, 1H), 4,52-4,55 (m, 1H), 4,24 (dd, *J* = 10,6, 5,4 Hz, 1H), 4,00-3,91 (m, 2H), 3,88 (dd, *J* = 5,4, 2,0 Hz, 1H), 3,75 (dd, *J* = 9,6, 2,2 Hz, 1H), 3,60 (t, *J* = 10,6 Hz, 2H), 3,28-3,23 (m, 3H), 3,06 (dd, *J* = 13,5, 8,3 Hz, 1H), 2,82 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,77 (dd, *J* = 13,9, 5,6 Hz, 1H), 2,59-2,40 (m, 7H), 1,86-1,76 (m, 2H), 1,74-1,68 (m, 4H), 1,42-1,60 (m, 7H), 1,33 (s, 9H), 0,86 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H).

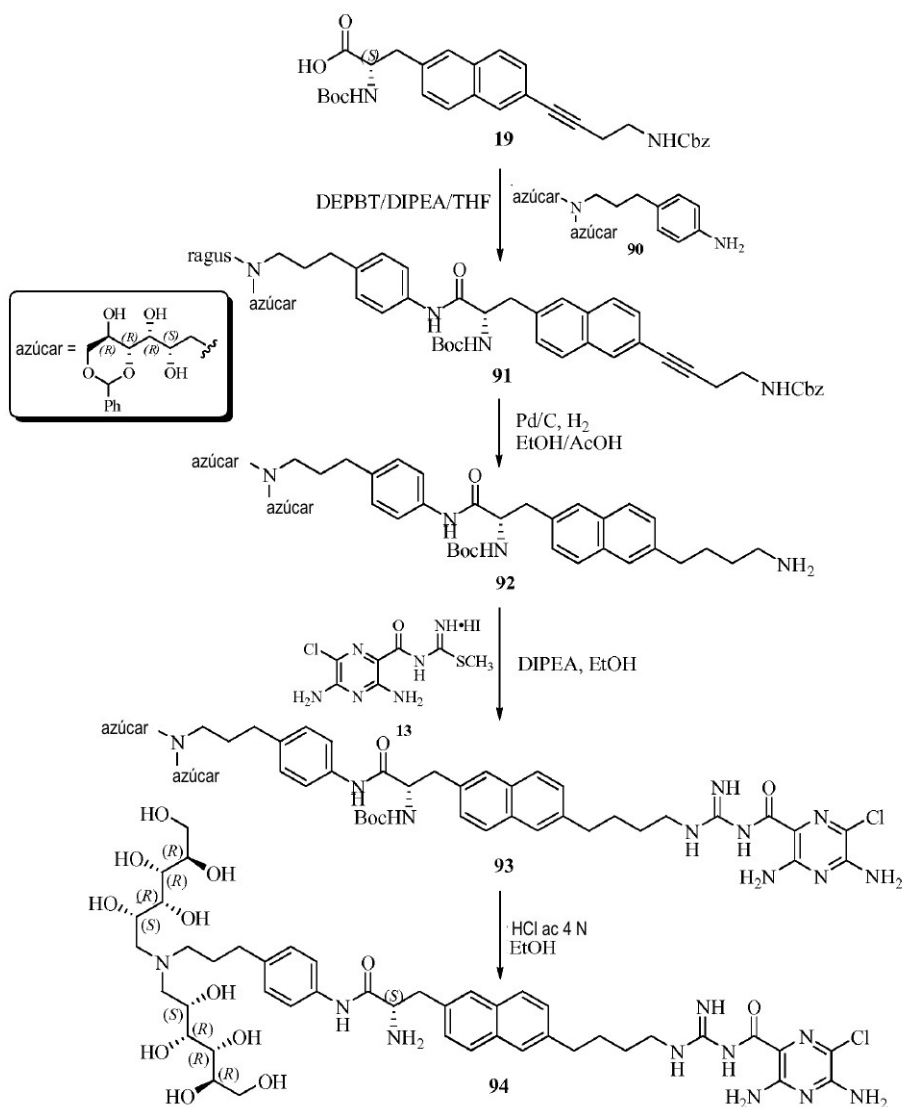
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-2-amino-3-(4-(3-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamidato)-6-cloropiracino-2-carboxamida Compuesto (89) ;

Se añadió HCl 4 N en agua (20 ml) a 88 (333 mg, 0,31 mmol) en etanol (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 2 h. Se purificó mediante una columna en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 89 (210 mg, 68%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) 10,94 (brs, 1H), 9,29 (brs, 1H), 9,02-8,77 (m, 2H), 8,64-8,17 (m, 2H), 7,80-7,73 (m, 3H), 7,68 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,47 (dd, *J* = 8,2, 1,0 Hz, 1H), 7,44-7,36 (m, 3H), 7,19 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 5,52-5,41 (m, 1H), 4,86-4,71 (m, 1H), 4,60 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,59-4,53 (m, 1H), 4,42 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 4,38 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,03-3,95 (m, 1H), 3,71-3,66 (m, 1H), 3,62-3,55 (m, 1H), 3,53-3,34 (m, 5H), 3,27 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,23 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 3,16-2,99 (m, 5H), 2,78 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,58 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H), 2,01-1,90 (m, 2H), 1,78-1,68 (m, 2H), 1,66-1,54 (m, 4H), 1,32-1,21 (m, 6H), 0,85 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,79 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,77-7,73 (m, 2H), 7,67 (s, 1H), 7,47-7,37 (m, 4H), 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 4,30 (dd, *J* = 7,7, 6,7 Hz, 1H), 4,12-4,05 (m, 1H), 3,82-3,74 (m, 1H), 3,71-3,61 (m, 2H), 3,49 (dd, *J* = 14,0, 6,6 Hz, 1H), 3,47 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,33-3,27 (m, 3H), 3,26-3,13 (m, 4H), 2,86 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,73-2,64 (m, 2H), 2,10-2,00 (m, 2H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,79-1,72 (m, 2H), 1,71-1,63 (m, 2H), 1,40-1,30 (m, 6H), 0,91 (t, *J* = 6,6 Hz, 3H).

13. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (94)

Esquema 14



5

Preparación del Compuesto 91;

Se añadieron DEPBT (300 mg, 1,00 mmol), 19 (400 g, 0,77 mmol) y DIPEA (0,40 ml, 2,31 mmol) sucesivamente al compuesto 90 (484 mg, 0,91 mmol) en THF (30 ml) y se agitaron a ta durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (2 X100 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (5% de metanol/CH₂Cl₂), dando la amida 91 como un producto sólido amarillo (600 mg, 76%, impuro). La formación del producto se confirmó mediante LCMS.

10

Preparación del Compuesto 92;

Una suspensión de 91 (600 mg, 0,59 mmol) y Pd al 10%/C (200 mg) en una mezcla de EtOH (90 ml) y AcOH (10 ml) se desgasificó y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal de amina 92 que a continuación se neutralizó con NaHCO₃ y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (CMA, 80:18:2) dando la amina libre 36 como un sólido amarillo (350 mg, 66%, impuro): ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,71 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,61 (s, 2H), 7,43-7,37 (m, 2H), 7,34 (dd, *J* = 8,3, 1,3 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 4,69 (q, *J* = 5,1 Hz, 2H), 4,50 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,13-4,06 (m, 2H), 4,05 (dd, *J* = 11,0, 5,6 Hz, 2H), 3,83 (dd, *J* = 4,8, 2,1 Hz, 2H), 3,81 - 3,73 (m, 2H), 3,51 (dd, *J* = 9,5, 2,3 Hz, 2H), 3,38 (t, *J* = 10,8 Hz, 2H), 3,13-3,03 (m, 6H), 2,93 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,82 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,74-2,57 (m, 2H), 2,04-1,95 (m, 2H), 1,84-1,75 (m, 3H), 1,74-1,63 (m, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,25 (d, *J* = 5,1 Hz, 6H).

Preparación de 93;

Se añadió DIPEA (0,67 ml, 3,80 mmol) a temperatura ambiente a una solución de la amina 92 (350 mg, 0,38 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (13, 242 mg, 0,62 mmol) en EtOH (10 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) seguido por una columna en fase inversa (Gold C18) para suministrar la guanidina 93 (170 mg, 20% a lo largo de tres etapas) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,71 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,43 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,26 (ddd, *J* = 10,6, 8,6, 1,3 Hz, 2H), 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 4,70 (q, *J* = 0,5 Hz, 2H), 4,49 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,22-4,09 (m, 2H), 4,06 (dd, *J* = 10,4, 5,1 Hz, 2H), 3,89-3,81 (m, 2H), 3,80-3,71 (m, 2H), 3,60-3,49 (m, 2H), 3,43-3,32 (m, 8H), 3,31-3,23 (m, 2H), 3,10-2,98 (m, 2H), 2,85 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 2,77-2,61 (m, 2H), 2,12-2,02 (m, 2H), 1,89-1,79 (m, 2H), 1,78-1,68 (m, 2H), 1,31 (s, 9H), 1,25 (d, *J* = 5,1 Hz, 6H).

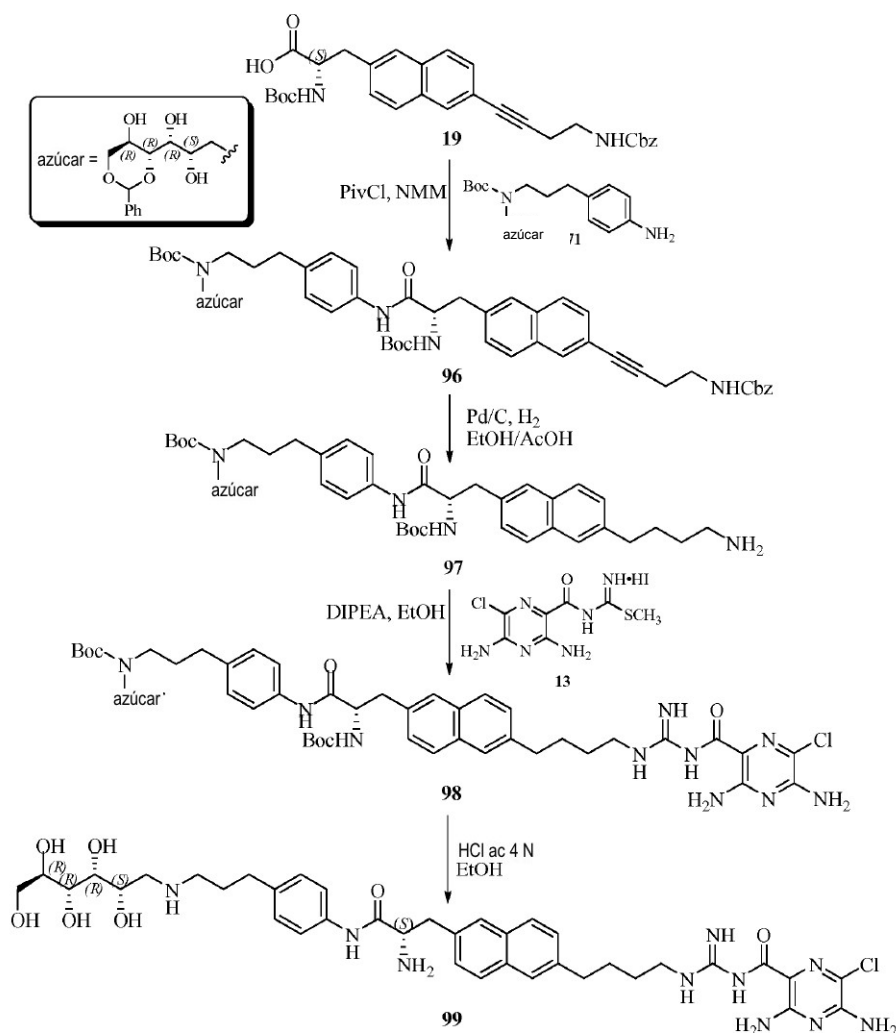
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-2-amino-3-(4-(3-bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamidato)-6-cloropiracino-2-carboxamida (94)

Se añadió HCl 4 N en agua (20 ml) a 93 (170 mg, 0,15 mmol) en etanol (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 2 h. El disolvente se retiró se nuevo, se añadió HCl 4 N y se calentó a 40°C durante otras 2 h. Estas adición se repitió dos veces más. El disolvente se retiró y se purificó mediante una columna en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 94 (80 mg, 50%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 10,74 (brs, 1H), 9,28-9,19 (m, 1H), 9,03-8,60 (m, 2H), 8,58-8,04 (m, 1H), 7,81-7,73 (m, 3H), 7,68 (s, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,48-7,34 (m, 4H), 7,19 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 5,39-5,35 (m, 1H), 4,87-4,63 (m, 1H), 4,62-4,47 (m, 3H), 4,45-4,35 (m, 2H), 4,32-4,23 (m, 1H), 4,01-3,85 (m, 1H), 3,67 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 3,62-3,55 (m, 2H), 3,53-3,38 (m, 5H), 3,37-3,29 (m, 2H), 3,24-3,09 (m, 2H), 2,78 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,62-2,53 (m, 2H), 2,01-1,86 (m, 2H), 1,79-1,68 (m, 2H), 1,64-1,55 (m, 2H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,78 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,75 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,42 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,39 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,21 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 4,16 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,13-4,05 (m, 2H), 3,81 (dd, *J* = 4,7, 1,9 Hz, 2H), 3,77 (dd, *J* = 10,6, 3,0 Hz, 2H), 3,72-3,61 (m, 6H), 3,44-3,30 (m, 10 H), 2,86 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,76-2,61 (m, 2H), 2,11-2,01 (m, 2H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,79-1,72 (m, 2H).

14. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)propil)fenilamino)propil)naftalen-2-il)butil)carbamidimidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida (99)

Esquema 15



5 Preparación del Compuesto 96;

Una solución del ácido 19 (1,17 g, 2,27 mmol) en THF (60 ml) se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo, se añadió NMM (0,30 ml, 2,95 mmol) seguido por PivCl (0,30 ml, 2,49 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió 34 (1,0 g, 2,27 mmol, 10 ml THF) de la anilina 171 y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 10 min más. A continuación, la mezcla de reacción se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se retiró. Se añadió agua a este residuo y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (4% metanol en cloroformo) para suministrar la amida 96 (1,40 g, 66%, impura) como un sólido amarillo claro. La formación del producto se confirmó mediante LCMS.

Preparación del Compuesto 97;

Una suspensión de 96 (1,40 g, 1,50 mmol) y Pd al 10%/C (300 mg) en una mezcla de EtOH (120 ml) y AcOH (12 ml) se desgasificó y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal de amina 97 que a continuación se neutralizó con NaHCO₃ y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (CMA, 80:18:2) dando la amina libre 97 como un sólido amarillo (550 mg, 30%, a lo largo de dos etapas): ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,74-7,65 (m, 3H),

7,59 (s, 1H), 7,41-7,29 (m, 4H), 7,11 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,69 (q, $J = 4,9$ Hz, 1H), 4,50 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 4,04 (dd, $J = 10,4, 5,2$ Hz, 1H), 4,02-3,94 (m, 1H), 3,79-3,71 (m, 1H), 3,70-3,63 (m, 1H), 3,54-3,39 (m, 3H), 3,26-(dd, $J = 13,6, 6,8$ Hz, 1H), 3,07 (dd, $J = 13,1, 8,3$ Hz, 1H), 2,79 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,75-2,67 (m, 2H), 2,55 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,91-1,80 (m, 2H), 1,79-1,69 (m, 2H), 1,62-1,52 (m, 2H), 1,50-1,37 (m, 12H), 1,33 (s, 9H), 1,25 (d, $J = 4,9$ Hz, 3H).

5 Preparación de 98;

Se añadió DIPEA (1,21 ml, 6,80 mmol) a temperatura ambiente a una solución de la amina 97 (550 mg, 0,68 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (13, 423 mg, 0,62 mmol) en EtOH (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) seguido por una columna en fase inversa (Gold C18) para suministrar la guanidina 98 (500 mg, 72%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,73-7,64 (m, 3H), 7,61 (s, 1H), 7,40-7,30 (m, 4H), 7,11 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,68 (d, $J = 4,9$ Hz, 1H), 4,49 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,04 (dd, $J = 10,9, 5,5$ Hz, 1H), 4,02-3,93 (m, 1H), 3,78-3,70 (m, 1H), 3,69-3,64 (m, 1H), 3,54-3,38 (m, 4H), 3,30-3,20 (m, 2H), 3,15-3,01 (m, 1H), 2,83 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,54 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 1,90-1,78 (m, 4H), 1,73-1,64 (m, 2H), 1,53-1,37 (m, 12H), 1,32 (s, 9H), 1,25 (d, $J = 4,9$ Hz, 3H).

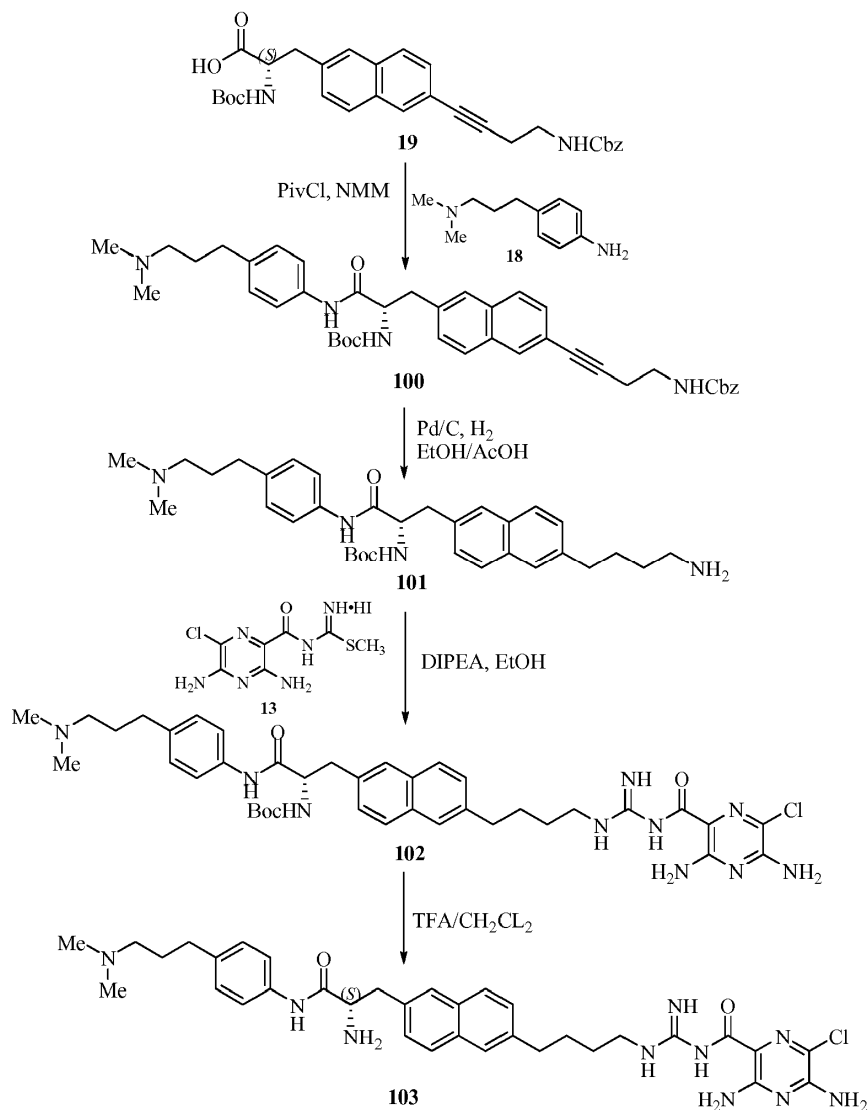
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)propil)fenilamino) propil)naftalen-2-il)butil)carbamidatoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (99)

Se añadió HCl 4 N en agua (20 ml) a 98 (500 mg, 0,15 mmol) en etanol (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 40°C durante 2 h. El disolvente se retiró de nuevo, se añadió HCl 4 N y se calentó a 40°C durante otras 2 h. Esta adición se repitió dos veces más. El disolvente se retiró, se purificó mediante una columna en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 99 (206 mg, 50%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 11,0 (brs, 1H), 9,34 (brs, 1H), 9,09-8,25 (m, 6H), 7,82-7,73 (m, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,53 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,49 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,41 (s, 2H), 7,39 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 7,17 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 5,39 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H), 4,80-4,70 (m, 1H), 4,62 (d, $J = 4,3$ Hz, 1H), 4,60-4,54 (m, 1H), 4,46-4,36 (m, 2H), 3,96-3,88 (m, 1H), 3,71-3,65 (m, 1H), 3,62-3,54 (m, 1H), 3,51-3,35 (m, 5H), 3,09 (d, $J = 13,3$ Hz, 1H), 2,94 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H), 2,87 (t, $J = 9,1$ Hz, 2H), 2,78 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,60 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 2,00-1,86 (m, 2H), 1,85-1,67 (m, 2H), 1,65-1,53 (m, 2H).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 7,80 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 7,78-7,73 (m, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,45-7,37 (m, 4H), 7,19 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 4,31 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 4,09-4,00 (m, 1H), 3,87-3,81 (m, 1H), 3,78 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 3,73-3,61 (m, 3H), 3,46 (dd, $J = 13,6, 6,3$ Hz, 1H), 3,37 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,30-3,25 (m, 1H), 3,22-3,12 (m, 2H), 3,03 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H), 2,86 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,69 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,07-1,95 (m, 2H), 1,91-1,81 (m, 2H), 1,80-1,69 (m, 2H).

15. Preparación de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(6-(2-amino-3-(4-(3-(dimetilamino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (103)

Esquema 16



5 Preparación del Compuesto 100;

Una solución del ácido 19 (1,75 g, 3,39 mmol) en THF (70 ml) se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo, se añadió NMM (0,74 ml, 6,78 mmol) seguido por PivCl (0,41 ml, 3,39 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió 18 (825 mg, 4,61 mmol, 10 ml THF) y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 10 min más. A continuación, la mezcla de reacción se llevó hasta ta y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se retiró. Se añadió agua a este residuo y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (4% de metanol en cloroformo) para suministrar la amida 100 (1,60 g, 71%) como un sólido amarillo claro: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7,87 (s, 1H), 7,71 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,65-7,62 (m, 2H), 7,42 (dd, J = 8,4, 1,9 Hz, 1H), 7,40-7,29 (m, 5H), 7,22 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,21-5,10 (m, 2H), 5,13 (s, 2H), 4,51 (q, J = 7,6 Hz, 1H), 3,47 (q, J = 6,5 Hz, 2H), 3,29 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 2,68 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,57 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 2,26 (ddt, J = 11,5, 9,3, 2,5 Hz, 2H), 2,21 (s, 6H), 2,22-2,19 (m, 1H), 1,78-1,69 (m, 3H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 101;

Una suspensión de 100 (1,60 g, 2,30 mmol) y Pd al 10%/C (400 mg) en una mezcla de EtOH (130 ml) y AcOH (20 ml) se desgaseó y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar la sal de amina 101 como un sólido amarillo (1,60 g, 99%): ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,71 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,42 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,39 (dd, $J = 8,5$, 1,3 Hz, 1H), 7,33 (dd, $J = 8,5$, 1,3 Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,50 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,28 (dd, $J = 14,0$, 6,3 Hz, 1H), 3,07 (dd, $J = 13,3$, 8,7 Hz, 1H), 3,05-2,98 (m, 2H), 2,93 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,82 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,78 (s, 6H), 2,65 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,06-1,96 (m, 2H), 1,93 (s, 6H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,74-1,64 (m, 2H), 1,33 (s, 9H).

10 Preparación de 102;

Se añadió DIPEA (4,1 ml, 23,0 mmol) a temperatura ambiente a una solución de la amina 101 (1,60 g, 2,30 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidotioato de metilo (21, 1,60 g, 4,14 mmol) en EtOH (25 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar la guanidina 102 (645 mg, 37% y 640 mg, 37% impura) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,70 (dd, $J = 9,0$, 4,3 Hz, 2H), 7,66 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,39 - 7,31 (m, 4H), 7,11 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,48 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,30-3,22 (m, 3H), 3,06 (dd, $J = 13,8$, 8,9 Hz, 1H), 2,83 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,57 (t, $J = 7,9$ Hz, 2H), 2,32 (dd, $J = 10,5$, 7,6 Hz, 2H), 2,23 (s, 6H), 1,86-1,74 (m, 4H), 1,73-1,64 (m, 2H), 1,32 (s, 9H).

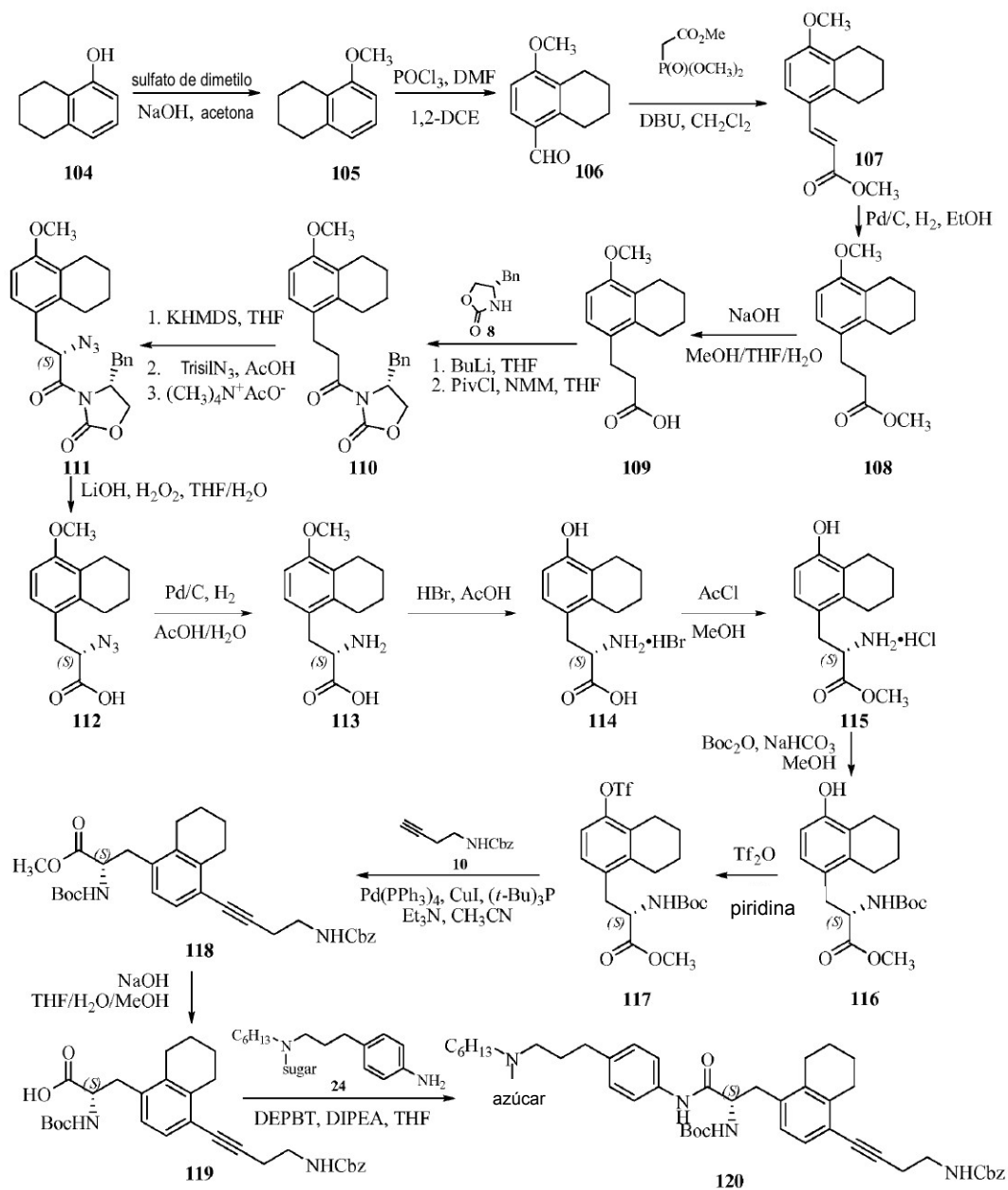
20 Preparación de la sal de HCl de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(6-(2-amino-3-(4-(3-(dimetilamino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-2-il)butil)carbamidooil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (103)

Se añadió TFA (10 ml) a 47 (545 mg, 0,71 mmol) en CH_2Cl_2 (15 ml) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h. El disolvente se retiró de nuevo, se añadió HCl 1 N y el disolvente se retiró, se purificó mediante una columna en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 48 (206 mg, 50%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 11,02 (brs, 1H), 10,81-10,58 (m, 1H), 10,53 (s, 1H), 9,32 (s, 1H), 9,04-8,72 (m, 2H), 8,50 (brs, 3H), 7,82-7,73 (m, 3H), 7,68 (s, 1H), 7,53 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,48 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,45-7,35 (m, 3H), 7,18 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,45-4,35 (m, 1H), 3,74-3,45 (m, 1H), 3,27 (dd, $J = 14,7$, 8,3 Hz, 1H), 3,03-2,93 (m, 2H), 2,78 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,70 (s, 6H), 2,58 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,02-1,88 (m, 2H), 1,79-1,66 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 2H).

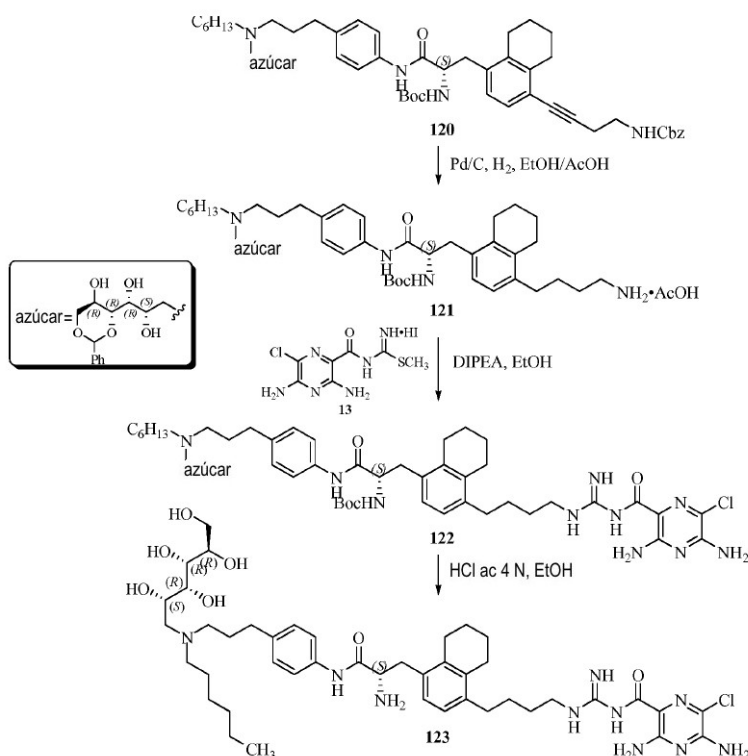
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) 7,80 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 7,78-7,73 (m, 2H), 7,67 (s, 1H), 7,47-7,38 (m, 4H), 7,20 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,33 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,46 (dd, $J = 13,6$, 6,6 Hz, 1H), 3,37 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,36-3,26 (m, 3H), 2,87-2,83 (m, 2H), 2,87 (s, 6H), 2,68 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,07-1,97 (m, 2H), 1,89-1,80 (m, 2H), 1,80-1,71 (m, 2H).

16. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (123)

Esquema 17



Esquema 17 (continuación)



Preparación del Compuesto 105;

- Una solución de 104 (100 g, 0,675 mmol) en THF seco (800 ml) se cargó con NaOH (32,0 mg, 0,809 mmol) y sulfato de dimetilo (102 g, 0,809 mmol) gota a gota a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. El THF se retiró bajo presión reducida y la mezcla se repartió entre CH₂Cl₂ (1,0 l) y agua (1,0 l). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 1,0 L). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 100% CH₂Cl₂) para suministrar el compuesto 105 (108,0 g, 90%) como un líquido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,06 (t, J = 7,85 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 7,25, 1H), 6,64 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,74 (t, J = 2,75 Hz, 2H), 2,65 (t, J = 2,65 Hz, 2H), 1,81-1,71 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 106;

- Una solución de DMF seca (71,45 ml, 0,923 mmol) se cargó con POCl₃ (57,40 ml, 0,616 mmol) gota a gota bajo atmósfera de nitrógeno a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0°C. Una solución de 105 (50,0 g, 0,308 mmol) en 1,2-diclorometano seco (500 ml) se añadió a la mezcla de reacción gota a gota bajo atmósfera de nitrógeno a 0°C. Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 6 h. La mezcla de reacción se desactivó con H₂O fría y se repartió entre CH₂Cl₂ (1,0 L) y agua (1,0 L). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 1,0 L). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 5% de EA/Hexano) para suministrar el compuesto 106 (35,0 g, 61%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,10 (s, 1H), 7,65 (d, J = 7,81, 1H), 6,78 (d, J = 7,47 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,18 (t, J = 5,80 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 4,64 Hz, 2H), 1,82-1,73 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 107;

- Una solución de fosfonoacetato de trimetilo (55,0 ml, 0,378 mmol) en 100 ml de CH₂Cl₂ anhidro enfriado hasta 0°C se cargó con DBU (58,0 g, 0,380 mmol) y la mezcla se agitó durante 15 min. Se añadió gota a gota el aldehído 106 (16,0 g, 0,084 mmol) en 50 ml de CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se llevó hasta temperatura ambiente, se agitó durante 16 h y se desactivó con 100 ml de agua. La mezcla se repartió y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 150 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se

concentraron y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (10:1 hexanos/acetato de etilo) para dar el éster α,β -insaturado *cis* y *trans* 107 (15,0 g, 72%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,83 (d, J = 14,7 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,35 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,70 (s, 3H), 2,76 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,55 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 1,80-1,60 (m, 4H).

5 Preparación del Compuesto 108

Una suspensión de 107 (33,0 g, 0,134 mmol) y Pd al 10%/C (15 g, 0,127) en EtOH (300 ml) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar 108 (28,0 g, 90%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,65 (d, J = 7,62, 1H), 6,78 (d, J = 7,96 Hz, 1H), 4,06-4,11 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,86 (t, J = 7,79 Hz, 2H), 2,69-2,64 (m, 4H), 2,57-2,51 (m, 2H), 1,79-1,74 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 109;

Una solución del éster metílico 108 (28,0 g, 0,106 mmol) en THF/MeOH/ H_2O (200 ml/200 ml/60 ml) se cargó con NaOH (25,0 g, 0,625 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se retiró y el pH se ajustó hasta 1 con HCl acuoso 1 N; un sólido blanco precipitó y se filtró, se lavó con agua y se secó bajo vacío para suministrar el ácido 109 (25,5 g, 92%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,96 (d, J = 7,29, 1H), 6,63 (d, J = 6,86 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,88 (t, J = 7,29 Hz, 2H), 2,69-2,66 (m, 4H), 2,63-2,59 (m, 2H), 1,80-1,73 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 110

Una solución de 60 (13,70 g, 77,31 mmol) en THF seco (200 ml) se cargó con *n*-butil-litio (45,07 ml, 90,08 mmol, solución 2 M en ciclohexano) gota a gota a -78°C y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h para dar una solución de la sal de litio 61. Otra solución de 109 (15,0 g, 64,37 mmol) en THF seco (200 ml) se cargó con NMM (9,30 ml, 83,64 mmol) y PivCl (10,30 ml, 83,64 mmol) gota a gota a -78°C . La mezcla de reacción se agitó durante 30 min y se calentó hasta -20°C durante 1 h y la solución preparada de sal de litio se añadió lentamente a -78°C . La mezcla de reacción se agitó durante otros 10 min, se llevó hasta 0°C y se agitó durante 1 h, se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 30 min, se desactivó con NH_4Cl saturado, se concentró para retirar el THF y se repartió entre CH_2Cl_2 (300 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (150 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH_2Cl_2) para suministrar el compuesto 110 (15,0 g, 60%) como un sólido blanco.

Preparación del Compuesto 111;

Una solución de 110 (15,0 g, 38,14 mmol) en THF seco (250 ml) se cargó con KHMDS (13,70 g, 68,67 mmol) en porciones a -78°C . Después de que la mezcla resultante se agitara durante 30 min, se añadió trisilazida (19,0 g, 61,40 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 min. Se añadieron lentamente a la misma temperatura ácido acético (15,0 ml, 228 mmol) y acetato de tetrametilamonio (30,9 g, 76,28 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta 24°C , se agitó durante 16 h, se desactivó con NaHCO_3 saturado (100 ml), se concentró para retirar el THF y se extrajo con CH_2Cl_2 (300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/EtOAc 90:10 seguido por DCM) para suministrar el compuesto 111 (8,80 g, 54%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,36-7,30 (m, 3H), 7,23 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,01 (d, J = 7,79 Hz, 1H), 6,60 (d, J = 7,59 Hz, 2H), 5,35 (t, J = 7,99, 2H), 4,89 (s, 1H), 4,58-4,51 (m, 1H), 4,13-4,10 (m, 3H), 3,93 (t, J = 7,54, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,33-3,27 (m, 3H), 2,71 (m, 2H), 2,63 (m, 2 H), 1,78-1,75 (m, 5H), 1,58 (m, 2H).

Preparación del Compuesto 112;

Una solución de 111 (31,0 g, 72,1 mmol) en THF/ H_2O (300 ml/100 ml) se cargó con H_2O_2 (49 ml, 433 mmol) seguido por LiOH (6,04 g, 144 mmol) en porciones a 0°C . La mezcla de reacción se agitó durante 10 min a 0°C y a temperatura ambiente durante 1 h, se desactivó con Na_2SO_3 saturado (200 ml), se concentró bajo presión reducida para retirar el THF y se lavó con CH_2Cl_2 (500 ml). La capa acuosa se acidificó con HCl acuoso 1 N y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron y se lavaron con MTBE para suministrar el compuesto 112 (15,0 g, 82%) como un sólido blancuzco: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,92 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 2,81 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,67 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,61 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,49-2,47 (m, 2H), 1,84-1,70 (m, 6H).

Preparación del Compuesto 113;

Una suspensión de 112 (15,0 g, 55,1 mmol) y Pd al 10%/C (3,50 g) en AcOH/H₂O (300 ml/100 ml) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con AcOH/H₂O seguido por MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal acética 113 (14,0 g, 83%) como un sólido amarillo.

Preparación del Compuesto 114;

Una solución de 113 (11,0 g, 44,1 mmol) en ácido acético (120 ml) se cargó con ácido bromhídrico (120 ml) gota a gota a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró. El residuo pardo 114 en bruto (8,90 g, 80%) se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,80 (d, *J* = 7,85, 1H), 6,57 (d, *J* = 7,21 Hz, 1H), 3,92-3,91 (m, 1H), 3,04-2,98 (m, 1H), 2,91-2,86 (m, 1H), 2,61 (m, 2H), 2,54-2,53 (m, 2H), 1,69-1,68 (m, 5H).

Preparación del Compuesto 115;

Se añadió cloruro de acetilo (17,0 ml, 243 mmol) a metanol seco (300 ml) a 0°C y se añadió 114 (8,90 g, 28,2 mmol). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 4 h y se concentró. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (200 ml) y NaHCO₃ saturado (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para suministrar el compuesto 115 (7,30 g, 90%) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,81 (d, *J* = 7,51, 1H), 6,59 (d, *J* = 7,21 Hz, 1H), 4,12-4,11 (m, 1H), 3,75 (s, 1H), 3,31-3,30 (m, 2H), 2,70-2,67 (m, 2H), 2,63 (t, *J* = 6,16 Hz, 2H).

Preparación del Compuesto 116;

Una solución de 115 (7,30 g, 25,60 mmol) en MeOH/H₂O (100 ml/60 ml) se cargó con NaHCO₃ (12,0 g, 145 mmol) y Boc₂O (10,0 g, 45,8 mmol) a 0°C. La mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. La cromatografía en columna de desarrollo rápido usando 20% de acetato de etilo/hexanos seguido por CH₂Cl₂ daba el compuesto 116 (7,1 g, 81%) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,77 (d, *J* = 7,36, 1H), 6,55 (d, *J* = 7,86 Hz, 1H), 4,96-4,94 (m, 1H), 4,71 (s, 1H), 4,96-4,94 (m, 1H), 4,71 (s, 1H), 4,50-4,48 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,07-3,01 (m, 1H), 2,89-2,84 (m, 1H), 2,86 (m, 2H), 2,63 (m, 2H), 1,80-1,78 (m, 4H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 117;

Una solución de 116 (7,0 g, 20,05 mmol) en CH₂Cl₂ (80 ml) se cargó con piridina (100 ml) y triflato (4,64 ml, 24,0 mmol) a 0°C, se agitó durante 1 h y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la concentración, la mezcla de reacción se repartió entre CH₂Cl₂ (150 ml) y agua (70 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para suministrar el compuesto 117 (8,00 g, 83%) como un aceite pardo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,81 (d, *J* = 4,63 Hz, 5H), 8,56-8,51 (m, 2H), 8,02-7,99 (m, 4H), 7,11 (d, *J* = 7,98 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,98, 1H), 4,39-4,35 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,19-3,14 (dd, 1H), 2,90-2,77 (m, 5H), 1,86-1,81 (m, 4H), 1,35 (s, 9H), 1,32-1,28 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 118;

El Compuesto 117 (8,0 g, 16,6 mmol) y but-3-ynilcarbamato de bencilo (10, 5,00 g, 24,9 mmol) en CH₃CN anhidro (100 ml) se desgasificaron con argón durante 10 min a temperatura ambiente y se cargaron con TEA (9,34 ml, 66,50 mmol), 10% de (*t*-Bu)₃P en hexanos (7,0 ml, 3,32 mmol) y CuI (0,16 g, 0,84 mmol). La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 min y se añadió Pd (PPh₃)₄ (2,00 g, 1,73 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 75:25 hexanos/acetato de etilo) para suministrar el compuesto 118 (4,50 g, 52%) como un sólido pardo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,36-7,34 (m, 4H), 7,33-7,29 (m, 2H), 7,16 (d, *J* = 7,63 Hz, 1H), 6,82 (d, *J* = 7,02 Hz, 1H), 5,12-5,08 (m, 2H), 4,95 (d, *J* = 7,88 Hz, 1H), 4,52-4,51 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,48-3,34 (m, 2H), 3,10-3,05 (dd, 1H), 2,84-2,83 (m, 2H), 2,68-2,65 (m, 4H), 1,81-1,76 (m, 4H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 119;

Una solución del éster metílico 118 (4,50 g, 8,42 mmol) en THF/MeOH/H₂O (30 ml/30 ml/10 ml) se cargó con NaOH (3,60 g, 90 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El valor del pH se ajustó hasta 9 con HCl acuoso 1 N y el disolvente orgánico se retiró. El valor del pH del residuo se ajustó hasta 5-6 y la suspensión se repartió entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para suministrar el compuesto 119 (3,66 g, 85%) como un sólido pardo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,28-7,24 (m, 5H), 7,05-7,03 (d, J = 7,67 Hz, 1H), 6,89-6,87 (d, J = 7,55 Hz, 1H), 5,04 (brs, J = 7,02 Hz, 1H), 5,12-5,08 (m, 2H), 4,95 (d, J = 7,88 Hz, 1H), 4,52-4,51 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,48-3,34 (m, 2H), 4,27-4,26 (m, 1H), 3,38-3,30 (m, 2H), 3,15-3,10 (m, 1H), 2,78-2,71 (m, 4H), 2,59 (d, J = 5,95, 2H), 1,73-1,71 (m, 4H), 1,31 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 120;

El Compuesto 119 (800 mg, 1,53 mmol) en THF (30 ml) se cargó con DEPBT (845 mg, 2,56 mmol), 24 (700 mg, 2,33 mmol) y DIPEA (1,0 ml, 4,65 mmol) sucesivamente u se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (50 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (6% de metanol/CH₂Cl₂), dando la amida 120 (1,0 g) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,46-7,44 (m, 3H), 7,36-7,30 (m, 7H), 7,17 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,07 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,99-6,92 (m, 1H), 5,49 (s, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,35-4,31 (m, 1H), 4,05-3,90 (m, 2H), 3,80-3,82 (m, 1H), 3,75-3,72 (m, 1H), 3,62 (t, J = 9,9 Hz, 1H), 3,43 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 3,18-3,16 (m, 1H), 3,01-3,08 (m, 1H), 2,83-2,82 (m, 2H), 2,68-2,48 (m, 8H), 1,86-1,78 (m, 3H), 1,71-1,62 (m, 10H), 1,44 (s, 9H), 0,87 (t, J = 6,3 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 121;

Una suspensión de 120 (1,00 g, 1,01 mmol) y Pd al 10%/C (600 mg) en una mezcla de EtOH (50 ml) y AcOH (2 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 121 como un sólido blanco (700 mg, 80%): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,49-7,41 (m, 2H), 7,34-7,30 (m, 5H), 7,12-6,78 (m, 5H), 4,30-4,27 (m, 2H), 4,19-4,18 (m, 1H), 3,98-3,91 (m, 2H), 3,78-3,58 (m, 2H), 3,19-3,08 (m, 3H), 3,02-2,89 (m, 6H), 2,75-2,73 (m, 2H), 2,65-2,62 (m, 3H), 2,55-2,52 (m, 3H), 1,98-1,92 (m, 2H), 1,73-1,68 (m, 3H), 1,60-1,52 (m, 7H), 1,41 (s, 9H), 1,29-1,20 (m, 7H), 0,88-0,84 (m, 3H), 0,87 (t, J = 6,4 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 122;

Una solución de la sal de amina 121 (700 mg, 0,81 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (13, 680 mg, 1,75 mmol) en EtOH (20 ml) se cargó con DIPEA (1,60 ml, 9,26 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 122 (380 g, 48%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,43-7,39 (m, 3H), 7,33-7,31 (m, 3H), 7,05 (d, J = 6,69 Hz, 2H), 6,99-6,95 (m, 2H), 6,86 (d, J = 7,59 Hz, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,33-4,31 (m, 1H), 4,14-4,10 (m, 1H), 3,79-3,72 (m, 4H), 3,68-3,65 (m, 2H), 2,69-2,66 (m, 6H), 2,56-2,53 (m, 3H), 2,45-2,36 (m, 7H), 1,70 (m, 4H), 1,56 (m, 6H), 1,32 (s, 9H), 0,86 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

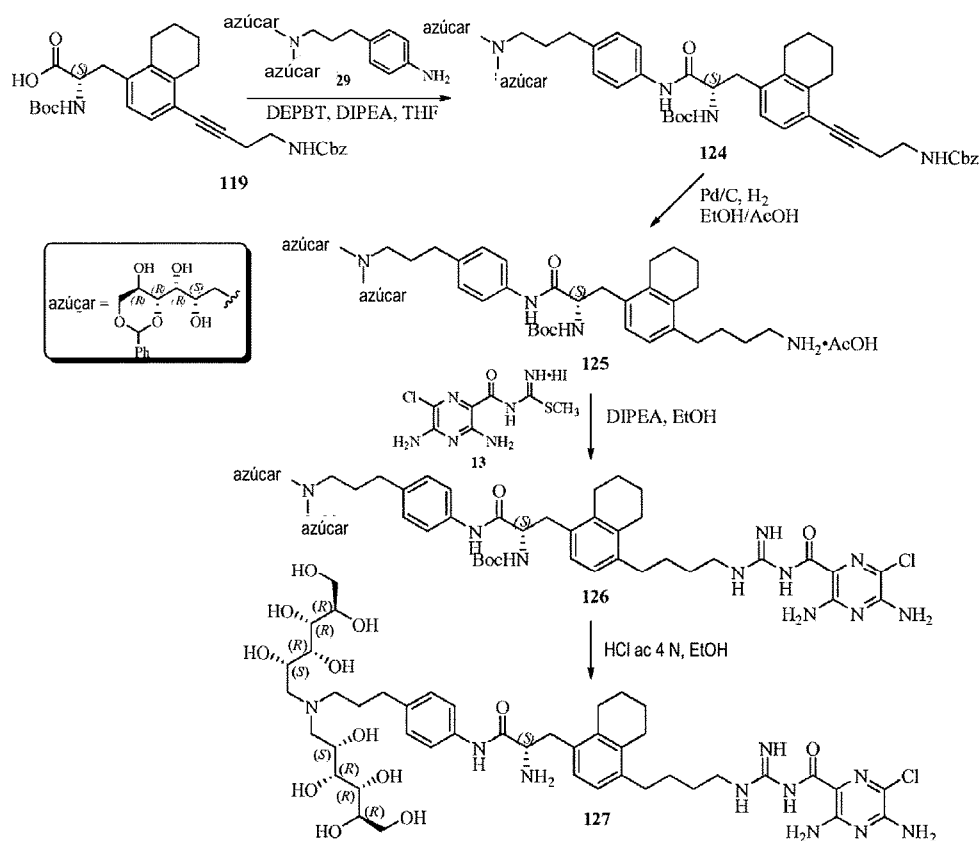
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(hexil((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butil)carbamidato)-6-cloropiracino-2-carboxamida (Compuesto 123);

Se añadió HCl 4 N en dioxano (15 ml) a 122 (350 g, 0,35 mmol) en EtOH (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para dar 110 mg (45%) del compuesto 123 como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10,16 (s, 1H), 9,16 (brs, 1H), 8,51-8,34 (brs, 2H), 7,41 (t, J = 8,1 Hz, 4H), 7,20 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,95-6,89 (q, 2H), 5,42 (brs, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,53 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 4,42 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,50-3,38 (m, 4H), 3,08-3,03 (m, 6H), 2,72 (brs, 2H), 2,66-2,65 (m, 2H), 2,57 (m, 2H), 1,91-1,90 (m, 2H), 1,72-1,69 (m, 4H), 1,61-1,54 (m, 6H), 1,26 (s, 6H), 0,86 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,04-6,98 (q, 2H), 6,92 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 4,06-4,02 (m, 2H), 3,78-3,69 (m, 3H), 3,62-3,54 (m, 2H), 3,25 (t, J = 5,3 Hz, 1H), 3,19-3,14 (m, 3H), 3,10-3,04 (m, 4H), 2,66-2,54 (m, 7H), 1,90-1,86 (m, 2H), 1,65-1,58 (m, 5H), 1,50-1,40 (m, 4H), 1,19-1,18 (m, 6H), 0,78 (t, J = 6,62).

17. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (127)

Esquema 18



5

Preparación del Compuesto 124;

El compuesto 119 (1,0 g, 1,92 mmol) en THF (30 ml) se cargó con DEPBT (845 mg, 2,82 mmol), 29 (1,25 g, 1,91 mmol) y DIPEA (1,0 ml, 5,73 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (50 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (5% metanol/CH₂Cl₂), dando la amida 124 [900 mg (mezcla)] como un sólido amarillo.

10

Preparación del Compuesto 125;

Una suspensión de 124 [900 mg (mezcla), 0,77 mmol] y Pd al 10%/C (600 mg) en una mezcla de EtOH (50 ml) y AcOH (1,5 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar 125 en bruto (800 mg) como un aceite incoloro.

15

Preparación del Compuesto 126;

Una solución de 125 en bruto (800 mg) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidato de metilo (13, 400 mg, 1,02 mmol) en EtOH (40 ml) se cargó con DIPEA (1,10 ml, 6,38 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 126 (285 mg, 12% a lo largo de 3 etapas) como un sólido

20

amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,44-7,42 (m, 4H), 7,30-7,28 (m, 6H), 7,22 (d, $J = 7,27$ Hz, 2H), 6,96 (d, $J = 7,11$ Hz, 2H), 6,91 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 6,86 (d, $J = 7,61$ Hz, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,33 (m, 1H), 4,23-4,19 (m, 2H), 3,97-3,91 (m, 4H), 3,84-3,82 (m, 2H), 3,71 (d, $J = 2,29$ Hz, 1H), 3,69 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 3,58 (t, $J = 10,08$ Hz, 2H), 3,06-3,00 (m, 1H), 2,91-2,86 (m, 1H), 2,76 (m, 2H), 2,71-2,68 (m, 4H), 2,61-2,55 (m, 4H), 2,44-2,35 (m, 4H), 1,74-1,60 (m, 10H), 1,38 (s, 9H).

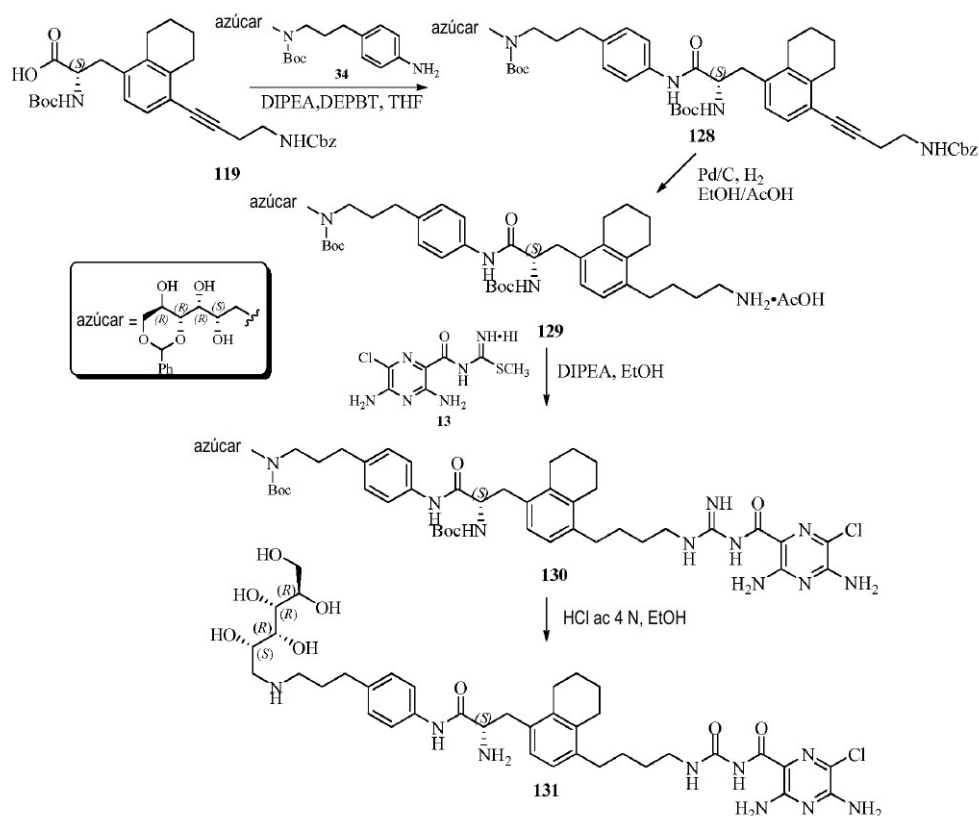
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butil)carbamidiloil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (Compuesto 127)

Se añadió HCl 4 N en dioxano (10 ml) a 126 (1,15 g, 0,23 mmol) en EtOH (3,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para dar 62 mg (32%) del compuesto 127: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,39 (brs, 1H), 10,03 (brs, 1H), 8,91-8,82 (brs, 2H), 8,48 (brs, 2H), 7,42 (d, $J = 7,6$ Hz, 4H), 7,18 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 6,96 (d, $J = 7,1$, 1H), 6,89 (d, $J = 7,4$, 1H), 5,44 (d, $J = 10,8$, 2H), 4,81 (br, 2H), 4,59 (d, $J = 4,2$, 2H), 4,55 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H), 4,42 (t, $J = 4,4$, 2H), 4,11 (br, 1H), 4,00 (brs, 2H), 3,69-3,65 (m, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,47 (m, 4H), 3,43-3,39 (m, 4H), 3,25-3,22 (m, 4H), 3,04 (d, $J = 6,3$, 2H), 2,73 (m, 2H), 2,64 (m, 2H), 2,58-2,56 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 1,97 (m, 2H), 1,70-1,67 (m, 4H), 1,61-1,59 (m, 2H), 1,54-1,52 (m, 2H), 1,70-1,67 (m, 4H), 1,61-1,59 (m, 2H), 1,54-1,52 (m, 2H).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ 7,10 (d, $J = 8,30$ Hz, 2H), 7,02-6,90 (m, 2H), 6,91 (d, $J = 7,42$ Hz, 2H), 4,07-3,92 (m, 5H), 3,77-3,70 (m, 8H), 3,62-3,55 (m, 5H), 4,07-3,95 (m, 5H), 3,74-3,56 (m, 8H), 3,60-3,55 (m, 5H), 3,30 (d, $J = 8,2$ Hz, 5H), 3,20-3,16 (m, 7H), 2,60-2,51 (m, 10H), 1,97-1,95 (m, 3H), 1,61-1,59 (m, 7H), 1,49-1,45 (m, 2H).

18. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)propil)fenilamino)propil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butilcarbamoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (131)

Esquema 19



Preparación del Compuesto 128;

El compuesto 119 (1,00 g, 1,92 mmol) en THF (30 ml) se cargó con DEPBT (862 mg, 2,88 mmol), 34 (1,50 g, 2,98 mmol) y DIPEA (1,0 ml, 5,76 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (50 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (30 ml) y salmuera (20 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (6% metanol/ CH_2Cl_2), dando la amida 128 (780 mg, 42%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,49 (m, 3H), 7,31-7,29 (m, 10H), 7,00-7,08 (m, 3H), 6,94 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 5,54 (m, 1H), 5,50-5,49 (m, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,36 (m, 1H), 4,26-4,22 (m, 2H), 4,05 (m, 2H), 3,95-3,91 (m, 1H), 3,80 (m, 2H), 3,64-3,59 (m, 1H), 3,52-3,48 (m, 1H), 3,14-3,06 (m, 1H), 2,94-2,89 (m, 1H), 2,79 (d, $J = 16,12$ Hz, 4H), 2,63 (t, $J = 5,98$ Hz, 1H), 2,51 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 1,82-1,75 (m, 7H), 1,41 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 129;

Una suspensión de 128 (780 mg, 0,776 mmol) y Pd al 10%/C (300 mg) en una mezcla de EtOH (30 ml) y AcOH (1,0 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío para suministrar la sal de amina 129 (720 mg, 85%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,49-7,46 (m, 2H), 7,32-7,30 (m, 5H), 7,08-7,06 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 5,53 (s, 1H), 4,34-4,33 (m, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 4,03-4,02 (m, 1H), 3,96-3,89 (m, 1H), 3,78-3,76 (m, 1H), 3,71-3,69 (m, 1H), 3,60 (t, $J = 9,9$ Hz, 1H), 3,48-3,46 (m, 1H), 3,09-3,04 (m, 1H), 2,89 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 2,79 (m, 2H), 2,69 (m, 2H), 2,58 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H), 2,51 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,84-1,77 (m, 6H), 1,67-1,66 (m, 2H), 1,61-1,57 (m, 2H), 1,41 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 130;

Una solución de la sal de amina 129 (720 mg, 0,77 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (13, 456 mg, 1,17 mmol) en EtOH (20 ml) se cargó con DIPEA (1,12 ml, 6,24 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar la guanidina 130 (380 mg, 45%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,48-7,46 (m, 2H), 7,30 (t, $J = 2,70$ Hz, 5H), 7,08-7,06 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 6,93 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 5,53 (s, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,96-3,90 (m, 1H), 3,79 (m, 2H), 3,60 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 3,50-3,46 (m, 1H), 3,25 (t, $J = 5,9$ Hz, 3H), 3,07-3,02 (m, 1H), 2,92-2,87 (m, 1H), 2,77 (m, 2H), 2,69-2,67 (m, 2H), 2,58 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,48 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,82-1,74 (m, 6H), 1,67-1,64 (m, 5H), 1,40 (s, 18H).

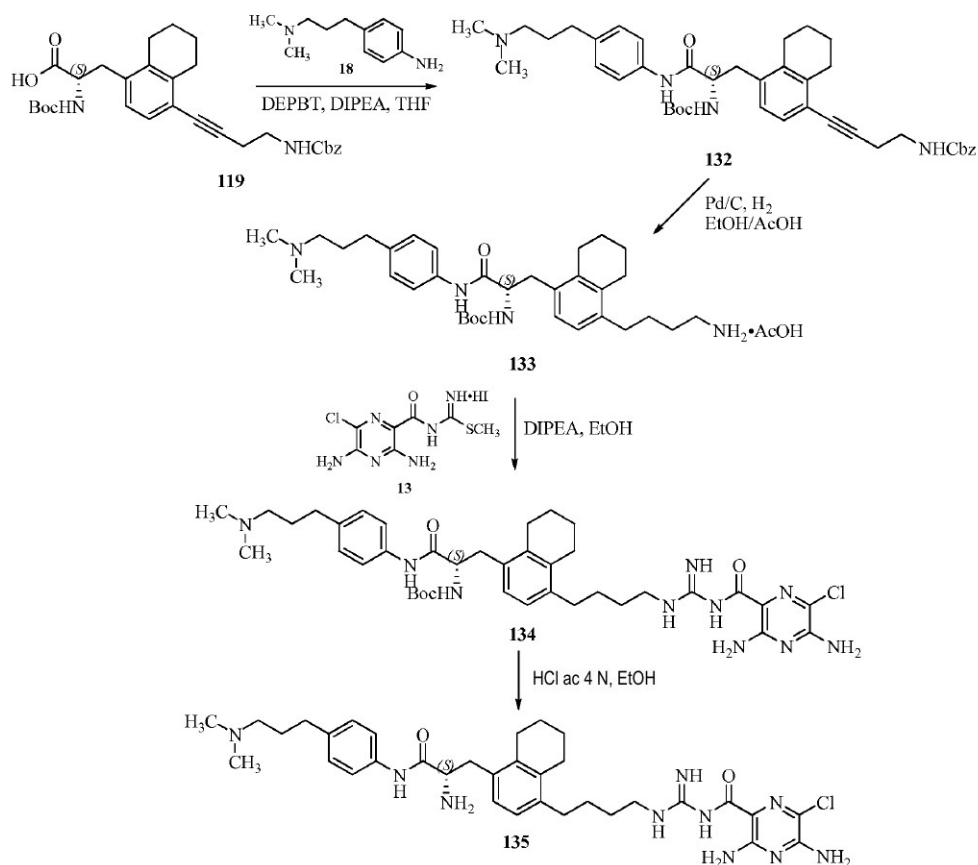
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(4-(4-((S)-2-amino-3-oxo-3-(4-(3-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)propil)fenilamino)propil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butilcarbamoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (131);

Se añadió HCl 4 N en dioxano (25 ml) a 130 (350 mg, 0,35 mmol) en EtOH (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold) y el residuo se liofilizó para dar el compuesto 131 (125 mg, 48%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,35 (d, $J = 7,6$, 2H), 7,18 (d, $J = 7,3$, 2H), 6,99-6,98 (m, 2H), 4,07-4,03 (m, 2H), 3,83 (d, $J = 1,30$, 1H), 3,82 (d, $J = 1,40$ Hz, 1H), 3,78-3,75 (m, 1H), 3,68-3,66 (m, 3H), 3,36 (t, $J = 6,3$, 2H), 3,18-3,15 (m, 4H), 3,04-3,00 (m, 2H), 2,76 (t, $J = 5,3$ Hz, 2H), 2,69-2,61 (m, 5H), 2,00-1,97 (m, 2H), 1,77-1,73 (m, 5H), 1,69-1,65 (m, 3H).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ 10,46 (s, 1H), 9,31 (br, 1H), 8,55 (br, 4H), 7,45 (d, $J = 6,6$, 4H), 7,20 (d, $J = 7,62$ Hz, 2H), 7,00 (d, $J = 6,6$, 1H), 6,93 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 5,43 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 4,79 (d, $J = 5,38$ Hz, 1H), 4,64-4,63 (m, 2H), 4,46 (t, $J = 4,9$ Hz, 1H), 4,15 (t, $J = 4,6$ Hz, 1H), 3,96-3,94 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,64-3,61 (m, 1H), 3,51-3,45 (m, 3H), 2,96-2,92 (m, 3H), 2,78-2,77 (m, 2H), 2,68-2,65 (m, 2H), 2,62 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,95-1,94 (m, 2H), 1,76-1,15 (m, 8H).

19. Preparación de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(3-(dimetilamino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-1-il)butil)carbamidimidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida (135)

Esquema 20



5 Preparación del Compuesto 132;

El compuesto 119 (700 mg, 1,34 mmol) en THF (30 ml) se cargó con DEPBT (600 mg, 2,00 mmol), 18 (360 mg, 1,51 mmol) y DIPEA (0,80 ml, 4,03 mmol) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de que el disolvente se retirara bajo presión reducida, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (50 ml), se lavó rápidamente con agua acuosa saturada (50 ml) y salmuera (50 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El disolvente se evaporó y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (6% de metanol/ CH_2Cl_2), dando la amida 132 [800 mg (mixture)] como un producto sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,13 (d, $J = 7,54$ Hz, 1H), 8,03 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,89-7,85 (m, 1H), 7,71 (t, $J = 7,52$ Hz, 1H), 7,64-7,59 (m, 2H), 7,44 (d, $J = 7,7$ Hz, 2H), 7,33-7,30 (m, 6H), 7,12-7,06 (m, 3H), 7,0 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 2,70 (m, 4H), 2,63-2,61 (m, 5H), 2,45 (m, 5H), 1,83 (s, 6H), 1,69-1,65 (m, 3H), 1,33 (s, 9H).

15 Preparación del Compuesto 133;

Una suspensión de 132 [800 mg (mezcla), 1,01 mmol] y Pd al 10%/C (350 mg) en una mezcla de EtOH (30 ml) y AcOH (1 ml) se desgasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío y se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar el compuesto 233 (500 mg, 67% a lo largo de 2 etapas) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,31 (d, $J = 7,54$ Hz, 2H), 7,12 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 6,93 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,08-3,03 (m, 1H), 2,91-2,86 (m, 1H), 2,77-2,76 (m, 4H), 2,69 (m, 2H), 2,60-2,55 (m, 4H), 2,35-2,31 (m, 2H), 1,82 (s, 6H), 1,58-1,57 (m, 4H), 1,40 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 134;

Una solución de la sal de amina 133 (500 mg, 0,90 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamiditoato de metilo (13, 530 mg, 1,36 mmol) en EtOH (20 ml) se cargó con DIPEA (1,30 ml, 7,25 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH) para suministrar la guanidina 134 (285 mg, 42%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,29 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,10 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,94-6,87 (m, 2H), 4,33 (m, 1H), 3,27-3,24 (m, 2H), 3,07-3,00 (m, 1H), 2,92-2,87 (m, 1H), 2,76 (m, 2H), 2,70 (m, 2H), 2,61-2,54 (m, 4H), 2,35-2,31 (m, 2H), 2,22 (s, 6H), 1,80-1,72 (m, 5H), 1,69-1,62 (m, 4H), 1,39 (s, 9 H).

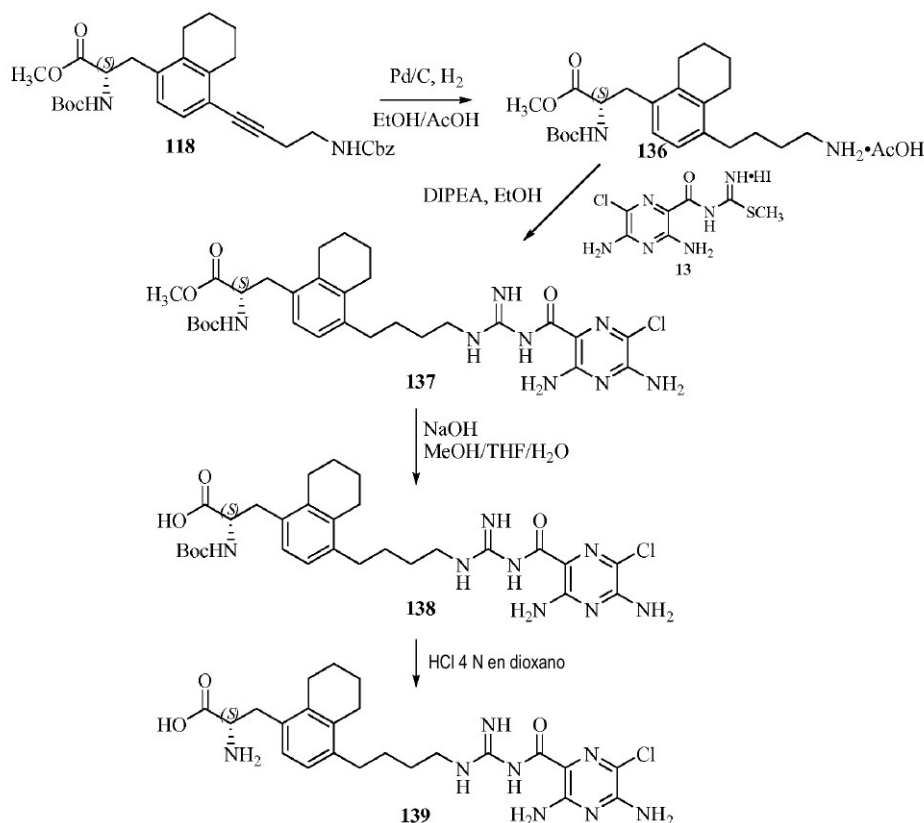
Preparación de la sal de HCl de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-amino-3-(4-(3-(dimetilamino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)butil)carbamididoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida Compuesto 135;

Se añadió HCl 4 N en dioxano (10 ml) a 134 (380 g, 0,35 mmol) en EtOH (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold C18) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 135 (125 mg, 49%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,69 (brs, 1H), 10,54-10,50 (d, *J* = 16,7 Hz, 2H), 9,32 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 8,96 (brs, 1H), 8,86 (brs, 1H), 8,58 (brs, 3H), 7,42 (d, *J* = 8,0 Hz, 4H), 7,18 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 6,88 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,15 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H), 3,36-3,32 (m, 2H), 3,09-3,06 (m, 2H), 3,00-2,95 (m, 2H), 2,74-2,73 (m, 1H), 2,22 (s, 6H), 2,64 (m, 2H), 2,57-2,56 (m, 2H), 1,94-1,90 (m, 2H), 1,70-1,67 (m, 3H), 1,62-1,58 (m, 2H), 1,54-1,52 (m, 2H).

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,08 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,00-6,97 (q, 2H), 6,91 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 4,12-4,08 (q, 1H), 3,25 (t, *J* = 5,2 Hz, 3H), 3,21-3,17 (m, 1H), 3,10 (t, *J* = 9,8 Hz, 1H), 3,0-2,96 (m, 2H), 2,77 (s, 6H), 2,60-2,58 (m, 5H), 2,50-2,50 (m, 4H), 1,91-1,87 (m, 2H), 1,60-1,58 (m, 6H), 1,45-1,43 (m, 2H).

20. Preparación de ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)propanoico (139)

Esquema 21



Preparación del Compuesto 136;

Una suspensión de 118 (800 mg, 1,49 mmol) y Pd al 10%/C (350 mg) en una mezcla de EtOH (50 ml) y AcOH (1,0 ml) se degasificó y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un taco de Celite y el taco se lavó con MeOH. El filtrado se concentró bajo vacío y se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 136 (700 mg, 93%) como un sólido amarillo.

Preparación del Compuesto 137;

Una solución de la sal de amina 136 (700 mg, 1,50 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamidato de metilo (13, 880 mg, 2,26 mmol) en EtOH (30 ml) se cargó con DIPEA (2,15 ml, 12,03 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar la guanidina 137 (560 mg, 60%) como un sólido amarillo: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD); δ 6,95-6,85 (m, 2H), 4,32-4,28 (m, 1H), 3,72-3,67 (m, 2H), 3,34 (m, 3H), 3,22-3,16 (m, 2H), 3,08-3,03 (m, 1H), 2,73 (m, 4H), 2,62 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 1,81-1,78 (m, 4H), 1,74-1,72 (m, 2H), 1,68-1,60 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 1,34 (s, 5H).

Preparación del Compuesto 138;

Una solución del éster metílico 137 (560 mg, 0,907 mmol) en THF/MeOH/H₂O (30 ml/30 ml/10 ml) se cargó con NaOH (3,60 g, 7,25 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El valor del pH se ajustó hasta 9 con HCl acuoso 1 N y el disolvente orgánico se retiró. El valor del pH del residuo se ajustó hasta 5-6 y la suspensión se sometió a reparto entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para suministrar el compuesto 138 (420 mg, 78%) como un sólido pardo: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆); δ 6,93 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 7,35 Hz, 1H), 6,70 (s, 3H), 3,93 (m, 1H), 3,16 (m, 5H), 2,98-2,94 (m, 1H), 2,74-2,64 (m, 6H), 1,70 (m, 5H), 1,55 (m, 5H), 1,31 (s, 9H), 1,16-1,06 (m, 2H).

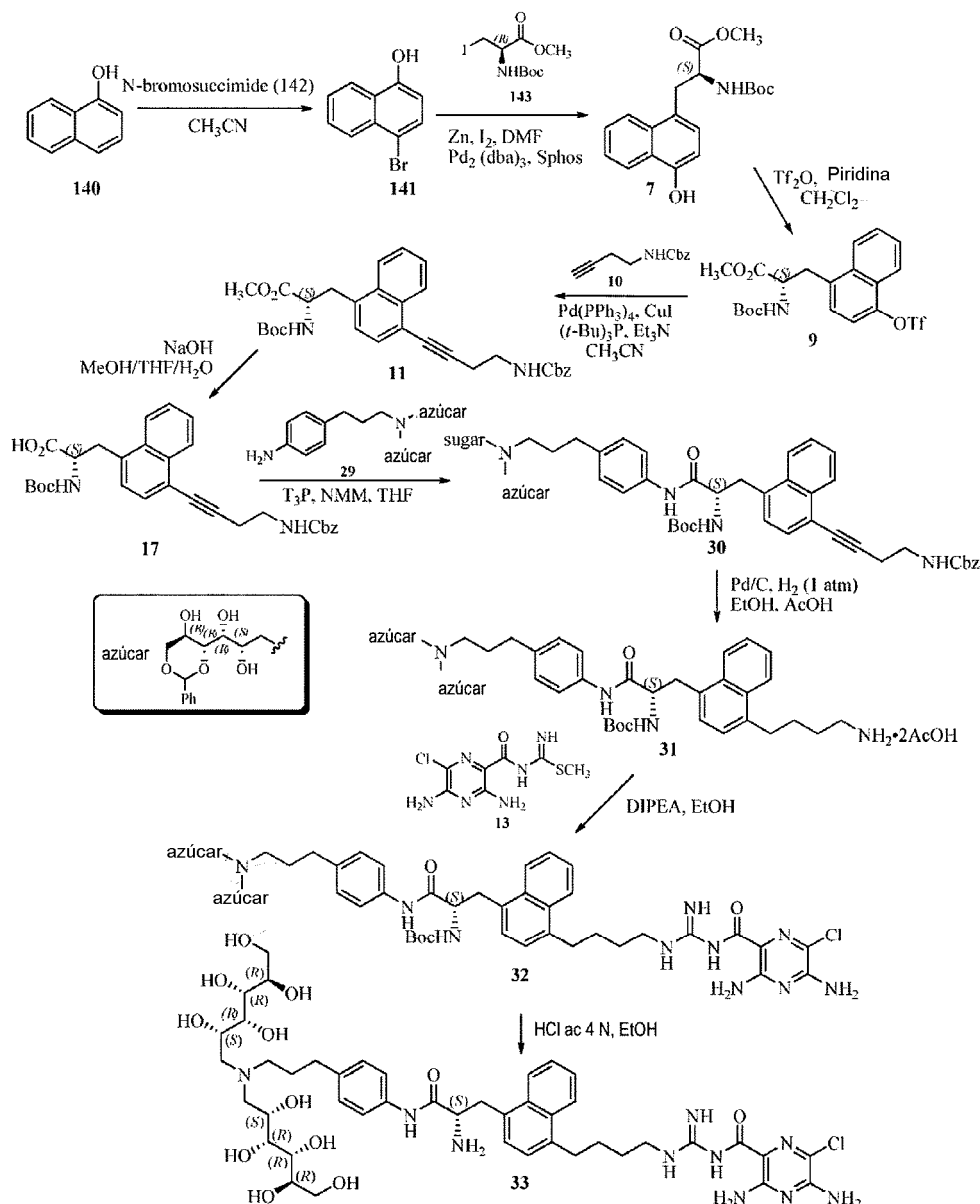
Preparación de la sal de HCl de ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)propanoico Compuesto 139;

Se añadió HCl 4 N en dioxano (10 ml) a 138 (420 mg, 0,69 mmol) en EtOH (5,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, la mezcla se purificó mediante cromatografía en fase inversa (columna Gold C18) y el residuo se liofilizó para suministrar el compuesto 139 como un sólido amarillo (200 mg, 49%): ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆); δ 10,56 (brs, 1H), 9,36 (t, J = 4,7 Hz, 1H), 8,9-8,8 (brs, 2H), 6,98-6,93 (m, 2H), 3,95-3,92 (m, 2H), 3,38-3,35 (m, 2H), 3,04 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 2,67-2,66 (m, 4H), 2,56-2,55 (m, 2H), 1,72-1,70 (m, 4H), 1,63-1,56 (m, 4H).

¹H NMR (400 MHz, D₂O); δ 7,43 (brs, 2H), 6,94 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,87 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 3,41 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,28-3,26 (m, 4H), 3,11 (d, 1H), 3,08 (m, 1H), 2,66-2,64 (m, 6H), 1,67-1,57 (m, 8H).

21. Síntesis quiral de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida (33)

Esquema 22



5

Preparación del Compuesto 141;

Se añadieron varias porciones de NBS (142, 12,3 g, 69,4 mmol) a lo largo de un período de 30 min a una solución de 1-naftol (140, 10,0 g, 69,4 mmol) en acetonitrilo (70,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, se concentró bajo vacío, seguido por la adición de agua (200 ml) y acetato de etilo (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 4:1 hexanos/EtOAc) para suministrar el compuesto deseado 141 (9,50 g, 61%) como un sólido blanco: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,49 (s, 1H), 8,20 (dd, *J* = 8,3, 0,5 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,66 (dd, *J* = 8,4, 1,4 Hz, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,55 (ddd, *J* = 8,2, 7,7, 1,1 Hz, 1H), 6,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H).

15

Preparación del Compuesto 7;

Se añadió polvo de cinc (7,03 g, 107,6 mmol) a un matraz de fondo redondo con brazo lateral purgado con nitrógeno, secado a la llama. Se añadió DMF anhidra (50,0 ml) a través de una jeringa, seguido por una cantidad catalítica de yodo (1,00 g, 3,94 mmol). Se observó si la mezcla resultante sufría un cambio de color de incoloro a amarillo y negro a incoloro. Se añadió en una porción la yodoalanina protegida 143 (11,8 g, 35,9 mmol), seguido por una cantidad catalítica de yodo (1,00 g, 3,94 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min; la inserción satisfactoria de cinc está acompañada por una exoterma suave. La solución de reactivo de organocinc se dejó enfriar hasta temperatura ambiente antes de que se añadieran Pd_2dba_3 (821 mg, 0,89 mmol), SPhos (736 mg, 1,79 mmol) y bromuro de arilo 141 (8,00 g, 35,9 mmol) y la mezcla se calentó a 50°C durante 16 h, bajo una presión positiva de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se añadieron solución saturada de NH_4Cl (300 ml) y EtOAc (300 ml) y a continuación la mezcla se filtró a través de celita y se lavó con EtOAc (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/EtOAc 4:1) para suministrar el compuesto deseado 7 (4,60 g, 37%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mezcla de rotámeros) δ 8,23 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,54 (t, J = 8,04 Hz, 1H), 7,48 (ddd, J = 8,3, 6,9, 1,3 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,70 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,57 (br s, 0,2 H), 6,45 (br s, 0,2H), 5,91 (br s, 0,65 H), 5,05 (d, J = 7,7 Hz, 0,75H), 4,89 (br s, 0,25H), 4,68 (q, J = 6,8 Hz, 0,7H), 4,56 (br s, 0,2H), 3,73 (s, 0,7H), 3,62 (s, 2,3 H), 3,49 (dd, J = 14,0, 5,9 Hz, 0,8H), 3,89 (dd, J = 14,0, 7,2 Hz, 0,7H), 3,05 (br s, 0,2H), 1,39 (s, 7,5H), 1,09 (s, 2,5H).

20 Preparación del Compuesto 9;

Se añadieron piridina (18,0 ml) y Tf_2O (9,19 g, 32,6 mmol) a 0°C a una solución del compuesto 7 (7,60 g, 21,8 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, se concentró bajo vacío y se repartió entre CH_2Cl_2 (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para suministrar el compuesto 9 (11,0 g, bruto) como un aceite pardo. El producto en bruto se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mezcla de rotámeros) δ 8,19-8,07 (m, 2H), 7,69-7,64 (m, 2H), 7,38 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,12-5,06 (br s, 1H), 4,78-4,67 (m, 1H), 3,68-3,46 (m, 5H), 1,39 (s, 8H), 1,25 (s, 1H).

Preparación del Compuesto 11;

La solución del compuesto 9 (11,0 g, 21,8 mmol) y but-3-inilcarbamato de bencilo 10 (6,56 g, 32,6 mmol) en acetonitrilo anhidro (100 ml) se desgasificó durante 10 min bajo una atmósfera de argón seguido por la adición de TEA (11,9 ml, 87,0 mmol), 10% de (*t*-Bu) $_3\text{P}$ en hexanos (8,80 ml, 4,35 mmol) y CuI (207 mg, 1,08 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante otros 10 min y se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,51 g, 2,17 mmol) en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 2:3 hexanos/EtOAc) para suministrar el compuesto 11 (7,00 g, 61% a lo largo de dos etapas) como un aceite pardo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mezcla de rotámeros) δ 8,33 (dd, J = 8,9, 1,9 Hz, 1H), 8,07 (dd, J = 9,0, 1,7 Hz, 1H), 7,59-7,49 (m, 3H), 7,39-7,27 (m, 5H), 7,19 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 5,24-5,16 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,08-4,99 (m, 1H), 4,69 (q, J = 6,7 Hz, 1H), 3,59 (s, 3H), 3,57-3,40 (m, 4H), 2,79 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,39 (s, 7,5 H), 1,11 (s, 1,5 H).

Preparación del Compuesto 17;

Se añadió NaOH sólido (16,0 g, 79,2 mmol) a una solución del éster metílico 11 (7,00 g, 13,2 mmol) en THF (200 ml), metanol (200 ml) y agua (75,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h hasta que la TLC mostraba que la reacción era completa. Se añadió ácido clorhídrico 1 N para ajustar el pH de la mezcla de reacción hasta 10. Después de concentrarse, se añadió agua (100 ml) y el pH se ajustó hasta 5-6. El precipitado resultante se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 250 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, se concentraron y se trituraron con MTBE para suministrar el compuesto 17 (5,00 g, 75%) como un sólido blanco: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD ; mezcla de rotámeros) δ 8,33 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,28-8,20 (m, 1H), 7,59-7,45 (m, 3H), 7,38-7,21 (m, 6H), 5,09 (s, 2H), 4,55-4,45 (m, 1H), 3,76-3,66 (m, 1H), 3,44 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,28-3,20 (m, 1H), 2,76 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,29 (s, 6H), 0,82 (s, 3H).

Preparación del Compuesto 30;

Se añadieron T_3P (50% en acetato de etilo, 10,7 ml) y NMM (4,89 ml, 44,5 mmol) sucesivamente a una solución del compuesto 17 (4,60 g, 8,91 mmol) en THF (160 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 min, se añadió la amina 29 (6,11 g, 9,33 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h.

Después de que el disolvente se retirara, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó rápidamente con NH_4Cl saturado, NaHCO_3 saturado y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) para suministrar la amida 30 (6,60 g, 64%) como un sólido blancuzco: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,33 (dd, $J = 9,0, 1,7$ Hz, 1H), 8,17 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,62-7,47 (m, 4H), 7,42 (dd, $J = 7,7, 4,1$ Hz, 4H), 7,37-7,28 (m, 11H), 7,09-6,95 (m, 4H), 5,46 (s, 2H), 5,33 (br s, 1H), 5,22 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 5,11 (s, 2H), 4,63-4,51 (m, 1H), 4,27 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 2H), 4,02-3,84 (m, 6H), 3,71 (t, $J = 4,5$ Hz, 6H impurezas), 3,57 (t, $J = 10,6$ Hz, 2H), 3,54-3,45 (m, 4H), 2,82-2,60 (m, 6H), 2,59-2,45 (m, 3H), 2,44-2,36 (m, 4H), 1,82-1,69 (m, 2H), 1,38 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 31

- Una suspensión de 30 (7,26 g, 6,20 mmol) y Pd al 10%/C (1,50 g) en EtOH/AcOH (240 ml/40,0 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y se trituró con MTBE para suministrar la sal de amina 31 (7,06 g, 98%) como un sólido pardo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , mezcla de rotámeros) δ 8,24 (dd, $J = 7,2, 2,0$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,59-7,22 (m, 2H), 7,49-7,41 (m, 4H), 7,39-7,22 (m, 10H), 6,95 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 5,51 (s, 2H), 4,55 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,24 (dd, $J = 10,7, 5,4$ Hz, 2H), 4,19-4,10 (m, 2H), 3,99-3,88 (m, 4H), 3,83-3,73 (m, 8H, impurezas), 3,61 (t, $J = 10,5$ Hz, 2H), 3,59-3,52 (m, 1H), 3,45-3,36 (m, 1H), 3,19-3,02 (m, 4H), 2,93-2,81 (m, 8H), 2,54, 2,39 (m, 2H), 1,95 (s, 6H), 1,88-1,80 (m, 2H), 1,80-1,65 (m, 4H), 1,36 (s, 7H), 1,09 (s, 2H).

Preparación de 32

- Se añadió DIPEA (8,80 ml, 49,4 mmol) seguido por 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (13, 3,84 g, 9,88 mmol) a temperatura ambiente a una solución de 31 (7,06 g, 6,18 mmol) en EtOH (50,0 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó dos veces mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar el compuesto 32 (2,50 g, 33%) como un sólido amarillo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , mezcla de rotámeros) δ 8,22 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 8,08 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,56-7,47 (m, 4H), 7,43 (dd, $J = 7,4, 3,6$ Hz, 4H), 7,33-7,14 (m, 10H), 6,94 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,53 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 4,22 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 2H), 3,99-3,89 (m, 4H), 3,84 (dd, $J = 5,5, 2,3$ Hz, 2H), 3,70 (dd, $J = 9,2, 2,2$ Hz, 2H), 3,59 (t, $J = 10,8$ Hz, 2H), 3,54-3,46 (m, 1H), 3,47-3,38 (m, 1H), 3,22 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,11-3,02 (m, 2H), 2,70 (dd, $J = 13,5, 4,6$ Hz, 2H), 2,61 (dd, $J = 13,6, 8,9$ Hz, 2H), 2,57-2,47 (m, 2H), 2,46-2,34 (m, 2H), 1,84-1,73 (m, 2H), 1,72-1,61 (m, 4H), 1,36 (s, 7H), 1,12 (s, 2H).

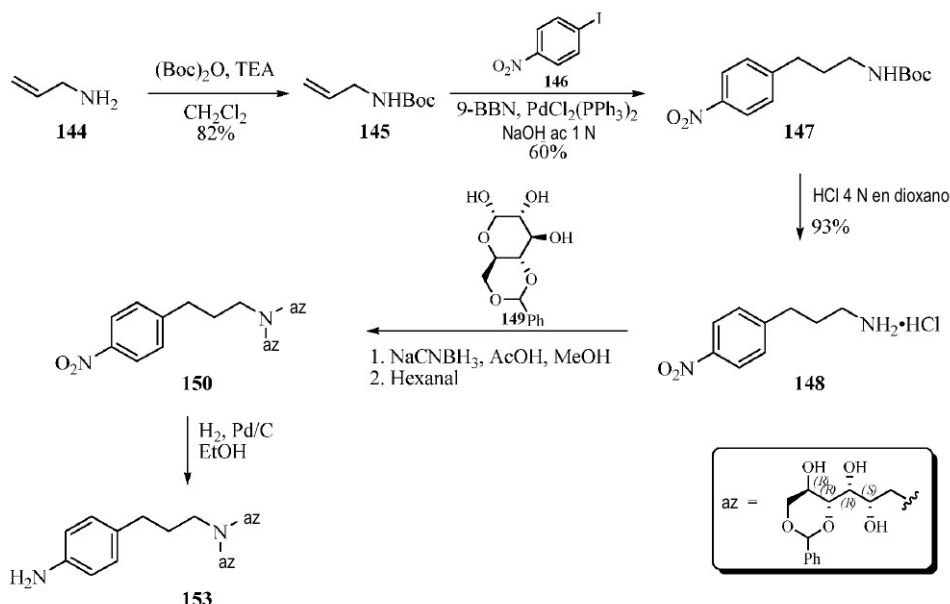
Preparación de la sal de HCl de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (33)

- Se añadió ácido clorhídrico 4 N (80,0 ml) a una solución de 32 (2,50 g, 2,02 mmol) en EtOH (30,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, se purificó mediante una columna en fase inversa y se liofilizó para suministrar el compuesto 33 (1,82 g, 85%) como un sólido higroscópico amarillo: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10,61 (s, 1H), 10,59 (s, 1H), 9,41 (t, $J = 5,2$ Hz, H), 9,01 (br s, 1H), 8,96 (br s, 1H), 8,81 (br s, 2H), 8,77 (br s, 2H), 8,44-8,37 (m, 1H), 8,16-8,10 (m, 1H), 7,61-7,52 (m, 2H), 7,41 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,35 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,28 (q, $J = 7,4$ Hz, 1H), 4,09-3,99 (m, 2H), 3,75-3,65 (m, 3H), 3,58 (dd, $J = 11,0, 2,6$ Hz, 2H), 3,55-3,31 (m, 10H), 3,30-3,13 (m, 4H), 3,32-3,00 (m, 2H), 2,63-2,53 (m, 2H), 2,05-1,92 (m, 2H), 1,78-1,61 (m, 4H).

- ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 9,25 (t, $J = 5,9$ Hz, 0,5H), 8,26-8,21 (m, 1H), 8,17-8,12 (m, 1H), 7,60-7,54 (m, 2H), 7,38 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,25 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,15 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,31 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,21-4,14 (m, 1H), 4,13-4,08 (m, 1H), 3,85-3,80 (m, 2H), 3,79 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 3,76 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 3,73-3,62 (m, 8H), 3,51-3,34 (m, 8H), 3,15 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,73-2,57 (m, 2H), 2,15-1,98 (m, 2H), 1,91-1,73 (m, 4H).

22. Preparación de (2R,2'R,3R,3'R,4R,4'R,5S,5'S)-6,6'-(3-(4-aminofenil)propilazanodiil)dihexano-1,2,3,4,5-pentaol (29)

Esquema 23



5 Preparación del Compuesto 145

Se añadió TEA (32,2 ml, 231,2 mmol) y Boc_2O (40,4 g, 185,3 mmol) a 0°C a una solución del compuesto 144 (8,80 g, 154,1 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml). La mezcla de reacción se continuó agitando a 0°C durante 0,5 h, se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. A continuación, la mezcla se repartió entre CH_2Cl_2 (150 ml) y agua (150 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2×150 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron para suministrar el compuesto deseado 145 (22,0 g, 91%) como un aceite incoloro. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 5,90-5,77 (m, 1H), 5,17 (dq, $J = 17,1, 1,7$ Hz, 1H), 5,10 (dq, $J = 10,4, 1,4$ Hz, 1H), 4,64 (brs, 1H), 3,74 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 147

Se añadió 9-BBN (0,5 M en THF, 270 ml, 133,8 mmol) bajo argón a una solución del compuesto 145 (14,0 g, 89,12 mmol) en THF anhidro (150 ml). Después de que la mezcla de reacción se agitara durante 2 h a temperatura ambiente, se añadieron a temperatura ambiente el compuesto 146 (17,7 g, 71,3 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (3,12 g, 4,45 mmol) y NaOH ac 1 N (150 ml). La mezcla resultante se agitó durante 1 h adicional. Después de que el disolvente se retirara, el residuo se repartió entre EtOAc (200 ml) y agua (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2×200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 4:1 hexanos/EtOAc) para suministrar el compuesto 147 (8,00 g, 43%) como un sólido pardo: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,14 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,56 (br s, 1H), 3,17 (q, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,75 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H), 1,89-1,79 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 148;

El compuesto 147 (8,00 g, 28,6) se disolvió en HCl 4 N en dioxano (50,0 ml) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo se trituró con MTBE para suministrar el compuesto 148 (4,00 g, 65%) como un sólido pardo: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,19 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,50 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 2,98 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,86 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 2,07-1,97 (m, 2H).

Preparación del Compuesto 150;

Se añadió AcOH (11,1 ml, 185 mmol) a una solución del compuesto 148 (4,00 g, 18,5 mmol) y triol 149 (24,8 g, 92,5 mmol) en MeOH (150 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después de que

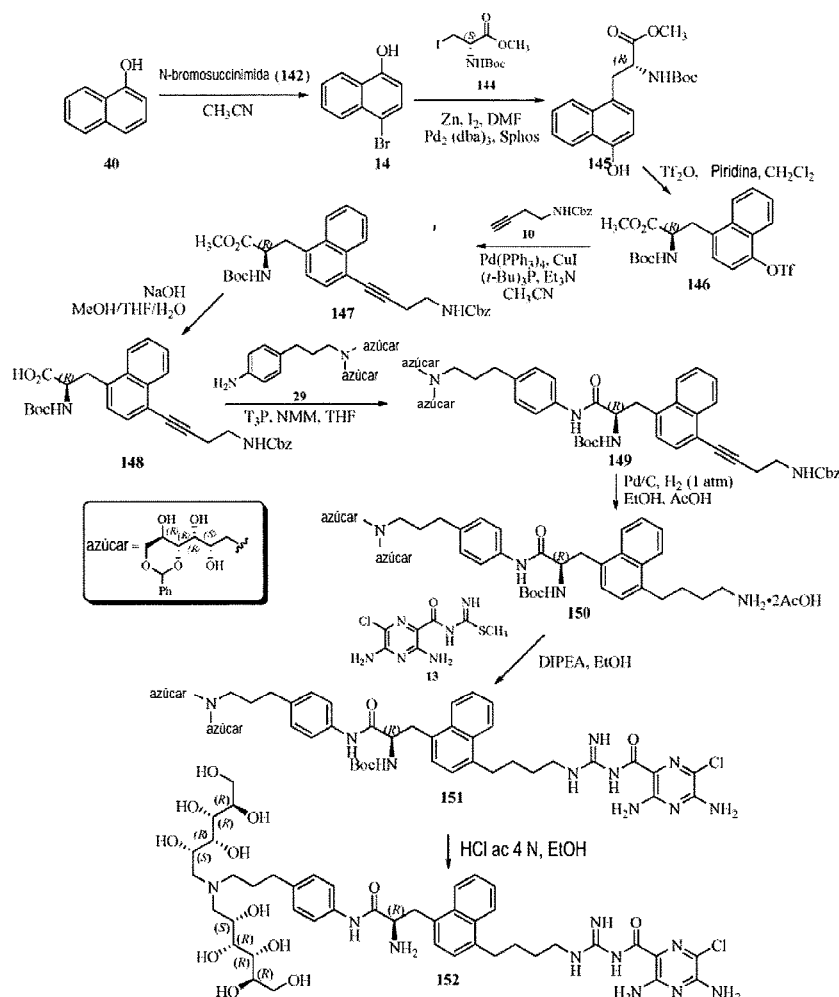
se añadiera NaCNBH_3 (5,83 g, 92,5 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron compuesto 149 (4,0 equiv), AcOH (4,0 equiv) y NaCNBH_3 (4,0 equiv) adicionales a lo largo de 4 días. A continuación, se añadieron hexanal (2,0 equiv), AcOH (2,0 equiv) y NaCNBH_3 (2,0 equiv). La solución se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 1 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO_3 saturado y el residuo se repartió entre EtOAc (200 ml) y agua (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2×300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9::1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar el compuesto 150 (6,50 g, 52%) como un sólido blancuzco. Se aislaron 4,00 g adicionales de material de las fracciones impuras y se purificaron mediante una columna en fase inversa para suministrar 1,50 g (12%) de compuesto puro 150 (total 7,70 g, 64%): ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,03 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,50-7,41 (m, 4H), 7,35-7,23 (m, 8H), 5,48 (s, 2H), 4,22 (dd, $J = 10,6, 5,3$ Hz, 2H), 3,99-3,91 (m, 4H), 3,85 (dd, $J = 5,5, 2,4$ Hz, 2H), 3,70 (dd, $J = 9,5, 2,4$ Hz, 2H), 3,59 (t, $J = 10,6$ Hz, 2H), 2,73 (dd, $J = 13,6, 4,5$ Hz, 2H), 2,67-2,50 (m, 6H), 1,83-1,71 (m, 2H).

Preparación de (2R,2'R,3R,3'R,4R,4'R,5S,5'S)-6,6'-(3-(4-aminofenil)propilazanodiil)dihexano-1,2,3,4,5-pentaol (Compuesto 153);

Una suspensión del compuesto 150 (6,50 g, 9,50 mmol) y Pd al 10%/C (1,30 g) en EtOH (150 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se agitó a ta bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH . El filtrado se concentró a vacío para suministrar 153 (6,01 g, 97%) como un sólido blancuzco: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,49-7,42 (m, 4H), 7,35-7,26 (m, 6H), 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,60 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 5,48 (s, 2H), 4,22 (dd, $J = 10,8, 5,9$ Hz, 2H), 3,98-3,89 (m, 4H), 3,83 (dd, $J = 5,7, 2,3$ Hz, 2H), 3,69 (dd, $J = 13,2, 3,4$ Hz, 2H), 3,62-3,55 (m, 3H), 2,71 (dd, $J = 13,2, 3,4$ Hz, 2H), 2,65-2,48 (m, 3H), 2,45-2,29 (m, 2H), 1,74-1,63 (m, 2H).

23. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((R)-2-amino-3-(4-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidooil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (152)

Esquema 24



5

Preparación del Compuesto 14

Se añadieron varias porciones de NBS (142, 12,3 g, 69,4 mmol) a lo largo de un período de 30 min a una solución de 1-naftol (1, 10,0 g, 69,4 mmol) en acetonitrilo (70,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, se concentró bajo vacío, seguido por la adición de agua (200 ml) y acetato de etilo (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó mediante cristalización (heptano/EtOAc) para suministrar el compuesto deseado 14 (6,0 g, 39%) como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,49 (s, 1H), 8,20 (dd, *J* = 8,3, 0,5 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,66 (dd, *J* = 8,4, 1,4 Hz, 1H), 7,64 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,55 (ddd, *J* = 8,2, 7,7, 1,1 Hz, 1H), 6,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H).

15 Preparación del Compuesto 145

Se añadió polvo de cinc (4,76 g, 72,9 mmol) a un matraz de fondo redondo con brazo lateral purgado con nitrógeno, secado a la llama. Se añadió DMF anhidra (25,0 ml) a través de una jeringa, seguido por una cantidad catalítica de yodo (677 mg, 2,67 mmol). Se observó si la mezcla resultante sufría un cambio de color de incoloro a amarillo y negro a incoloro. Se añadió en una porción la yodoanilina protegida 114 (8,00 g, 24,3 mmol), seguido por una

cantidad catalítica de yodo (677 mg, 2,67 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min; la inserción satisfactoria de cinc está acompañada por una exoterma suave. La solución de reactivo de organocinc se dejó enfriar hasta temperatura ambiente antes de que se añadieran $\text{Pd}2(\text{dba})_3$ (556 mg, 0,60 mmol), SPhos (498 mg, 1,21 mmol) y bromuro de arilo 14 (5,40 g, 24,3 mmol) y la mezcla se calentó a 50°C durante 16 h, bajo una presión positiva de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Se añadieron solución saturada de NH_4Cl (300 ml) y EtOAc (300 ml) y a continuación la mezcla se filtró a través de celita y se lavó con EtOAc (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 4:1 hexanos/EtOAc) para suministrar el compuesto 145 (3,10 g, 37%) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mezcla de rotámeros): δ 8,23 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,54 (t, J = 8,04 Hz, 1H), 7,48 (ddd, J = 8,3, 6,9, 1,3 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,70 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,98 (brs, 0,3H), 5,59 (br s, 0,7 H), 5,03 (d, J = 7,7 Hz, 0,85H), 4,84 (br s, 0,15H), 4,68 (q, J = 6,8 Hz, 1H), 3,76-3,68 (m, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,54-3,33 (m, 2H), 1,39 (s, 7H), 1,09 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 146

Se añadieron piridina (7,25 ml, 88,9 mmol) y Tf_2O (2,24 ml, 13,3 mmol) a 0°C a una solución del compuesto 145 (3,07 g, 8,90 mmol) en CH_2Cl_2 (75,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, se concentró bajo vacío y se repartió entre CH_2Cl_2 (100 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para suministrar el compuesto 146 (4,20 g, bruto) como un aceite pardo. El producto en bruto se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mezcla de rotámeros): δ 8,19-8,07 (m, 2H), 7,69-7,64 (m, 2H), 7,38 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,12-5,06 (br s, 1H), 4,78-4,67 (m, 1H), 3,68-3,46 (m, 5H), 1,39 (s, 8H), 1,25 (s, 1H).

Preparación del Compuesto 147

La solución del compuesto 6 (4,20 g, 8,80 mmol, bruto) y but-3-inilcarbamato de bencilo 7 (2,65 g, 13,2 mmol) en acetonitrilo anhidro (50,0 ml) se desgasificó durante 10 min bajo atmósfera de argón seguido por la adición de TEA (4,81 ml, 35,2 mmol), 10% de (*t*-Bu) $_3\text{P}$ en hexanos (3,56 ml, 1,76 mmol) y Cul (84 mg, 0,44 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante otros 10 min y se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,01 g, 0,88 mmol) en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 2:3 hexanos/EtOAc) para suministrar el compuesto 147 (3,20 g, 67% a lo largo de dos etapas) como un aceite pardo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , mezcla de rotámeros): δ 8,33 (dd, J = 8,9, 1,9 Hz, 1H), 8,07 (dd, J = 9,0, 1,7 Hz, 1H), 7,59-7,49 (m, 3H), 7,39-7,27 (m, 5H), 7,19 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 5,24-5,16 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,08-4,99 (m, 1H), 4,69 (q, J = 6,7 Hz, 1H), 3,59 (s, 3H), 3,57-3,40 (m, 4H), 2,79 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,39 (s, 7,5 H), 1,11 (s, 1,5 H).

Preparación del Compuesto 148

Se añadió NaOH sólido (1,40 g, 35,09 mmol) a una solución del éster metílico 147 (3,10 g, 5,84 mmol) en THF (60 ml), metanol (60 ml) y agua (20,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h hasta que la TLC mostraba que la reacción era completa. Se añadió ácido clorhídrico 1 N para ajustar el pH de la mezcla de reacción hasta 10. Después de concentrarse; se añadió agua (100 ml) y el pH se ajustó hasta 5-6. El precipitado resultante se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 200 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron, se concentraron y se trituraron con MTBE para suministrar el compuesto 148 (3,00 g, 99%) como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD ; mezcla de rotámeros): δ 8,33 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,28-8,20 (m, 1H), 7,59-7,45 (m, 3H), 7,38-7,21 (m, 6H), 5,09 (s, 2H), 4,55-4,45 (m, 1H), 3,76-3,66 (m, 1H), 3,44 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,28-3,20 (m, 1H), 2,76 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,29 (s, 6H), 0,82 (s, 3H).

Preparación del Compuesto 149

Se añadieron T_3P (50% en acetato de etilo, 1,86 ml) y NMM (0,85 ml, 7,75 mmol) sucesivamente a una solución del compuesto 148 (800 mg, 1,55 mmol) en THF (30 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 min, se añadió la amina 29 (1,01 g, 1,55 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de que el disolvente se retirara, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml), se lavó rápidamente con NH_4Cl saturado, NaHCO_3 saturado y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) para suministrar la amida 149 (1,20 g, 67%) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,35 (d, J = 8,0, 1,7 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,60-7,52 (m, 2H), 7,50 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 7,45-7,39 (m, 5H), 7,37-7,28 (m, 11H), 7,08-6,96 (m, 3H), 5,47 (s, 2H), 5,33-5,17 (m, 2H), 5,12 (s, 2H), 4,59-4,48 (m, 1H), 4,29 (dd, J = 10,8, 5,4 Hz, 2H), 4,07-4,00 (m, 2H), 3,99-3,91 (m, 4H), 3,78-3,68

(m, 3H), 3,59 (t, $J = 10,6$ Hz, 2H), 3,55-3,46(m, 4H), 2,95-2,82 (m, 2H), 2,81-2,69 (m, 4H), 2,68-2,57 (m, 1H), 2,56-2,44 (m, 3H), 2,43-2,38 (m, 1H), 1,85-1,69 (m, 2H), 1,38 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 150

5 Una suspensión de 149 (1,15 g, 1,00 mmol) y Pd al 10%/C (230 mg) en EtOH/AcOH (80,0 ml/20,0 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y se trituró con MTBE para suministrar la sal de amina 150 (1,12 g, 97%) como un sólido pardo. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , mezcla de rotámeros): δ 8,25 (dd, $J = 7,2, 2,0$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,59-7,51 (m, 2H), 7,48-7,41 (m, 4H), 7,37-7,21 (m, 10H), 6,94 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 5,52 (s, 2H), 4,54 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 4,24 (dd, $J = 10,7, 5,4$ Hz, 2H), 4,16-4,08 (m, 2H), 3,97-3,88 (m, 4H), 3,75-3,70 (m, 2H), 3,62 (t, $J = 10,5$ Hz, 2H), 3,60-3,51 (m, 1H), 3,28-3,15 (m, 2H), 3,14-2,95 (m, 4H), 2,89 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,73-2,67 (m, 1H), 2,54-2,39 (m, 2H), 1,95 (s, 6H), 1,88-1,64 (m, 8H), 1,36 (s, 7,5H), 1,09 (s, 1,5H).

Preparación de 151

15 Se añadió DIPEA (1,30 ml, 7,35 mmol) seguido por 3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (13, 573 mg, 1,47 mmol) a temperatura ambiente a una solución de 150 (1,05 g, 0,92 mmol) en EtOH (15,0 ml). La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó dos veces mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar el compuesto 151 (410 mg, 36%) como un sólido amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , mezcla de rotámeros): δ 8,22 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,56-7,48 (m, 2H), 7,47-7,40 (m, 4H), 7,33-7,25 (m, 6H), 7,22 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,16 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 6,94 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,53 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,22 (dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, 2H), 3,99-3,89 (m, 4H), 3,84 (dd, $J = 5,5, 2,1$ Hz, 2H), 3,70 (dd, $J = 9,1, 2,0$ Hz, 2H), 3,59 (t, $J = 10,8$ Hz, 2H), 3,53-3,47 (m, 1H), 3,46-3,39 (m, 1H), 3,26-3,17 (m, 2H), 3,12-3,04 (m, 2H), 2,70 (dd, $J = 13,2, 4,0$ Hz, 2H), 2,60 (dd, $J = 13,0, 8,2$ Hz, 2H), 2,57-2,49 (m, 2H), 2,47-2,33 (m, 2H), 1,84-1,73 (m, 2H), 1,72-1,61 (m, 4H), 1,37 (s, 7H), 1,12 (s, 2H).

25 Síntesis de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((R)-2-amino-3-(4-(3-bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamimidoil)-6-cloropiracino-2-carboxamida (152)

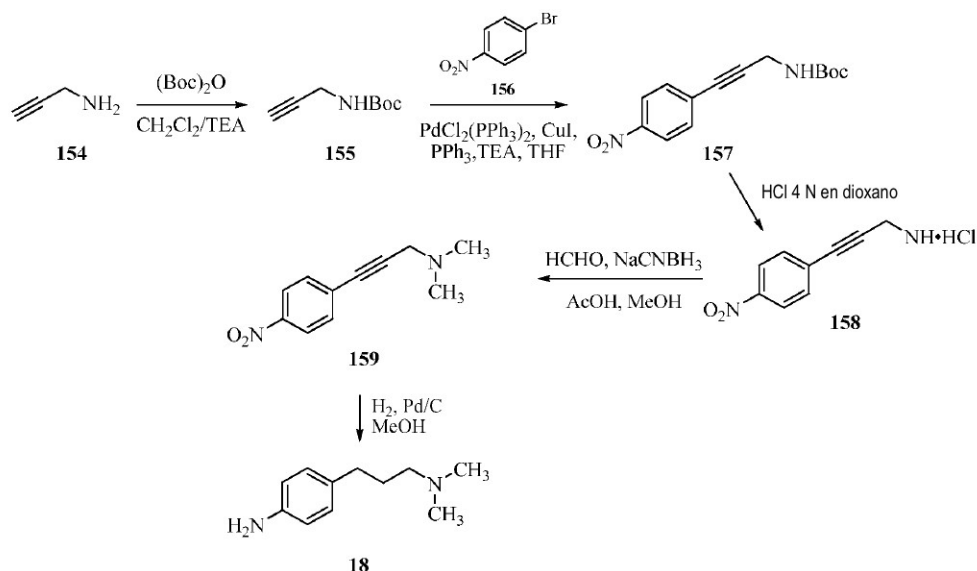
30 Se añadió ácido clorhídrico 4 N (25,0 ml) a una solución de 151 (480 mg, 0,42 mmol) en EtOH (5,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró, se purificó mediante una columna en fase inversa y se liofilizó para suministrar el compuesto 152 (300 mg, 71%) como un sólido higroscópico amarillo. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 10,57 (brs, 1H), 10,55 (brss, 1H), 9,35 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 9,04-8,84 (m, 2H), 8,81-8,66 (m, 4H), 8,42-8,36 (m, 1H), 8,16-8,10 (m, 1H), 7,61-7,53 (m, 2H), 7,41 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,35 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 7,28 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,32-4,23 (m, 1H), 4,08-3,97 (m, 2H), 3,75-3,30 (m, 13H), 3,29-3,15 (m, 4H), 3,14-2,97 (m, 2H), 2,64-2,53 (m, 2H), 2,05-1,92 (m, 2H), 1,79-1,60 (m, 4H).

35 ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,25-8,21 (m, 1H), 8,18-8,13 (m, 1H), 7,59-7,53 (m, 2H), 7,38 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,26 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,15 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,30 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 4,20-4,14 (m, 1H), 4,13-4,08 (m, 1H), 3,84-3,80 (m, 2H), 3,79-3,75 (m, 2H), 3,72-3,61 (m, 8H), 3,51-3,34 (m, 8H), 3,15 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,74-2,58 (m, 2H), 2,13-1,98 (m, 2H), 1,91-1,73 (m, 4H).

40 HRMS calculado para $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{ClN}_{10}\text{O}_{12}$ [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 959,4418 y encontrado 959,4394.

24. Preparación del producto intermedio 18

Esquema 25



Preparación del Compuesto 155;

- 5 Se añadieron TEA (1,63 ml, 11,7 mmol) y Boc_2O (2,16 g, 9,90 mmol) a 0°C a una solución del compuesto 154 (500 mg, 9,00 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml). La mezcla de reacción se continuó agitando a 0°C durante 0,5 h, se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. A continuación, la mezcla se repartió entre CH_2Cl_2 (50 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2×50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron, el residuo se purificó mediante cromatografía en
- 10 columna (gel de sílice, hexanos/ EtOAc 2:3) para suministrar el compuesto deseado 155 (1,20 g, 86%) como un aceite incoloro. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 4,70 (br s, 1H), 3,91 (dd, $J = 5,3, 2,2$ Hz, 2H), 2,21 (t, $J = 2,7$ Hz, 1H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 157;

- 15 La solución del compuesto 155 (1,00 g, 6,45 mmol) y 156 (1,30 g, 6,45 mmol) en THF anhidro (15 ml) se desgasificó durante 10 min bajo atmósfera de argón seguido por la adición de TEA (3,53 ml, 25,8 mmol), PPh_3 (424 mg, 1,61 mmol) y CuI (246 mg, 1,29 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante otros 10 min y se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (7,45 g, 6,45 mmol) en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se sometió a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/ EtOAc 2:3) para suministrar el
- 20 compuesto 157 (750 mg, 42%) como un aceite pardo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,17 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 7,55 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 4,79 (brs, 1H), 4,18 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,47 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 158;

- El compuesto 157 (2,00 g, 7,24) se disolvió en HCl 4 N en dioxano (20,0 ml) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo se trituró con MTBE para suministrar el
- 25 compuesto 158 (1,25 g, 82%) como un sólido pardo. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 8,26 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 7,72 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 4,09 (s, 2H).

Preparación del Compuesto 159;

- Se añadió AcOH (0,09 ml, 1,41 mmol) a una solución del compuesto 158 (100 mg, 0,47 mmol) y solución de formaldehído en agua (30%, 1,40 ml, 1,41 mmol) en MeOH (3,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de que se añadiera NaCNBH_3 (88 mg, 1,41 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron solución de formaldehído en agua (30%, 0,92 ml, 0,94 mmol), AcOH (0,09 ml, 1,41 mmol) y NaCNBH_3 (88 mg, 1,41 mmol) adicionales y se agitaron durante otras 16 h.
- 30

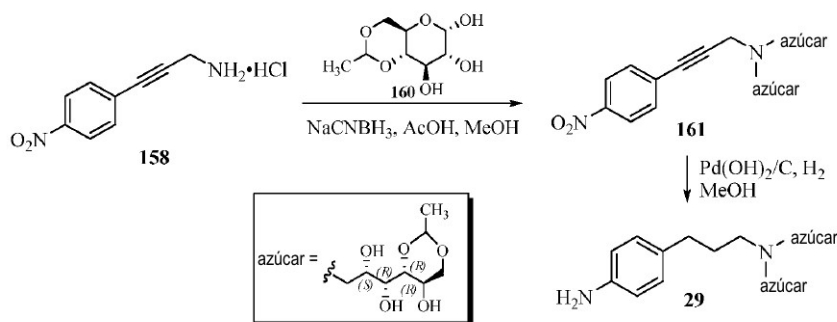
Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO_3 saturado y el residuo se repartió entre EtOAc (30 ml) y agua (30 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2×40 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar el compuesto 159 (50 g, 52%) como un aceite blancuzco. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 8,17 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 7,57 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 3,50 (s, 2H), 2,37 (s, 6H).

Preparación del Compuesto 18;

Una suspensión del compuesto 159 (100 mg, 0,49 mmol) y Pd al 10%/C (40 mg) en MeOH (3,0 ml) se desgasificó con argón durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y se trituró con CH_2Cl_2 /hexano para suministrar 18 (48 mg, 55%) como un cristal blanco: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,96 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 6,60 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 3,47 (br s, 2H), 2,53 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 2,26 (dd, $J = 8,7$, 7,2 Hz, 2H), 2,22 (s, 6H), 1,77-1,67 (m, 2H).

Preparación del producto intermedio 29

Esquema 26



Preparación del Compuesto 161;

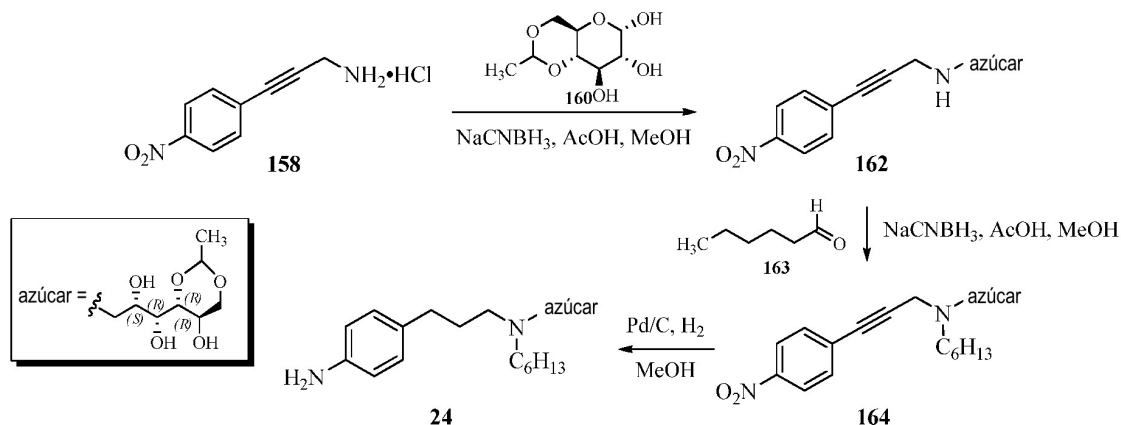
Se añadió AcOH (3,40 ml, 56,6 mmol) a una solución del compuesto 158 (4,00 g, 18,9 mmol) y el triol 160 (11,7 g, 56,6 mmol) en MeOH (50 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de que se añadiera NaCNBH_3 (3,55 g, 56,6 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron compuesto 160 (11,7 g, 56,6 mmol), AcOH (3,40 ml, 56,6 mmol) y NaCNBH_3 (3,55 g, 56,6 mmol) adicionales y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO_3 saturado y el residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2×10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 9:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 80:18:2 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para suministrar el compuesto 29 (700 mg, 7,0%) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 8,21 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,66 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,68 (q, $J = 5,1$ Hz, 2H), 4,04 (dd, $J = 10,8$, 5,4 Hz, 2H), 3,99-3,93 (m, 2H), 3,86-3,74 (m, 6H), 3,54 (dd, $J = 9,8$, 2,3 Hz, 2H), 3,36 (t, $J = 10,7$ Hz, 2H), 2,87 (dd, $J = 13,3$, 4,9 Hz, 2H), 2,74 (dd, $J = 13,3$, 7,8 Hz, 2H), 1,25 (d, $J = 5,1$ Hz, 6H).

Preparación del Compuesto 29;

Una suspensión del compuesto 161 (500 mg, 0,90 mmol) y $\text{Pd}(\text{OH})_2$ al 10%/C (215 mg) en EtOH (230 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar el compuesto 29 (264 mg, 55%) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,97 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,67 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,71 (q, $J = 5,1$ Hz, 2H), 4,06 (dd, $J = 10,6$, 5,3 Hz, 2H), 4,13-4,05 (m, 2H), 3,81 (dd, $J = 5,0$, 2,3 Hz, 2H), 3,80-3,72 (m, 2H), 3,51 (dd, $J = 9,6$, 2,4 Hz, 2H), 3,33-3,23 (m, 2H), 3,38 (t, $J = 10,7$ Hz, 2H), 2,83-2,54 (m, 6H), 1,85-1,69 (m, 2H), 1,26 (d, $J = 5,1$ Hz, 6H).

Preparación del producto intermedio 24

Esquema 27



Preparación del Compuesto 162;

- 5 Se añadió AcOH (0,17 ml, 2,82 mmol) a una solución del compuesto 158 (200 mg, 0,94 mmol) y el triol 160 (194 mg, 0,94 mmol) en MeOH (2,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de que se añadiera NaCNBH₃ (148 mg, 2,35 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron compuesto 160 (0,2 equiv), AcOH (3,0 equiv) y NaCNBH₃ (1,0 equiv) adicionales y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO₃ saturado y el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 162 (95 mg, 28%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,24 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 7,69 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 4,70 (q, J = 5,1 Hz, 1H), 4,09-4,02 (m, 2H), 4,00 (d, J = 2,1 Hz, 2H), 3,83 (dd, J = 5,1, 2,3 Hz, 1H), 3,81-3,71 (m, 1H), 3,53 (dd, J = 9,3, 2,3 Hz, 1H), 3,38 (t, J = 11,0 Hz, 1H), 3,21-3,07 (m, 2H), 1,25 (d, J = 5,1 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 164;

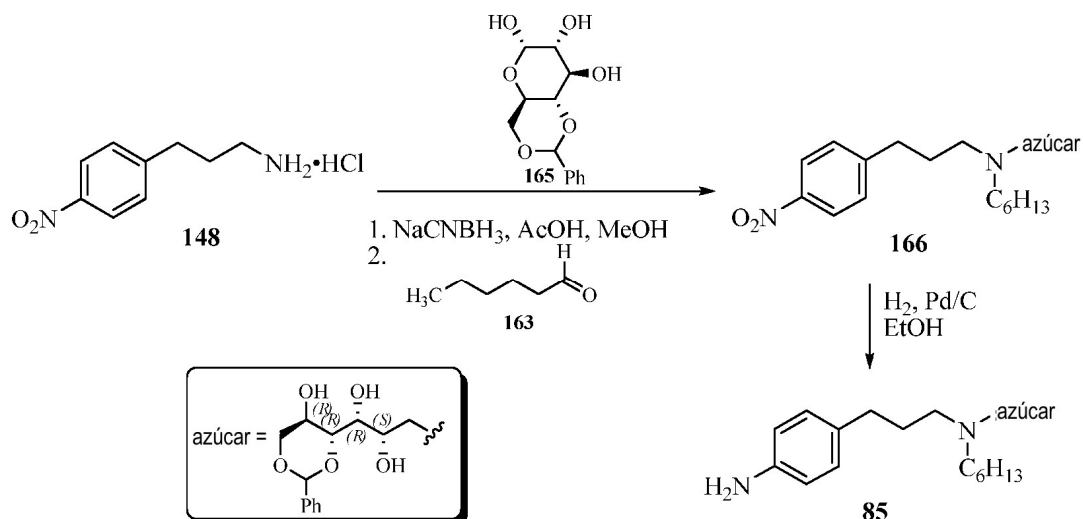
- 20 Se añadieron AcOH (0,05 ml, 0,78 mmol) y NaCNBH₃ (41 mg, 0,65 mmol) a una solución del compuesto 162 (95 mg, 0,26 mmol) y hexanal 163 (52 mg, 0,51 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO₃ saturado y el residuo se repartió entre EtOAc (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 164 (70 mg, 59%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,18 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 7,56 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 4,70 (q, J = 5,0 Hz, 1H), 4,15 (dd, J = 10,4, 5,2 Hz, 1H), 4,01-3,89 (m, 2H), 3,83 (dd, J = 3,8, 2,7 Hz, 1H), 3,77 (brs, 1H), 3,70 (brs, 1H), 3,64 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 3,56 (dd, J = 9,2, 4,0 Hz, 1H), 3,41 (t, J = 10,8 Hz, 1H), 2,87 (dd, J = 13,2, 4,3 Hz, 1H), 2,78-2,68 (m, 2H), 2,63-2,55 (m, 1H), 1,75-1,43 (m, 4H), 1,34 (d, J = 5,0 Hz, 3H), 1,32-1,25 (m, 6H), 0,89 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 24

- Una suspensión del compuesto 164 (1,70 g, 3,77 mmol) y Pd al 10%/C (200 mg) en MeOH (40 ml) se desgasificó con argón durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 24 (1,20 g, 76%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6,96 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 6,62 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 4,68 (q, J = 5,0 Hz, 1H), 4,14 (dd, J = 11,0, 5,5 Hz, 1H), 3,92-3,81 (m, 2H), 3,72 (dd, J = 3,8, 2,4 Hz, 1H), 3,50 (dd, J = 9,1, 4,0 Hz, 1H), 3,40 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 2,76-2,38 (m, 10H), 1,81-1,64 (m, 3H), 1,48-1,36 (m, 2H), 1,33 (d, J = 5,0 Hz, 3H), 1,30-1,20 (m, 6H), 0,88 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Preparación del producto intermedio 85

Esquema 28



Preparación del Compuesto 166;

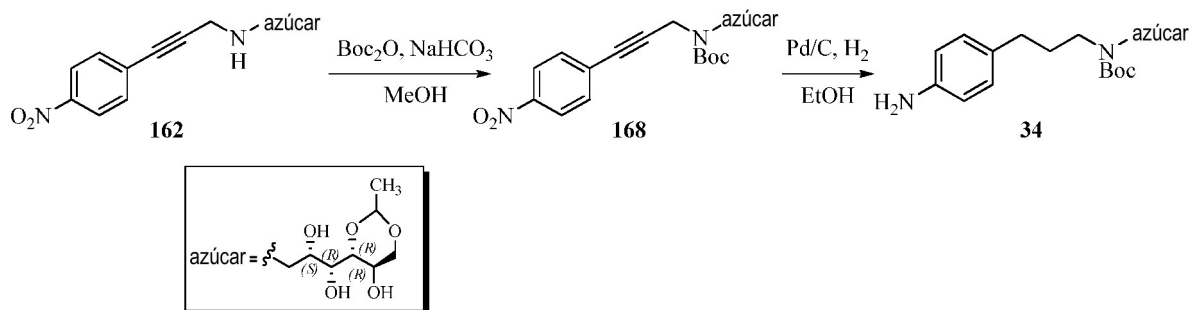
- 5 Se añadió AcOH (12,1 ml, 63,9 mmol) a una solución del compuesto 148 (4,60 g, 21,3 mmol) y el triol 165 (17,1 g, 63,9 mmol) en MeOH (100 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después de que se añadiera NaCNBH₃ (4,00 g, 63,9 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 6 h. A continuación, se añadieron hexanal 163 (5,10 ml, 42,6 mmol) y NaCNBH₃ (2,60 g, 42,6 mmol). La solución se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO₃ saturado y el residuo se repartió entre EtOAc (200 ml) y agua (200 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 166 (6,90 g, 64%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,12 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,51-7,43 (m, 2H), 7,38 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,37-7,27 (m, 3H), 5,55 (s, 1H), 4,24 (dd, *J* = 11,5, 5,5 Hz, 1H), 4,18-4,01 (m, 1H), 4,00-3,94 (m, 1H), 3,93-3,89 (m, 1H), 3,77 (dd, *J* = 9,3, 1,8 Hz, 1H), 3,61 (t, *J* = 10,7 Hz, 1H), 3,13-2,77 (m, 6H), 2,71 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,99-1,85 (m, 2H), 1,55-1,42 (m, 2H), 1,38-1,18 (m, 6H), 0,87 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 85;

- 20 Una suspensión del compuesto 166 (800 mg, 1,55 mmol) y Pd al 10%/C (300 mg) en EtOH (40 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 85 (700 mg, 93%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,52-7,42 (m, 2H), 7,38-7,25 (m, 3H), 6,88 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,63 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,53 (s, 1H), 4,24 (dd, *J* = 10,8, 5,5 Hz, 1H), 4,05-3,84 (m, 3H), 3,76 (dd, *J* = 9,6, 1,8 Hz, 1H), 3,61 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H), 2,93 (dd, *J* = 13,6, 5,0 Hz, 1H), 2,79 (dd, *J* = 13,4, 9,0 Hz, 1H), 2,73-2,60 (m, 4H), 2,42 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 1,88-1,68 (m, 2H), 1,48-1,36 (m, 2H), 1,33-1,14 (m, 6H), 0,87 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H).

Preparación del producto intermedio 34

Esquema 29



Preparación del Compuesto 168;

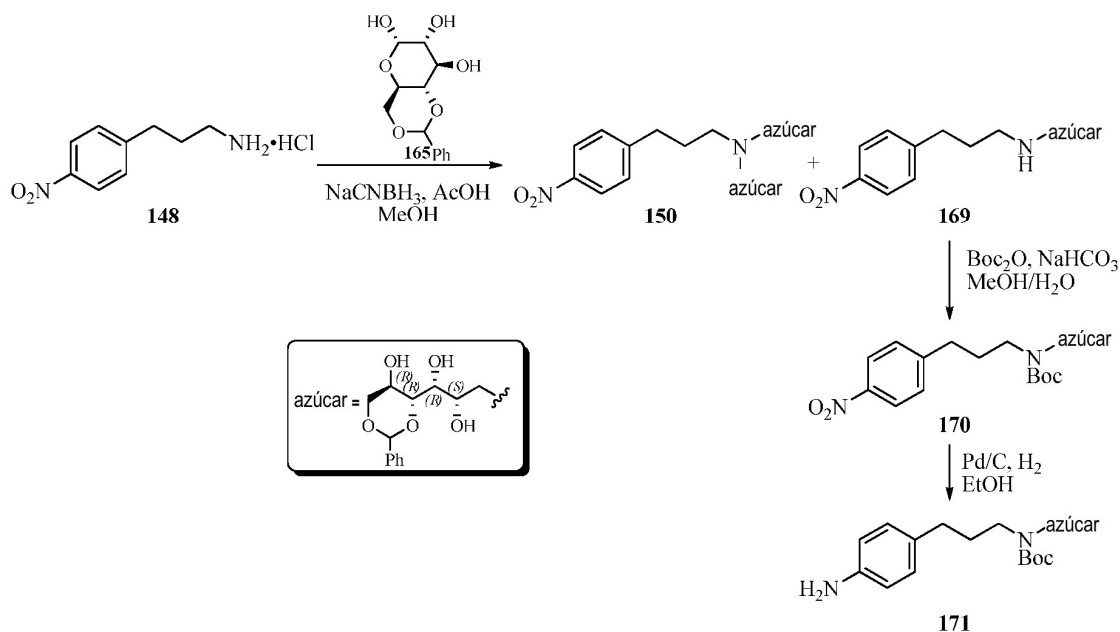
- 5 Una solución de 162 (534 mg, 1,45 mmol) en MeOH (30 ml) y se cargó con solución saturada de NaHCO_3 en agua (5,0 ml) a 0°C y se agitó durante 10 min. A continuación, se añadió $(\text{Boc})_2\text{O}$ (350 mg, 1,60 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a la misma temperatura, se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otros 30 min. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (100 ml) y la solución se lavó con agua (100 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, se concentró y el residuo se purificó mediante
- 10 cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 8:2) para suministrar el compuesto 168 (435 mg, 64%) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,18 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,56 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,72 (q, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,41-4,35 (m, 2H), 4,16 (dd, $J = 10,8, 5,5$ Hz, 1H), 4,15-4,04 (m, 1H), 3,93-3,83 (m, 1H), 3,81-3,76 (m, 1H), 3,66-3,53 (m, 4H), 3,40 (t, $J = 11,0$ Hz, 1H), 3,25-3,12 (m, 1H), 3,08-2,96 (m, 1H), 1,49 (s, 9H), 1,32 (d, $J = 5,1$ Hz, 3H).

15 Preparación del Compuesto 34;

- Una suspensión del compuesto 168 (80 mg, 0,21 mmol) y Pd al 10%/C (40 mg) en EtOH (10 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 34 (82 mg, 89%) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (400
- 20 MHz, CDCl_3): δ 6,96 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,62 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 4,69 (q, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,15 (dd, $J = 10,8, 5,5$ Hz, 1H), 4,13-4,09 (m, 1H), 4,01-3,93 (m, 1H), 3,89-3,78 (m, 1H), 3,75-3,68 (m, 1H), 3,62-3,43 (m, 4H), 3,40 (t, $J = 11,3$ Hz, 1H), 3,35 (dd, $J = 13,5, 4,0$ Hz, 1H), 3,26 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 3,23-3,13 (m, 1H), 2,48 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 1,86-1,76 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,33 (d, $J = 5,1$ Hz, 3H).

Preparación del producto intermedio 171

Esquema 30



- Se añadió AcOH (5,32 ml, 88,8 mmol) a una solución del compuesto 148 (6,40 g, 29,6 mmol) y el triol 165 (11,9 g, 44,5 mmol) en MeOH (300 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de que se añadiera NaCNBH₃ (3,73 g, 59,2 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron compuesto 165 (11,9 g, 44,5 mmol), AcOH (5,32 ml, 88,8 mmol) y NaCNBH₃ (3,73 g, 59,2 mmol) adicionales y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 14 h. Se añadieron compuesto 165 (7,93 g, 29,6 mmol), AcOH (3,55 ml, 59,2 mmol) y NaCNBH₃ (2,80 g, 44,4 mmol) adicionales y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 10 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO₃ saturado y el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. Se encontró una purificación difícil mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 150 y 169 (20 g, mezcla). La mezcla se usó directamente para la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 170;

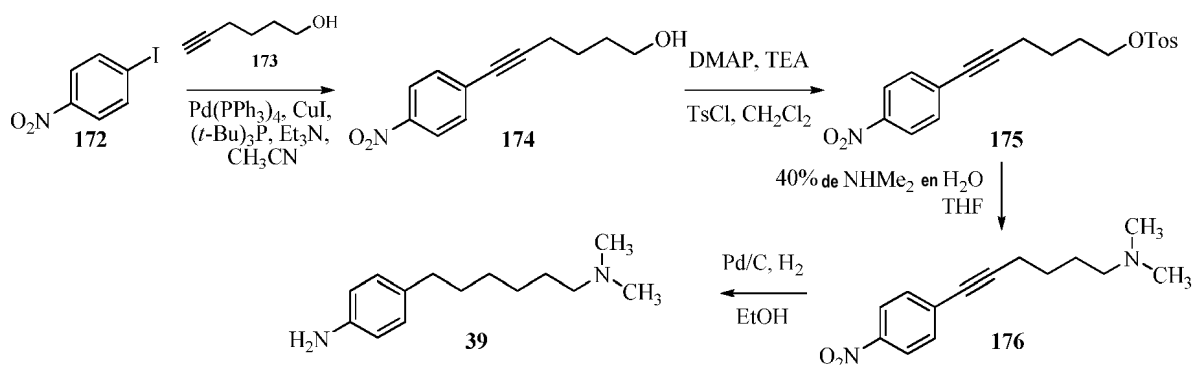
- Una solución de 150 y 169 (20,0 g, mixture) en MeOH (120 ml) y agua (40 ml) se cargó con NaHCO₃ saturado (9,99 g, 118,4 mmol) a 0°C y se agitó durante 10 min. Se añadió (Boc)₂O (9,69 g, 44,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 10 min a la misma temperatura, se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otras 2 h. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml) y la solución se lavó con agua (100 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH 8:2) para suministrar el compuesto 150 (1,50 g) y 170 (4,50 g) como un sólido blancuzco. ESI-MS *m/z* 529 [C₂₇H₃₂N₂O₉+H]⁺.

Preparación del Compuesto 171

- Una suspensión del compuesto 170 (4,20 g, 7,92 mmol) y Pd al 10%/C (500 mg) en EtOH (100 ml) y AcOH (10 ml) se desgasificó con argón durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío, se neutralizó con Na₂CO₃ y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH 8:2) para suministrar el compuesto 172 (2,70 g, 68%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,52-7,44 (m, 2H), 7,36-7,29 (m, 3H), 6,89 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6,64 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 5,54 (s, 1H), 4,23 (dd, *J* = 11,9, 5,9 Hz, 1H), 4,10-3,97 (m, 1H), 3,97-3,89 (m, 1H), 3,81-3,75 (m, 1H), 3,74-3,69 (m, 1H), 3,60 (t, *J* = 10,9 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 14,1, 4,6 Hz, 1H), 3,28-3,22 (m, 3H), 2,41 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,83-1,71 (m, 2H), 1,41 (s, 9H).

Preparación del producto intermedio 39

Esquema 31



La solución del compuesto 17 (30,0 g, 121 mmol) y 173 (14,2 g, 145 mmol) en acetonitrilo anhidro (300 ml) se desgasificó durante 10 min bajo atmósfera de argón seguido por la adición de TEA (67 ml, 484 mmol), 10% de (t-Bu)₃P en hexanos (49,0 ml, 24,2 mmol) y CuI (1,15 g, 6,05 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante otros 10 min y se añadió Pd(PPh₃)₄ (14,0 g, 12,1 mmol) en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla resultante se calentó a 50°C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/EtOAc 2:3) para suministrar el compuesto 174 (15,0 g, 58%) como un aceite pardo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,14 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,50 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,71 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,50 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,80-1,70 (m, 4H), 1,70-1,65 (m, 1H).

Preparación del Compuesto 175;

Se añadieron Et₃N (28,0 ml, 203,7 mmol) y DMAP (4,12 g, 33,9 mmol) bajo argón a 0°C a una solución del compuesto 174 (15,0 g, 67,9 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (50 ml). Después de que la mezcla de reacción se agitara durante 5 min a la misma temperatura, se añadió TsCl (32,5 g, 170 mmol), a 0°C. La mezcla resultante se agitó durante 4 h adicionales a temperatura ambiente. Después de que se retirara el disolvente; el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (250 ml) y agua (150 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 250 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/EtOAc) para suministrar el compuesto 175 (15,0 g, 60%) como un aceite pardo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,15 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,79 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,50 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,34 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,10 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,44 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,90-1,79 (m, 2H), 1,75-1,61 (m, 2H).

Preparación del Compuesto 176;

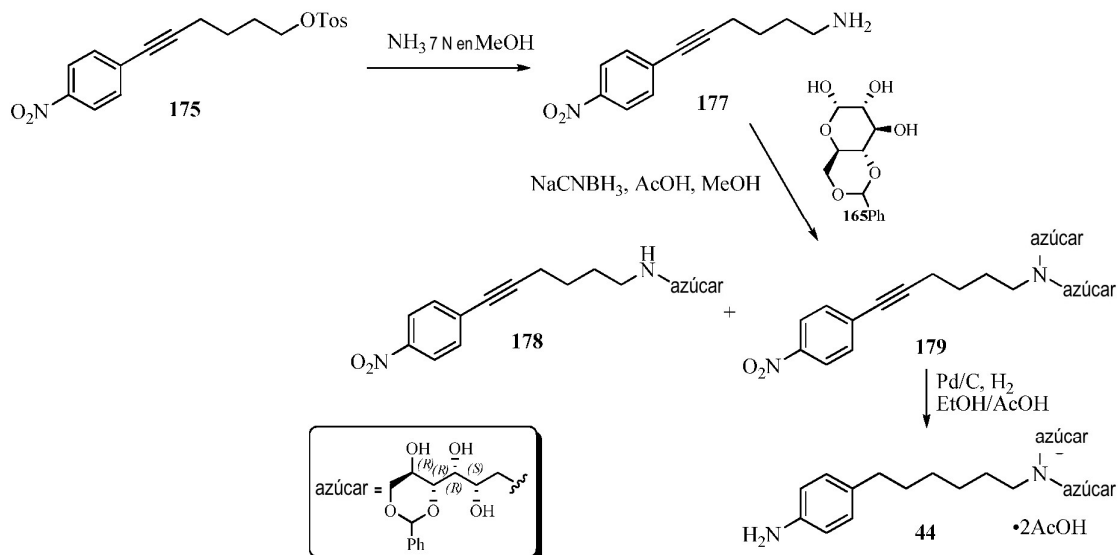
Se añadió NHMe₂ en agua (30%, 50,0 ml) a una solución del compuesto 175 (5,00 g, 12,9 mmol, bruto) en THF (10 ml) y a continuación se agitó a ta en un tubo cerrado herméticamente durante 3 h. Después de que el disolvente se retirara; el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para suministrar el compuesto 176 (400 mg, 13%) como un sólido pegajoso amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,15 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 7,51 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 2,48 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,30 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,23 (s, 6H), 1,70-1,61 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 39;

Una suspensión del compuesto 176 (400 mg, 1,62 mmol) y Pd al 10%/C (50 mg) en EtOH (50 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 39 (300 mg, 84%) como un sólido pegajoso pardo. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 6,91 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 6,65 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 2,47 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,30 (dd, J = 8,4, 6,5 Hz, 2H), 2,23 (s, 6H), 1,60-1,52 (m, 2H), 1,51-1,41 (m, 2H), 1,38-1,27 (m, 4H).

31 Preparación del producto intermedio 44

Esquema 32



Preparación del Compuesto 177;

- 5 Una solución del compuesto 175 (6,00 g, 16,0 mmol) en NH_3 7 N en metanol (150 ml) se calentó a 30°C en un tubo cerrado herméticamente durante 5 h. La temperatura se elevó hasta 40°C y se agitó durante 16 h y a continuación la temperatura se elevó de nuevo hasta 60°C y se agitó durante 4 h. Después de que el disolvente se retirara; el residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1) para suministrar el compuesto 177 (1,48 g, 43%) como un aceite amarillo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,16 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,61 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,08-2,05 (m, 2H), 1,65-1,53 (m, 4H).

Preparación de los Compuestos 178 y 179;

- 15 Se añadió AcOH (0,6 ml, 9,49 mmol) a una solución del compuesto 177 (1,38 g, 6,33 mmol) y el triol 165 (2,03 g, 7,59 mmol) en MeOH (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después de que se añadiera NaCNBH_3 (800 mg, 12,7 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron compuesto 165 (2,55 g, 9,49 mmol), AcOH (0,80 ml, 12,7 mmol) y NaCNBH_3 (1,19 g, 18,9 mmol) adicionales y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron compuesto 165 (2,55 g, 9,49 mmol), AcOH (0,80 ml, 12,7 mmol) y NaCNBH_3 (1,19 g, 18,9 mmol) adicionales y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO_3 saturado y el residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 80:18:2) para suministrar el compuesto 179 (2,28 g, 51%) como un sólido blancuzco. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 8,14 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,47-7,44 (m, 4H), 7,34-7,30 (m, 6H), 5,48 (s, 2H), 4,24-4,19 (m, 2H), 3,99-3,94 (m, 4H), 3,86-3,84 (m, 2H), 3,73-3,69 (m, 2H), 3,57 (t, J = 10,8 Hz, 4H), 3,35-3,25 (m, 4H), 2,33 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 1,61-1,51 (m, 4H).

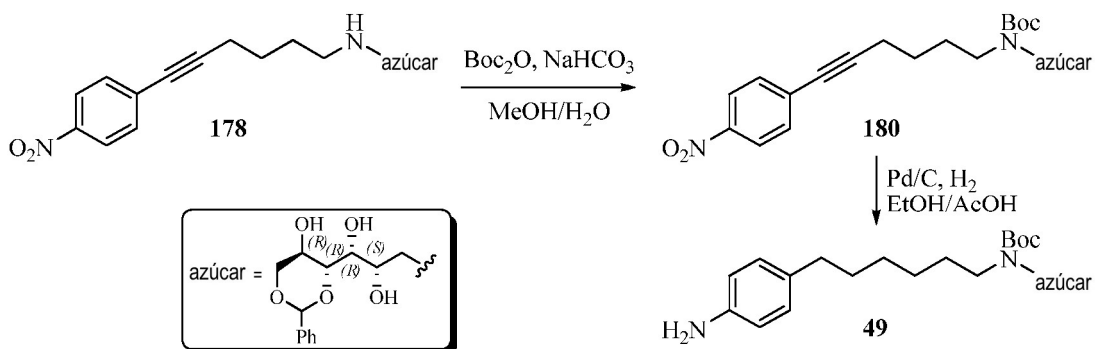
- 30 Asimismo, una mezcla de 178/179 (900 mg) se aisló y se usó directamente para la siguiente etapa (SG-GHC-G-106).

Preparación del Compuesto 44;

Una suspensión del compuesto 179 (2,26 g, 3,11 mmol) y Pd al 10%/C (100 mg) en una mezcla de EtOH (50 ml) y AcOH (10 ml) se desgasificó con argón durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 44 (1,90 g, 80%) como un sólido pardo. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,46-7,44 (m, 4H), 7,33-7,31 (m, 6H), 6,89 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,65 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,51 (s, 2H), 4,26-4,14 (m, 2H), 3,93-3,90 (m, 2H), 3,76-3,73 (m, 4H), 3,63-3,58 (m, 4H), 3,35-3,25 (m, 2H), 3,10-3,00 (m, 2H), 2,41 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,47-1,45 (m, 4H), 1,16-1,12 (m, 4H).

Preparación del producto intermedio 49

Esquema 33



Preparación del Compuesto 180;

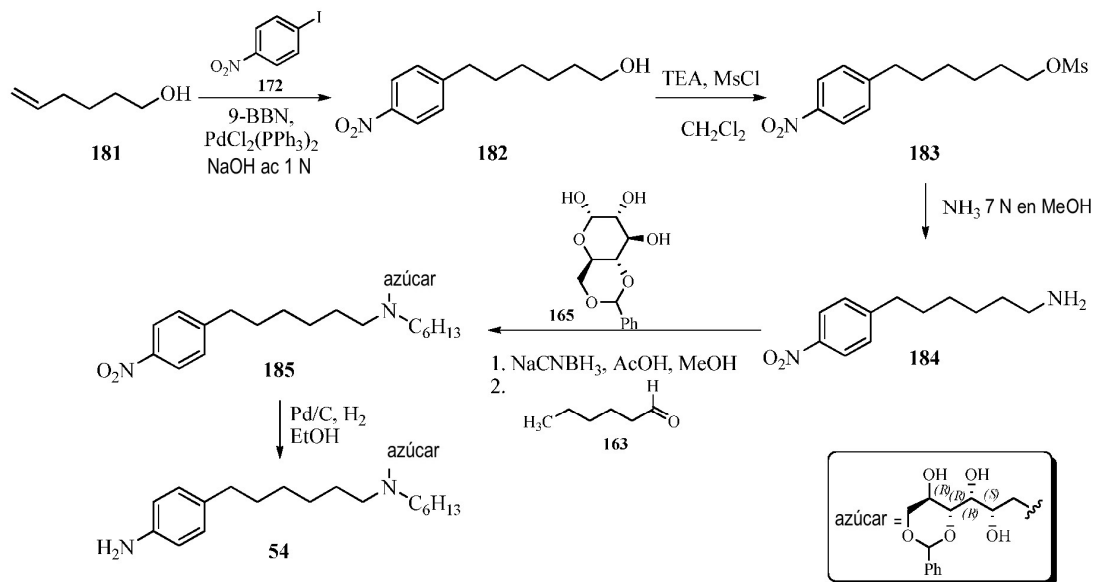
Una solución de 178 (900 mg, mezcla, aprox. 2,0 mmol) en una mezcla de MeOH (20 ml) y agua (10 ml) y se cargó con NaHCO₃ (672 mg, 4,0 mmol) a 0°C y se agitó durante 10 min. Se añadió (Boc)₂O (524 mg, 2,40 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a la misma temperatura, se llevó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otras 4 h. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml) y la solución se lavó con agua (100 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH 8:2) para suministrar el compuesto 180 (780 mg, 64%) como un sólido blancuzco. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 8,16 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 7,55 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 7,50-7,47 (m, 2H), 7,34-7,30 (m, 3H), 5,53 (s, 1H), 4,25-4,20 (m, 1H), 4,10 (br s, 1H), 3,94-3,91 (m, 1H), 3,80-3,48 (m, 4H), 3,35-3,25 (m, 3H), 2,46 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 1,70-1,49 (m, 4H), 1,43 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 49;

Una suspensión del compuesto 180 (780 mg, 1,36 mmol) y Pd al 10%/C (50 mg) en una mezcla de EtOH (10 ml) y AcOH (2,0 ml) se desgasificó al burbujear con argón usando una jeringa durante 10 min y a continuación se agitó a ta bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con Na₂CO₃, se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 49 (625 g, 84%) como un sólido blanco. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7,50-7,46 (m, 2H), 7,32-7,30 (m, 3H), 6,90 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,66 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,53 (s, 1H), 4,25-4,20 (m, 1H), 4,04 (br s, 1H), 3,94-3,89 (m, 1H), 3,77-3,43 (m, 4H), 3,35-3,25 (m, 3H), 2,45 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,52-1,47 (m, 4H), 1,42 (s, 9H), 1,27-1,24 (m, 4H).

Preparación del producto intermedio 54

Esquema 34



Preparación del Compuesto 182;

- 5 Se añadió 9-BBN (0,5 M en THF, 80 ml, 40,0 mmol) bajo argón a una solución del compuesto 181 (1,60 g, 16,00 mmol) en THF anhidro (40 ml). Después de que la mezcla de reacción se agitara durante 2 h a temperatura ambiente, se añadieron el compuesto 172 (3,17 g, 12,8 mmol), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (561 mg, 0,80 mmol) y NaOH ac 1 N (24 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 1 h adicional. Después de que se retirara el disolvente; el residuo se repartió entre EtOAc (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 × 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/EtOAc 4:1) para suministrar el compuesto 182 (1,20 g, 34%) como un sólido pardo. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,13 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,31 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 3,64 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,71 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 1,73-1,46 (m, 4H), 1,43-1,31 (m, 4H).

15 Preparación del Compuesto 183

- Se añadió Et₃N (7,32 ml, 53,8 mmol) bajo argón a 0°C a una solución del compuesto 182 (1,20 g, 5,38 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 ml). Después de que la mezcla de reacción se agitara durante 5 min a la misma temperatura, se añadió cloruro de mesilo (0,62 ml, 8,07 mmol) a 0°C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h adicionales a ta. Después de que el disolvente se retirara; el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (50 ml) y agua (50 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo vacío. El producto en bruto 183 (3,00 g, bruto) se usó directamente para la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 184;

- Una solución del compuesto 183 (3,00 g, 5,38 mmol, bruto) en NH₃ 7 N en metanol (30,0 ml) se calentó a 60°C en un tubo cerrado herméticamente durante 2 h. Después de que el disolvente se retirara; el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice) para suministrar el compuesto 184 (390 mg, 33%, a lo largo de dos etapas) como un aceite amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,14 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,42 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,67 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,72-1,63 (m, 2H), 1,53-1,46 (m, 2H), 1,42-1,35 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 185;

Se añadió AcOH (1,16 ml, 27,8 mmol) a una solución del compuesto 184 (620 mg, 2,79 mmol) y el triol 165 (938 mg, 3,49 mmol) en MeOH (30 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Después de que se añadiera NaCNBH₃ (526 mg, 8,37 mmol), la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron compuesto 165 (0,3 equiv), AcOH (10 equiv) y NaCNBH₃ (1,0 equiv) adicionales a lo largo de 16 h. A continuación, se añadieron hexanal 163 (0,96 ml, 8,37 mmol), AcOH (1,00 ml) y NaCNBH₃ (526 mg, 8,37 mmol). La solución se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la retirada del disolvente, el residuo se neutralizó con NaHCO₃ saturado y el residuo se repartió entre EtOAc (100 ml) y agua (100 ml). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 × 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron bajo vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 9:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:18:2) para suministrar el compuesto 185 (950 g, 61 %) como un aceite blancuzco. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,02 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,48-7,42 (m, 3H), 7,37-7,34 (m, 2H), 7,31 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 5,54 (s, 1H), 4,46-4,40 (m, 1H), 4,30 (dd, J = 11,6, 6,6 Hz, 1H), 4,03 (t, J = 4,0 Hz, 1H), 3,97 (dd, J = 10,5, 5,4 Hz, 1H), 3,88 (dd, J = 9,4, 4,0 Hz, 1H), 3,65 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 3,11-3,00 (m, 4H), 2,69 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,00 (s, 1H), 1,70-1,55 (m, 6H), 1,37-1,30 (m, 4H), 1,29-1,20 (m, 8H), 0,87 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto 54;

Una suspensión del compuesto 185 (950 g, 1,70 mmol) y Pd al 10%/C (300 mg) en EtOH (100 ml) se desgasificó con argón durante 10 min y a continuación se agitó bajo atmósfera de hidrógeno (globo, 1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para suministrar 54 (790 mg, 88%) como un aceite amarillo. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,51-7,44 (m, 2H), 7,35-7,29 (m, 3H), 6,90 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,65 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,54 (s, 1H), 4,24 (dd, J = 10,8, 5,4 Hz, 1H), 4,08-4,02 (m, 1H), 4,00-3,92 (m, 1H), 3,91 (dd, J = 5,6, 1,8 Hz, 1H), 3,78 (dd, J = 9,6, 1,8 Hz, 1H), 3,61 (t, J = 10,9 Hz, 1H), 3,01 (dd, J = 13,7, 5,4 Hz, 1H), 2,91 (dd, J = 12,1, 8,1 Hz, 1H), 2,82-2,71 (m, 4H), 2,45 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,59-1,42 (m, 6H), 1,37-1,13 (m, 10H), 0,89 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Se pueden usar varios ensayos para caracterizar los compuestos de la presente invención. Se analizan posteriormente ensayos representativos.

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

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 por el fármaco luminal de corrientes de sodio epiteliales de las vías respiratorias medida bajo corriente de cortocircuito (I_{SC}) usando monocapas epiteliales de las vías respiratorias montadas en cámaras de Ussing. Células obtenidas de vías respiratorias de ser humano, perro, oveja o roedor extirpadas recientemente se siembran sobre inserciones Snapwell™ porosas de 0,4 micras (CoStar), se cultivan en condiciones de interfase aire-líquido (ALI) en medios hormonalmente definidos y se ensayan con respecto a la actividad de transporte de sodio (I_{SC}) mientras se bañan en Krebs-bicarbonato-Ringer (KBR) en cámaras de Ussing. Todas las adiciones de fármaco de prueba son al baño luminal con protocolos de adición de dosis semilogarítmica (de 1 × 10⁻¹¹ M a 3 × 10⁻⁵ M) y se registra el cambio acumulativo en I_{SC} (inhibición). Todos los fármacos se preparan en dimetilsulfóxido como soluciones de reserva a una concentración de 1 × 10⁻² M y se almacenan a -20°C. Típicamente, se prueban ocho preparaciones en paralelo; dos preparaciones por prueba incorporan amilorida y/o benzamilo como controles positivos. Después de que se administrara la concentración máxima (5 × 10⁻⁵ M), el baño luminal se intercambia tres veces con solución de KBR reciente libre de fármaco y la I_{SC} resultante se mide después de cada lavado a lo largo de aproximadamente 5 minutos. La reversibilidad se define como el porcentaje de retorno hasta el valor de referencia para la corriente de sodio después del tercer lavado. Todos los datos de los pinchamientos de voltaje se recogen a través de una interfaz informática y se analizan fuera de línea.

Las relaciones dosis-efecto para todos los compuestos se consideran y se analizan mediante el programa Prism 3.0. Los valores de IC₅₀, las concentraciones eficaces máximas y la reversibilidad se calculan y se comparan con la amilorida y el benzamilo como controles positivos. La potencia de la actividad de bloqueo de canales del sodio de compuestos representativos con relación a la amilorida en células recientemente extirpadas de vías respiratorias caninas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Inhibición de la corriente de cortocircuito por el Compuesto (Ia) en células epiteliales bronquiales caninas (IC₅₀ nM)

Compuesto Número	Potencia del Bloqueo del Canal del Sodio IC ₅₀ nM
Amilorida	773
23	20,7
38	25,4
28	7,4
33	21,8
16	79,6
103	17,9
99	7,6
94	21,2
80	19,4
135	5,2
131	6,0
123	2,3
127	8,6
139	73,7
43	50,1
53	15,5
58	10,6
48	47

5 Ensayo 2. Estudios de depuración mucociliar (MCC) en ovejas

El modelo animal que se ha usado más a menudo para medir cambios en la MCC es el modelo en ovejas. El efecto de los compuestos para intensificar la depuración mucociliar (MCC) se puede medir usando un modelo in vivo descrito por Sabater y cols., Journal of Applied Physiology, 1999, pp. 2191-2196, incorporado en la presente mediante referencia.

En estos estudios, ovejas adultas se retuvieron y se intubaron nasalmente con un tubo endotraqueal. Se administran artículos de prueba aerosolizados a lo largo de 10-15 minutos a las ovejas. A continuación, se administró coloide de ^{99m}Tc-azufre radiomarcado (TSC, 3,1 mg/ml; que contenía aproximadamente 20 mCi) en un momento específico cuatro u ocho horas después del artículo de prueba. El aerosol radiomarcado se administró a través del tubo endotraqueal durante aproximadamente 5 minutos. A continuación, las ovejas se extubaron y los recuentos radiactivos totales en el pulmón se midieron cada 5 minutos durante un período de observación de 1 hora. La velocidad de depuración de radiomarcador del pulmón es representativa de la velocidad de MCC en el animal. La ventaja de este sistema es que simula estrechamente el ambiente del pulmón humano. El modelo también permite la recogida de información farmacocinética/farmacodinámica simultánea a través del muestreo de plasma y orina a lo largo del período de prueba. También hay varias técnicas para medir las concentraciones de fármaco sobre la superficie de las vías respiratorias durante las medidas de la MCC. Estas incluyen la recogida de condensados respiratorios exhalados o un método con papel de filtro para obtener ASL a través de broncoscopia.

El modelo ovino descrito anteriormente se usó para evaluar los efectos in vivo (eficacia/durabilidad) de un agente de prueba aportador en aerosol sobre la MCC. Se probaron tratamientos que consistían bien en 4 ml de agente de prueba o bien agente de prueba en combinación con HS. Para determinar si combinar HS con agente de prueba intensificaba la MCC, se administró HS inmediatamente después de la administración del agente de prueba. Se aerosolizaron las soluciones de prueba usando un nebulizador Raindrop a un caudal de ocho litros por minuto y se conectaron a un sistema dosimétrico que consistía en una válvula de solenoide y una fuente de aire comprimido [0,14 MPa (20 psi)]. Se estima que la dosis depositada de fármaco en los pulmones de las ovejas después de la

administración de aerosol usando el nebulizador Raindrop es 8-15% de la dosis. Usando un nebulizador Raindrop, se administró TSC radiomarcado a lo largo de aproximadamente 3 minutos bien 4 o bien 8 horas después del tratamiento con fármaco para evaluar la eficacia/durabilidad. Los recuentos radiactivos se midieron en una región central del pulmón derecho a intervalos de 5 min durante una hora con una gammacámara. Se utilizaron tres métodos de análisis, 1) velocidad inicial de depuración (pendiente) a lo largo de los primeros 30 min ajustada usando regresión lineal 2) área bajo la curva para % de depuración a lo largo de una hora y 3) la depuración máxima obtenida en una hora.

El efecto del Compuesto 33 a 0,24 nmol/kg (3 μ M) se midió y se comparó con el vehículo (4 ml de H₂O estéril) sobre MCC ovina cuatro horas después de la dosificación (Figura 1). Los análisis de los efectos se muestran en la Tabla A. El Compuesto 33 intensificaba la MCC en comparación con el control de vehículo.

Tabla A. MCC en Ovejas 4 horas después de la dosificación de Compuesto 33 o vehículo

Dosis de Compuesto 33	Pendiente Inicial (4,0-4,5 h)	AUC (% CI - h)	Depuración Máxima
0,24 nmol/kg (3 μ M)	37,5* (4)	17,4* (4)	30,0* (4)
Vehículo (H ₂ O) 4 ml	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Las Tablas B y C junto con las Figuras 2 y 3 demuestran que otros compuestos de esta invención intensifican de forma similar la MCC en comparación con el vehículo (véanse, p. ej., los Compuestos 123 y 48)

Tabla B. MCC en Ovejas 4 horas después de la dosificación de Compuesto 123 o vehículo

Dosis de Compuesto 123	Pendiente Inicial (4,0-4,5 h)	AUC (% CI - h)	Depuración Máxima
0,24 nmol/kg (3 μ M)	29,2* (2)	14,4* (2)	22,8* (2)
Vehículo (H ₂ O) 4 ml	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Tabla C. MCC en Ovejas 4 horas después de la dosificación de Compuesto 48 o vehículo

Dosis de Compuesto 48	Pendiente Inicial (4,0-4,5 h)	AUC (% CI - h)	Depuración Máxima
0,24 nmol/kg (3 μ M)	29,8* (2)	15,4* (2)	26,7* (2)
Vehículo (H ₂ O) 4 ml	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Para determinar si los compuestos de esta invención han intensificado la duración de la acción, se probaron 8 horas después de la dosificación. Las Tablas D y E junto con las Figuras 4 y 5 muestran claramente una acción de duración intensificada de la MCC frente al vehículo para los Compuestos 33 y 152.

Tabla D. MCC en ovejas 8 h después de la dosificación de Compuesto 33 o vehículo

Dosis de Compuesto 33	Pendiente Inicial (8,0-8,5 h)	AUC (% CI - h)	Depuración Máxima
0,24 nmol/kg (3 μ M)	25,8* (4)	11,7* (4)	21,4* (4)
Vehículo (H ₂ O) 4 ml	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Tabla E. MCC en ovejas 8 h después de la dosificación de Compuesto 152 o vehículo

Dosis de Compuesto 152	Pendiente Inicial (8,0-8,5 h)	AUC (% CI - h)	Depuración Máxima
0,24 nmol/kg (3 μ M)	37,5* (4)	17,4* (4)	30,0* (4)
Vehículo (H ₂ O) 4 ml	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Para determinar si la HS incrementa el efecto sobre la MCC del Compuesto 33, se dosificó 7% de HS inmediatamente después de 0,24 nmol/kg del Compuesto 33 y la MCC se evaluó ocho horas después de la dosificación combinada (Figura 6). La HS incrementaba el efecto del Compuesto 33 sobre la MCC según se muestra en la Figura 6.

Ensayo 3. Depuración de fármaco de líquido superficial de las vías respiratorias (ASL) y metabolismo epitelial de las vías respiratorias humanas

La desaparición de 33 de la superficie apical y el metabolismo epitelial de las vías respiratorias se evaluaron en células epiteliales bronquiales humanas (HBE) (Tabla 3). En estos experimentos, se añadieron 25 µl de una solución 25 µM de bloqueante ENaC a la superficie apical de células HBE desarrolladas en una interfase aire/líquido y se midió la concentración de fármaco y metabolito en el compartimento apical y basolateral a lo largo de 2 h mediante UPLC.

Tabla G. Desaparición apical y metabolismo del Compuesto 33

Compuesto	% de Masa de Fármaco Inicial sobre la Cara Apical (Original y metabolito, 2 h)	% de Masa Apical como Metabolitos (2 h)	% de Masa Apical sobre la Cara Basolateral (2 h)	% sobre la Cara Basolateral como Metabolitos (2 h)
33	44,8±18%	4%	1,1±0,45%	32%

Los valores representan la media ± DE

Ejemplo comparativos

Los presentes compuestos de Fórmula (I) son más potentes y/o se absorben menos rápidamente de las superficies mucosas, especialmente las superficies de las vías respiratorias, en comparación con bloqueantes de canales del sodio conocidos, tales como amilorida y compuestos de tercera generación tales como el Ejemplo comparativo 1 descrito posteriormente. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula (I) tienen una semivida más prolongada sobre las superficies mucosas en comparación con estos compuestos conocidos como se evidencia por los datos mostrados en la Tabla G. La desaparición del Compuesto 33 de la superficie apical y el metabolismo epitelial de las vías respiratorias se evaluaron en HBE y se compararon con el Ejemplo comparativo 1 (Tabla H). En estos experimentos, se añadieron 25 µl de una solución 25 µM de bloqueante ENaC a la superficie apical de células HBE que crecían en una interfase aire/líquido y la concentración de fármaco en el compartimento apical y basolateral se midió a lo largo de 2 h mediante UPLC. Después de 2 h de incubación de los compuestos de la presente invención sobre la superficie apical (37°C), el Compuesto 33 estaba en gran parte sin metabolizar sobre la cara apical. A la inversa, la mayor parte del Ejemplo comparativo 1 se eliminaba de la cara apical con 83% metabolizado hasta el ácido carboxílico menos activo, ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropiracino-2-carbonil)guanidino)butil)fenoxi)propanoico, estructura siguiente.

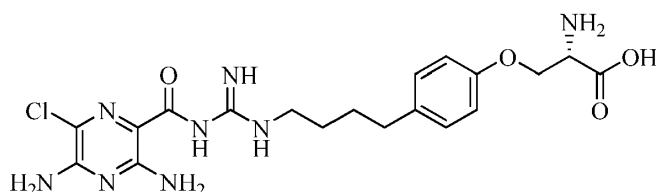


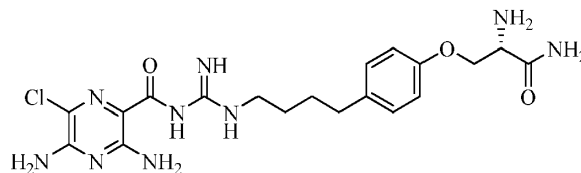
Tabla H. Desaparición apical y metabolismo del Compuesto 33 frente al Ejemplo comparativo 1 en HBE

Compuesto	% de Masa de Fármaco Inicial sobre la Cara Apical (Original y metabolito, 2 h)	% de Masa Apical como Metabolitos (2 h)	% de Masa Apical sobre la Cara Basolateral (2 h)	% sobre la Cara Basolateral como Metabolitos (2 h)
33	44,8±18%	4%	1,1±0,45%	32%
Ejemplo comparativo 1	41,6±7,6% (8% del original)	83,0±3,5%	8,3±0,2 (1% del original)	94,7±1,0%

Los valores representan la media ± DE

El Ejemplo comparativo 1 se reivindica, se describe o está dentro de las divulgaciones del documento WO 2003/070182 (Patentes de EE. UU. Nº. 6.858.615, 7.186.833, 7.189.719, 7.192.960 y 7.332.496), como bloqueante de canales del sodio que tiene propiedades medicinales útiles y se puede preparar mediante métodos descritos en la presente y otros conocidos en la especialidad.

Ejemplo comparativo 1.



(S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2,3-diamino-3-oxopropoxi)fenil)butil)carbamimidoil)piracino-2-carboxamida

- 5 El compuesto del Ejemplo comparativo 1 se puede observar en la página 15 del documento US 2005/0080093 y como el Compuesto 2 en la página 90 del documento WO 2008/031048 y como Compuesto 2 en las páginas 42-43 del documento WO 2008/031028. A fin de tener una actividad útil en el tratamiento de la fibrosis quística y la C.O.P.D, un compuesto debe tener propiedades que provoquen una intensificación de la depuración mucociliar (MCC) a dosis que no eleven en potasio plasmático que conducirían finalmente a hipercalcemia, una afección grave y peligrosa, con una dosificación múltiple. Por lo tanto, se debe evitar esta clase de compuestos, que se sabe que elevan el potasio plasmático si son excretados significativamente por el riñón. A fin de evaluar este potencial, es beneficioso tener actividad de MCC in vivo y no provocar la elevación del potasio plasmático a la dosis útil. Un modelo para evaluar esto es el modelo de MCC ovina descrito posteriormente.
- 10
- 15 Como se puede observar a partir de la Tabla I y la Figura 7, la ED₅₀ para el Ejemplo comparativo 1 en el modelo de MCC ovina es aproximadamente 240 nmol/kg (3 mM) usando tres medidas diferentes (pendiente, AUC y depuración máxima). A esta dosis, que sería una dosis clínicamente activa, el Ejemplo comparativo 1 provoca un aumento en el potasio plasmático (Figura 8) que al repetir la dosificación conducirá a hipercalcemia. Así, el Ejemplo comparativo 1 es inaceptable para uso humano mientras que el Compuesto (la) produce una MCC segura y eficaz con una relación de beneficio a riesgo mayor que 1.000 en este modelo.
- 20

Tabla I. MCC en ovejas 4 horas después de la dosificación de vehículo, Ejemplo comparativo 1 o Compuesto 33

Dosis	Pendiente Inicial (4,0-4,5 h)	AUC (% CI x h)	Depuración Máxima
Ejemplo comparativo 1 240 nmol/kg (3 mM)	32,2±7,3* (6)	14,1±2,2* (6)	22,9±2,1* (6)
Ejemplo comparativo 1 24 nmol/kg (300 µM)	14,5±1,3 (3)	6,9±1,0 (3)	14,6±0,9 (3)
Compuesto 33 0,240 nmol/kg (30 µM)	37,5* (4)	17,4* (4)	30,0* (4)
Vehículo H ₂ O (4 ml)	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

- 25 La Figura 1 representa en forma gráfica el porcentaje de depuración de modo a lo largo del tiempo por el Compuesto 33 y el Ejemplo comparativo 1, según se describe en el modelo de MCC anterior. Un porcentaje de depuración de moco aún mayor era proporcionado por el Compuesto 33 a una dosis 1.000 menor que la observada con el Ejemplo comparativo 1. Así, el Compuesto 33 proporcionaba un efecto máximo en un intervalo de dosificación clínicamente pertinente libre de elevaciones de potasio.
- 30
- La Figura 10 ilustra el incremento significativo en los niveles de potasio plasmático con una dosis eficaz observada en el plasma de las ovejas que reciben el Ejemplo comparativo 1 en el estudio de MCC. El Compuesto 33 es más de 1.000 veces más potente en MCC ovina que el Ejemplo comparativo 1 sin elevación del K plasmático en dosis tan altas como 24 nmol/kg (1.000 veces la dosis ED₅₀), mientras que el Ejemplo comparativo 1 tiene elevaciones de K plasmático con la dosis ED₅₀ aproximada de 3 mM (Figuras 7 y 8). Esto demuestra de nuevo la ventaja de potencia y seguridad única e inesperada del Compuesto 33 como se observa en la Tabla J con un índice terapéutico más de 1.000 veces mayor en seguridad renal que el Ejemplo comparativo 1.
- 35

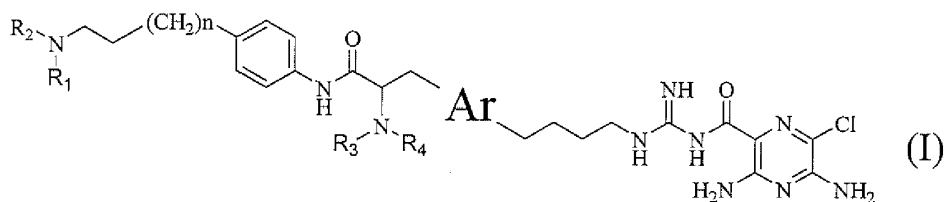
Tabla J. Relación terapéutica (Beneficio/Riesgo)

	Dosis Submáxima Mayor de MCC	Dosis Superior en Ovejas sin Elevación de Potasio Plasmático	Relación Terapéutica
Ejemplo comparativo 1	240 nmol/kg (3 mM)	24 nmol/kg (300 µM)	0,1
33	<0,24 nmol/kg (3 µM)	24 nmol/kg (300 µM)	>100
Relación	>1.000	1	>1.000

Otros compuestos de esta invención tiene ventajas de seguridad y eficacia similares sobre compuestos conocidos según se ejemplifica en las Figuras 11, 12, 13 y 14.

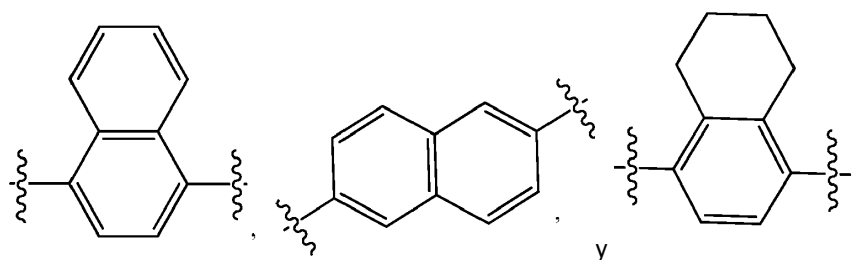
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



5 en la que:

Ar se selecciona de:



n es un número entero seleccionado de 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

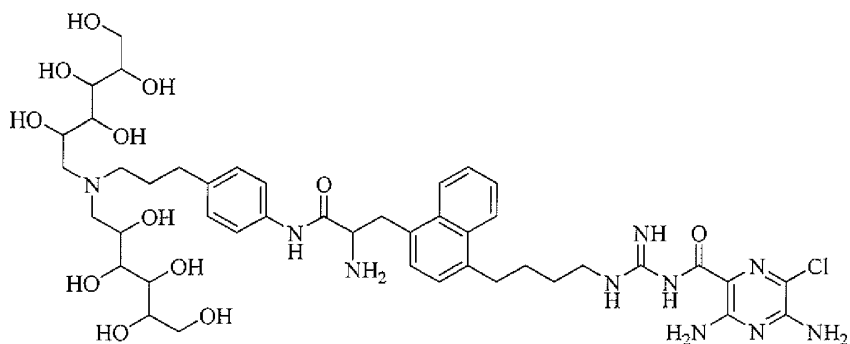
10 R^1 se selecciona de hidrógeno, alquilo C_1-C_8 y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^2 es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C_1-C_3 ;

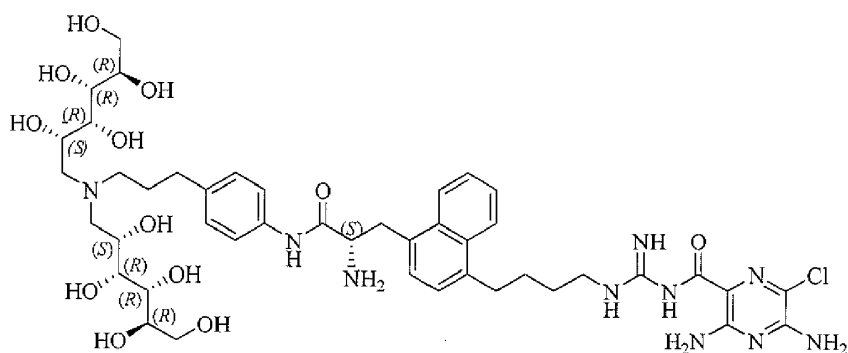
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

15 2. Un compuesto según la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



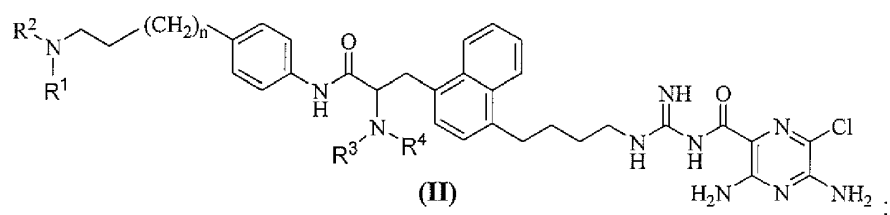
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 3. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 5 4. Un compuesto según la reivindicación 1 de Fórmula (II):



en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

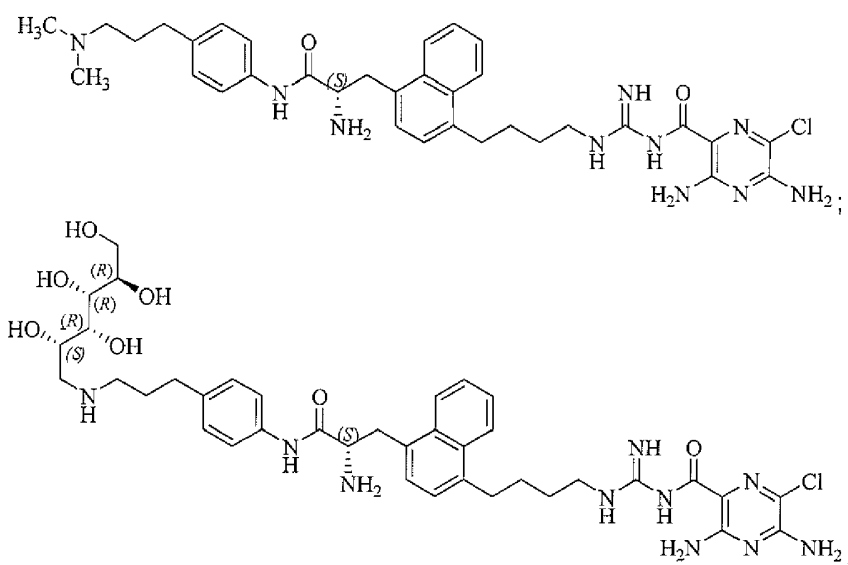
- 10 R^1 se selecciona de hidrógeno, alquilo C_1-C_8 y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^2 es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

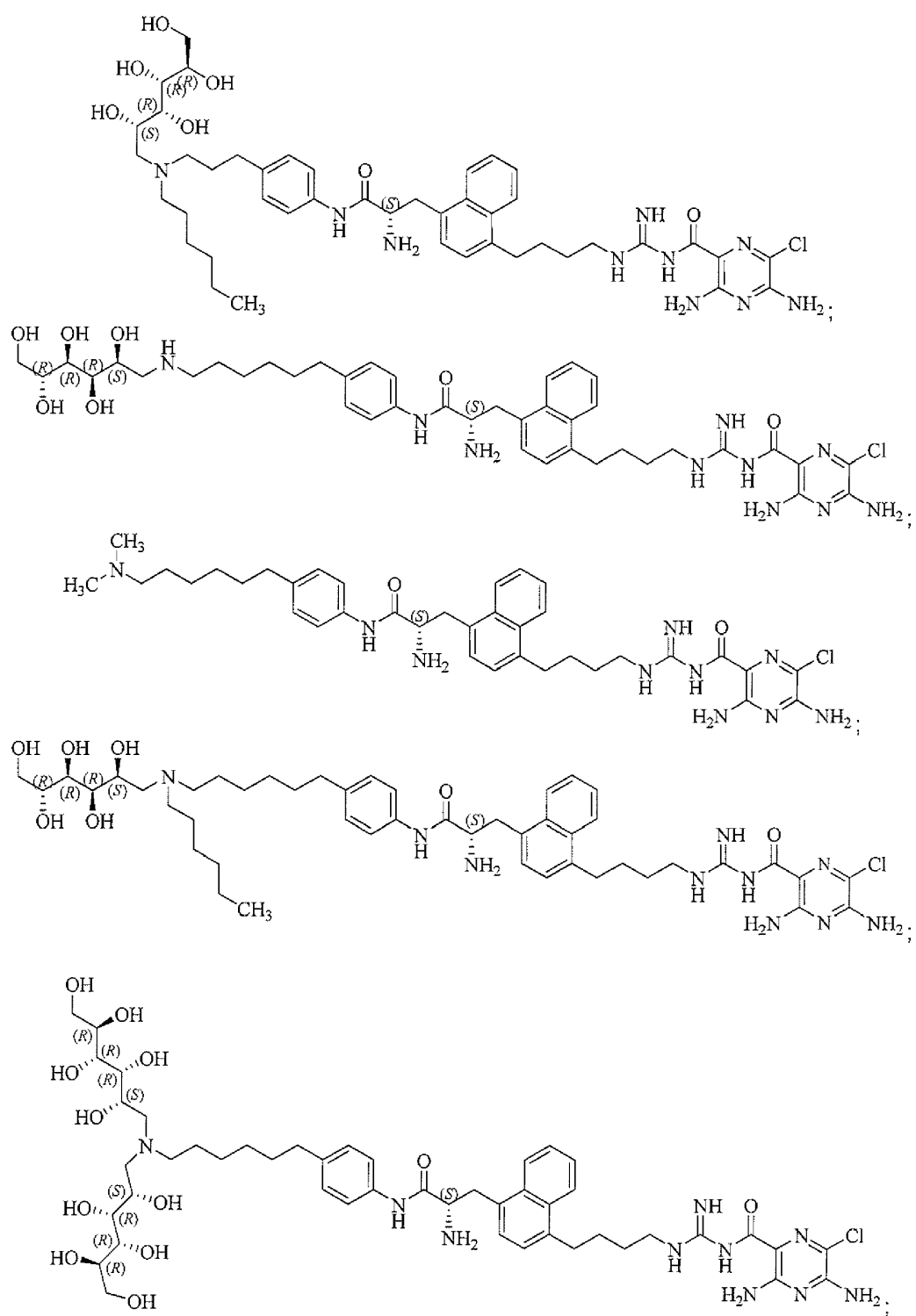
R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C_1-C_3 ;

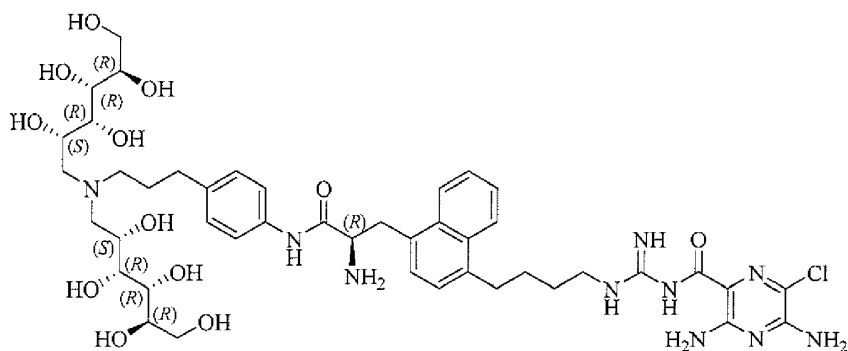
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 15 5. Un compuesto según la reivindicación 4, seleccionado del grupo de:



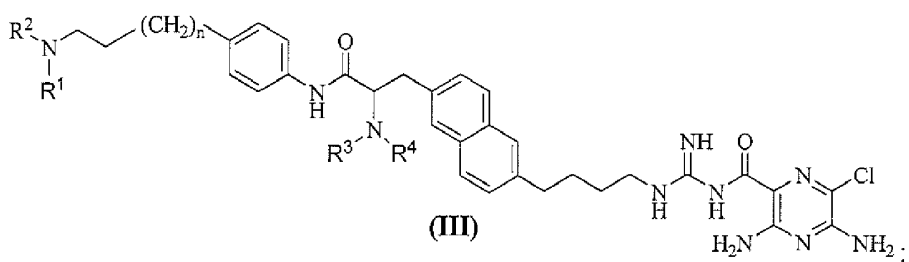
- 20





o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, de Fórmula (III):



en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

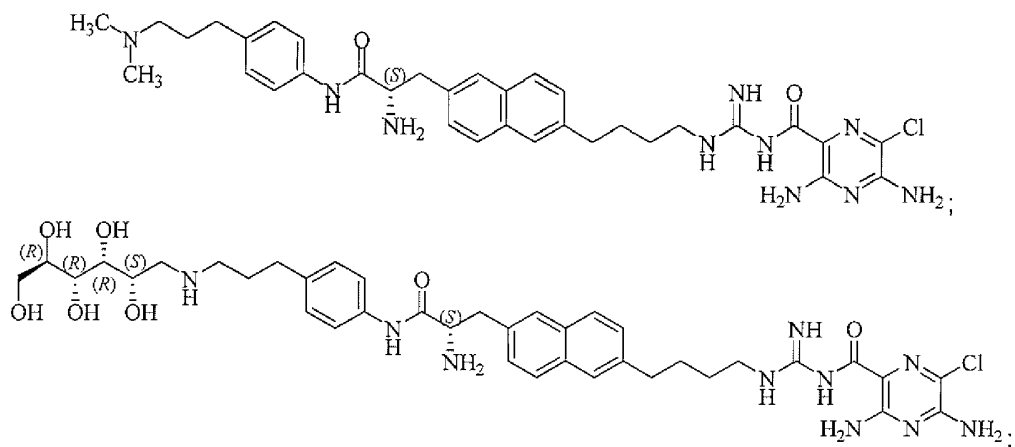
R¹ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

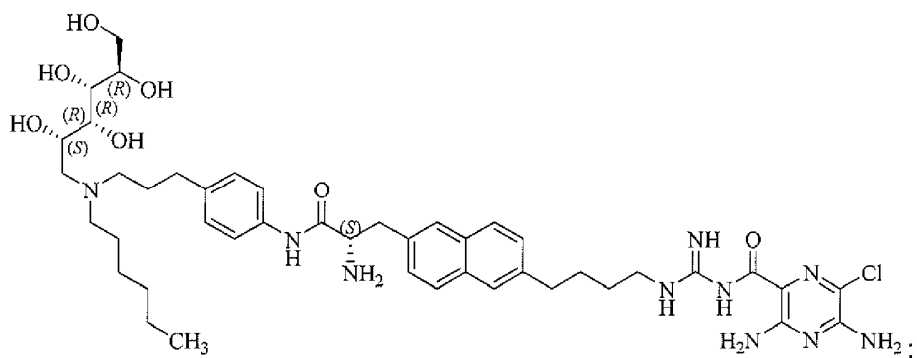
R² es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R³ y R⁴ son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₃;

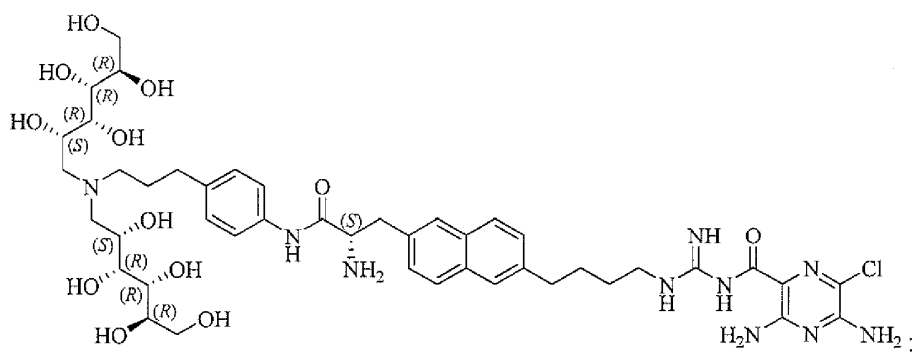
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

7. Un compuesto según la reivindicación 6, seleccionado de:



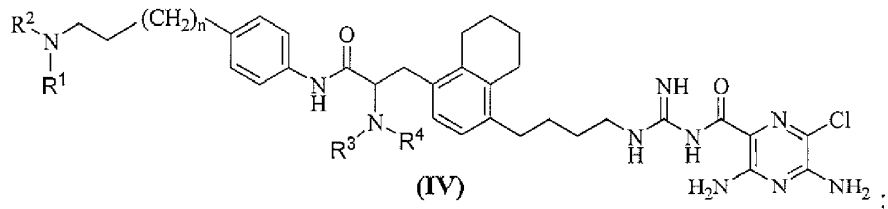


y



5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

8. Un compuesto según la reivindicación 1, de Fórmula (IV):



10 en la que:

n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

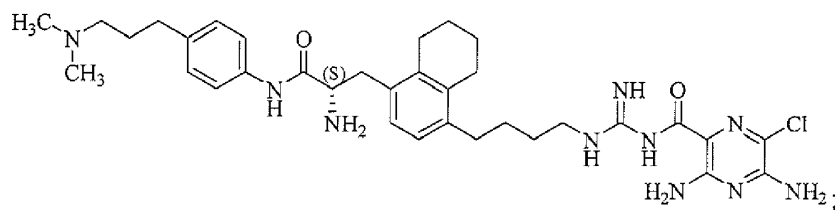
R^1 se selecciona de hidrógeno alquilo C_1-C_8 y un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

R^2 es hidrógeno o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;

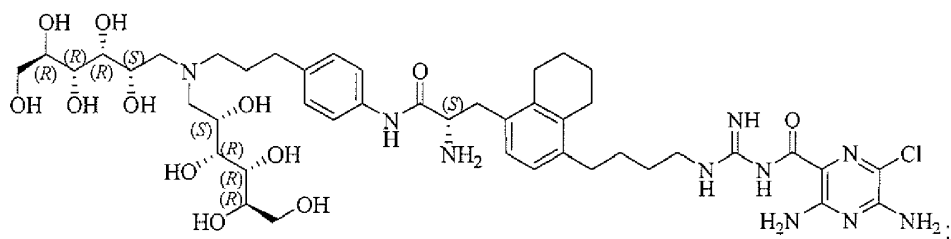
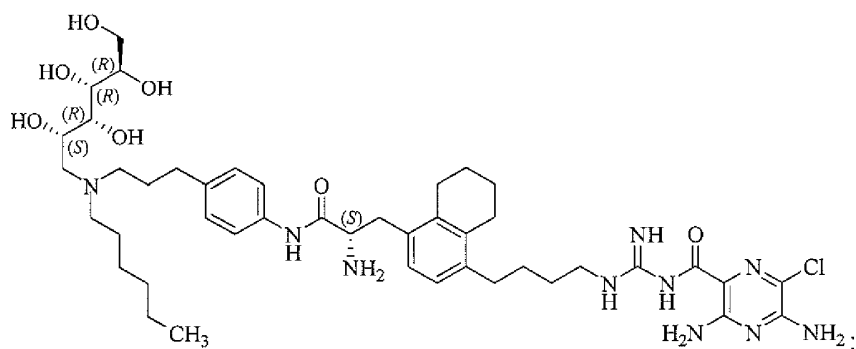
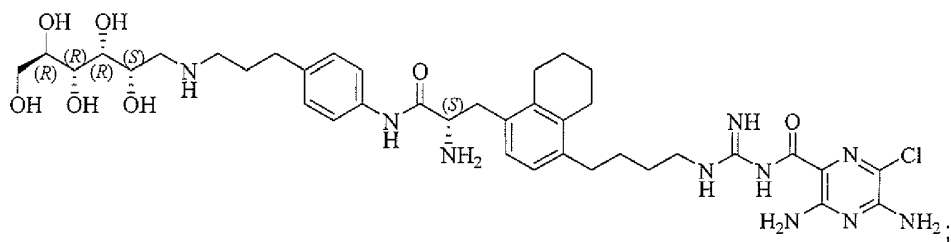
15 R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo C_1-C_3 ;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

9. Un compuesto según la reivindicación 8, seleccionado de:



20



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto según las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

11. La composición farmacéutica según la reivindicación 10, en la que el compuesto es 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-2-amino-3-(4-(3-bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil)amino)-propil)fenilamino)-3-oxopropil)naftalen-1-il)butil)carbamidol)-6-cloropiracino-2-carboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

12. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, en donde dicha composición es adecuada para inhalación o es una solución para aerosolización y administración mediante un nebulizador o es adecuada para la administración mediante un inhalador de dosis medidas o es un polvo seco adecuado para la administración mediante un inhalador de polvo seco.

13. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 10, 11 o 12, que comprende además una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente terapéuticamente activo seleccionado de moduladores de CFTR, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas, agonistas del receptor P2Y2, agonistas de receptores activador por un proliferador de peroxisomas, inhibidores de cinasas, agentes antiinfecciosos y antihistamínicos.

14. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso en un método para promover la hidratación de superficies mucosas o restaurar la defensa mucosa en un ser humano.

15. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso en un método para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) en un ser humano que lo necesite.

16. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso en un método para tratar la fibrosis quística en un ser humano que lo necesite.

17. A compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso en un método para tratar la bronquiectasia en un ser humano que lo necesite.

18. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso en un método para tratar la discinesia ciliar primaria en un ser humano que lo necesite.
- 5 19. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el uso como un medicamento.
- 10 20. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, 23 y 24, para el uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasia debida a afecciones distintas a la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posviral, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplantes y traqueobronquitis asociada al respirador o prevenir neumonía asociada al respirador en un ser humano que lo necesite.
- 15 21. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, 23 y 24, para el uso en el tratamiento de boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluyendo deshidratación nasal causada por la administración de oxígeno seco, ojo seco, enfermedad de Sjogren, síndrome de obstrucción intestinal distal, otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica o promover la hidratación ocular o corneal, en un ser humano que lo necesite.
- 20 22. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, 23 y 24, para el uso en un método para prevenir, mitigar y/o tratar efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio y/u otros órganos corporales provocados por aerosoles respirables que contienen radionúclidos en un ser humano que lo necesite.
- 25 23. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto según la reivindicación 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un osmolito.
- 30 24. La composición farmacéutica según la reivindicación 23, en la que el osmolito es solución salina hipertónica o manitol.

FIG. 1

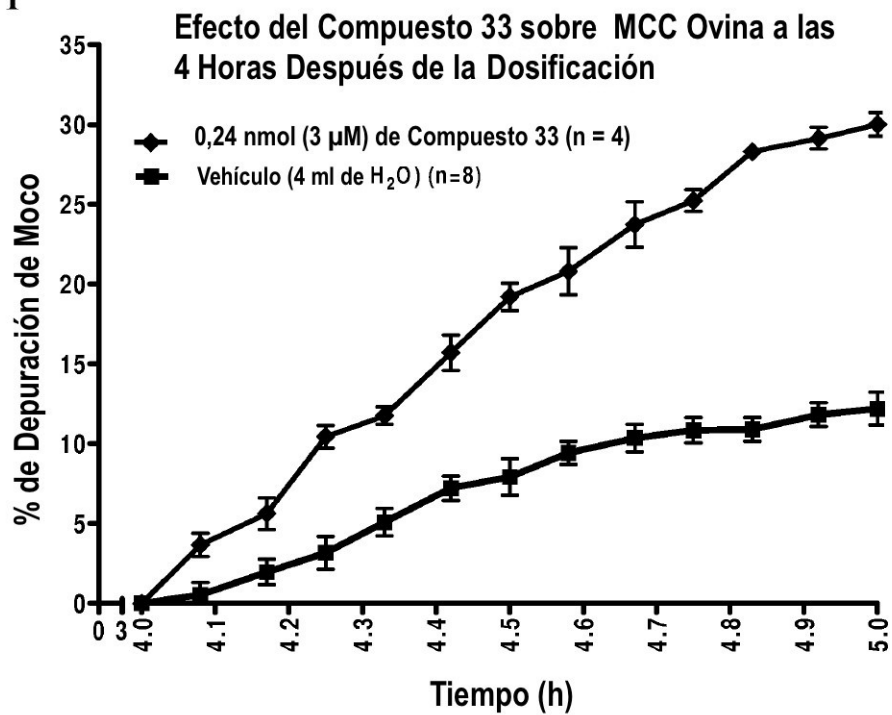


FIG. 2

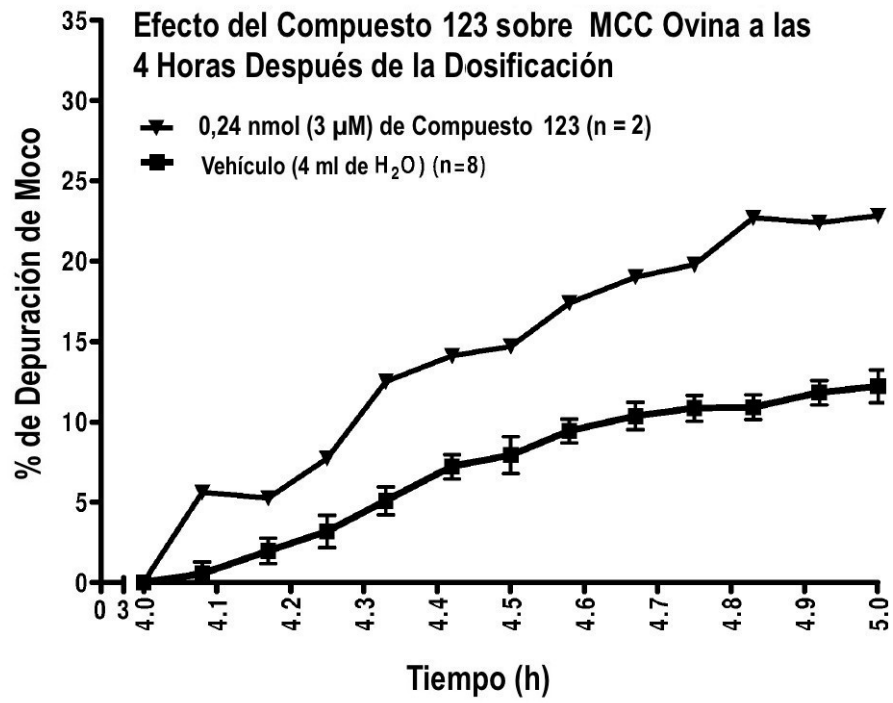


FIG. 3

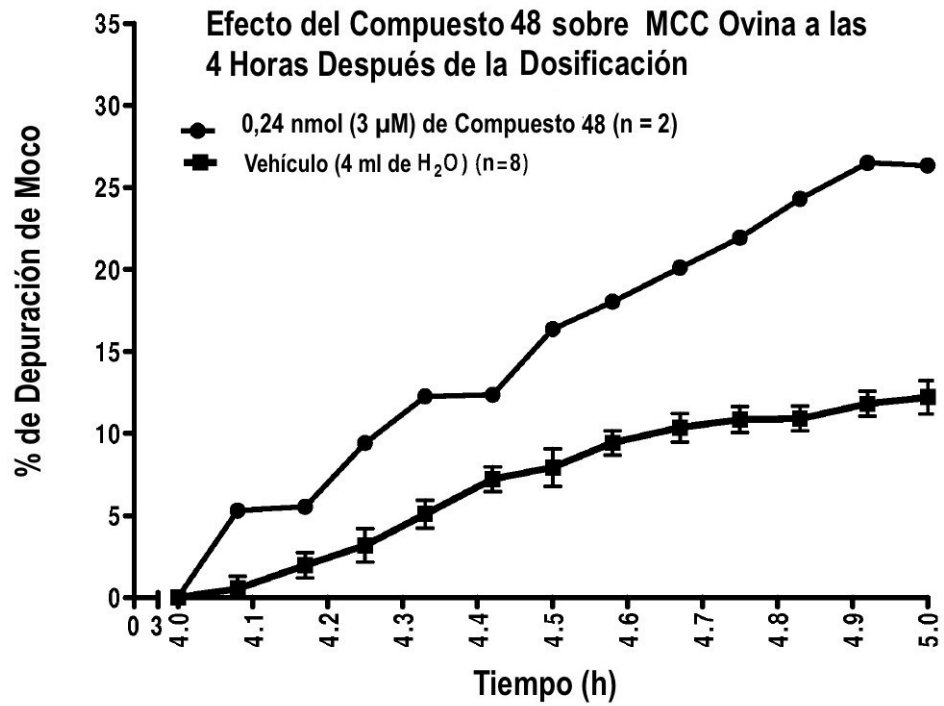


FIG. 4

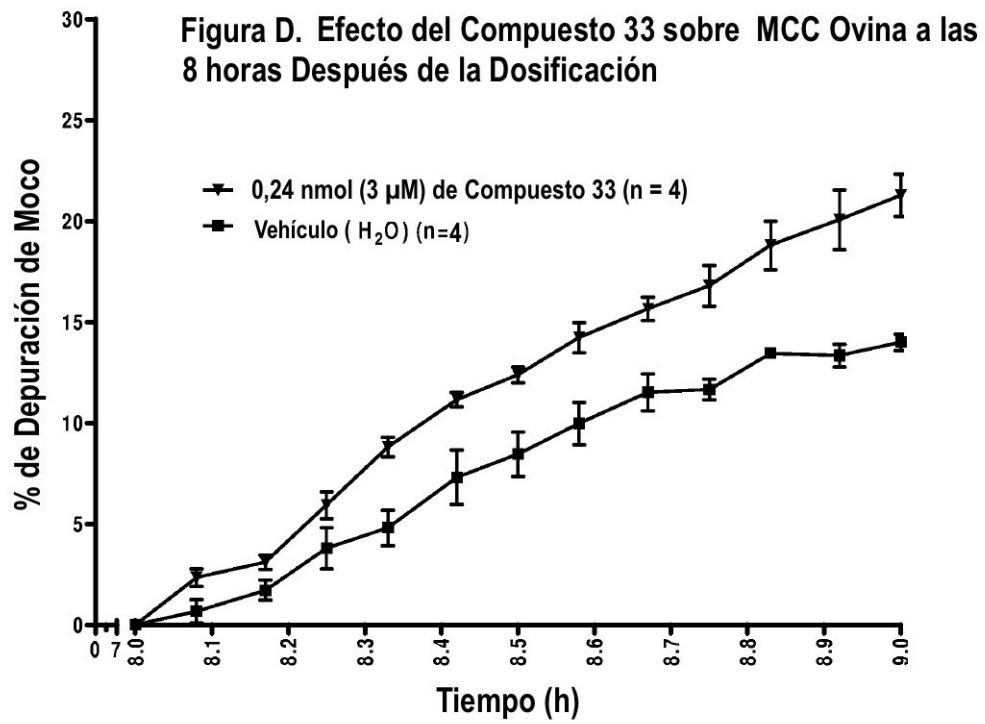


FIG. 5

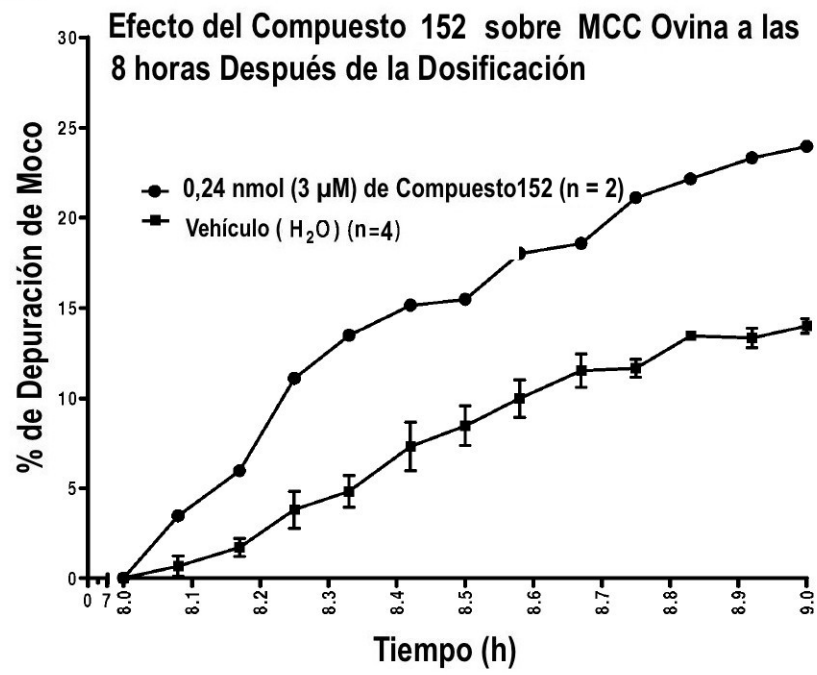


FIG. 6

La Solución Salina Hipertónica Intensifica el Efecto del Compuesto 33 sobre la MCC en Ovejas a las 8 Horas Después de la Dosificación

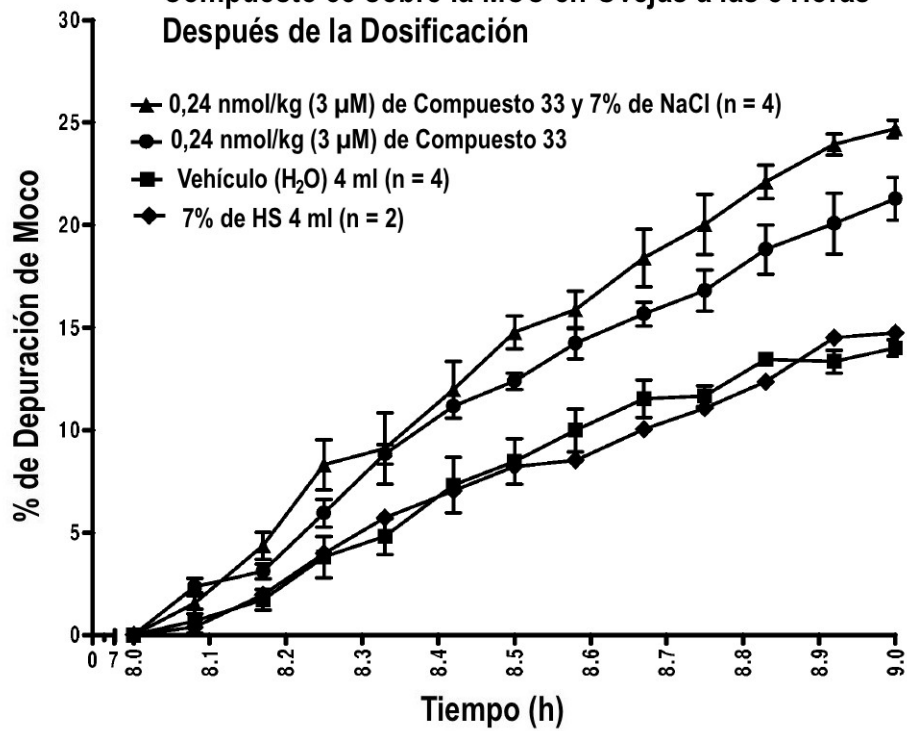


FIG. 7

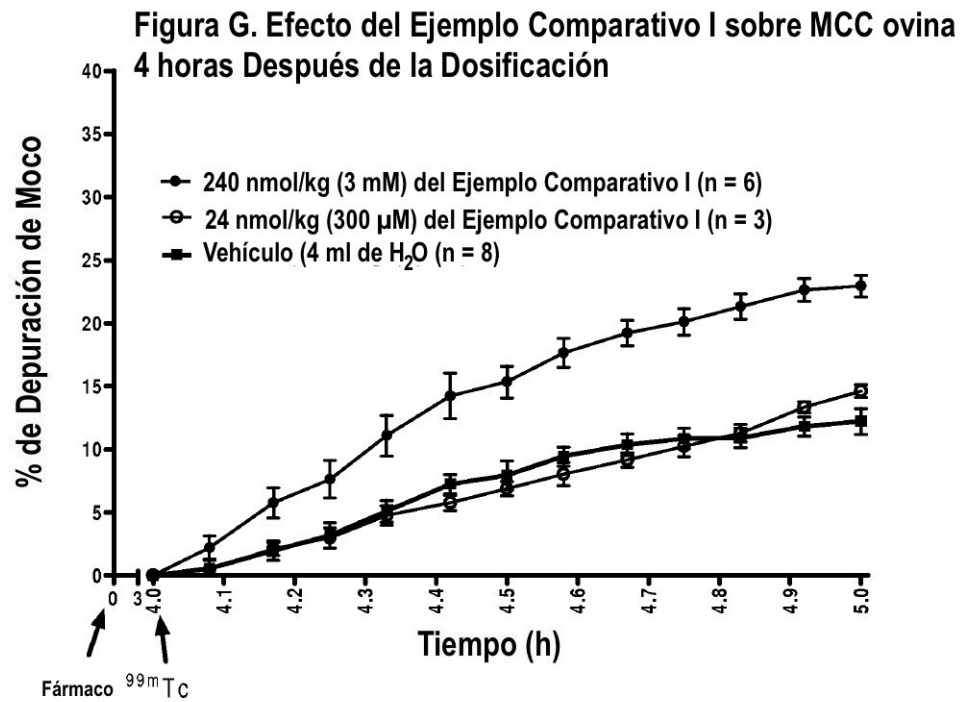


FIG. 8

El Ejemplo Comparativo I Eleva los Niveles de Potasio Plasmático en Ovejas a la Dosis ED₅₀

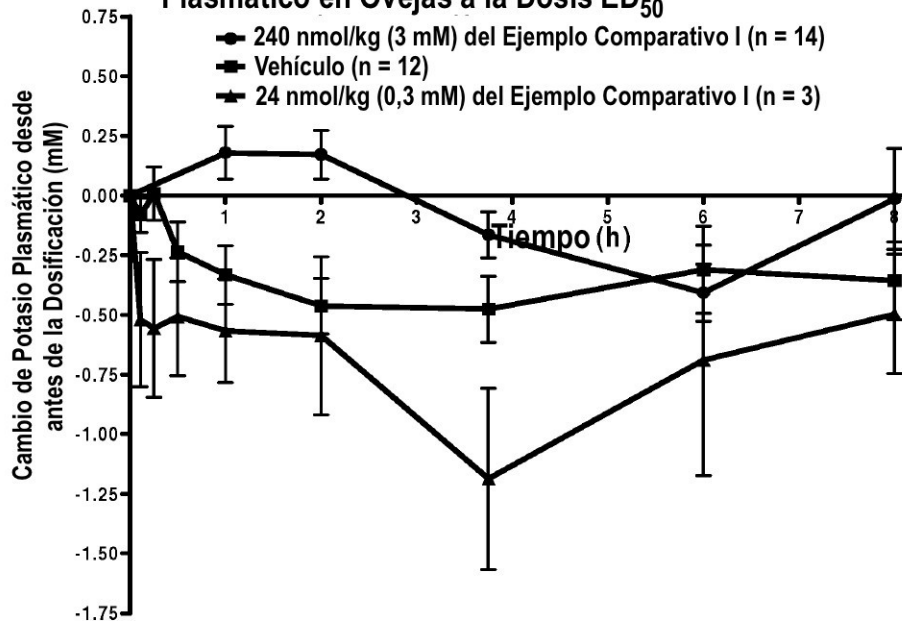


FIG. 9 Efecto del Compuesto 33 y el Ejemplo Comparativo I sobre MCC Ovína 4 Horas Después de la Dosificación

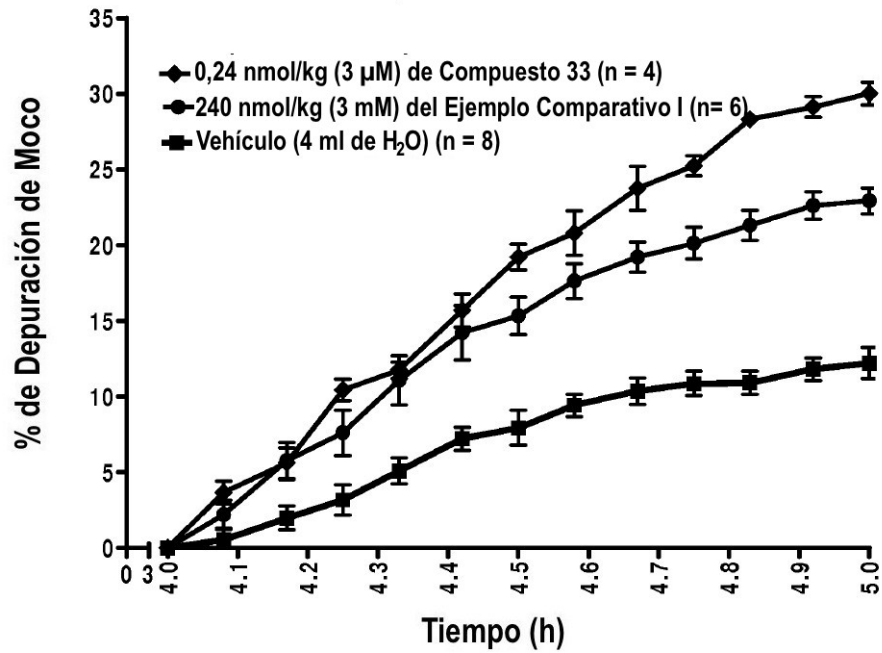


FIG. 10

Efecto del Compuesto 33 y el Ejemplo Comparativo I sobre Niveles de Potasio Plasmático en Ovejas

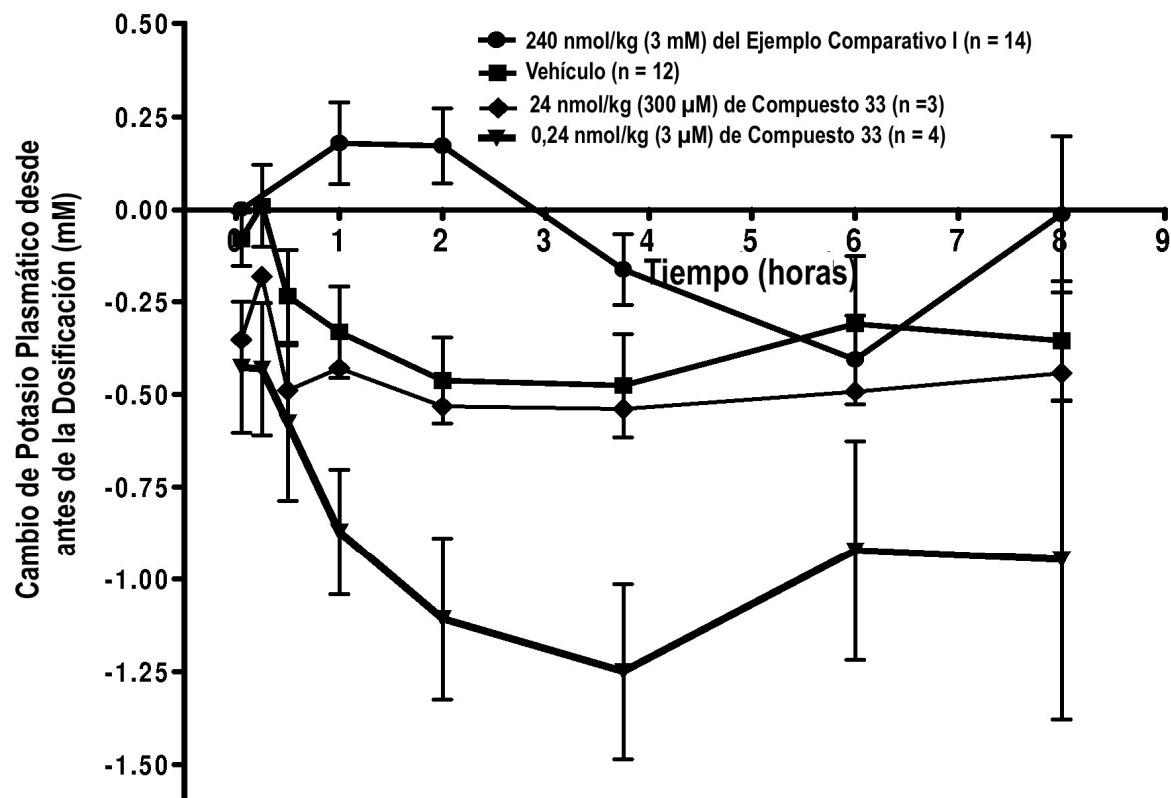


FIG. 11 Efecto del Compuesto 123 y el Ejemplo Comparativo I sobre MCC Ovina 4 Horas Después de la Dosificación

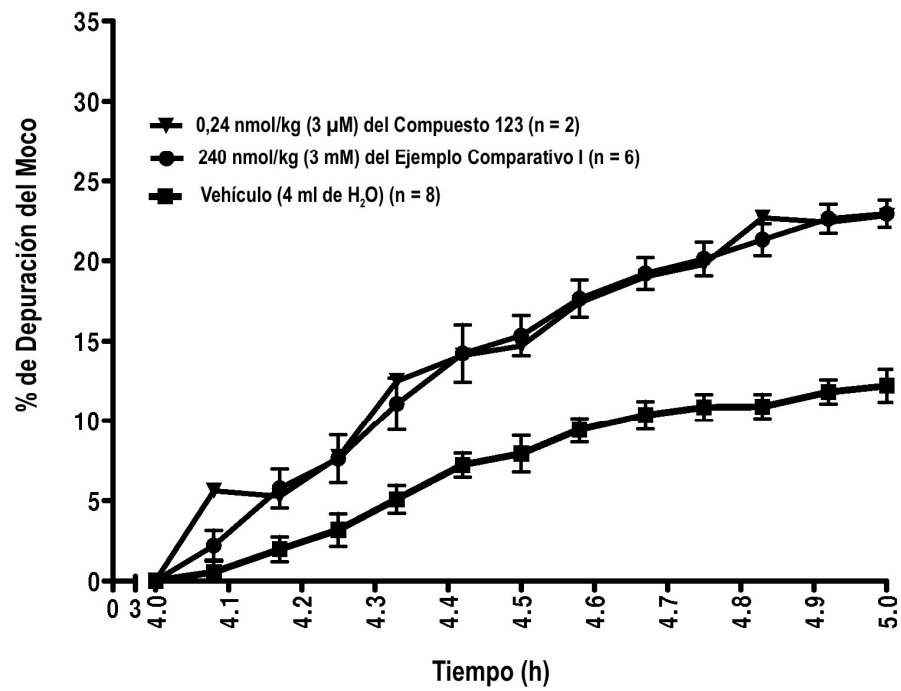


FIG. 12

Efecto del Compuesto 123 y el Ejemplo Comparativo I sobre Niveles de Potasio Plasmático en Ovejas

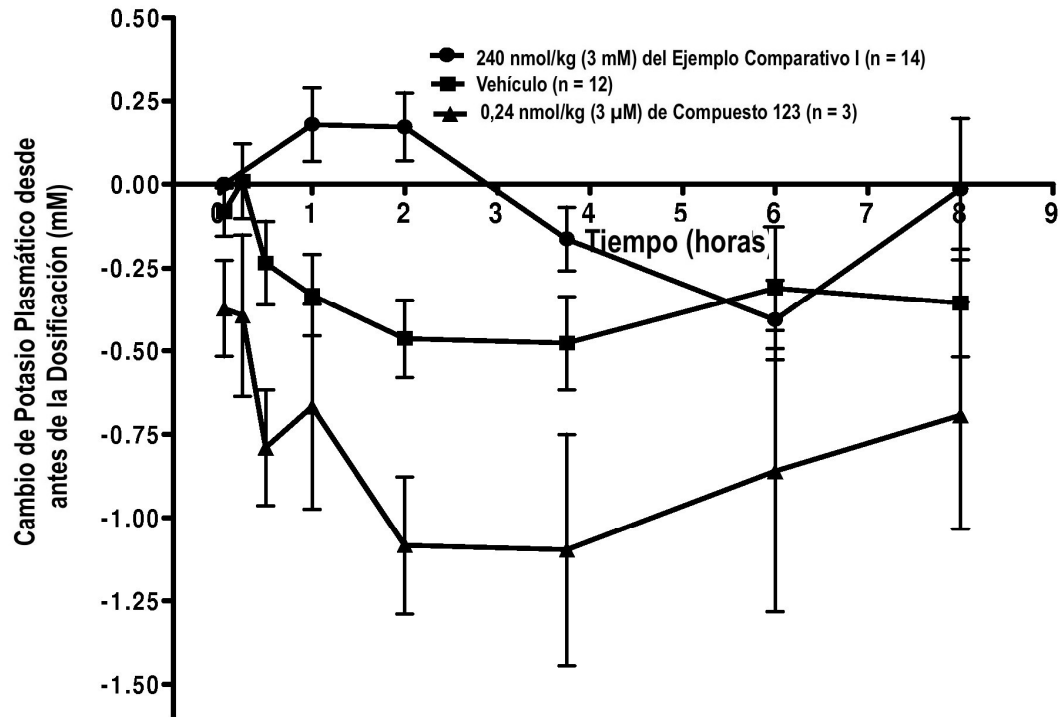


FIG. 13

**Efecto del Compuesto 48 y el Ejemplo Comparativo I sobre MCC Ovina
4 Horas Después de la Dosificación**

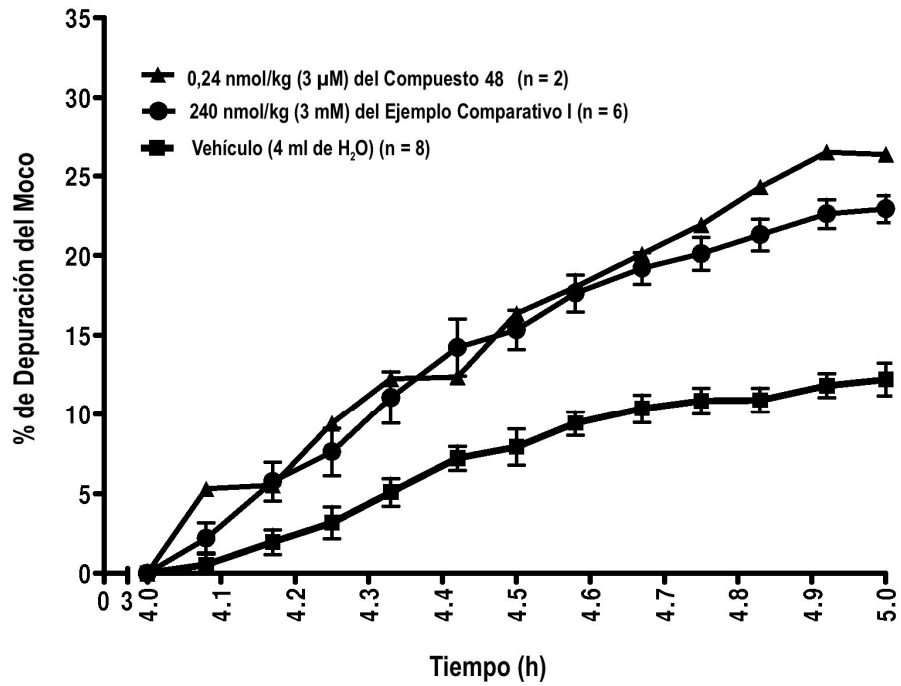


FIG. 14

Efecto del Compuesto 48 y el Ejemplo Comparativo I sobre Niveles de Potasio Plasmático en Ovejas

