(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 674 665**

(51) Int. CI.:

C07D 241/20 (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/US2013/075093**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014 WO14099673**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2013 E 13826678 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2931712**

(54) Título: **Compuestos de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-fenilbutilo)carbamimidoilo)-pirazina-2-carboxamida**

(30) Prioridad:

17.12.2012 US 201261738262 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.07.2018

(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:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

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).

Compuestos de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-fenilbutilo)carbamimidoilo)-pirazina-2-carboxamida

Descripción

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a nuevos compuestos sustituidos de 3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-arilbutilo)carbamimidoilo)pirazina-2-carboxamida, que incluyen particularmente 3,5-diamino- sustituido. Compuestos de 6-cloro-N-(N-(4-fenilbutilo)carbamimidoilo)-pirazina-2-carboxamida, tales como 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida y sus enantiómeros y sales farmacéuticamente aceptables, útiles como bloqueadores de los canales de sodio, composiciones que contienen los mismos, métodos terapéuticos y usos para los mismos y procesos para preparar los mismos.

Antecedentes de la invención

[0002] Las superficies de la mucosa en la interfaz entre el entorno y el cuerpo han desarrollado varias "defensas innatas", es decir, mecanismos de protección. Una forma principal de tal defensa innata consiste en limpiar estas superficies con líquido. Típicamente, la cantidad de la capa líquida en la superficie de la mucosa refleja el equilibrio entre la secreción del líquido epitelial, que a menudo refleja la secreción del anión (Cl^- y/o HCO_3^-) junto con el agua (y un contraión catiónico) y la absorción del líquido epitelial, reflejando a menudo la absorción de Na*, junto con el agua y el contra anión (Cl^- y/o HCO_3^-). Muchas enfermedades de las superficies de la mucosa son causadas por muy poco líquido protector en las superficies de la mucosa creadas por un desequilibrio entre la secreción (muy poco) y la absorción (relativamente demasiado). Los procesos defectuosos de transporte de sal que caracterizan estas disfunciones de la mucosa residen en la capa epitelial de la superficie de la mucosa.

[0003] Un enfoque para reponer la capa líquida protectora en las superficies de la mucosa es "reequilibrar" el sistema bloqueando los canales de Na^+ y la absorción de líquido. La proteína epitelial que media el paso limitante de la velocidad de Na^+ y la absorción de líquidos es el canal epitelial de Na^+ ("ENaC"). ENaC se coloca en la superficie apical del epitelio, es decir, la superficie de la mucosa interfaz ambiental. Idealmente, para inhibir el Na^+ mediado por ENaC y la absorción de líquidos, se administrará un bloqueador ENAC de la clase de amilorida a la superficie de la mucosa y se mantendrá en este sitio para lograr el máximo beneficio terapéutico.

[0004] El uso de bloqueantes ENaC se ha descrito para una variedad de enfermedades que se mejoran mediante una mayor hidratación de la mucosa. En particular, el uso de bloqueantes de ENaC en el tratamiento de enfermedades respiratorias como la fibrosis quística (FQ) y la EPOC, que incluyen bronquitis crónica (CB) y enfisema, que reflejan la incapacidad del cuerpo para eliminar la mucosidad normalmente de los pulmones y dar como resultado infección crónica de la vía aérea ha sido reportada. Véase, Evidence for airway surface dehydration as the initiating event in FQ airway disease, R. C. Boucher, Journal of Internal Medicine, Vol. 261, Número 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.

[0005] Los datos indican que el problema iniciador tanto en CB como en FQ es la incapacidad de eliminar el moco de las superficies de las vías respiratorias. El hecho de no eliminar el moco refleja un desequilibrio en las cantidades de moco como líquido de superficie de las vías respiratorias (ASL) en las superficies de las vías respiratorias. Este desequilibrio produce una reducción relativa de ASL que conduce a la concentración de moco, la reducción de la actividad lubricante del líquido periciliar (PCL), la adherencia del moco a la superficie de las vías respiratorias y la imposibilidad de eliminar la mucosidad a través de la actividad ciliar hasta la boca. La reducción en el aclaramiento de moco conduce a la colonización bacteriana crónica del moco adherido a las superficies de las vías respiratorias. La retención crónica de bacterias, la incapacidad de las sustancias antimicrobianas locales para matar las bacterias atrapadas por el moco de forma crónica, y la consiguiente respuesta inflamatoria crónica a este tipo de infección superficial, se manifiestan en CB y FQ.

[0006] Actualmente existe una gran necesidad médica insatisfecha de productos que traten específicamente la variedad de enfermedades que se mejoran mediante una mayor hidratación de la mucosa, que incluye CB, EPOC y FQ, entre otros. Las terapias actuales para CB, EPOC y FQ se enfocan en tratar los síntomas y/o los efectos tardíos de estas enfermedades. Sin embargo, ninguna de estas terapias trata eficazmente el problema fundamental de la incapacidad para eliminar el moco del pulmón.

[0007] R.C. Boucher, en el documento U.S. 6.264.975, describe el uso de bloqueadores de los canales de pirazinoilguanidina sódica para hitorizar las superficies de la mucosa tipificadas por los diuréticos amilorida, benzamilo y fenalilo bien conocidos. Sin embargo, estos compuestos son relativamente impotentes, considerando la masa limitada de fármaco que se puede inhalar al pulmón; (2) se absorbe rápidamente, y por lo tanto exhibe una vida media indeseablemente corta en la superficie de la mucosa; y (3) son libremente disociables de ENaC. Se necesitan medicamentos más potentes con vidas medias más largas en la superficie de la mucosa.

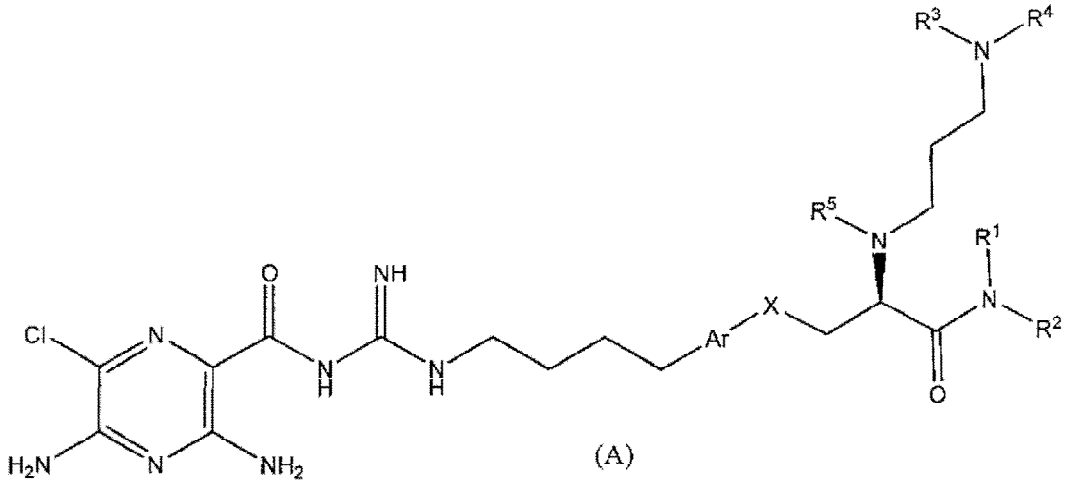
[0008] Muy poco líquido protector de superficie sobre otras superficies mucosas es una patofisiología común de varias enfermedades. Por ejemplo, en la xerostomía (boca seca) la cavidad oral se vacía de líquido debido a una falla de las glándulas sublinguales y submandibulares parotídeas para secretar líquido a pesar de la absorción líquida mediada por el transporte continuo de Na^+ (ENaC) de la cavidad oral. La queratoconjuntivitis sira (ojo seco) es causada por la falla de las glándulas lacrimales para secretar líquido ante la continua absorción de líquidos dependientes de Na^+ en las superficies conjuntivales. En la rinosinusitis, hay un desequilibrio entre la secreción de mucina y el agotamiento relativo de ASL. La falta de secreción de Cl^-(y líquido) en el intestino delgado proximal, combinada con una mayor absorción de Na^+ (y líquido) en el íleon terminal, conduce al síndrome de obstrucción intestinal distal (DIOS). En pacientes mayores, la absorción excesiva de Na^+ (y volumen) en el colon descendente produce estreñimiento y diverticulitis.

[0009] La bibliografía publicada incluye una serie de solicitudes de patente y patentes concedidas dirigidas a análogos de pirazinoilguanidina como bloqueantes de los canales de sodio. Ejemplos de tales publicaciones incluyen las Publicaciones PCT Nos 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. Nos 6858614, 6858615, 6903105, 6.995.160, 7.026.325, 7.030.117, 7064129, 7186833, 7189719, 7192958, 7192959, 7192960, 7241766, 7247636, 7247637, 7317013, 7332496, 7,345,044, 7368447, 7368450, 7368451, 7375107, 7388013, 7399766, 7410968, 7.745.442, 7807834, 7.820.678, 7842697, 7868010, 7.875.619, 7.956.059, 7.981.898, 8.008.494, 8022.210, 8.058.278, 8.124.607, 8.143.256, 8.163.758, 8.198.286 y 8.211.895 .

[0010] Sigue existiendo la necesidad de nuevos compuestos de bloqueo del canal de sodio con una potencia y efectividad mejoradas en los tejidos de la mucosa. También sigue existiendo la necesidad de nuevos compuestos de bloqueo del canal de sodio que proporcionen un efecto terapéutico, pero que minimicen o eliminen el inicio o la progresión de la hiperpotasemia en los receptores.

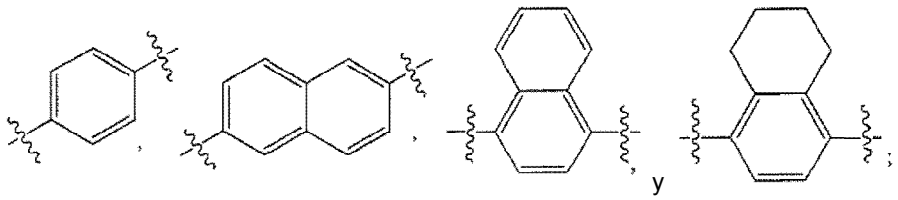
Sumario de la invención

[0011] Esta invención proporciona compuestos de Fórmula (A):



(A)

en donde Ar es un resto seleccionado del grupo de:



X se selecciona de $-CH_2-$, -O-, y -S-;
R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_6;
o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 miembros o 6 miembros que contiene opcionalmente un heteroátomo en el anillo adicional seleccionado entre N y O;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y

R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0012] La invención también proporciona solvatos e hidratos, estereoisómeros individuales, incluyendo isómeros ópticos (enantiómeros y diastereómeros) e isómeros geométricos (isomería cis/trans), mezclas de estereoisómeros y tautómeros de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)-propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, así como las composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, su uso en métodos de tratamiento y métodos para su preparación.

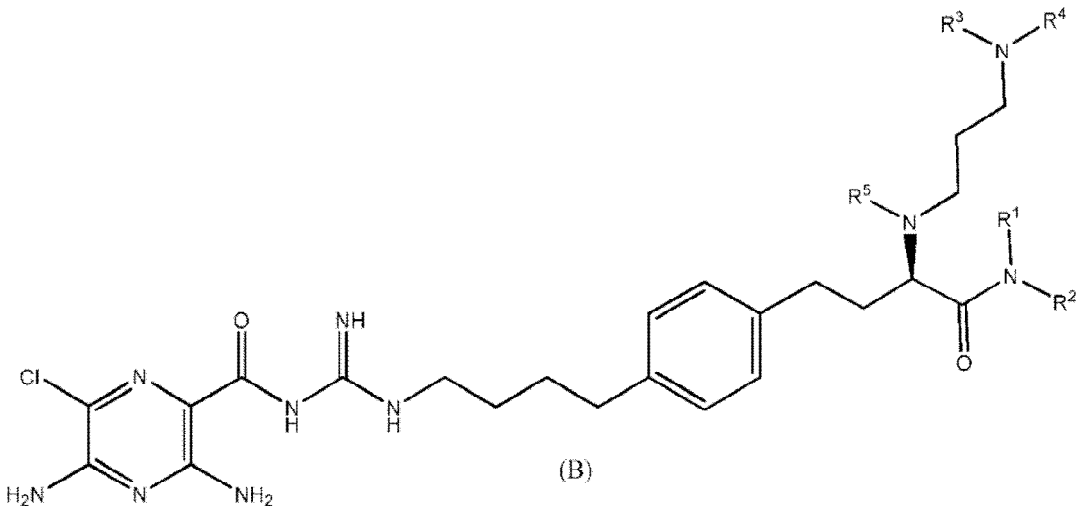
Breve descripción de los dibujos

[0013] Se puede obtener fácilmente una apreciación más completa de la invención y muchas de sus ventajas por referencia a la información aquí en conjunto con las siguientes figuras:

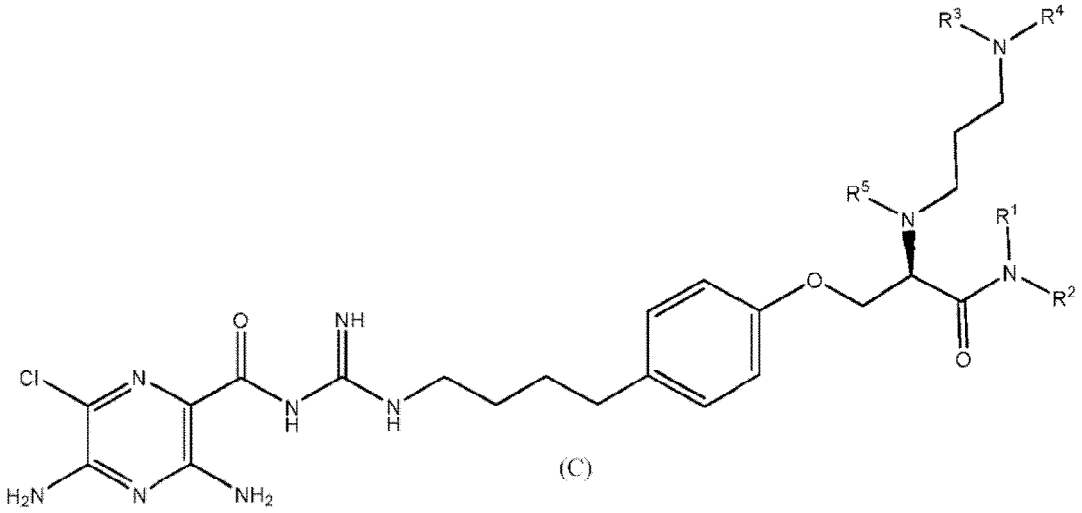
FIG. 1 es un gráfico que demuestra una respuesta a la dosis de 4 horas del **Compuesto II-d** en comparación con el vehículo.
FIG. 2 es un gráfico del efecto del **Compuesto II-d** en plasma de oveja.
FIG. 3 es un gráfico que demuestra el efecto del **Compuesto II-d** en Ovejas CCM 4 horas después de la dosis.
FIG. 4 es un gráfico que demuestra el efecto del Ejemplo Comparativo 1 sobre CCM de oveja 4 horas después de la dosis.
FIG. 5 es un gráfico que demuestra el efecto del Ejemplo Comparativo 1 sobre el plasma de potasio en ovejas.
FIG. 6 es un gráfico que demuestra el efecto del **Compuesto II-d** y el Ejemplo Comparativo 1 en ovejas CCM 4 horas
después de la dosis.
FIG. 7 es un gráfico que demuestra el efecto del **Compuesto II-d** y del Ejemplo Comparativo 1 sobre el potasio en plasma en ovejas.

Descripción detallada de la invención

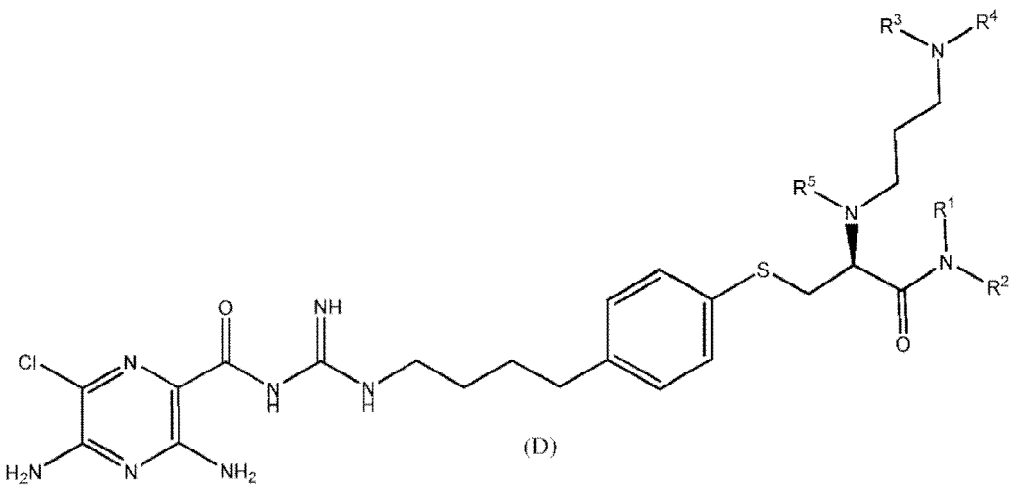
[0014] También se proporcionan realizaciones que comprenden doce grupos de compuestos representados independientemente por Formulas (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M):



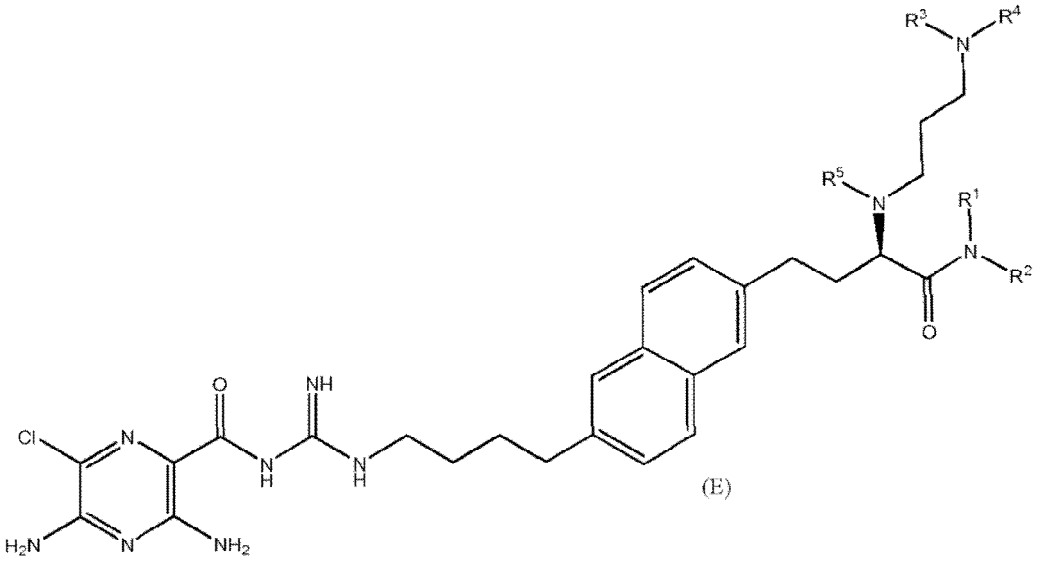
(B)



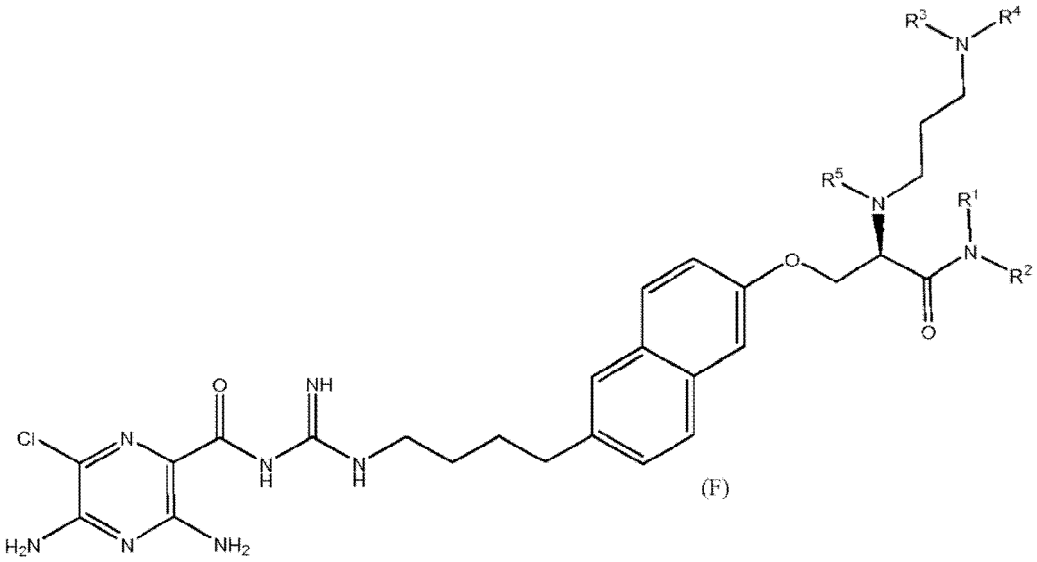
(C)



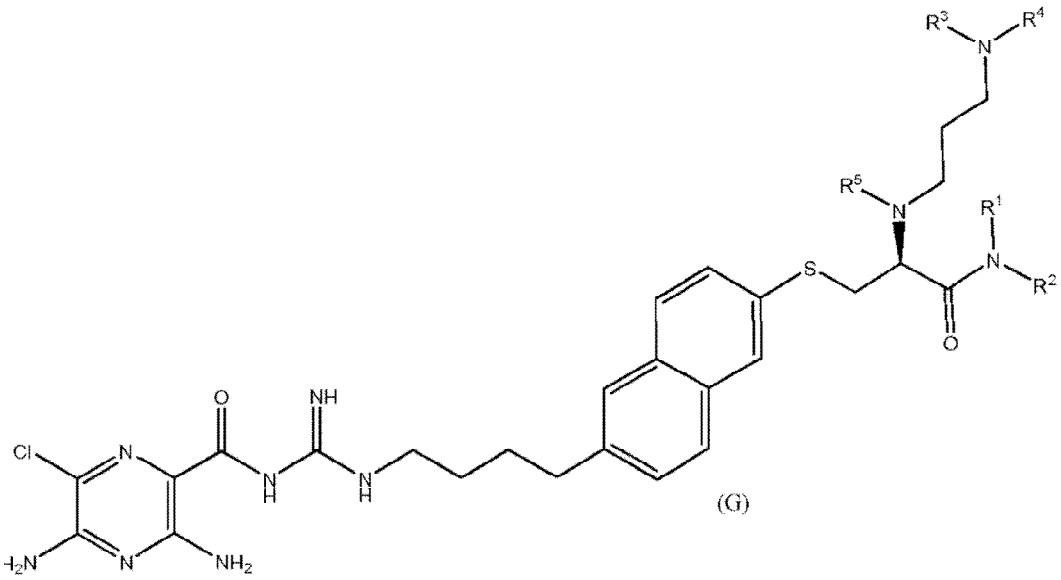
(D)



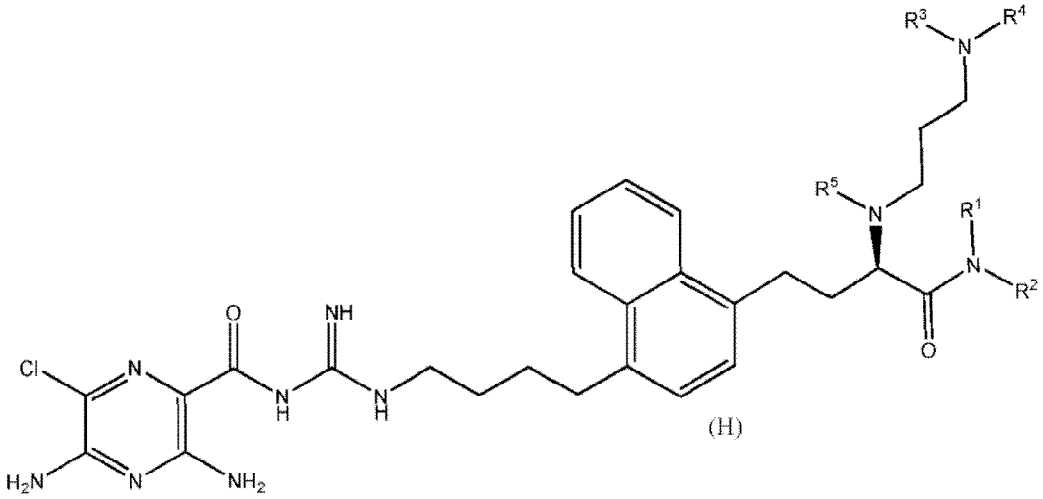
(E)



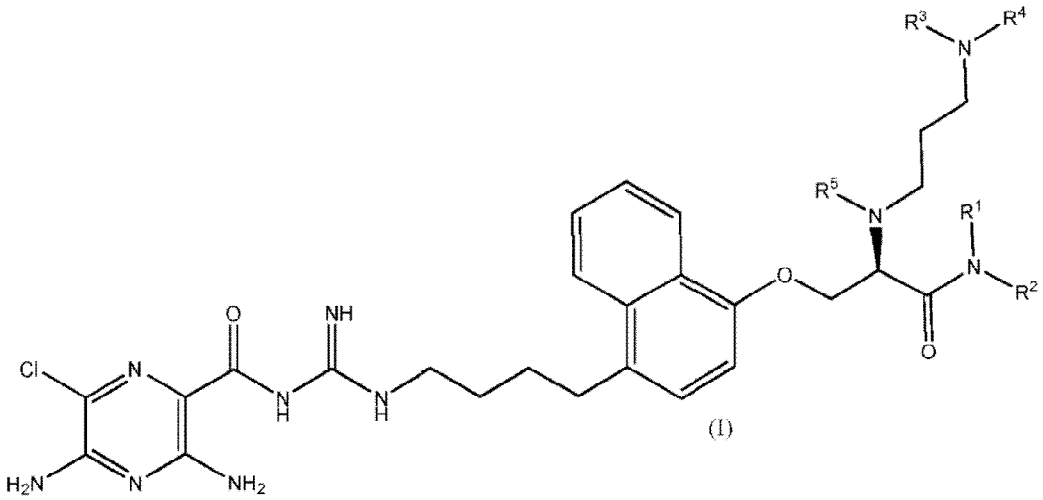
(F)



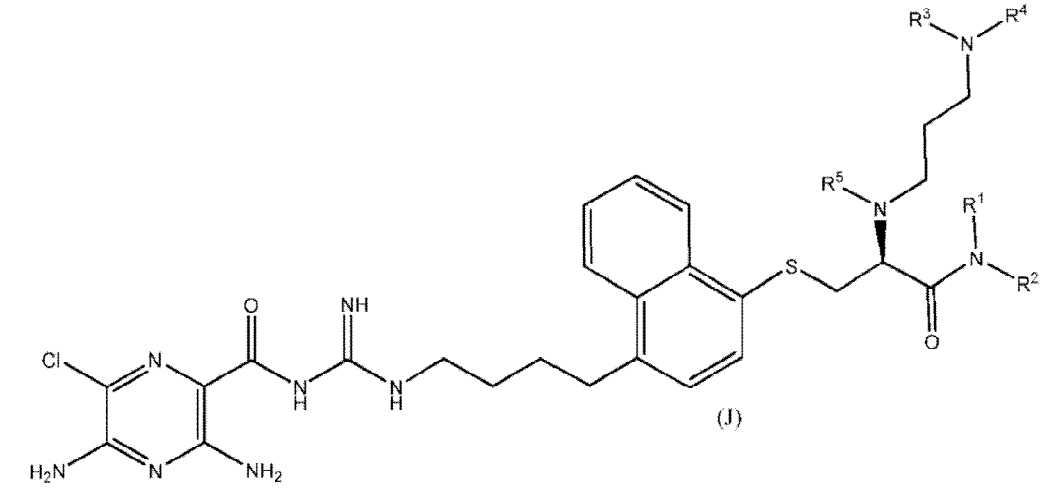
(G)



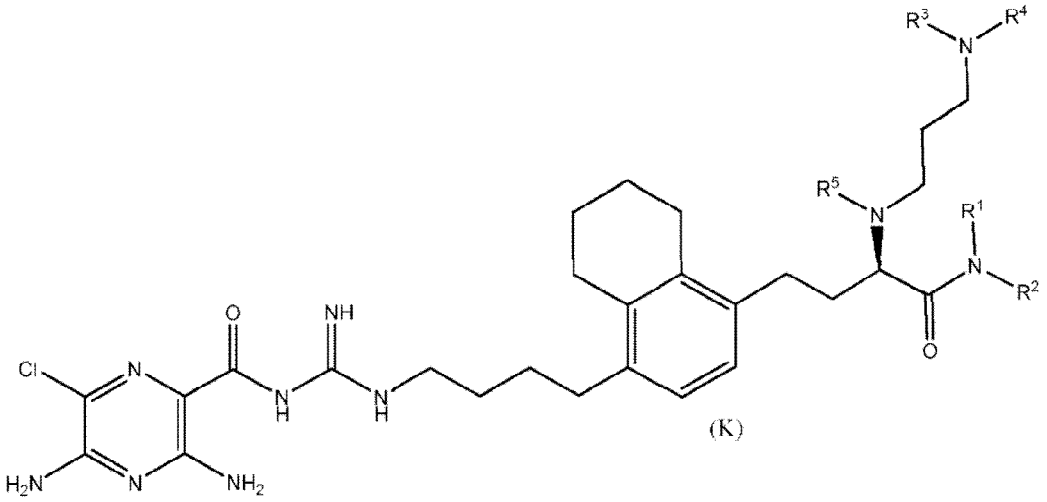
(H)



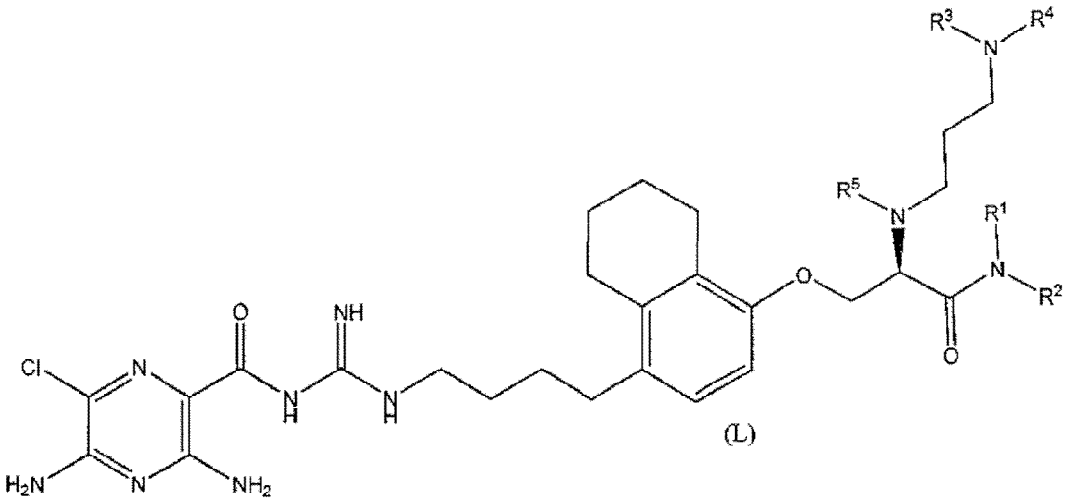
(I)



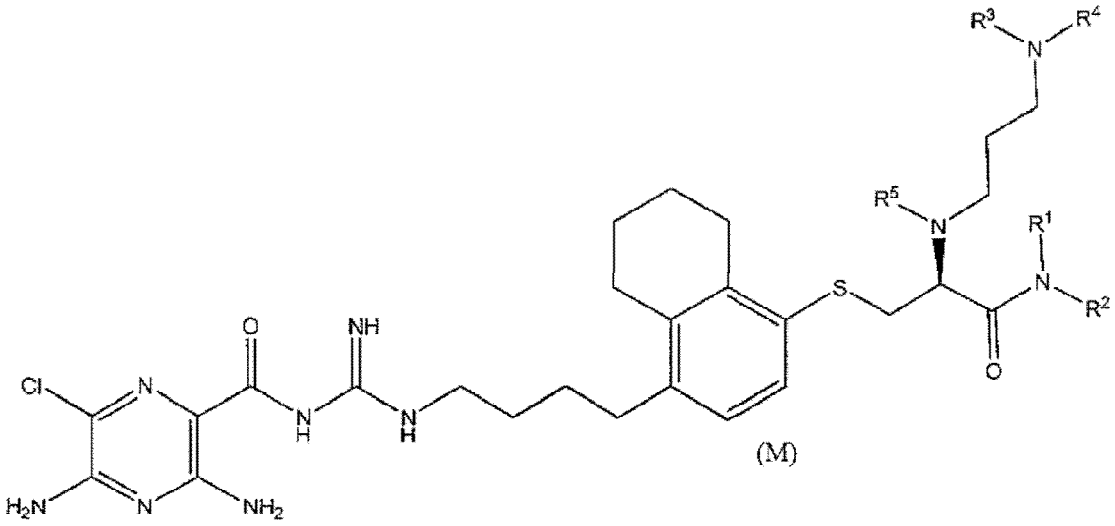
(J)



(K)



(L)



(M)

donde, en cada grupo (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), y (M):
R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_6;
o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 miembros o 6 miembros que contiene opcionalmente un heteroátomo adicional del anillo seleccionado entre N y O; R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0015] Dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_6;
R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0016] Dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de H y alquilo C_1-C_3;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0017] También dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de H y -CH_3;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0018] Dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) también hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de H y -CH_3;

R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0019] Además, dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de H y -CH_3;
R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0020] Incluido dentro de cada grupo de compuestos representados por Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 son H;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0021] También dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde:

R^1 y R^2 son H;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0022] Aún más dentro de cada grupo de compuestos representados por las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M) hay un grupo adicional de compuestos en donde R^1 y R^2 son H; y R^3 y R^4 son cada uno, independientemente, un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0023] Dentro de cada uno de los grupos descritos anteriormente, hay un grupo adicional en el que R^5 es H; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Dentro de cada uno de los grupos descritos anteriormente también hay un grupo adicional en el que R^5 es -CH_3; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0024] Los anillos heterocíclicos de 5 miembros o de 6 miembros que contienen opcionalmente un heteroátomo de anillo adicional seleccionado de N u O formado por R^1 y R^2, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, incluyen pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, y anillos de morfolinilo.

[0025] Los grupos alquilo polihidroxilados de esta invención son aquellos en los que una cadena de alquilo de 3 a 8 átomos de carbono está sustituida por dos o más grupos hidroxilo. Los 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.

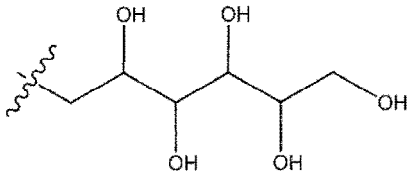
[0026] Una realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en este documento son aquellos compuestos en los que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula -CH_2-$(CHR^5)_n$, en donde n es un número entero seleccionado de 2, 3, 4,5, 6, y 7, y R^5 es independientemente en cada caso H u OH, con la condición de que al menos dos de los grupos R^5 sean OH.

[0027] Otra realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en la presente memoria son aquellos compuestos en los que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula -CH_2-CHOH-$(CHR^6)_m$, en donde m es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y R^6 es independientemente en cada caso H u OH, con la condición de que al menos uno de los grupos R^8 sea OH.

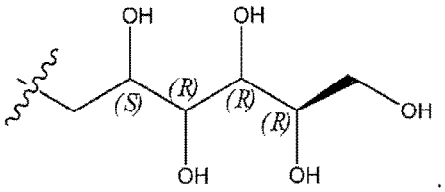
[0028] Una realización adicional dentro de cada grupo de compuestos descritos en este documento comprende compuestos en los que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula - CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH, en donde n es un

número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Otra realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en este documento comprende compuestos en los que n es un número entero seleccionado entre 2, 3, 4 y 5. Otra realización dentro de cada grupo comprende compuestos en los que n es un número entero seleccionado de 3, 4 y 5.

[0029] En otra realización dentro de cada grupo de compuestos descritos en este documento, la cadena representada por la fórmula R^4-CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH es 2,3,4,5,6-pentahidroxihexano, que tiene la fórmula:



[0030] En una realización adicional dentro de cada grupo de compuestos descritos en este documento, la cadena representada por la fórmula R^4-CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH tiene la fórmula:



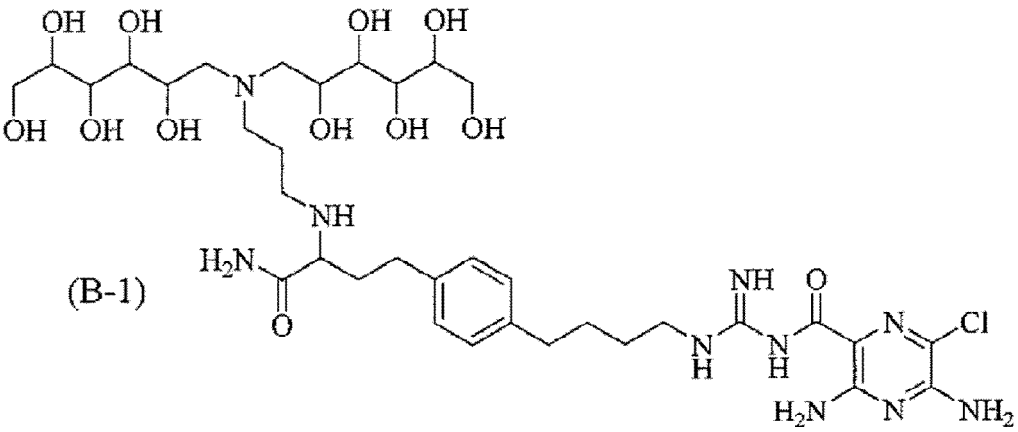
[0031] Dentro de cada uno de los grupos representados independientemente por los compuestos de Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M), hay una realización adicional en la que: R^1 es H; R^2 es H o alquilo C_1-C_3;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 4 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 4 a 8 átomos de carbono; y R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado de la fórmula -CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH; y
n en cada caso es independientemente un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6;
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0032] Dentro de cada uno de los grupos representados independientemente por los compuestos de Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M), todavía hay una realización adicional en la que: R^1 y R^2 son H; R^3 es un grupo alquilo que tiene de 5 a 7 átomos de carbono; R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado de la fórmula -CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH; yn es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6;
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0033] Dentro de cada uno de los grupos descritos en la presente memoria hay una realización adicional en la que R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado de la fórmula -CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH yn es un número entero seleccionado de 3, 4 o 5. En un otra realización dentro de cada grupo, R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado de la fórmula -CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH yn es 4.

[0034] Dentro de cada uno de los grupos representados independientemente por los compuestos de Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L) y (M), todavía hay una realización adicional en la que: R^1 y R^2 son H; R^3 es un grupo alquilo que tiene 6 átomos de carbono; R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado de la fórmula -CH_2-$(CHOH)_n$-CH_2OH; y n es 4; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

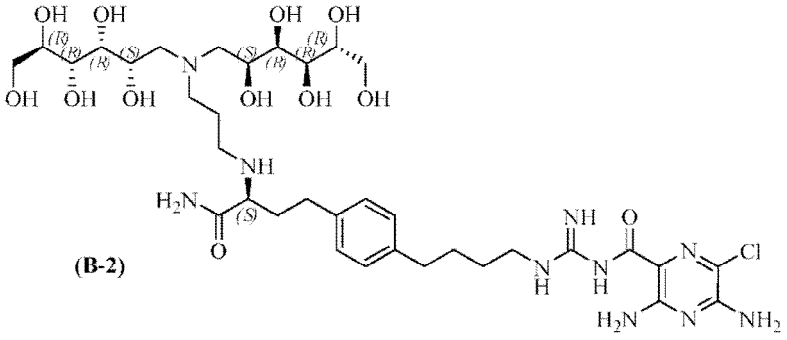
[0035] También se proporciona el compuesto 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(4-amino-3-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)aminono)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, de Fórmula (B-1):



(B-1)

o una forma de sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

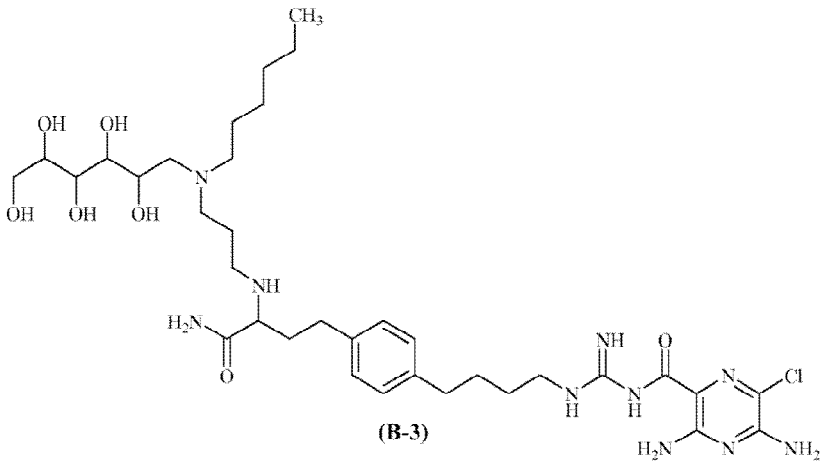
[0036] En otra realización, el compuesto de Fórmula (A) es 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, que tiene la fórmula (B-2):



(B-2)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

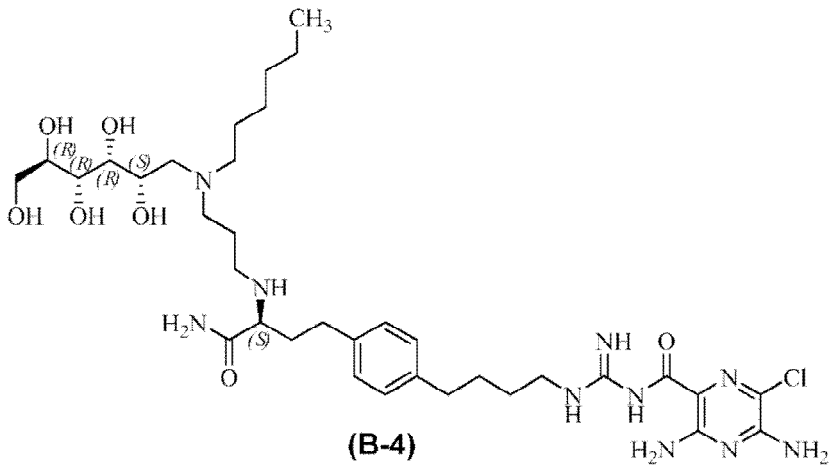
[0037] También se proporciona el compuesto 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(4-amino-3-(3-(hexilo(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)aminono)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, de Fórmula (B-3):



(B-3)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

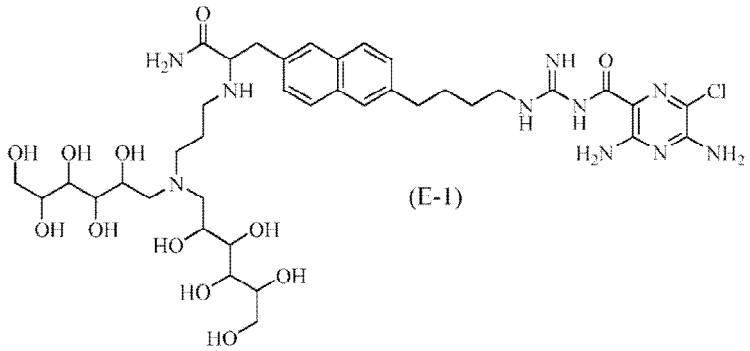
[0038] En otra realización, el compuesto es 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, que tiene la fórmula (B-4):



(B-4)

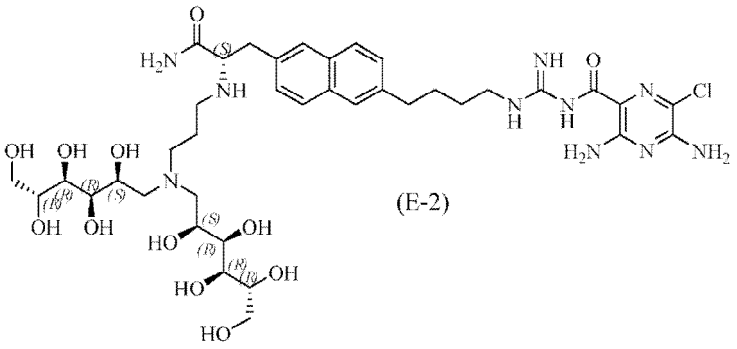
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0039] Otros compuestos de esta invención incluyen los de las fórmulas (E-1), (E-2), (E-3) y (E-4), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



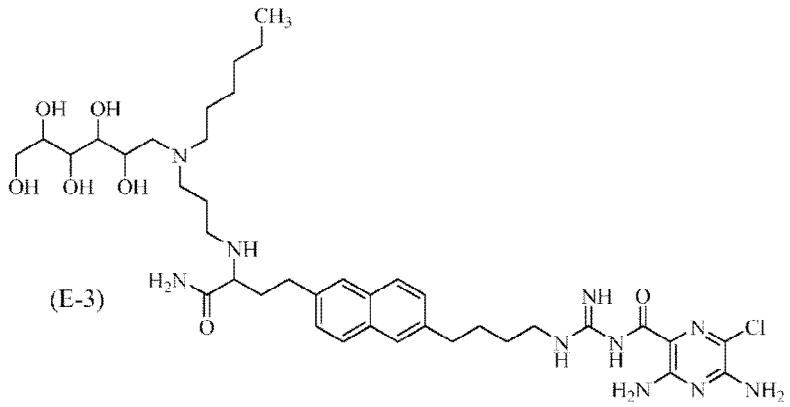
(E-1)

3,5-diamino-N-(N-(4-(6-(3-amino-2-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida;



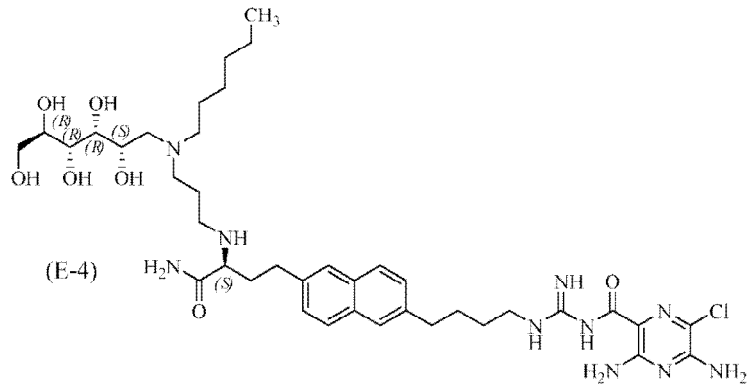
(E-2)

3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida;



(E-3)

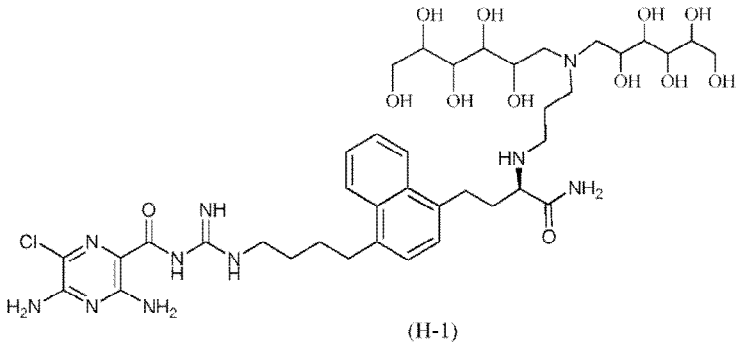
3,5-diamino-N-(N-(4-(6-(4-amino-3-(3-(hexilo(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida; y



(E-4)

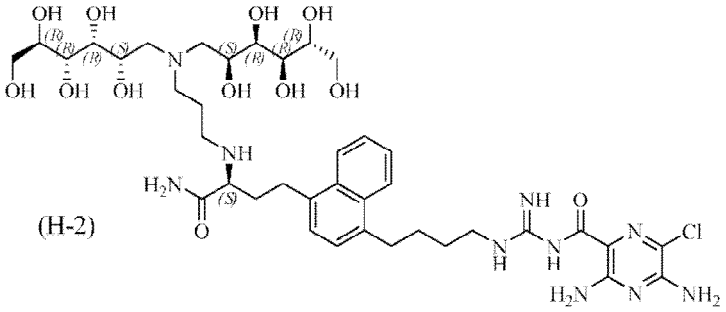
3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida.

[0040] Otros compuestos de esta invención incluyen los de fórmulas (H-1), (H-2), (H-3) y (H-4), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



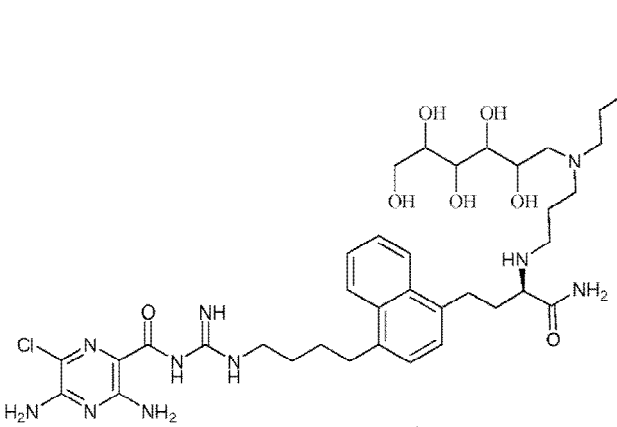
(H-1)

3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((3R)-4-amino-3-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida; y



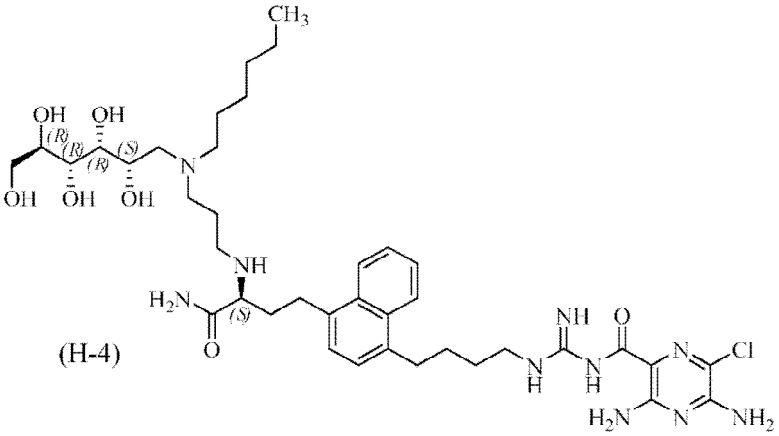
(H-2)

3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida; y



(H-3)

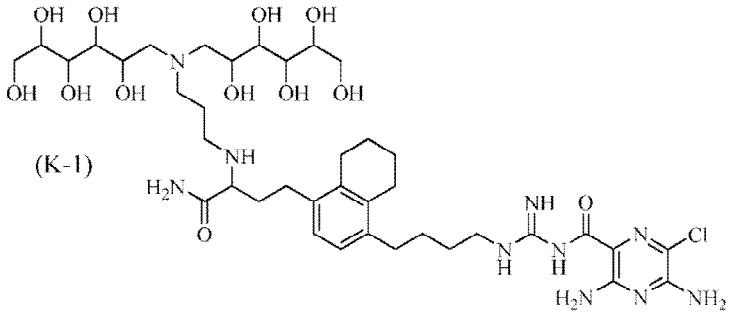
3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((3R)-4-amino-3-(3-(hexilo(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida; y



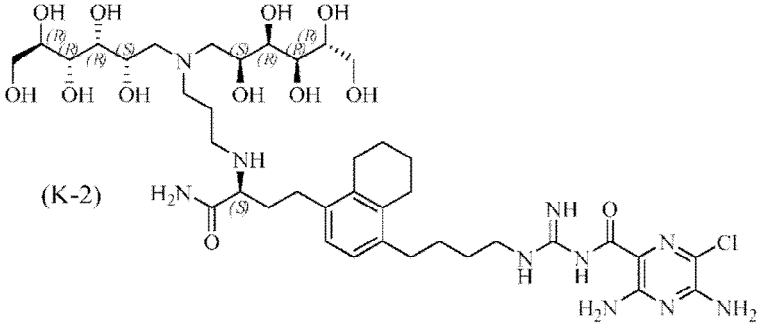
(H-4)

3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida.

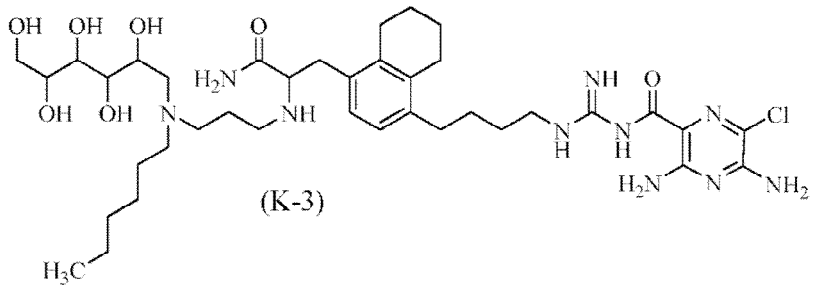
[0041] Los compuestos adicionales de esta invención incluyen los de fórmulas (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



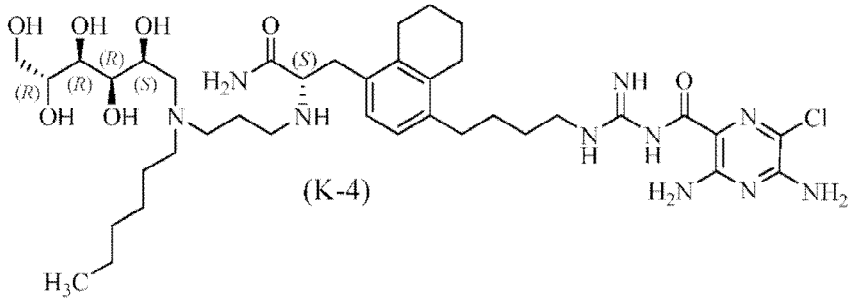
3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(4-amino-3-(3-(bis(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida;



3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida;



3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(3-amino-2-(3-(hexilo(2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida; y



3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida.

[0042] Como se usa en este documento, los siguientes términos se definen como se indica.

[0043] "Un compuesto de la invención" significa un compuesto de Fórmula (A) o una sal del mismo, particularmente una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0044] "Un compuesto de Fórmula (A)" significa un compuesto que tiene la fórmula estructural designada en el presente documento como Fórmula (A). Los compuestos de Fórmula (A) incluyen solvatos e hidratos (es decir, aductos de un compuesto de Fórmula (A) con un disolvente). En aquellas realizaciones en las que un compuesto de Fórmula (A) incluye uno o más centros quirales, la frase pretende abarcar cada estereoisómero individual incluyendo isómeros ópticos (enantiómeros y diastereómeros) e isómeros geométricos (isomería cis/trans) y mezclas de estereoisómeros. Además, los compuestos de Fórmula (A) también incluyen tampones de la(s) fórmula(s) representada(s).

[0045] A lo largo de la descripción y los ejemplos, los compuestos se nombran usando principios de nomenclatura de IUPAC estándar, donde sea posible, incluyendo el uso del programa de software ChemDraw Ultra 11.0 para nombrar compuestos, vendido por CambridgeSoft Corp./PerkinElmer.

[0046] En algunas representaciones de estructuras químicas donde los átomos de carbono no tienen un número suficiente de variables adjuntas representadas para producir una valencia de cuatro, los sustituyentes de carbono restantes necesarios para proporcionar una valencia de cuatro deben suponerse que son hidrógeno. Del mismo modo, en algunas estructuras químicas donde se establece un enlace sin especificar el grupo terminal, tal enlace es indicativo de un grupo metilo (Me, $-CH_3$), como es convencional en la técnica.

[0047] Los compuestos de Fórmula I pueden estar en forma de una base libre o una sal, particularmente una sal farmacéuticamente aceptable. Para una revisión de sales farmacéuticamente aceptables, véase Berge et al., J. Pharma Sci. (1977) 66:1-19.

[0048] Las sales farmacéuticamente aceptables formadas a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos incluyen, por ejemplo, hidrocloruro, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, bisulfato, nitrato, sulfamato, fosfato, hidrogenofosfato, acetato, trifluoroactato, maleato, malato, fumarato, lactato, tartrato, citrato, formiato, gluconato, succinato, piruvato, tanato, ascorbato, palmitato, salicilato, estearato, ftalato, alginato, poliglutamato, oxalato, oxaloacetato, sacarato, benzoato, alquilo o sulfonatos de arilo (p. ej., metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato o naftalenosulfonato) e isotionato; complejos formados con aminoácidos tales como lisina, arginina, ácido glutámico, glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina, leucina y similares. Los compuestos de la invención también pueden estar en forma de sales formadas a partir de aniones elementales tales como cloro, bromo o yodo.

[0049] Para uso terapéutico, las sales de los ingredientes activos de los compuestos de Fórmula (A) serán farmacéuticamente aceptables, es decir, serán sales derivadas de un ácido farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, las sales de ácidos que no son farmacéuticamente aceptables también pueden encontrar uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Las sales de trifluoroacetato, por ejemplo, pueden encontrar dicho uso. Todas las sales, derivadas o no de un ácido farmacéuticamente aceptable, están dentro del alcance de la presente invención.

[0050] El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponibilidad de la pareja de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles en su pareja de imagen especular.

[0051] 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. "Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse en procedimientos analíticos de alta resolución tales como electroforesis y cromatografía. Los "enantiómeros" se refieren a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superponibles entre sí.

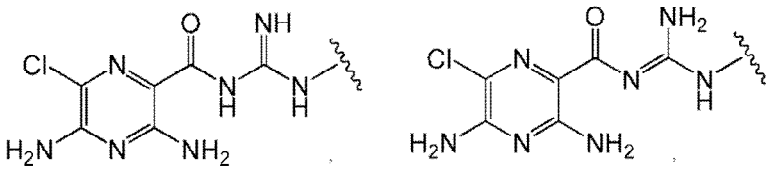
[0052] Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en este documento siguen en general a S. P. Parker, Ed., MGRAW-HILL DICTIONARY OF CHEMICAL TERMS (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., STEREOCHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York.

[0053] El uso del símbolo ondulado ( ) en las estructuras de la presente memoria se entiende que indica un punto a través del cual la estructura mostrada está unida a otra parte de una molécula.

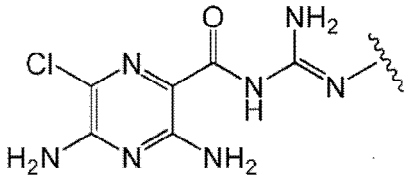
[0054] Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada en el plano. Al describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S se usan para denotar la configuración absoluta de la molécula sobre su(s) centro(s) quiral(es). Un estereoisómero

específico también puede denominarse enantiómero, y una mezcla de tales isómeros a menudo se denomina mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, lo que puede ocurrir cuando no ha habido estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas.

[0055] 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 (A) pueden existir en diferentes formas tautoméricas. Un experto en la técnica reconocerá que las amidinas, amidas, guanidinas, ureas, tioureas, heterociclos y similares pueden existir en formas tautoméricas. A modo de ejemplo y no a modo de limitación, los compuestos de Fórmula (A) pueden existir en diversas formas tautómeras como se muestra a continuación:



y



[0056] Todas las formas tautómeras posibles de las amidinas, amidas, guanidinas, ureas, tioureas, heterociclos y similares de todas las realizaciones de Fórmula (A) están dentro del alcance de la presente invención. Los tautómeros existen en equilibrio y, por lo tanto, los expertos en la técnica entenderán que la representación de un único tautómero en las fórmulas proporcionadas se refiere por igual a todos los tautómeros posibles.

[0057] Se debe observar que todos los enantiómeros, diastereómeros y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos de compuestos dentro del alcance de la Fórmula (A) y sus sales farmacéuticamente aceptables están abarcadas por la presente invención. Todas las mezclas de tales enantiómeros y diastereómeros, que incluyen mezclas enantioméricamente enriquecidas y mezclas diastereoméricamente enriquecidas están dentro del alcance de la presente invención. Las mezclas enantioméricamente enriquecidas son mezclas de enantiómeros en donde la relación del enantiómero especificado al enantiómero alternativo es mayor que 50:50. Más particularmente, una mezcla enantioméricamente enriquecida comprende al menos aproximadamente el 75% del enantiómero especificado, y preferiblemente al menos aproximadamente el 85% del enantiómero especificado. En una realización, la mezcla enantioméricamente enriquecida está sustancialmente libre del otro enantiómero. De forma similar, las mezclas diastereoméricamente enriquecidas son mezclas de diastereómeros en las que la cantidad del diastereómero especificado es mayor que la cantidad de cada diastereómero alternativo. Más particularmente, una mezcla diastereoméricamente enriquecida comprende al menos aproximadamente el 75% del diastereómero especificado, y preferiblemente al menos aproximadamente el 85% del diastereómero especificado. En una realización, la mezcla diastereoméricamente enriquecida está sustancialmente libre de todos los demás diastereómeros. Los expertos en la técnica entenderán que la expresión "sustancialmente libre de" indica una presencia de menos del 5% de otros diastereómeros, preferiblemente menos del 1%, más preferiblemente menos del 0,1%. En otras realizaciones, no estarán presentes otros diastereómeros o la cantidad de otros diastereómeros presentes estará por debajo del nivel de detección. Los estereoisómeros se pueden separar mediante técnicas conocidas en la técnica, que incluyen cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y cristalización de sales quirales.

[0058] Se puede obtener un estereoisómero individual, por ejemplo un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero por resolución de la mezcla racémica usando un método tal como formación de diastereómeros usando agentes de resolución ópticamente activos ("Stereochemistry of Carbon Compounds", (1962) por 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 adecuado, que incluye: (1) formación de sales iónicas, diastereoméricas con compuestos quirales y separación por cristalización fraccionada u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos de derivatización quirales, separación de los diastereómeros, y conversión a los estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente en condiciones quirales.

[0059] En una realización, la presente invención proporciona una mezcla enantioméricamente enriquecida de, o una composición que comprende una mezcla enantioméricamente enriquecida de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4)-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, teniendo la fórmula (B-2), o una sal farmacéuticamente acceptable de la misma, como el isómero predominante.

[0060] Otra realización proporciona una mezcla enantioméricamente enriquecida de, o una composición que comprende una mezcla enantioméricamente enriquecida de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, que tiene la fórmula (B-4), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como el isómero predominante.

[0061] Otra realización proporciona una mezcla enantioméricamente enriquecida de, o una composición que comprende una mezcla enantioméricamente enriquecida de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((R)-4-amino-3-(3-(bis((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, que tiene la fórmula (H-2), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como el isómero predominante.

[0062] Una realización adicional proporciona una mezcla enantioméricamente enriquecida de, o una composición que comprende una mezcla enantioméricamente enriquecida de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((R)-4-amino)-3-(3-(hexilo((2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida, que tiene la fórmula (H-4), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como el isómero predominante.

[0063] Otras realizaciones comprenden las mezclas enantioméricamente enriquecidas o composiciones que comprenden, respectivamente, los compuestos de fórmulas (B-2), (B-4), (H-2) y (H-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como el isómero predominante en cada una de sus respectivas mezclas.

[0064] Otras realizaciones comprenden las mezclas enantioméricamente enriquecidas o composiciones que comprenden, respectivamente, los compuestos de fórmulas (B-2), (B-4), (H-2) y (H-4), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, sustancialmente libres de otros isómeros en cada una de sus respectivas mezclas.

[0065] Un compuesto de Fórmula (A) y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir como diferentes polimorfos o pseudopolimorfos. Como se usa en el presente documento, polimorfismo cristalino significa la capacidad de un compuesto cristalino para existir en diferentes estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino puede ser el resultado de diferencias en el empaquetamiento del cristal (polimorfismo de empaquetamiento) o diferencias en el empaquetamiento entre diferentes confórmeros de la misma molécula (polimorfismo conformacional). Como se usa en el presente documento, el pseudopolimorfismo cristalino también incluye la capacidad de un hidrato o solvato de un compuesto para existir en diferentes estructuras cristalinas. Los pseudopolimorfos de la presente invención pueden existir debido a diferencias en el empaquetamiento cristalino (pseudopolimorfismo de empaquetamiento) o debido a diferencias en el empaquetamiento entre diferentes confórmeros de la misma molécula (pseudopolimorfismo conformacional). La presente invención comprende todos los polimorfos y pseudopolimorfos de los compuestos de Fórmula (A) y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0066] Un compuesto de Fórmula (A) y sus sales farmacéuticamente aceptables también pueden existir como un sólido amorfo. Tal como se usa en la presente memoria, un sólido amorfo es un sólido en el que no existe un orden de largo alcance de las posiciones de los átomos en el sólido. Esta definición también se aplica cuando el tamaño del cristal es de dos nanómetros o menos. Los aditivos, incluidos los disolventes, pueden usarse para crear las formas amorfas de la presente invención. La presente invención, que incluye todas las composiciones farmacéuticas, métodos de tratamiento, productos de combinación y usos de los mismos descritos en la presente memoria, comprende todas las formas amorfas de los compuestos de Fórmula (A) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

USOS

[0067] Los compuestos de la invención exhiben actividad como bloqueantes de los canales de sodio. Sin estar ligado a ninguna teoría particular, se cree que los compuestos de la invención pueden funcionar *in vivo* bloqueando los canales de sodio epiteliales presentes en las superficies de la mucosa y de ese modo reducen la absorción de agua por las superficies de la mucosa. Este efecto aumenta el volumen de líquidos protectores en las superficies de la mucosa y reequilibra el sistema.

[0068] Como consecuencia, los compuestos de la invención son útiles como medicamentos, particularmente para el tratamiento de afecciones clínicas para las cuales puede estar indicado un bloqueador de canales de sodio. Dichas afecciones incluyen afecciones pulmonares como enfermedades asociadas con obstrucción reversible o irreversible de las vías respiratorias, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), que incluyen exacerbaciones agudas de la EPOC, asma, bronquiectasias (incluyendo bronquiectasias debidas a afecciones distintas de la fibrosis quística),

bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posvírica, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis y bronquiolitis asociada a trasplante, que incluye broncolitis asociada a trasplante de médula ósea y de pulmón, en un ser humano que lo necesita. Los compuestos de la invención también pueden ser útiles para tratar la traqueobronquitis asociada a un ventilador y/o prevenir la neumonía asociada a un ventilador en pacientes ventilados. La presente invención comprende métodos para tratar cada una de estas afecciones en un mamífero que lo necesita, preferiblemente en un humano que lo necesite, comprendiendo cada método la administración a dicho mamífero de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención, o un medicamento farmacéuticamente aceptable. sal aceptable de los mismos. También se proporcionan compuestos de la invención para uso en (a) un método para reducir las exacerbaciones de EPOC en un mamífero que lo necesita; (b) un método para reducir las exacerbaciones de FQ en un mamífero que lo necesite; (c) un método para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero que lo necesita, (d) un método para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero con EPOC, (e) un método para mejorar la función pulmonar (FEV1) en un mamífero que experimenta FQ, (f) un método para reducir las infecciones de las vías respiratorias en un mamífero que lo necesita.

[0069] También se proporciona un método para estimular, potenciar o mejorar el aclaramiento mucociliar en un mamífero, comprendiendo el método la administración a un mamífero que lo necesita de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (A), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Se entenderá que el aclaramiento mucociliar incluye las acciones mucociliares naturales implicadas en la transferencia o aclaramiento del moco en las vías respiratorias, incluidos los mecanismos de autorrelleno de los bronquios. Por lo tanto, también se proporciona un método para mejorar el aclaramiento de la mucosidad en las vías respiratorias de un mamífero que lo necesita.

[0070] Además, los bloqueadores de los canales de sodio pueden estar indicados para el tratamiento de afecciones que se mejoran mediante una mayor hidratación de la mucosa en las superficies de la mucosa distintas de las superficies de la mucosa pulmonar. Ejemplos de tales afecciones incluyen sequedad de boca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluyendo la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, ojo seco, enfermedad de Sjogren, otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome distal de obstrucción intestinal, esofagitis, estreñimiento y diverticulitis crónica. Los compuestos de la invención también se pueden usar para promover la hidratación ocular o corneal.

[0071] Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en métodos para obtener una muestra de esputo de un ser humano. El método puede llevarse a cabo administrando un compuesto de la invención a al menos un pulmón del paciente, y luego induciendo y recogiendo una muestra de esputo de ese ser humano.

[0072] Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para uso en un método para el tratamiento de una afección en un mamífero, tal como un ser humano, para el que está indicado un bloqueador de canales de sodio.

[0073] En otras realizaciones, la presente invención proporciona cada uno de los métodos descritos en la presente memoria con el beneficio adicional de minimizar o eliminar la hiperpotasemia en el receptor del método. También se proporcionan realizaciones que comprenden cada uno de los métodos descritos en la presente memoria en los que se logra un índice terapéutico mejorado.

[0074] Los términos "tratar", "tratado" y "tratamiento", como se usan en la presente memoria, se refieren a revertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir el trastorno o afección o uno o más síntomas de dicho trastorno o afección.

[0075] Todos los métodos terapéuticos descritos en este documento se llevan a cabo administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención, un compuesto de Fórmula (A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto (típicamente mamífero y preferiblemente humano) que necesita tratamiento.

[0076] La invención proporciona un compuesto de la invención para uso en uno de los siguientes métodos y realizaciones:

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de una afección que se mejora por la hidratación incrementada de la mucosa en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona 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 invención proporciona un método para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización particular, la presente invención proporciona un método para reducir la frecuencia, gravedad o duración de la exacerbación aguda de la EPOC o para el tratamiento de uno o más síntomas de la exacerbación aguda de la EPOC en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento del asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de bronquiectasias (que incluyen bronquiectasias debidas a afecciones distintas de la fibrosis quística) en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un

método para el tratamiento de bronquitis, que incluye bronquitis aguda y crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la tos post-viral en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la fibrosis quística en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento del enfisema en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la neumonía en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la panbronquiolitis en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de bronquiolitis asociada a trasplante, que incluye bronquiolitis asociada a trasplante de médula ósea y pulmón en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para tratar la traqueobronquitis asociada al ventilador y/o prevenir la neumonía asociada al ventilador en un ser humano con ventilación que lo necesite.

[0077] Esta invención proporciona métodos específicos para tratar una enfermedad seleccionada del grupo de obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasias debidas a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos postvirales, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplante y traqueobronquitis asociada a ventilador o prevención de neumonía asociada a ventilador en un ser humano que lo necesita, comprendiendo cada método la administración a dicho humano de una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (B-2), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En realizaciones adicionales para cada método de tratamiento, la forma de sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrocloruro o una sal de hidroxinaftoato del compuesto de fórmula (B-2). En otra realización dentro de cada método de tratamiento, se usa la base libre del compuesto de fórmula (B-2).

[0078] En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la boca seca (xerostomía) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la piel seca en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la sequedad vaginal en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la sinusitis, la rinosinusitis o la deshidratación nasal, que incluye la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento del ojo seco, o enfermedad de Sjogren, o promover la hidratación ocular o corneal en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesita. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de otitis media en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de la discinesia ciliar primaria, en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite.

[0079] También se proporciona un compuesto de la invención para uso en terapia médica, particularmente para uso en el tratamiento del estado en un mamífero, tal como un ser humano, para el cual está indicado un bloqueador de canales de sodio. Todos los usos terapéuticos descritos en la presente memoria se llevan a cabo administrando una cantidad eficaz de un compuesto de la invención al sujeto que necesita tratamiento. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de una afección pulmonar, tal como una enfermedad asociada con la obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización particular, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en la reducción de la frecuencia, gravedad o duración de la exacerbación aguda de la EPOC o para el tratamiento de uno o más síntomas de la exacerbación aguda de la EPOC, en un mamífero, particularmente un ser humano, en necesidad de eso. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento del asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para uso en el tratamiento de bronquiectasias, que incluye bronquiectasias debidas a afecciones distintas de la fibrosis quística, o bronquitis, que incluyen bronquitis aguda y bronquitis crónica, en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. En una realización, se proporciona un compuesto para uso en el tratamiento de la tos post-viral, en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para 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 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 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 uso en el tratamiento de la bronquiolitis asociada a trasplante o panbronquitis, que incluye bronquiolitis asociada a trasplante de médula ósea y de pulmón en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de traqueobronquitis asociada a ventilador o prevención de neumonía asociada a ventilador en un ser humano venilado que lo necesite.

[0080] En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de una afección mejorada por hidratación mucosal incrementada en superficies mucosas de un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto para 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 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 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 uso en el tratamiento de sinusitis, rinosinusitis o deshidratación nasal, que incluye deshidratación nasal provocada 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 uso en el tratamiento del ojo seco o enfermedad de Sjogren o que promueve 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 uso en el tratamiento de otitis media en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de discinesia ciliar primaria en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, se proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite.

[0081] 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 el cual está indicado un bloqueante de los canales de 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 obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), exacerbaciones agudas de EPOC, asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasias debidas a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis (incluyendo bronquitis aguda y bronquitis crónica), tos postvirales, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplantes (incluyendo bronquiolitis asociada a trasplante de médula ósea y pulmón), traqueobronquitis asociada a ventilador o prevención de neumonía asociada a ventilador.

[0082] 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 mejorada por la hidratación de la mucosa en las superficies de la mucosa, el tratamiento de la boca seca (xerostomía), piel seca, vaginal sequedad, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluyendo deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, tratamiento del ojo seco, enfermedad de Sjogren, promoción de la hidratación ocular o corneal, tratamiento de la otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica.

[0083] Los términos "cantidad efectiva", "cantidad farmacéuticamente efectiva", "dosis efectiva" y "dosis farmacéuticamente efectiva" como se usan en el presente documento, se refieren a una cantidad de compuesto de la invención que es suficiente en el sujeto al que está administrado, para provocar la respuesta biológica o médica de un cultivo celular, tejido, sistema o mamífero (incluido el humano) que se busca, por ejemplo, por un investigador o un médico. El término también incluye dentro de su alcance, cantidades efectivas para mejorar la función fisiológica normal. En una realización, la cantidad efectiva es la cantidad necesaria para proporcionar un nivel deseado de fármaco en las secreciones y tejidos de las vías respiratorias y los pulmones, o alternativamente, en el flujo sanguíneo de un sujeto a tratar para dar una respuesta fisiológica anticipada o efecto biológico deseado cuando tal composición se administra por inhalación. Por ejemplo, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para el tratamiento de una afección para la que se indica un bloqueador de canales de 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 la EPOC o la fibrosis quística en un ser humano.

[0084] La cantidad efectiva precisa de los compuestos de la invención dependerá de una serie de factores que incluyen, pero no se limitan a, la especie, la edad y el peso del sujeto que se está tratando, la condición 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 administración, y en última instancia quedará a discreción del médico o veterinario encargado. Pueden encontrarse orientaciones adicionales con respecto a la dosis apropiada al considerar la dosificación convencional de otros bloqueantes de los canales de sodio, tales como amilorida, prestando la debida consideración a cualquier diferencia en la potencia entre la amilorida y los compuestos de la presente invención.

[0085] Una dosis farmacéuticamente eficaz administrada tópicamente a las superficies de las vías respiratorias de un sujeto (por ejemplo, por inhalación) de un compuesto de la invención para el tratamiento de un humano de 70 kg puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg. En otra realización, la dosis farmacéuticamente efectiva 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 lograr la concentración disuelta de agente activo en 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 asistente, médico o veterinario de experiencia ordinaria en la técnica en base a una serie de factores que

incluyen los mencionados anteriormente. En una realización particular, la dosis de un compuesto de la invención para el tratamiento de un humano de 70 kg estará en el intervalo de aproximadamente 10 nanogramos (ng) a aproximadamente 10 mg. En otra realización, la dosis efectiva 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 humano de 70 kg estará en el intervalo de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 0,5 mg. En realizaciones adicionales, la dosis se seleccionará independientemente entre a) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 60 µg; b) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 50 µg; b) de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30 µg; c) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 20 µg; d) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 10 µg; e) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 5 µg; f) de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 40 µg; g) de aproximadamente 15 µg a aproximadamente 50 µg; o h) de aproximadamente 15 µg a aproximadamente 30 µg, respectivamente.

[0086] Se entenderá que en cada uno de estos intervalos de dosis, se incluyen todas las dosis incrementales en el intervalo. Por ejemplo, el rango de 0,5-50 µg incluye dosis individuales seleccionadas independientemente del grupo de: 0,1 µg, 0,2 µg, 0,3 µg, 0,4 µg, 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, 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, 38,9 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, 39,9 µg y 50 µg.

[0087] Las dosis sugeridas anteriores pueden ajustarse usando cálculos de dosis convencionales si el compuesto se administra por una ruta diferente. La determinación de una dosis apropiada para administración por otras vías está dentro de la experiencia de los expertos en la técnica a la luz de la descripción anterior y del conocimiento general en la técnica.

[0088] La administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención puede implicar el suministro de una única forma de dosificación o dosis unitarias múltiples que pueden administrarse contemporáneamente o separarse en el tiempo durante un período designado, tal como 24 horas. Una dosis de un compuesto de la invención (solo o en forma de una composición que comprende la misma) puede ser administrado de una a diez veces por día. Típicamente, un compuesto de la invención (solo o en forma de una composición que comprende el mismo) se administrará cuatro, tres, dos o una vez al día (24 horas).

[0089] Los compuestos de Fórmula (A) de la presente invención también son útiles para tratar infecciones transmitidas por el aire. Los ejemplos de infecciones en el aire incluyen, por ejemplo, RSV. Los compuestos de Fórmula (A) de la presente invención también son útiles para tratar una infección por ántrax. La presente invención se refiere al uso de los compuestos de Fórmula (A) de la presente invención para el tratamiento profiláctico, profiláctico posterior a la exposición, preventivo o terapéutico contra enfermedades o afecciones causadas por patógenos. En una realización preferida, la presente invención se refiere al uso de los compuestos de Fórmula (A) para el tratamiento profiláctico, preventivo o terapéutico posterior a la exposición contra enfermedades o afecciones causadas por patógenos que pueden usarse en bioterrorismo.

[0090] En los últimos años, se han implementado una variedad de programas de investigación y medidas de biodefensa para tratar las preocupaciones sobre el uso de agentes biológicos en actos de terrorismo. Estas medidas tienen la intención de abordar las preocupaciones relacionadas con el bioterrorismo o el uso de microorganismos o toxinas biológicas para matar personas, propagar el miedo e interrumpir la sociedad. Por ejemplo, el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas (NIAID, por sus siglas en inglés) ha desarrollado un Plan Estratégico de Investigación en Biofarza que describe los planes para abordar las necesidades de investigación en el amplio campo del bioterrorismo y las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. Según el plan, la exposición deliberada de la población civil de los Estados Unidos a las esporas de Bacillus anthracis reveló una brecha en la preparación general de la nación contra el bioterrorismo. Además, el informe detalla que estos ataques descubrieron una necesidad insatisfecha de pruebas para diagnosticar rápidamente, vacunas e inmunoterapias para prevenir, y medicamentos y productos biológicos para curar enfermedades causadas por agentes de bioterrorismo.

[0091] Gran parte del enfoque de los diversos esfuerzos de investigación se ha dirigido al estudio de la biología de los patógenos identificados como potencialmente peligrosos como agentes de bioterrorismo, estudiando la respuesta del huésped contra dichos agentes, desarrollando vacunas contra enfermedades infecciosas, evaluando los productos terapéuticos actualmente disponibles y bajo investigación contra tales agentes, y desarrollando diagnósticos para identificar signos y síntomas de agentes amenazantes. Tales esfuerzos son loables pero, dada la gran cantidad de patógenos que se han identificado como potencialmente disponibles para el bioterrorismo, estos esfuerzos aún no han podido proporcionar respuestas satisfactorias para todas las posibles amenazas de bioterrorismo. Además, muchos de los patógenos identificados como potencialmente peligrosos como agentes del bioterrorismo no proporcionan incentivos económicos adecuados para el desarrollo de medidas terapéuticas o preventivas por parte de la industria. Además, incluso si se dispusiera de medidas preventivas, como vacunas, para cada patógeno que pudiera utilizarse en bioterrorismo, el costo de administrar todas esas vacunas a la población general es prohibitivo.

[0092] Hasta que se disponga de tratamientos convenientes y eficaces contra cada amenaza de bioterrorismo, existe una gran necesidad de tratamientos preventivos, profilácticos o terapéuticos que puedan prevenir o reducir el riesgo de infección por agentes patógenos.

[0093] La presente invención proporciona dichos 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 (A) a un individuo que necesita tratamiento profiláctico contra la infección de uno o más patógenos transportados por el aire. Un ejemplo particular de un patógeno en el aire es el ántrax.

[0094] En otro aspecto, se proporciona un método de tratamiento profiláctico para reducir el riesgo de infección de un patógeno transportado por el aire que puede causar una enfermedad en un ser humano, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula (A) a los pulmones del humano que puede estar en riesgo de infección por el patógeno aéreo pero es asintomático para la enfermedad, en donde la cantidad efectiva de un bloqueador del canal de sodio y osmolye son suficientes para reducir el riesgo de infección en el humano. Un ejemplo particular de un patógeno en el aire es el ántrax.

[0095] En otro aspecto, se proporciona un tratamiento profiláctico posterior a la exposición o un método de tratamiento terapéutico para tratar la infección de un patógeno transportado por el aire que comprende administrar una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula (A) a los pulmones de un individuo que necesita dicho tratamiento contra la infección de un patógeno en el aire. Los patógenos que pueden protegerse mediante los métodos profilácticos de exposición posterior, rescate y tratamiento terapéutico de la invención incluyen cualquier patógeno que pueda entrar al cuerpo a través de la boca, la nariz o las vías respiratorias nasales, procediendo así a los pulmones. Típicamente, los patógenos serán patógenos transportados por el aire, ya sea de forma natural o por aerosolización. Los patógenos pueden ser naturales o pueden haber sido introducidos en el medio ambiente intencionalmente después de la aplicación de aerosoles u otro método para introducir los patógenos en el medio ambiente. Muchos patógenos que no se transmiten naturalmente en el aire se han aerosolizado o se pueden utilizar para bioterrorismo. Los patógenos para los cuales puede ser útil el tratamiento de la invención incluyen, pero no se limitan a, patógenos prioritarios de categoría A, B y C como se establece por el NIAID. Estas categorías corresponden generalmente a las listas compiladas por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). Según lo establecido por el CDC, los agentes de Categoría A son aquellos que pueden diseminarse fácilmente o transmitirse de persona a persona, causan una alta mortalidad, con un gran impacto en la salud pública. Los agentes de la categoría B son los siguientes en prioridad e incluyen aquellos que son

moderadamente fáciles de diseminar y causan morbilidad moderada y baja mortalidad. La categoría C consiste en agentes patógenos emergentes que podrían diseñarse para diseminación masiva en el futuro debido a su disponibilidad, facilidad de producción y difusión, y potencial para una alta morbilidad y mortalidad. Ejemplos particulares de estos patógenos son ántrax y plaga. Los patógenos adicionales que pueden protegerse o el riesgo de infección de los mismos incluyen virus de influenza, rinovirus, adenovirus y virus respiratorios sincitiales, y similares. Un patógeno adicional contra el cual uno puede protegerse es el coronavirus que se cree que causa el síndrome respiratorio agudo severo (SARS).

[0096] La presente invención también se refiere al uso de bloqueadores de canales de sodio de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para prevenir, mitigar y/o tratar efectos deterministas para la salud del tracto respiratorio provocados por la exposición a materiales radiológicos, particularmente aerosoles respirables que contienen radionucleidos de ataques nucleares, como la detonación de dispositivos de dispersión radiológica (RDD) o accidentes, como desastres en plantas de energía nuclear. Como tal, en este documento se proporciona un método para prevenir, mitigar y/o tratar los efectos deterministas para la salud del tracto respiratorio y/u otros órganos corporales causados por aerosoles respirables que contienen radionucleidos en un receptor que lo necesita, incluso en un ser humano necesitado del mismo, comprendiendo dicho método la administración a dicho ser humano de una cantidad efectiva de un compuesto de Fórmula (A), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0097] Una de las principales preocupaciones asociadas con la planificación de gestión de consecuencias para las exposiciones de los miembros del público a aerosoles respirables que contienen radionucleidos de ataques nucleares, como la detonación de dispositivos de dispersión radiológica (RDD) o accidentes, como desastres de plantas de energía nuclear es cómo prevenir, mitigar o tratar posibles efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio, principalmente el pulmón. Es necesario tener medicamentos, técnicas y procedimientos, y personal capacitado preparado para manejar y tratar a esas personas altamente contaminadas internamente.

[0098] Se han realizado investigaciones para determinar formas de prevenir, mitigar o tratar el daño potencial al tracto respiratorio y a varios órganos en el cuerpo que es causado por radionucleidos depositados internamente. Hasta la fecha, la mayor parte de la atención de la investigación se ha centrado en estrategias diseñadas para mitigar los efectos en la salud de los radionúclidos depositados internamente acelerando su excreción o eliminación. Estas estrategias se han centrado en formas químicas solubles que son capaces de alcanzar el torrente sanguíneo y se depositan en sitios sistémicos remotos específicos de un elemento radiactivo dado. Dichos enfoques no funcionarán en los casos en que el radionúclido depositado se encuentre en forma relativamente insoluble. Los estudios han demostrado que muchas, si no la mayoría de las formas fisicoquímicas de los radionucleidos dispersados de los RDD, estarán en forma relativamente insoluble.

[0099] El único método conocido para reducir eficazmente la dosis de radiación a los pulmones a partir de aerosoles radiactivos insolubles inhalados es el lavado broncoalveolar o BAL. Esta técnica, que fue adaptada de la que ya se usa para el tratamiento de pacientes con proteinosis alveolar, ha demostrado ser un procedimiento seguro y repetible, incluso cuando se realiza durante un período prolongado de tiempo. Aunque hay variaciones en el procedimiento, el método básico para BAL es anestesiar al sujeto, seguido de la introducción lenta de solución salina isotónica en un solo lóbulo del pulmón hasta que se alcanza la función de capacidad residual. Luego se agregan y drenan volúmenes adicionales por gravedad.

[0100] Los resultados de los estudios que usan BAL en animales indican que aproximadamente el 40% del contenido pulmonar profundo se puede eliminar mediante una secuencia razonable de BAL. En algunos estudios, hubo una variabilidad considerable entre los animales en la cantidad de radionúclidos recuperados. Las razones de la variabilidad actualmente no se comprenden.

[0101] Además, en base a un estudio en animales, se cree que una reducción significativa de la dosis de la terapia BAL da como resultado la mitigación de los efectos en la salud debidos a la inhalación de radionucleidos insolubles. En el estudio, los perros adultos inhalaron partículas insolubles de 144Ce-FAP. Dos grupos de perros recibieron contenidos pulmonares de 144Ce que se sabe que causan neumonitis por radiación y fibrosis pulmonar (aproximadamente 2 MBq/kg de masa corporal), un grupo se trata con 10 lavados unilaterales entre 2 y 56 días después de la exposición y el otro no tratado. Un tercer grupo se expuso a un nivel de 144Ce comparable al observado en el grupo tratado con BAL después del tratamiento (aproximadamente 1 MBq/kg), pero estos animales no fueron tratados. A todos los animales se les permitió vivir su esperanza de vida, que se extendió a 16 años. Debido a la variabilidad en el contenido pulmonar inicial de 144Ce entre los perros de cada grupo, las tasas de dosis y las dosis acumuladas para cada grupo se superponen. Sin embargo, el efecto de BAL en la reducción del riesgo de neumonitis/fibrosis fue evidente a partir de las curvas de supervivencia. En los perros no tratados con un contenido de pulmón de 1,5-2,5 MBq/kg, el tiempo de supervivencia promedio fue de 370 ± 65 d. Para los perros tratados, la supervivencia media fue 1270 ± 240 d, que fue estadísticamente significativamente diferente. El tercer grupo, que recibió un contenido pulmonar de ^{144}Ce de 0,6-1,4 MBq, tuvo un tiempo de supervivencia promedio de 1.800 ± 230, que no fue estadísticamente diferente del grupo tratado. Igual de importante para la mayor supervivencia, los perros en el grupo de dosis altas no tratadas murieron por efectos deterministas en los pulmones (neumonitis/fibrosis) mientras que los perros tratados no lo hicieron. En cambio, los perros tratados, al igual que los

perros en el grupo de baja dosis no tratada, en su mayoría tenían tumores de pulmón (hemangiosarcoma o carcinoma). Por lo tanto, la reducción en la dosis resultante del tratamiento BAL parece haber producido efectos biológicos en el pulmón que fueron predecibles en función de las dosis de radiación que recibieron los pulmones.

[0102] En base a estos resultados, se cree que la disminución adicional de la dosis radiológica residual por cualquier método o combinación de métodos para potenciar la eliminación de partículas del pulmón disminuiría aún más la probabilidad de efectos en la salud del pulmón. Sin embargo, BAL es un procedimiento que tiene muchos inconvenientes. BAL es un procedimiento altamente invasivo que deben ser realizados en centros médicos especializados por neumólogos capacitados. Como tal, un procedimiento BAL es costoso. Dados los inconvenientes de BAL, no es una opción de tratamiento que esté disponible inmediata y fácilmente para las personas que necesitan una eliminación 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 relativamente fácil para las personas que han estado expuestas o que corren el riesgo de estar expuestas. Se ha demostrado que los bloqueadores de los canales de sodio administrados como aerosol de inhalación restauran la hidratación de las superficies de las vías respiratorias. Dicha hidratación de las superficies de las vías respiratorias ayuda a despejar las secreciones de moco acumuladas y la materia particulada asociada del pulmón. Como tal, sin estar sujeto a ninguna teoría en particular, se cree que los bloqueadores de los canales de sodio pueden usarse para acelerar la eliminación de partículas radiactivas de los conductos de las vías respiratorias.

[0103] Como se discutió anteriormente, el mayor riesgo para los pulmones después de un ataque radiológico, tal como una bomba sucia, resulta de la inhalación y retención de partículas radiactivas insolubles. Como resultado de la retención de partículas radioactivas, la exposición acumulativa al pulmón se incrementa significativamente, lo que finalmente resulta en fibrosis pulmonar/neumonitis y potencialmente la muerte. Las partículas insolubles no pueden ser eliminadas sistémicamente por los agentes quelantes porque estas partículas no están en solución. Hasta la fecha, la eliminación física de material particulado a través de BAL es el único régimen terapéutico demostrado que es efectivo para mitigar la enfermedad pulmonar inducida por radiación. Como se discutió anteriormente, BAL no es una solución de tratamiento realista para reducir los efectos de las partículas radiactivas que se han inhalado en el cuerpo. Como tal, es deseable proporcionar un régimen terapéutico que ayude eficazmente a eliminar partículas radiactivas de los conductos de las vías respiratorias y que, a diferencia de BAL, sea relativamente simple de administrar y escalable en un escenario de exposición a la radiación a gran escala. Además, también es deseable que el régimen terapéutico esté fácilmente disponible para un número de personas en un período de tiempo relativamente corto.

[0104] En un aspecto de la presente invención, un método para prevenir, mitigar y/o tratar los efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio u otros órganos corporales causados por aerosoles respirables que contienen radionucleidos comprende la administración de una cantidad efectiva de un bloqueador de canales de sodio de Fórmula (A) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para un individuo en necesidad. En una característica de este aspecto, el bloqueador del canal de sodio se administra junto con un osmolito. Con respecto a esta característica, el osmolito es solución salina hipertónica (HS). En una característica adicional, el bloqueador del canal de sodio y el osmolito se administran junto con un modulador de transporte iónico. Con respecto a esta característica, el modulador de transporte iónico se puede seleccionar del grupo que consiste en β-agonistas, potenciadores de CFTR, agonistas de receptores purinérgicos, lubiprostones e inhibidores de proteasas. En otra característica de este aspecto, los radionúclidos se seleccionan del grupo formado por Colbalt-60, Cesio-137, Iridio-192, Radio-226, Fósforo-32, Estroncio-89 y 90, Lodine-125, Talio-201, Plomo-210, torio-234, uranio-238, plutonio, cobalto-58, cromo-51, americio y curio. En una característica adicional, los radionucleidos son de un dispositivo de eliminación radiactiva. En otra característica más, el bloqueante del canal de sodio o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una suspensión en aerosol de partículas respirables que el individuo inhala. En una característica adicional, el bloqueante del canal de sodio o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra después de la exposición a los radionucleidos.

COMPOSICIONES

[0105] Si bien es posible administrar un compuesto de la invención solo, en algunas realizaciones es preferible presentarlo en forma de una composición, particularmente una composición farmacéutica (formulación). Por lo tanto, 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 ingrediente activo, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El término "ingrediente activo" como se emplea en la presente memoria 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 esta invención, que incluye compuestos seleccionados de aquellos de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de forma independiente o en combinación, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. .

[0106] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de

un compuesto seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K- 1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, independientemente o en combinación, en un diluyente. En realizaciones separadas, la composición farmacéutica comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en solución salina hipertónica, agua estéril y solución salina hipertónica, respectivamente, en donde la concentración de solución salina puede ser como se describe aquí. En una realización, la concentración de solución salina es del 0,17% p/v y en otro es de 2,8% p/v.

[0107] También se proporciona un kit que comprende i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; ii) uno o más excipientes, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables; iii) instrucciones para administrar el compuesto del grupo i) y los excipientes, vehículos o diluyentes del grupo ii) a un sujeto que lo necesita; y; iv) un contenedor. Un sujeto que lo necesita incluye cualquier sujeto que necesite los métodos de tratamiento descritos en este documento, que incluyen particularmente un sujeto humano que lo necesita. Las realizaciones adicionales también comprenden un dispositivo de aerosolización seleccionado del grupo de un nebulizador, que incluye 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 medida, incluyendo polvo seco a presión e inhaladores de dosis medidas de niebla suave. También se proporcionan realizaciones independientes en las que la cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto como se describe en la presente memoria, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprende una de las dosis efectivas individuales individuales descritas aquí o uno de los intervalos de dosis descritos en este documento.

[0108] En una realización, un kit comprende i) de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg de un compuesto seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, 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 necesita; y; iv) un contenedor. En una realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mL de una solución salina, como se describe en la presente memoria, 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 otra realización más, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mL de agua estéril por dosis.

[0109] También se proporciona un kit que comprende i) una solución que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; disuelto en un diluyente farmacéuticamente aceptable; iii) instrucciones para administrar la solución del grupo i) a un sujeto que lo necesita; y iii) un contenedor.

[0110] También se proporciona un kit que comprende i) una solución que comprende de aproximadamente 10 ng a aproximadamente 10 mg de un compuesto seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H -4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; disuelto en un diluyente farmacéuticamente aceptable; iii) instrucciones para administrar la solución del grupo i) a un sujeto que lo necesita; y iii) un contenedor. En una realización adicional, el diluyente es de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mL de una solución salina, como se describe en la presente memoria, por dosis.

[0111] Otra realización comprende un kit que comprende i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado entre los de las Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K- 1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en una formulación de polvo seco adecuada para inhalación ii) opcionalmente, uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para inhalación; iii) instrucciones para administrar el compuesto del grupo i) y los excipientes o vehículos del grupo ii) a un sujeto que lo necesita; y; iv) un contenedor. En una realización adicional, el kit también comprende un inhalador de polvo seco adecuado para administrar la formulación de polvo seco a un receptor. El inhalador de polvo seco puede ser, en realizaciones adicionales, un inhalador de dosis única o un inhalador de dosis múltiples.

[0112] Otras realizaciones de cada uno de los kits descritos en este documento incluyen aquellos en los que la concentración del compuesto seleccionado de aquellos de Fórmulas (A), (B), (C), (D), (E), (F), (G), (H), (I), (J), (K), (L), (M), (B-1), (B-2), (B-3), (B-4), (E-1), (E-2), (E-3), (E-4), (H-1), (H-2), (H-3), (H-4), (K-1), (K-2), (K-3) y (K-4), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por dosis, es uno de los intervalos de dosis efectivos descritos en este documento, que incluyen a) de aproximadamente 0,1 µg a aproximadamente 1,000 µg; b) de aproximadamente 0,5

µg a aproximadamente 0,5 µg; y c) de aproximadamente 0,5 µg a aproximadamente 50 µg.

[0113] Para cada uno de los kits descritos anteriormente hay una realización adicional en la que el diluyente es solución salina hipertónica de las concentraciones descritas aquí. En otra realización para cada kit, el diluyente es solución salina hipotónica de las concentraciones descritas en este documento. En una realización adicional para cada kit, el diluyente es agua estéril adecuada para inhalación.

[0114] El (los) excipiente(s), diluyente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s) deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos. En general, los excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables empleados en la formulación farmacéutica son "no tóxicos", lo que significa que se consideran seguros para el consumo en la cantidad suministrada en la formulación e "inerte" significa que reaccionan/no reaccionan de forma apreciable o dan como resultado un efecto indeseado sobre la actividad terapéutica del/de los ingrediente(s) activo(s). Los excipientes, diluyentes y vehículos farmacéuticamente aceptables son convencionales en la técnica y pueden seleccionarse usando técnicas convencionales, basadas en la ruta de administración deseada. Véase, REMINGTON'S, PHARMACEUTICAL SCIENCES, Lippincott Williams & Wilkins; 21ª edición (1 de mayo de 2005). Preferiblemente, el (los) excipiente(s), diluyente(s) o vehículo(s) farmacéuticamente aceptable(s) se consideran generalmente seguros (GRAS) según la FDA.

[0115] Las composiciones farmacéuticas según la invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral; administración parenteral, que incluye subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa e intraarticular; administración tópica, que incluye administración tópica en la piel, ojos, oídos, etc. administración vaginal o rectal; y administración en el tracto respiratorio, incluidas las cavidades nasales y los senos paranasales, las vías respiratorias orales y extratorácicas, y los pulmones, incluido el uso de aerosoles que pueden administrarse por medio de varios tipos de inhaladores de polvo seco, inhaladores de dosis medidas presurizados, inhaladores de softmist, nebulizadores o insufladores. La vía de administración más adecuada puede depender de varios factores, que incluyen al paciente y la afección o trastorno que se trata.

[0116] Las formulaciones se pueden presentar en forma de dosificación unitaria o a granel como, por ejemplo, en el caso de formulaciones a dosificar mediante un inhalador y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Generalmente, los métodos incluyen el paso de poner el ingrediente activo en asociación con el vehículo, diluyente o excipiente y opcionalmente uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con uno o más vehículos líquidos, diluyentes o excipientes o vehículos sólidos finamente divididos, diluyentes o excipientes, o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto en la formulación deseada.

[0117] En una realización preferida, la composición es una composición farmacéutica inhalable que es adecuada para inhalación y suministro al espacio endobronquial. Típicamente, dicha composición está en forma de un aerosol que comprende partículas para administración usando un nebulizador, inhalador de dosis medida presurizado (MDI), inhalador de softmist o inhalador de polvo seco (DPI). La formulación de aerosol utilizada en los métodos de la presente invención puede ser un líquido (por ejemplo, solución) adecuado para administración por un nebulizador, inhalador de softmist o MDI, o un polvo seco adecuado para la administración por un MDI o DPI.

[0118] Los aerosoles utilizados para administrar medicamentos al tracto respiratorio son típicamente polidispersos; es decir, están compuestos por partículas de muchos tamaños diferentes. La distribución del tamaño de partícula se describe típicamente por el Diámetro Aerodinámico Mediano de Masa (MMAD) y la Desviación Estándar Geométrica (GSD). Para una administración óptima del fármaco al espacio endobronquial, el MMAD está en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mm y preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mm, y el GSD es menor que 3, y preferiblemente menor que aproximadamente 2. Los aerosoles tienen un MMAD superior a 10 mm generalmente es demasiado grande cuando se inhala para llegar a los pulmones. Los aerosoles con un GSD mayor que aproximadamente 3 no son preferidos para la administración pulmonar ya que entregan un alto porcentaje del medicamento a la cavidad oral. Para lograr estos tamaños de partícula en la formulación en polvo, las partículas del ingrediente activo se pueden reducir de tamaño usando técnicas convencionales tales como micronización o secado por pulverización. Los ejemplos no limitantes de otros procesos o técnicas que se pueden usar para producir partículas respirables incluyen secado por pulverización, precipitación, fluido supercrítico y liofilización. La fracción deseada puede separarse por clasificación de 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 softmist o MDI.

[0119] Las distribuciones de tamaño de partícula de aerosol se determinan usando dispositivos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, un impactador de cascada Anderson de etapas múltiples u otro método adecuado, como los específicamente citados en el Capítulo 601 de la Farmacopea de los EE. UU., Como dispositivos caracterizadores de aerosoles emitidos a partir de dosis medidas e inhaladores de polvo seco.

[0120] Las composiciones de polvo seco para la administración tópica al pulmón mediante inhalación pueden formularse sin excipiente o vehículo y, en su lugar, incluir únicamente 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 en polvo adecuada (vehículo/diluyente/sustancia excipiente) tal como mono, di o polisacáridos (por ejemplo, lactosa o almidón). 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 activo para ayudar a la dispersión de la formulación en el inhalador.

[0121] Los ejemplos no limitantes de inhaladores de polvo seco incluyen inhaladores de dosis múltiples de reserva, inhaladores de dosis múltiples premedidos, inhaladores basados en cápsulas e inhaladores de dosis única desechables. Un inhalador de reservorio contiene una gran cantidad de dosis (por ejemplo, 60) en un recipiente. Antes de la inhalación, el paciente activa el inhalador que hace que el inhalador dosifique una dosis de medicamento del reservorio y lo prepare para la inhalación. Los ejemplos de IPS de depósito incluyen, pero no están limitados a, Turbohaler® de AstraZeneca y ClickHaler® de Vectura.

[0122] En un inhalador multidosis medido previamente, cada dosis individual se ha fabricado en un recipiente separado, y el accionamiento del inhalador antes de la inhalación hace que se libere una nueva dosis del fármaco de su recipiente y se prepara para la inhalación. Los ejemplos de inhaladores multidosis DPI 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 el polvo del dispositivo hacia la cavidad oral. Para un inhalador de cápsulas, la formulación está en una cápsula y se almacena fuera del inhalador. El paciente coloca una cápsula en el inhalador, acciona el inhalador (pincha la cápsula) y luego inhala. Los ejemplos incluyen Rotohaler™ (GlaxoSmithKline), Spinhaler™ (Novartis), HandiHaler™ (IB), TurboSpin™ (PH&T). Con los inhaladores desechables de dosis única, el paciente activa el inhalador para prepararlo para la inhalación, inhala y luego desecha el inhalador y el empaque. Los ejemplos incluyen el Twincer™ (U Groningen), OneDose™ (GFE) y Manta Inhaler™ (Manta Devices).

[0123] En general, los inhaladores de polvo seco utilizan características de flujo turbulento del camino del polvo para hacer que los agregados de excipiente y 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 cámara de dispersión con forma de moneda de forma tangencial, de modo que el recorrido del aire y el fármaco se mueven a lo largo de la pared circular exterior. A medida que la formulación del medicamento se mueve a lo largo de esta pared circular, rebota y los aglomerados se rompen por las fuerzas de impacto. El camino de aire gira en espiral hacia el centro de la cámara saliendo verticalmente. Las partículas que tienen tamaños aerodinámicos lo 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 los detalles de la formulación, se pueden agregar grandes partículas de lactosa a la formulación para ayudar en la dispersión a través del impacto con las partículas API.

[0124] El inhalador desechable de dosis única Twincer™ parece funcionar usando una cámara de dispersión ciclónica en forma de moneda denominada "clasificador de aire". Véase, la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos Nº 2006/0237010 a Rijksuniversiteit Groningen. Los documentos publicados por la Universidad de Groningen, han declarado que una dosis de 60 mg de sulfometato de colistina micronizado puro podría ser administrado efectivamente como un polvo seco inhalable utilizando esta tecnología.

[0125] En realizaciones preferidas, la formulación en aerosol se administra 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 menos de 2.

[0126] Los ejemplos de inhaladores de polvo seco y dispositivos de dispersión de polvo seco adecuados para su uso en la administración de compuestos y composiciones de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los descritos en US7520278; US7322354; US7246617; US7231920; US7219665; US7207330; US6880555; US5.522.385; US6845772; US6637431; US6329034; US5.458.135; US4.805.811; y la Solicitud de Patente Publicada de los Estados Unidos Nº 2006/0237010.

[0127] En una realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para la administración mediante un dispositivo de tipo Diskus®. El dispositivo Diskus® comprende una tira alargada formada a partir de una lámina base que tiene una pluralidad de huecos espaciados a lo largo y una lámina de tapa hermética pero pelablemente sellada para definir una pluralidad de contenedores, teniendo cada recipiente una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo sola o en mezcla con uno o más vehículos o excipientes (por ejemplo, lactosa) y/u otros agentes terapéuticamente activos. Preferiblemente, la tira es suficientemente flexible para enrollarse en un rollo. La lámina de tapa y la lámina de base tendrán preferiblemente partes extremas delanteras que no están selladas entre sí y al menos una de las partes extremas delanteras está construida para unirse a un medio de arrollamiento. También, preferiblemente, el sello hermético entre la base y las hojas de la tapa se extiende sobre todo su ancho. Para preparar la dosis para la inhalación, la lámina de la tapa se puede pelar preferiblemente desde la lámina de base en una dirección longitudinal desde un primer extremo de la lámina de base.

[0128] En una realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para la administración usando un inhalador de dosis única desechable, y particularmente el inhalador Twincer™. El inhalador Twincer™ comprende un blíster laminado de lámina con uno o más huecos y una lámina de tapa herméticamente pero sellada de forma pelable a la misma para definir una pluralidad de recipientes. Cada recipiente tiene en su interior una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente(s) activo(s) solo(s) o en mezcla con uno o más vehículos o excipientes (por ejemplo, lactosa). La lámina de tapa tendrá preferiblemente una porción de extremo delantero que está construida para proyectarse desde el cuerpo del inhalador. El paciente operaría el dispositivo y, por lo tanto, administraría la formulación de aerosol al: 1) retirar la envoltura externa del envoltorio, 2) tirar de la lengüeta de aluminio para destapar la droga en la ampolla e 3) inhalar la droga de la ampolla.

[0129] En otra realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación en donde el polvo seco se formula en micropartículas como se describe en la Publicación PCT Nº WO2009/015286 o WO2007/114881, ambas para NexBio. Tales micropartículas se forman generalmente añadiendo un contraión a una solución que contiene un compuesto de la invención en un disolvente, añadiendo un antidisolvente a la solución; y enfriando gradualmente la solución a 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 pueden a continuación separarse de la solución por cualquier medio adecuado tal como sedimentación, filtración o liofilización. Los contraiones, disolventes y antidisolventes adecuados para preparar micropartículas de los compuestos de la invención se describen en el documento WO2009/015286.

[0130] En otra realización, se administra una composición farmacéutica de acuerdo con la invención como un polvo seco usando un inhalador de dosis medida. Los ejemplos no limitantes de inhaladores y dispositivos de dosis medidas incluyen los descritos en 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, se administra un compuesto de la invención como un polvo seco usando un inhalador de dosis medida 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 que aproximadamente 2 .

[0131] Las formulaciones de aerosoles líquidos para administración al espacio endobronquial o al pulmón mediante inhalación pueden formularse, por ejemplo, como soluciones o suspensiones acuosas o como aerosoles suministrados a partir de envases presurizados, tales como inhaladores de dosis medidas, con el uso de propulsores licuados adecuados, inhaladores de softmist o nebulizadores. Tales composiciones de aerosol adecuadas para inhalación pueden ser una suspensión o una solución y generalmente contienen el (los) ingrediente(s) activo(s) junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua (destilada o estéril), solución salina, solución salina hipertónica o etanol) y opcionalmente uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales.

[0132] Las composiciones en aerosol para el suministro mediante inhaladores presurizados de dosis medidas típicamente comprenden además un propelente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales propelentes incluyen fluorocarbono o clorofluorcarbono que contiene hidrógeno o mezclas de los mismos, particularmente hidrofluoroalcanos, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, especialmente 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3,-heptafluoro-n-propano o una mezcla de ellos. La composición de aerosol puede estar exenta de excipientes o puede contener opcionalmente excipientes de formulación adicionales bien conocidos en la técnica tales como tensioactivos, por ejemplo, ácido oleico o lecitina y codisolventes, por ejemplo, etanol. Las formulaciones presurizadas generalmente se retendrán en un bote (por ejemplo, un bote de aluminio) cerrado con una válvula (por ejemplo, una válvula dosificadora) y se colocarán en un actuador provisto de una boquilla.

[0133] En otra realización, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención se administra como un líquido usando un inhalador de dosis medida. Los ejemplos no limitantes de inhaladores y dispositivos de dosis medidas incluyen los descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nºs 6.253.762, 6.413.497, 7.601.336, 7.481.995, 6.743.413 y 7.105.152. En una realización preferida, se administra un compuesto de la invención como un polvo seco usando un inhalador de dosis medida 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 que aproximadamente 2.

[0134] En una realización, la formulación de aerosol es adecuada para la aerosolización mediante un nebulizador de chorro, o un nebulizador ultrasónico que incluye nebulizadores de placas porosas estáticas y vibratorias. Las formulaciones en aerosol líquido para nebulización pueden ser generadas por solubilizar o reconstituir una formulación de partículas sólidas o puede formularse con un vehículo acuoso con la adición de agentes tales como ácido o álcali, sales tampón y agentes de ajuste de la isotonicidad. Se pueden esterilizar mediante técnicas en proceso tales como filtración o procesos terminales tales como calentamiento en autoclave o radiación gamma. También pueden presentarse en forma no estéril.

[0135] Los pacientes pueden ser sensibles al pH, a la osmolalidad y al contenido iónico de una solución nebulizada. Por lo tanto, estos parámetros deben ajustarse para que sean compatibles con el ingrediente activo y tolerables para los pacientes. La solución o suspensión más preferida de ingrediente activo contendrá una concentración de cloruro

>30 mM a pH 4,5-7,4, preferiblemente 5,0-5,5, y una osmolalidad de aproximadamente 800-1600mOsm/kg. El pH de la solución puede controlarse mediante valoración con ácidos comunes (ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, por ejemplo) o bases (hidróxido sódico, por ejemplo) o mediante el uso de tampones. Los tampones usados comúnmente incluyen tampones de citrato, tales como tampones de ácido cítrico/citrato de sodio, tampones de acetato, tales como tampones de ácido acético/acetato de sodio y tampones de fosfato. Las resistencias del tampón pueden oscilar entre 2 mM y 50 mM.

[0136] Los tampones de acetato, fosfato y citrato útiles incluyen acetato de sodio, acetato de sodio trihidratado, acetato de amonio, acetato de potasio, fosfato de sodio, fosfato de sodio dibásico, hidrogenofosfato de disodio, dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de potasio, fosfato de potasio, citrato de sodio, y citrato de potasio. Otros tampones que pueden utilizarse incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, aminometilpropanol, trometamina, tetrahidroxipropiletilendiamina, ácido cítrico, ácido acético, ácido hidroxitricarboxílico o una sal del mismo, tal como citrato o citrato de sodio, sal, ácido láctico y sales de ácido láctico incluyendo lactato de sodio, lactato de potasio, lactato de litio, lactato de calcio, lactato de magnesio, lactato de bario, lactato de aluminio, lactato de zinc, lactato de plata, lactato de cobre, lactato de hierro, lactato de manganeso, lactato de amonio, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, diisopropanolamina, así como combinaciones de los mismos, y similares.

[0137] Dichas formulaciones se pueden administrar usando nebulizadores comercialmente disponibles u otro atomizador que puede romper la formulación en partículas o gotitas adecuadas para la deposición en el tracto respiratorio. Los ejemplos no limitantes de nebulizadores que se pueden emplear para la administración en aerosol de una composición de la invención incluyen nebulizadores de chorro neumáticos, nebulizadores de chorro ventilados o mejorados por la respiración, o nebulizadores ultrasónicos que incluyen nebulizadores de placas porosas estáticas o vibratorias. Los nebulizadores disponibles comercialmente incluyen el nebulizador Aeroneb® Go (Aerogen) y el nebulizador eFlow (Pari Pharma).

[0138] Un nebulizador de chorro utiliza una corriente de aire de alta velocidad que se dispara a través de una columna de agua para generar gotitas. Las partículas inadecuadas para la inhalación impactan en las paredes o en los deflectores aerodinámicos. Un nebulizador ventilado o mejorado por aliento funciona esencialmente de la misma manera que un nebulizador a chorro, excepto que el aire inhalado pasa a través del área de generación primaria de gotas para aumentar la velocidad de salida del nebulizador mientras que inhala el paciente.

[0139] En un nebulizador ultrasónico, la vibración de un cristal piezoeléctrico crea inestabilidades superficiales en el depósito de fármaco que hacen que se formen gotitas. En los nebulizadores de placas porosas, los campos de presión generados por la energía sónica fuerzan el líquido a través de los poros de la malla, donde se rompe en gotas por la ruptura de Rayleigh. La energía sónica puede ser suministrada por un cuerno vibratorio o placa accionada por un cristal piezoeléctrico, o por la propia vibración de la malla. Los ejemplos no limitantes de atomizadores incluyen cualquier atomizador o boquilla de fluido único o doble que produzca gotitas de un tamaño apropiado. Un atomizador de fluido único funciona al forzar un líquido a través de uno o más orificios, donde el chorro de líquido se descompone en gotitas. Los atomizadores gemelos de fluido funcionan al forzar tanto un gas como un líquido a través de uno o más orificios, o al incidir un chorro de líquido contra otro chorro de líquido o gas.

[0140] La elección del nebulizador que aerosoliza la formulación de aerosol es importante en la administración del ingrediente o ingredientes activos. Los diferentes nebulizadores tienen diferentes eficiencias según su principio de diseño y funcionamiento, y son sensibles a las propiedades físicas y químicas de la formulación. Por ejemplo, dos formulaciones con diferentes tensiones superficiales pueden tener diferentes distribuciones de tamaño de partícula. Adicionalmente, las propiedades de formulación tales como pH, osmolalidad y contenido de iones permeables pueden afectar la tolerabilidad de la medicación, por lo que las realizaciones preferidas se ajustan a ciertos intervalos de estas propiedades.

[0141] En una realización preferida, la formulación para la nebulización se administra al espacio endobronquial como un aerosol que tiene un MMAD entre aproximadamente 1 µm y aproximadamente 5 µm y un GSD menor que 2 usando un nebulizador apropiado. Para ser óptimamente efectivo y evitar los efectos secundarios sistémicos y respiratorios superiores, el aerosol no debe tener un MMAD mayor de aproximadamente 5 µm y no debe tener un GSD mayor que aproximadamente 2. Si un aerosol tiene un MMAD mayor de aproximadamente 5 µm o una GSD mayor que aproximadamente 2, un gran porcentaje de la dosis puede depositarse en las vías respiratorias superiores, disminuyendo la cantidad de fármaco administrado al sitio deseado en el tracto respiratorio inferior. Si el MMAD del aerosol es más pequeño que aproximadamente 1 µm, entonces un gran porcentaje de las partículas puede permanecer suspendido en el aire inhalado y luego puede exhalarse durante la espiración.

[0142] Los compuestos de la invención también se pueden administrar mediante lavado transbroncoscópico.

[0143] Las formulaciones adecuadas para administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o tabletas, cada una conteniendo una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como 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 sobre, bolo, electuario o pasta.

[0144] Una tableta se puede hacer mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Comprimidos prensados pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con aglutinantes, lubricante, diluyente inerte, agente tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden recubrirse o marcarse opcionalmente y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo.

[0145] Las formulaciones para administración tópica en la boca, por ejemplo bucal o sublingualmente, incluyen pastillas, que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada tal como sacarosa y goma arábiga o tragacanto, y pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

[0146] Las formulaciones para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea 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 multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en un estado liofilizado que solo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, solución salina o agua por inyección, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones extemporáneas para inyección a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito previamente.

[0147] Los fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires se pueden preparar en forma de unidad de dosificación de manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Los jarabes pueden prepararse disolviendo el ingrediente activo en una solución acuosa adecuadamente aromatizada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo alcohólico farmacéuticamente aceptable. Las suspensiones se pueden formular dispersando el ingrediente activo en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de sorbitol de polioxietileno, conservantes, aditivos del sabor tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares también pueden incorporarse en composiciones líquidas orales.

[0148] Los sistemas de administración de liposomas tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares también se pueden emplear como medios de administración para los compuestos de la invención. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos tales como colesterol, estearilamina y fosfatidilcolinas.

[0149] Las composiciones farmacéuticas para administración tópica se pueden formular como ungüentos, cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, 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 puede emplearse con una base de pomada parafínica o miscible en 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.

[0150] Otras composiciones diseñadas para administración tópica a los ojos u oídos incluyen gotas para los ojos y gotas para los oídos en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, tal como, por ejemplo, un disolvente acuoso, que incluye solución salina.

[0151] Las composiciones diseñadas para administración nasal incluyen aerosoles, soluciones, suspensiones, aerosoles, neblinas y gotas. Las formulaciones aerosolables para administración nasal se pueden formular de la misma manera que las formulaciones aerosolables para inhalación con la condición de que se prefieran las partículas de tamaño no respirable en formulaciones para administración nasal. Típicamente, se pueden emplear partículas de aproximadamente 5 micrómetros de tamaño, hasta el tamaño de las gotitas visibles. Por lo tanto, para administración nasal, se puede usar un tamaño de partícula en el rango de 10-500 µm para asegurar la retención en la cavidad nasal.

[0152] También se pueden emplear parches transdérmicos, que están diseñados para permanecer en contacto con la epidermis del paciente durante un período de tiempo prolongado y promover la absorción del ingrediente activo a través del mismo.

[0153] Las composiciones para administración vaginal o rectal incluyen ungüentos, cremas, supositorios y enemas, todos los cuales se pueden formular usando técnicas convencionales.

[0154] En otro aspecto, la invención proporciona un método para promover la hidratación de las superficies de la mucosa o restaurar la defensa de la mucosa en un ser humano que lo necesita, que comprende administrar al ser

humano una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, donde dicho compuesto se administra en una cantidad efectiva. 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 en las superficies de la vía aérea 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.

[0155] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar una cualquiera de: una enfermedad asociada con obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasias debidas a afecciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos postvirales, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada a trasplante y traqueobronquitis asociada a ventilador o prevención de neumonía asociada a ventilador en un ser humano que la necesita, que comprende administrar a la una composición farmacéutica humana que comprende un compuesto de la invención, en el que 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 en las superficies de la vía aérea de aproximadamente 10^{-9}, 10^{-8}, o 10^{-7} a alrededor de 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}, o 10^{-1} moles/litro, más preferiblemente de aproximadamente 10^{-9} a aproximadamente 10^{-4} moles/litro.

[0156] En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar cualquiera de boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis o deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, ojo seco o la enfermedad de Sjogren, promueve la hidratación ocular o corneal, el tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, el tratamiento de la otitis media, la diskinesia 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 el que dicho compuesto se administra en una cantidad eficaz.

[0157] Las formulaciones de dosificación unitarias preferidas para los compuestos de la invención son aquellas que contienen una cantidad eficaz del ingrediente activo o una fracción apropiada de los mismos.

[0158] Se debe entender que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

[0159] Las composiciones de la presente invención se pueden formular para liberación inmediata, controlada o sostenida según se desee para la afección particular que se está tratando y la vía de administración deseada. Por ejemplo, puede desearse una formulación de liberación controlada para administración oral para el tratamiento del estreñimiento con el fin de maximizar la administración del agente activo al colon. Dichas formulaciones y excipientes adecuados para las mismas son bien conocidas en la técnica de la farmacia. Debido a que la base libre del compuesto es generalmente menos soluble en soluciones acuosas que la sal, pueden emplearse composiciones que comprenden una base libre de un compuesto de Fórmula (A) para proporcionar una liberación más sostenida del agente activo administrado por inhalación a los pulmones. Un agente activo presente en los pulmones en forma de partículas que no se ha disuelto en la solución no está disponible para inducir una respuesta fisiológica, pero sirve como un depósito de fármaco biodisponible que se disuelve gradualmente en la solución. Como otro ejemplo, una formulación puede emplear tanto una base libre como una forma de sal de un compuesto de la invención para proporcionar liberación inmediata y liberación sostenida del ingrediente activo para la disolución en las secreciones de moco de, por ejemplo, la nariz.

COMBINACIONES

[0160] Los compuestos de la invención se pueden formular y/o usar en combinación con otros agentes terapéuticamente activos. Los ejemplos de otros agentes terapéuticamente activos que pueden formularse o usarse 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 delta del receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR), otros bloqueadores del canal de sodio epitelial (bloqueadores del receptor ENaC), moduladores del regulador de la transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), inhibidores de quinasas, agentes antiinfecciosos, antihistamínicos, antiinflamatorios no antibióticos macrólidos matéricos, inhibidores de elastasa y proteasa, y agentes modificadores de moco o mucina, tales como tensioactivos. Además, para indicaciones cardiovasculares, los compuestos de la invención pueden usarse en combinación con betabloqueantes, inhibidores de ACE, inhibidores de HMGCoA reductasa, bloqueadores de canales de calcio y otros agentes cardiovasculares.

[0161] 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 agentes terapéuticamente activos seleccionados entre osmolitos, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β-agonistas (incluyendo β_2-agonistas selectivos),

agonistas del receptor P2Y2, antagonistas del PPAR delta, bloqueadores del receptor ENaC, moduladores del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), inhibidores de quinasas, agentes antiinfecciosos, antihistamínicos, macrólidos antiinflamatorios no antibióticos, elastasa e inhibidores de proteasa, y agentes modificadores de moco o 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 agentes terapéuticamente activos seleccionados entre betabloqueantes, inhibidores de ACE, inhibidores de reductasa HMGCoA y bloqueadores de canales de calcio. El uso de los compuestos de la invención en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos (particularmente osmolitos) puede reducir la dosis del compuesto de la invención que se requiere para hidratar suficientemente las superficies de la mucosa, reduciendo así el potencial de efectos secundarios indeseados atribuibles al bloqueo sistémico de los canales de sodio como, por ejemplo, en los riñones.

[0162] "Osmolitos" de acuerdo con la presente invención son moléculas o compuestos que son osmóticamente activos. Las moléculas y compuestos "osmóticamente activos" son impermeables a las membranas (es decir, esencialmente no absorbibles) en las vías respiratorias o en la superficie del epitelio pulmonar. Los términos "superficie de la vía aérea" y "superficie pulmonar", tal como se usan en el presente documento, incluyen superficies pulmonares de las vías respiratorias tales como bronquios y bronquiolos, superficies alveolares y superficies nasales y sinusales. Los osmolitos adecuados incluyen osmolitos iónicos (es decir, sales) y osmolitos no iónicos (es decir, azúcares, alcoholes de azúcar 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 impiden o retardan el crecimiento bacteriano. Los osmolitos adecuados para uso en la presente invención pueden estar en forma racémica o en forma de un enantiómero, diastereómero, tautómero, polimorfo o pseudopolimorfismo.

[0163] Los 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 son osmóticamente activos y no sujetos a un transporte activo rápido, en relación con las superficies de las vías respiratorias a las que se administran. Tales compuestos incluyen, pero no se limitan a, aniones y cationes que están contenidos en sales comercializadas aprobadas por la FDA, véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, vol. II, pág. 1457 (19ª Ed. 1995), y puede usarse en cualquier combinación como se conoce en la técnica.

[0164] Los ejemplos específicos de aniones osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio, camsilato (canforsulfonato), carbonato, cloruro, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato (1,2-etanodisulfonato), estolato (sulfato de laurilo), esilato (1,2-etanodisulfonato), fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilariosanilato (p-glicollamidofenilarsonato), hexilresorcinato, hidrabamina (*N,N'*-Di(dehidroabietilo)etilendiamina), hidrobromuro, hidrocloruro, hidroxinafonato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, nitrito, pamoato (embonato), pantotenato, fosfato o difosfato, poliglacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato (8-cloroteofilinato), triyoduro, bicarbonato, etc. Aniones preferidos incluyen cloruro, sulfato, nitrato, gluconato, yoduro, bicarbonato, bromuro y fosfato.

[0165] Los ejemplos específicos de cationes osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes orgánicos tales como benzatina (*N,N'*-dibenciletilendiamina), cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (*N*-metilo D-glucamina), procaína, D-lisina, L-lisina, D-arginina, L-arginina, trietilamonio, N-metilo D-glicerol y similares; y cationes metálicos tales como aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, zinc, hierro, amonio y similares. Los cationes orgánicos preferidos incluyen cationes orgánicos de 3 carbonos, 4 carbonos, 5 carbonos y 6 carbonos. Los cationes preferidos incluyen sodio, potasio, colina, litio, meglumina, D-lisina, amonio, magnesio y calcio.

[0166] Los ejemplos específicos de osmolitos iónicos que pueden usarse en combinación con un compuesto de la invención incluyen, pero sin limitación, cloruro de sodio (particularmente solución salina hipertónica), cloruro de potasio, cloruro de colina, yoduro de colina, cloruro de litio, cloruro de meglumina, cloruro de L-lisina, cloruro de D-lisina, cloruro de amonio, sulfato de potasio, nitrato de potasio, gluconato de potasio, yoduro de potasio, cloruro férrico, cloruro ferroso, bromuro de potasio, y combinaciones de cualquiera de dos o más de los anteriores. En una realización, la presente invención proporciona una combinación de un compuesto de la invención y dos sales osmóticamente activas diferentes. Cuando se usan diferentes sales, uno de los aniones o cationes puede ser el mismo entre las diferentes sales. La solución salina hipertónica es un osmolito iónico preferido para uso en combinación con los compuestos de la invención.

[0167] Los osmolitos no iónicos incluyen azúcares, alcoholes de azúcar y osmolitos orgánicos. Los azúcares y alcoholes de azúcar útiles como osmolitos en la presente invención incluyen, pero sin limitación, azúcares de 3 carbonos (por ejemplo, glicerol, dihidroxiacetona); azúcares de 4 carbonos (por ejemplo, ambas formas D y L de eritrosa, treosa y eritrulosa); azúcares de 5 carbonos (por ejemplo, ambas formas D y L de ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, psicosa, fructosa, sorbosa y tagatosa); y azúcares de 6 carbonos (p. ej., las formas D y L de altosa, alosa,

glucosa, manosa, gulosa, índole, galactosa y talosa, y las formas D y L de aloheptulosa, alohepulosa, glucoheptulosa, manno-heptulosa, gulo-heptulosa, ido-heptulosa, galacto-heptulosa, talo-heptulosa). Azúcares adicionales útiles en la práctica de la presente invención incluyen rafinosa, oligosacáridos de serie de rafinosa y estaquiosa. Ambas formas D y L de la forma reducida de cada azúcar/alcohol de azúcar son también adecuadas para la presente invención. Por ejemplo, la glucosa, cuando se reduce, se convierte en sorbitol; un osmolito dentro del alcance de la invención. En consecuencia, el sorbitol y otras formas reducidas de azúcar/alcoholes de azúcar (por ejemplo, manitol, dulcitol, arabitol) son osmolitos adecuados para uso en la presente invención. El manitol es un osmolito no iónico preferido para uso en combinación con los compuestos de la invención.

[0168] "Osmolitos orgánicos" se usa generalmente para referirse a moléculas que controlan la osmolalidad intracelular en el riñón. Véase, por ejemplo, J. S. Handler et al., 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 polihídricos), metilaminas y aminoácidos. Los osmolitos orgánicos de poliol adecuados incluyen, pero sin limitación, inositol, mioinositol y sorbitol. Los osmolitos orgánicos de metilamina adecuados incluyen, pero sin limitación, colina, betaína, carnitina (formas L, D y DL), fosforilcolina, lisofosforilcolina, glicerofosforilcolina, creatina y fosfato de creatina. Los osmolitos orgánicos de aminoácidos adecuados incluyen, pero sin limitación, las formas D y L de glicina, alanina, glutamina, glutamato, aspartato, prolina y taurina. Osmolitos orgánicos adicionales adecuados para su uso en la presente invención incluyen tihulosa y sarcosina. Se prefieren los osmolitos orgánicos de mamífero, siendo los más preferidos los osmolitos orgánicos humanos. Sin embargo, ciertos osmolitos orgánicos son de origen animal bacteriano, de levadura y marino, y estos compuestos también se pueden emplear en la presente invención.

[0169] Los precursores de osmolitos se pueden usar en combinación con los compuestos de la invención. Un "precursor de osmolitos" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto que se convierte en un osmolito mediante una etapa metabólica, ya sea catabólica o anabólica. Los 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. Los precursores de los osmolitos de aminoácidos incluyen proteínas, péptidos y poliaminoácidos, que se hidrolizan para producir aminoácidos de osmolitos y precursores metabólicos que se pueden convertir en aminoácidos de osmolitos mediante un paso metabólico, tal como la transaminación. Por ejemplo, un precursor del aminoácido glutamina es poli-L-glutamina, y un precursor de glutamato es ácido poli-L-glutámico.

[0170] También pueden emplearse osmolitos modificados químicamente o precursores de osmolitos. Tales modificaciones químicas implican unir el osmolito (o precursor) a un grupo químico adicional que altera o potencia el efecto del osmolito o del precursor de osmolito (por ejemplo, inhibe la degradación de la molécula de osmolito). Tales modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y son conocidos en la técnica. (Véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nºs 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. et al., J. Med. Chem. 19: 113-117 (1976); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 67: 1045 - 1050 (1978); Bodor, N. et al., J. Med. Chem. 26: 313 - 318 (1983); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 75: 29-35 (1986).

[0171] Los osmolitos preferidos para uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen cloruro de sodio, solución salina hipertónica particular y manitol.

[0172] Para la formulación de solución salina hipertónica al 7% y >7%, las formulaciones que contienen aniones de bicarbonato pueden ser particularmente útiles, especialmente para trastornos respiratorios con disfunción del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) como FQ o EPOC. Hallazgos recientes indican que, aunque la relación relativa de conductancia de HCO_3^- /conductancia de Cl^- está entre 0,1 y 0,2 para canales de CFTR únicos activados con AMPc y ATP, la proporción en el conducto sudorífero puede variar de prácticamente 0 a casi 1,0, dependiendo de las condiciones de estimulación. Es decir, la combinación de AMPc + cGMP + α-cetoglutarato puede producir una conductancia de CFTR HCO_3^- casi igual a la de la conductancia de Cl^- (Quiton et al., Physiology, Vol. 22, Nº 3, 212-225, junio de 2007). Además, las formulaciones de solución salina hipertónica al 7% y >7% que contienen aniones de bicarbonato pueden ser particularmente útiles debido a un mejor control del pH en el líquido de la superficie de la vía aérea. En primer lugar, ha demostrado que la acidificación de las vías respiratorias se produce en la FQ (Tate et al. 2002) y que la ausencia de secreción de bicarbonato dependiente de CFTR puede alterar la capacidad para responder a las condiciones de la vía aérea asociadas 2003). En segundo lugar, la adición de solución de HS sin bicarbonato a la superficie del pulmón puede diluir aún más las concentraciones de bicarbonato y potencialmente reducir el pH o la capacidad de responder a la acidificación de las vías respiratorias dentro de la capa líquida de la superficie de las vías respiratorias. Por lo tanto, la adición de aniones de bicarbonato a HS puede ayudar a mantener o mejorar el pH de la capa líquida de la superficie de las vías respiratorias en pacientes con FQ.

[0173] Debido a esta evidencia, la inclusión de anión de bicarbonato en la formulación de solución salina hipertónica al 7% o >7% administrada por el método de esta invención sería particularmente útil. Las formulaciones que contienen concentraciones de aniones de bicarbonato de hasta 30 a 200 mM son de particular interés para soluciones de 7% o >7% de HS.

[0174] Se entiende que la solución salina hipertónica tiene una concentración de sal mayor que la de la solución salina normal (NS), es decir, mayor que 9 g/L o 0,9% p/v, y la solución salina hipotónica tiene una concentración de sal menor que la solución salina normal, tal como desde aproximadamente 1 g/l o desde 0,1% p/v hasta aproximadamente 8 g/l o 0,8% p/v. Las soluciones salinas hipertónicas útiles en las formulaciones y métodos de tratamiento de la presente invención 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 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) desde aproximadamente 1 g/l (0,1% p/v) hasta aproximadamente 20 g/l (2% p/v).

[0175] Las concentraciones específicas de soluciones salinas útiles en las formulaciones y métodos de tratamiento de la presente invención incluyen, independientemente, aquellas 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 pueden usarse concentraciones de solución salina entre cada una de estas concentraciones/porcentajes enumerados, como 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), 25 g/L (2,5% p/v), 28 g/L (2,8% p/v), 35 g/L (3,5% p/v), 45 g/L (4,5% p/v), y 75 g/L (7,5% p/v).

[0176] La concentración útil específica de soluciones salinas hipotónicas incluye aquellas desde aproximadamente 0,12 g/l (0,012% p/v) hasta aproximadamente 8,5 g/l (0,85% p/v). Se puede usar cualquier concentración dentro de este rango, como en base 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%.

[0177] Cada uno de los intervalos y concentraciones específicas de solución salina descritas en este documento se puede usar con las formulaciones, los métodos de tratamiento, los regímenes y los kits descritos en este documento.

[0178] También se pretende dentro del alcance de esta invención los osmolitos modificados químicamente o los precursores de osmolitos. Dichas modificaciones químicas implican vincular al osmolito (o precursor) un grupo químico adicional que altera o potencia el efecto del osmolito o del precursor de osmolito (por ejemplo, inhibe la degradación de la molécula de osmolito). Tales modificaciones químicas se han utilizado con fármacos o profármacos y son conocidos en la técnica. (Véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos N^{os} 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. et al., J. Med. Chem. 19: 113-117 (1976); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 67: 1045 - 1050 (1978); Bodor, N. et al., J. Med. Chem. 26: 313 - 318 (1983); Bodor, N. et al., J. Pharm. Sci. 75: 29-35 (1986), cada uno incorporado aquí como referencia.

[0179] Los agentes antiinflamatorios adecuados para uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen corticosteroides y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), particularmente inhibidores de fosfodiesterasa (PDE). Los ejemplos de corticosteroides para uso en la presente invención incluyen corticosteroides orales o inhalados de los mismos. Los ejemplos específicos incluyen, pero sin limitación, ciclesonida, desisobutirilo-ciclesonida, budesonida, flunisolida, mometasona y sus ésteres (por ejemplo, furoato de mometasona), propionato de fluticasona, furoato de fluticasona, beclometasona, prednisolona de metilo, prednisolona, dexametasona, S-fluorometiléster de ácido 6α,9α-difluoro-17α-[(2-furanilcarbonilo)oxi]-11β-hidroxi-16α-metilo-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17β-carbotioico, ácido 6α,9α-difluoro-11β-hidroxi-16α-metilo-3-oxo-17α-propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17β-carbotioico S-(2-oxo-tetrahidro-furan-3S-ilo) éster, ésteres de beclometasona (p. ej., el éster de 17-propionato o el éster de 17,21-dipropionato, éster de fluorometilo, acetónido de triamcinolona, rofleponida o cualquier combinación o subconjunto de los mismos. Los corticosteroides preferidos para formulación o uso en combinación con los compuestos de la invención se seleccionan de ciclesonida, desisobutirilo-ciclesonida, budesonida, mometasona, propionato de fluticasona y furoato de fluticasona, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0180] Los AINE para uso en la presente invención incluyen, pero sin limitación, inhibidores de cromoglicato de sodio, nedocromilo sódico, fosfodiesterasa (PDE) (por ejemplo, teofilina, aminofilina, inhibidores de PDE4, inhibidores mixtos de PDE3/PDE4 o inhibidores mixtos de PDE4/PDE7), antagonistas de leucotrienos, inhibidores de la síntesis de leucotrienos (por ejemplo, 5 inhibidores LO y FLAP), inhibidores inducibles de sintasa de óxido nítrico (iNOS), inhibidores de proteasa (p. ej., inhibidores de triptasa, inhibidores de elastasa de neutrófilos e inhibidores de metaloproteasas) antagonistas de integrina β2 y agonistas de receptor de adenosina o antagonistas (por ejemplo, agonistas de adenosina 2a), antagonistas de citocinas (por ejemplo, antagonistas de quimioquinas) o inhibidores de la síntesis de citoquinas (por ejemplo, antagonistas del receptor de prostaglandina D2 ($CRTH_2$)). Los ejemplos de modificadores de leucotrienos adecuados para administración por el método de esta invención incluyen montelukast, zileuton, panlukast y zafirlukast.

[0181] El inhibidor de PDE4, el inhibidor de PDE3/PDE4 mezclado o el inhibidor de PDE4/PDE7 mixto puede ser cualquier compuesto que se sabe que inhibe la enzima PDE4 o que se descubre que actúa como un inhibidor de PDE4, y que son inhibidores selectivos de PDE4 (es decir, compuestos que no inhiben apreciablemente a otros miembros de la familia PDE). Los ejemplos de inhibidores de PDE4 específicos para formulación y uso en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación, roflumilast, pumafentrina, arofilina, cilomilast, tofimilast, oglemilast, tolafentrina, piclamilast, ibudilast, apremilast, 2-[4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetilo)-1-naftalenilo]-2-piridinilo]-4-(3-piridinilo)-1(2H)-ftalazinona (T2585), N-(3,5-dicloro-4-piridinilo)-1-[(4-fluorofenilo)metilo]-5-hidroxi-α-oxo-1H-indol-3-acetamida (AWD-12-281, 4-[(2R)-2-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenilo]-2-feniletilo]-piridina (CDP-840), ácido 2-[4-[[[[2-(1,3-benzodioxol-5-iloxi)-3-piridinilo]carbonilo]amino]metilo]-3-fluorofenoxi]-(2R)-propanoico (CP-671305), N-(4,6-dimetilo-2-pirimidinilo)-4- [4,5,6,7-tetrahidro-2-(4-metoxi-3-metilfenilo)-5-(4-metilo-1-piperazinilo)-1H-indol-1-ilo]-bencenosulfonamida, (2E)-2-butenodioato (YM-393059), 9-[(2-fluorofenilo)metilo]-N-metilo-2-(trifluorometilo)-9H-purina-6-amina (NCS-613), N-(2,5-dicloro-3-piridinilo)-8-metoxi-5-quinolinacarboxamida (D-4418), N-[(3R)-9-amino-3,4,6,7-tetrahidro-4-oxo-1-fenilpirrolo[3,2,1-][1,4]benzodiazepina-3-ilo]-3H-purina-6-amina (PD-168787), hidrocloruro de 3-[[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenilo]metilo]-N-etilo-8-(1-metiletilo)-3H-purina-6-amina (V-11294A), N-(3,5-dicloro-1-oxido-4-piridinilo)-8-metoxi-2-(trifluorometilo)-5-quinolincarboxamida (ScH351591), 5-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenilo]-3-[(3-metilfenilo)metilo]-(3S,5S)- 2-piperidinona (HT-0712), 5-(2-((1R,4R)-4-amino-1-(3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenilo)ciclohexilo)etinilo)-pirimidina-2-amina, cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxi-fenilo)ciclohexan-1-ol] y 4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetilo)-1-naftalenilo]-1-(2-metoxietilo)-2(1H)-piridinona (T-440), 6-({3-[(dimetilamino)carbonilo]fenilo}sulfonilo)-8-metilo-4-{[3-metiloxi)fenilo]amino}-3-quinolina-carboxamida (GSK256066) y cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0182] Los agentes anticolinérgicos para formulación o uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, antagonistas del receptor muscarínico, que incluyen particularmente pan antagonistas y antagonistas de los receptores M_3. Los ejemplos de compuestos incluyen los alcaloides de las plantas de belladona, tales como atropina, escopolamina, homopamina, hiosciamina y las diversas formas que incluyen sales de los mismos (por ejemplo, atropina anhidra, sulfato de atropina, óxido de atropina o HCl, nitrato de metilatropina, hidrobromuro de homatropina, bromuro de metilo de homatropina, hidrobromosfato de hiosciamina, sulfato de hiosciamina, hidrobromuro de escopolamina, metilbromuro de escopolamina) o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0183] Anticolinérgicos adicionales para formulación y uso en combinación con la metenlina, propantelina, metilbromuro de anisotropina o Valpin 50, bromuro de aclidinio, glicopirrolato (Robinul), yoduro de isopropamida, bromuro de mepenzolato, cloruro de tridihexetilo, metilsulfato de hexociclo, ciclopentolato de HCl, tropicamida, trihexifenidilo CCl, pirenzepina, telenzepina y metoctramina, o cualquier combinación o subconjunto de las mismas.

[0184] Los anticolinérgicos preferidos para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen ipratropio (bromuro), oxitropio (bromuro) y tiotropio (bromuro), aclidinio (bromuro), o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0185] Los ejemplos de β-agonistas para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero sin limitación, salmeterol, R-salmeterol y sales de xinafoato de los mismos, albuterol (también conocido como salbutamol) o R-albuterol (base libre o sulfato), levalbuterol, formoterol (fumarato), fenoterol, procaterol, pirbuterol, metaprterenol, terbutalina y sus sales, y cualquier combinación o subconjunto de las mismas.

[0186] Los agonistas del receptor P2Y2 para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención se pueden emplear en una cantidad efectiva para estimular la secreción de cloruro y agua por las superficies de las vías respiratorias, particularmente las superficies de las vías respiratorias nasales. Los agonistas del receptor P2Y2 adecuados son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en las columnas 9-10 de la Patente de Estados Unidos Nº 6.264.975, y también en las Patentes de Estados Unidos Nº 5.656.256 y 5.292.498.

[0187] Los agonistas P2Y2 que se pueden administrar mediante los métodos de esta invención incluyen agonistas del receptor P2Y2 tales como ATP, UTP, UTP-γ-S y agonistas del receptor dinucleótido P2Y2 (por ejemplo, denufosol o diquafosol) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. El agonista del receptor P2Y2 se incluye típicamente en una cantidad efectiva para estimular la secreción de cloruro y agua por las superficies de las vías respiratorias, particularmente las superficies de las vías respiratorias nasales. Los agonistas del receptor P2Y2 adecuados se describen, pero no se limitan a la Patente de EE.UU. Nº 6.264.975, Patente de Estados Unidos Nº 5.656.256, Patente de EE.UU. Nº 5.292.498, la Patente de EE.UU. Nº 6.348.589, la Patente de EE.UU. Nº 6.818.629, la Patente de EE.UU. Nº 6.977.246, la Patente de EE.UU. Nº 7.223.744, la Patente de EE.UU. Nº 7.531.525 y la Sol. de Patente de EE.UU. Nº 2009/0306009, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia.

[0188] Las terapias de combinación y las formulaciones en este documento pueden incluir agonistas de adenosina 2b (A2b), que también incluyen 2-[6-amino-3,5-diciano-4-[4-(ciclopropilmetoxi)fenilo]piridina-2-ilsulfanilo]acetamida (BAY 60-6583), NECA (N-etilcarboxamidoadenosina), (S)-PHPNECA, LUF-5835 y LUF-5845. Los agonistas de A2b que se pueden usar están descritos por Volpini et al., Journal of Medicinal Chemistry 45 (15): 3271-9 (2002); Volpini

et al., Current Pharmaceutical Design 8 (26): 2285- 98 (2002); Baraldi et al., Journal of Medicinal Chemistry 47 (6): Cacciari et al., 1434-47 (2004); Mini Reviews en Medicinal Chemistry 5 (12): 1053-60 (diciembre de 2005); Baraldi et al., Current Medicinal Chemistry 13 (28): 3467-82 (2006); Beukers et al., Medicinal Research Reviews 26 (5): 667-98 (septiembre de 2006); Elzein et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16 (2): 302-6 (enero de 2006); Carotti, et al., Journal of Medicinal Chemistry 49 (1): 282-99 (enero de 2006); Tabrizi et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry 16 (5): 2419-30 (marzo de 2008); y Stefanachi, et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry 16 (6): 2852-69 (marzo de 2008).

[0189] Los ejemplos de otros bloqueadores del receptor ENaC para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero sin limitación, amilorida y derivados de los mismos, tales como los compuestos descritos en la Patente de Estados Unidos Nº 6858615 y las Publicaciones PCT Nº WO2003/070182, WO2004/073629, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2007/018640 y WO2007/146869.

[0190] Los bloqueadores de ENaC de molécula pequeña son capaces de prevenir directamente el transporte de sodio a través del poro del canal ENaC. El bloqueador de ENaC que puede administrarse en las combinaciones de la presente invención incluye, entre otros, análogos de amilorida, benzamilo, fenamilo y amilorida como se ejemplifica en la Patente de EE.UU. Nº 6.858.614, la Patente de EE.UU. Nº 6.858.615, la Patente de EE.UU. Nº 6.903.105, la Patente de EE.UU. Nº 6.995.160, la Patente de EE.UU. Nº 7.026.325, la Patente de EE.UU. Nº 7.030.117, la Patente de EE.UU. Nº 7.064.129, la Patente de EE.UU. Nº 7.186.833, la Patente de EE.UU. Nº 7.189.719, la Patente de EE.UU. Nº 7.192.958, la Patente de EE.UU. Nº 7.192.959, la Patente de EE.UU. Nº 7.241.766, la Patente de EE.UU. Nº 7.247.636, la Patente de EE.UU. Nº 7.247.637, la Patente de EE.UU. Nº 7.317.013, la Patente de EE.UU. Nº 7.332.496, la Patente de EE.UU. N° 7.345.044, la Patente de EE.UU. N° 7.368.447, la Patente de EE.UU. N° 7.368.450, la Patente de EE.UU. N° 7.368.451, la Patente de EE.UU. Nº 7.375.107, la Patente de EE.UU. Nº 7.399.766, la Patente de EE.UU. N° 7.410.968, Patente de EE.UU. Nº 7.820.678, la Patente de EE.UU. Nº 7.842.697, la Patente de EE.UU. N° 7.868.010, la Patente de EE.UU. Nº 7.875.619.

[0191] La proteolisis ENaC se describe bien para aumentar el transporte de sodio a través de ENaC. Los inhibidores de la proteasa bloquean la actividad de las proteasas endógenas de las vías respiratorias, evitando así la escisión y activación de ENaC. Las proteasas que escinden ENaC incluyen furina, meprina, matriptasa, tripsina, proteasas asociadas a canales (CAP) y elastasis de neutrófilos. Los inhibidores de proteasa que pueden inhibir la actividad proteolítica de estas proteasas que pueden administrarse en las combinaciones de la presente invención incluyen, pero sin limitación, camostat, prostasina, furina, aprotinina, leupeptina e inhibidores de tripsina.

[0192] Las combinaciones de la presente invención pueden incluir uno o más ácidos nucleicos (o ácido polinucleico) adecuados, que incluyen, pero sin limitación, oligonucleótidos antisentido, ARNip, miARN, miARN mimic, antagomir, ribozima, aptámero y oligonucleótido de señuelo. Véase, por ejemplo, la Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 20100316628. En general, tales ácidos nucleicos pueden tener una longitud de 17 o 19 nucleótidos, hasta 23, 25 o 27 nucleótidos de longitud, o más. Los ejemplos incluyen, entre otros, los descritos en la Patente de Estados Unidos Nº 7.517.865 y en las Solicitudes de Patente de Estados Unidos Nº 20100215588; 20100316628; 20110008366; y 20110104255. En general, los ARNip son de 17 o 19 nucleótidos de longitud, hasta 23, 25 o 27 nucleótidos de longitud, o más.

[0193] Los compuestos moduladores de la actividad CFTR que pueden administrarse en las combinaciones de esta invención incluyen, pero sin limitación, los compuestos descritos en los documentos US 2009/0246137 A1, US 2009/0253736 A1, US 2010/0227888 A1, Patente Nº 7.645.789, US 2009/0246820 A1, US 2009/0221597 A1, US 2010/0184739 A1, US 2010/0130547 A1, US 2010/0168094 A1 y patente publicada: 7.553.855; US 7.772.259 B2, US 7.405.233 B2, US 2009/0203752, US 7.499.570, así como Kalydeco™ (ivacaftor).

[0194] Los agentes modificadores de moco o mucina útiles en las combinaciones y métodos de la presente invención incluyen agentes reductores, tensioactivos y detergentes, expectorantes y agentes de desoxirribonucleasa.

[0195] Las proteínas de mucina se organizan en polímeros de alto peso molecular mediante la formación de enlaces covalentes (disulfuro) y no covalentes. La interrupción de los enlaces covalentes con agentes reductores es un método bien establecido para reducir las propiedades viscoelásticas del moco in vitro y se predice que minimizará la adhesividad del moco y mejorará el aclaramiento *in vivo*. Se sabe que los agentes reductores disminuyen la viscosidad del moco in vitro y se usan comúnmente como ayuda para procesar muestras de esputo. Los ejemplos de agentes reductores incluyen moléculas que contienen sulfuros o fosfinas capaces de reducir enlaces proteicos de disulfuro que incluyen, pero no se limitan a, cisteína de N-acetilo, N-acistelina, carbocisteína, glutatión, ditio-treitol, proteínas que contienen tiorredoxina y tris (2-carboxietilo) fosfina.

[0196] La cisteína de N-acetilo (NAC) está aprobada para su uso junto con la fisioterapia torácica para aflojar el moco viscoso o engrosado de las vías respiratorias. Los estudios clínicos que evalúan los efectos del NAC oral o inhalado en la FQ y la EPOC han informado de mejoras en las propiedades reológicas del moco y tendencias hacia mejoras en la función pulmonar y disminuciones en las exacerbaciones pulmonares. Sin embargo, la preponderancia

de los datos clínicos sugiere que NAC es, en el mejor de los casos, un agente terapéutico marginalmente eficaz para tratar la obstrucción del moco de las vías respiratorias cuando se administra por vía oral o por inhalación. Una revisión Cochrane reciente de la literatura clínica existente sobre el uso de NAC no encontró evidencia para apoyar la eficacia de NAC para la FQ.

[0197] NAC es un agente reductor relativamente ineficaz que solo es parcialmente activo en la superficie de la vía aérea. Se requieren concentraciones muy altas de NAC (200 mM o 3,26%) para reducir completamente la Muc5B, una mucina de las vías respiratorias principal formadora de gel, in vitro. Además, en el entorno de pH de la superficie de las vías respiratorias (medido en el rango de pH 6,0 a 7,2 en las vías respiratorias de FQ y EPOC), el NAC existe solo parcialmente en su estado reactivo como un tiolato de carga negativa. Por lo tanto, en la clínica, NAC se administra en concentraciones muy altas. Sin embargo, se predice que los dispositivos de aerosoles actuales no podrán alcanzar concentraciones terapéuticas de incluso una solución de Mucomyst al 20% en las superficies distales de las vías respiratorias dentro de los dominios de tiempo relativamente cortos (7,5 - 15 minutos) típicamente utilizados.

[0198] En estudios no clínicos, el NAC marcado con ^{14}C, administrado por inhalación, muestra una eliminación rápida de los pulmones con una vida media que oscila entre 6 y 36 minutos[12]
NAC se administra como una solución de inhalación altamente concentrada e hipertónica (20% o 1,22 molar) y se ha informado que causa broncoconstricción y tos. En muchos casos, se recomienda administrar NAC con un broncodilatador para mejorar la tolerabilidad de este agente.

[0199] Por lo tanto, los agentes reductores tales como NAC no son muy adecuados para la administración en bolo de aerosol. Sin embargo, se prevé que la administración de agentes reductores mediante infusión de aerosol pulmonar aumentaría la eficacia, al tiempo que permitiría una disminución en la concentración de agente reductor en la solución de inhalación (se prevé que aumentaría la tolerabilidad).

[0200] Los agentes tensioactivos y detergentes son agentes de extensión que se ha demostrado que disminuyen la viscoelasticidad del moco, mejorando la capacidad de limpieza del moco. Entre los ejemplos de tensioactivos se incluyen dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), PF, ácido palmítico, palmitoílo-oleoilfosfatidilglicerol, proteínas asociadas al agente tensioactivo (por ejemplo, SP-A, B o C), o pueden ser de origen animal (por ejemplo, de lavado de pulmón de vaca o de ternero extraído del pulmón de cerdo picado) o combinaciones de los mismos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos Nº 7.897.577; 5.876.970; 5.614.216; 5.100.806; y 4.312.860. Los ejemplos de productos surfactantes incluyen Exosurf® Neonatal (palmitato de colfoscerilo), Pumactant® (DPPC y fosfatidilglicerol de huevo), KL-4 surfactante, Venticute® (lusulptida, tensioactivo rSP-C), Alveofact® (bovactant), Curosurf® (poractant alfa), Infasurf® (californiano), Newfacten® (tensioactivo bovino modificado), Surface®, Natsurf™ (tensioactivo de etoxilato de alcohol no iónico) y Survanta® (beractant). Los ejemplos de detergentes incluyen, pero no se limitan a, Tween-80 y triton-X 100.

[0201] Se puede usar cualquier expectorante adecuado, que incluye pero no se limita a guaifenesina (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 7.345.051). Se puede usar cualquier desoxirribonucleasa adecuada, que incluye pero no se limita a Dornase Alpha. (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 7.482.024). Los ejemplos de inhibidores de quinasas incluyen inhibidores de NFkB, PI3K (fosfatidilinositol 3-quinasa), p38-MAP quinasa y Rho quinasa.

[0202] Los agentes antiinfecciosos para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen antivirales y antibióticos. Los ejemplos de antivirales adecuados incluyen Tamiflu® (oseltamivir) y Relenza® (zanamivir). Los ejemplos de antibióticos adecuados incluyen, pero sin limitación, aztreonam (arginina o lisina), fosfomicina y aminoglucósidos, tales como tobramicina, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos. Agentes antiinfecciosos adicionales que se pueden usar en la presente invención incluyen aminoglucósidos, Daptomicina, Fluoroquinolonas, Ketólidos, Carbapenems, Cefalosporinas, Eritromicina, Linezolid, Penicilinas, Azitromicina, Clindamicina, Oxazolidinonas, Tetraciclinas y Vancomicina.

[0203] Ejemplos de antibióticos de carbapenam útiles son impenam, panipenam, meropenam, biapenam, MK-826 (L-749,345), DA-1131, ER-35786, lenapenam, S-4661, CS-834 (profármaco de R-95867), KR-21056 (profármaco de KR-21012), L-084 (profármaco de LJC 11036) y Ceftolozano (CXA-101).

[0204] Los antihistamínicos (es decir, antagonistas del receptor H1) para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a: etanolaminas tales como difenhidramina HCl, maleato de carbinoxamina, doxilamina, fumarato de clemastina y dimenhidrinato; etilendiaminas tales como maleato de pirilamina (metpiramina), tripelenamina HCl, citrato de tripelenamina y antazolina; alquilaminas tales como feniramina, clorofeniramina, bromofeniramina, dexclorfeniramina, triprolidina y acrivastina; piridinas tales como metapirileno, piperazinas tales como hidroxizina HCl, pamoato de hidroxicina, ciclizina HCl, lactato de ciclizina, meclizina HCl y cetirizina HCl; piperidinas tales como astemisol, levocabastina HCl, loratadina, descarboetoxiloratadina, terfenadina y fexofenadina HCl; tri- y tetracíclicos tales como prometazina, clorprometazina, trimeprazina y azatadina; y azelastina HCl, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0205] Los ejemplos de otras clases de agentes terapéuticos adecuados para uso en las combinaciones y métodos

de la presente incluyen antivirales tales como ribavirina, agentes antifúngicos tales como anfotericina, intraconazol y voriconazol, fármacos antirrechazo tales como ciclosporina, tacrolimus y sirolimus, broncodilatadores, incluyendo, entre otros, agentes anticolinérgicos tales como atrovent, siARN, vectores de terapia génica, aptámeros, antagonistas del receptor de endotelina, alfa-1-antitripsina y prostaciclinas.

[0206] En los métodos de tratamiento y usos descritos anteriormente, un compuesto de la invención se puede emplear solo, o en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales. 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 la condición de que el agente terapéuticamente activo particular sea compatible con la terapia que emplea un compuesto de la invención. Los agentes terapéuticamente activos típicos que son adecuados para uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen agentes descritos anteriormente.

[0207] En una realización preferida, los compuestos de la invención se usan en combinación con uno o más osmolitos, particularmente solución salina hipertónica o manitol.

[0208] En otro aspecto, la invención proporciona métodos para el tratamiento y usos como se describió anteriormente, que comprenden la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y al menos otro agente terapéuticamente activo. Los compuestos de la invención y al menos un agente terapéuticamente activo adicional se pueden emplear en combinación concomitante o secuencialmente en cualquier combinación terapéuticamente apropiada. La administración de un compuesto de la invención con uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales puede ser mediante administración concomitante en 1) una composición farmacéutica unitaria, tal como las composiciones descritas anteriormente, o 2) composiciones farmacéuticas separadas, cada una de las cuales incluye uno o más componentes ingredientes activos. Los componentes de la combinación se pueden administrar por separado de manera secuencial, en donde el compuesto de la invención se administra primero y el otro agente terapéuticamente activo se administra en segundo lugar o viceversa.

[0209] En las realizaciones en las que el compuesto de la invención se administra en combinación con uno o más osmolitos, la administración de cada componente es preferiblemente concomitante, y puede estar en una composición unitaria o composiciones separadas. En una realización, el compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran de forma concomitante mediante lavado transbroncoscópico. En otra realización, el compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran de forma concomitante por inhalación.

[0210] Cuando se usa un compuesto de la invención en combinación con otro agente terapéuticamente activo, la dosis de cada compuesto puede diferir de la que se usa cuando el compuesto de la invención se usa solo. Las dosis apropiadas las determinará fácilmente un experto en la técnica. La dosis apropiada del compuesto de la invención, el (los) otro(s) agente(s) terapéuticamente activo(s) y los tiempos de administración relativos se seleccionarán para lograr el efecto terapéutico combinado deseado, y están dentro de la experiencia y discreción del médico asistente, clínico o veterinario.

Procedimientos experimentales La presente invención también proporciona procesos para preparar los compuestos de la invención y los intermedios sintéticos útiles en tales procesos, como se describe en detalle a continuación.

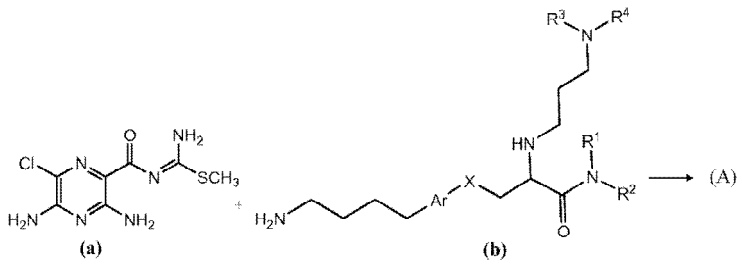
[0211] Se usan ciertas abreviaturas y acrónimos para describir los procesos sintéticos y los detalles experimentales. Aunque la mayoría de estos los entendería un experto en la técnica, la siguiente tabla contiene una lista de muchas de estas abreviaturas y acrónimos.

Abreviatura	Significado
AcOH	Ácido acético
AIBN	Azobisisobutironitrilo
DIAD	Azidodicarboxilato de diisopropilo
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
Cbz	carboxibencilo
DCE	dicloroetano
DCM	diclorometano
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
Et	Etilo
EtOAc o EA	acetato de etilo
EtOH	Etanol
ESI	ionización por electronebulización
HATU	hexafluorofosfato de 2-(1H-7-Azabenzotriazol-1-ilo)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
iCBF	Cloroformiato de isobutilo
iPrOH	Alcohol isopropílico
i.t. o IT	intratraqueal

Me	Metilo
MeOH	metanol
m/z o m/e	relación masa a carga
MH^+	masa más 1
MH^-	masa menos 1
MIC	concentración mínima inhibitoria
MS o ms	espectro de masas
MTBE	metilo t-butilo éter
NaCNBH3	cianoborohidruro de sodio
NMM	N-metilmorfolina
ta o t.a.	temperatura ambiente
R_f	Factor de retardo
t-Bu	terc-butilo
TEA	trietilamina
THF	tetrahidrofurano
TLC o tlc	cromatografía de capa fina
δ	partes por millón campo abajo de tetrametilsilano
Cbz	Benciloxicarbonilo, es decir -(CO)O-bencilo
AUC	Área debajo de la curva o pico
t_R	Tiempo de retención
GC-MS	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
% en peso	Porcentaje en peso
h	Horas
min	Minutos
MHz	megahercio
TFA	Ácido trifluoroacético
UV	Ultravioleta
Boc	*terc*-butiloxicarbonilo
PH_3P	Trifenilfosfina

Los compuestos de Fórmula (A) pueden sintetizarse usando técnicas conocidas en la técnica. Un procedimiento sintético representativo se ilustra en el Esquema 1 a continuación.

Esquema 1



[0212] Estos procedimientos se describen en, por ejemplo, E. J. Cragoe, "The Synthesis of Amiloride and its Analogs" (Chap 3) en Amiloride and Its Analogs, págs. 25-36. Otros procedimientos para preparar análogos de amilorida se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos Nº 3.318.813, de Cragoe, particularmente en los métodos A, B, C y D de la patente '813. Todavía otros procesos que pueden adaptarse para la preparación de los compuestos de la invención se describen en las Publicaciones PCT Nos 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.

[0213] En general, los compuestos de la invención se pueden preparar convenientemente tratando un compuesto de Fórmula (a) con una amina de Fórmula (b). Más específicamente, los compuestos de Fórmula (a) se tratan con la amina de Fórmula (b) en un disolvente adecuado tal como metanol, etanol o tetrahidrofurano, y una base tal como trietilamina (TEA) o diisoproiletilamina (DIPEA), con calentamiento a temperatura elevada, por ejemplo, 70ºC. La purificación adicional, la resolución de estereoisómeros, la cristalización y/o la preparación de formas de sal se pueden llevar a cabo usando técnicas convencionales.

[0214] Como será evidente para los expertos en la técnica, en ciertos casos, los compuestos de partida o intermedios en la síntesis pueden poseer otros grupos funcionales que proporcionan sitios reactivos alternativos. La interferencia con 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 los pasos de síntesis. Los grupos protectores adecuados serán evidentes para los expertos en la técnica. Los métodos son bien conocidos en la técnica para instalar y eliminar tales grupos protectores y tales técnicas convencionales también se

pueden emplear en los procesos de la presente invención.

[0215] Los siguientes ejemplos específicos que se proporcionan en la presente memoria con fines de ilustración solamente y no limitan el alcance de la invención, que se define por las reivindicaciones.

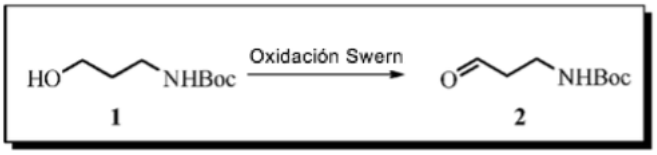
[0216] Material y métodos. Todos los reactivos y disolventes se compraron de Aldrich Chemical Corp. Chem-Impex International Inc. y TCI Chemical Industry Co. Ltd. Los espectros de RMN se obtuvieron en un Bruker AC 400 (^{1}H RMN a 400 MHz y ^{13}C RMN a 100 MHz) o un Bruker AC 300 (^{1}H RMN a 300 MHz y ^{13}C RMN a 75 MHz). Los espectros de protones se referenciaron a tetrametilsilano como patrón interno y los espectros de carbono se referenciaron a $COCl_3$, CD_3OD o DMSO-d_6 (adquiridos de Aldrich o Cambridge Isotope Laboratories, a menos que se especifique lo contrario). La cromatografía ultrarrápida se realizó en un sistema Combiflash (Combiflash Rf, Teledyne Isco) cargado con columna de gel de sílice (Redi Sep. Rf, Teledyne Isco) o columna de fase inversa (columna de alto rendimiento C18 Gold). Los espectros de masa ESI se obtuvieron en un espectrómetro de masas Shimadzu LCMS-2010 EV. Los análisis de HPLC se obtuvieron usando una columna analítica Waters XTerra MS C18 de 5 µm, 4,6 x 150 mm, detectada a 220 nm (a menos que se especifique lo contrario) en un sistema de HPLC Shimadzu Prominence. El siguiente programa de tiempo se usó con un caudal de 1,0 mL por minuto:

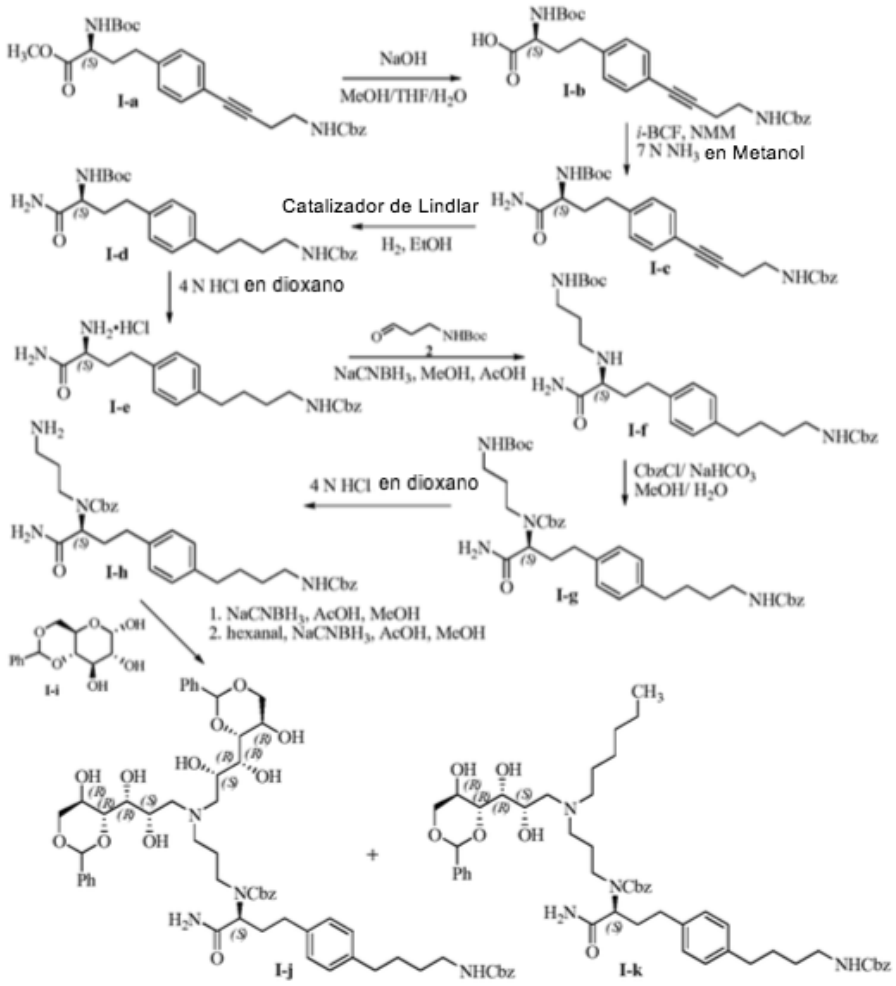
Tiempo (min)	**Por ciento A** (H_2O con 0,05% TFA)	**Por ciento B** (CH_3CN con 0,05% TFA)
2,50	90	10
20,00	10	90
30,00	10	90
32,50	90	10

Los análisis de UPLC se obtuvieron utilizando una columna analítica Waters ACQUITY UPLC HSS T3 de 1,8 µm, 2,1x100 mm, detectada a 220 nm (a menos que se especifique lo contrario) en un sistema UFLC Shimadzu Prominence. El siguiente programa de tiempo se usó con un caudal de 0,3 mL por minuto:

Tiempo (min)	**Por ciento A** (H_2O con 0,05% NH_4COOH y 0,1% HCOOH)	**Por ciento B** (CH_3CN/Agua 80:20% con 0,05% NH_4COOH y 0,1% HCOOH)
1,00	90	10
4,00	30	70
5,00	30	70
5,50	90	10
6,50	90	10

Esquema **I. Preparación de intermedios 1I-j y I-k.**





Preparación de 3-oxopropilcarbamato de terc-butilo (2):

[0217] A una solución de cloruro de oxalilo (8,56 mL, 98,15 mmol) en CH_2Cl_2 (200 mL) se añadió DMSO (8,70 mL, 122,5 mmol) a -78°C. Después de 30 minutos, se añadió el compuesto 1 (8,60 g, 49,90 mmol) a -78ºC y la mezcla de reacción se agitó durante otros 30 minutos. Se añadió trietilamina (41 mL, 294 mmol) y la mezcla de reacción se continuó agitando a -78ºC durante 30 minutos, luego se dejó calentar a 0ºC y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y agua (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $CHCl_3$/MeOH 49:1) para proporcionar el aldehído 2 como un líquido amarillo: ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 9,80 (s, 1H), 4,94-4,82 (br s, 1H), 3,42 (dd, J = 12,1 Hz, 6,0 Hz, 2H), 2,70 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 1,43 (s, 9H).

Preparación de ácido (S)-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)but-1-inilo)fenilo)-2-(terc-butoxicarbonilamino)butanoico (Ib):

[0218] A una solución de éster metílico **I-a** (5,00 g, 10,12 mmol) en THF/MeOH/H_2O (60 mL/60 mL/20 mL) se añadió NaOH (2,40 g, 60,72 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El valor de pH se ajustó a 9 con 1 N ac HCl y se eliminó el disolvente orgánico. El valor de pH del residuo se ajustó a 5, y la suspensión se repartió entre CH_2Cl_2 (500 mL) y agua (500 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x3 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se cocentraron para proporcionar el compuesto **I-b** como un sólido marrón: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,37-7,30 (m, 5H), 7,27 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,14 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,73 (br s, 1H), 5,03 (s, 2H), 3,75-3,69 (m, 1H), 3,21 (q, J = 6,4 Hz, 2H), 2,60-2,47 (m, 4H), 1,97-1,76 (m, 2H), 1,38 (s, 9H).

Preparación de amida (S)-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)but-1-inilo)fenilo)-2-(terc-butoxicarbonilamino)butanoica (Ic):

[0219] A una solución de ácido **I-b** (4,40 g, 9,10 mmol) en THF (60 mL) se añadió NMM (1,50 mL, 13,65 mmol) e *i*-

BCF (1,55 mL, 11,91 mmol) a 0ºC. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y se añadió NH_3 (7,0 N en metanol, 13 mL, 91 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se continuó agitando a 0ºC durante 2 h, luego se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y agua (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 30:1 de $CHCl_3$/MeOH) para proporcionar amida **I-c** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,36-7,24 (m, 7H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,02- 3,96 (m, 1H), 2,72- 2,56 (m, 2H), 2,57 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,07 - 1,86 (m, 4 H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto (I-d):

[0220] Una suspensión de **I-c** (3,40 g, 7,0 mmol) y catalizador de Lindlar al 10% (2,00 g) en EtOH (100 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 36 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $CHCl_3/CH_3OH$ 95:5) para proporcionar el compuesto **I-d** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,35-7,23 (m, 5H), 7,21-7,12 (m, 2H), 7,07 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,06 - 3,94 (m, 1H), 3,21 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 3,11 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 2,77-2,46 (m, 4H), 2,10-1,77 (m, 4H), 1,67-1,51 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto (I-e):

[0221] Se disolvió la composición **I-d** (2,9 g, 6,0 mmol) en 4 N HCl en dioxano (20 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 1 h. El disolvente se eliminó a vacío para dar el compuesto **I-e** como un sólido blanco: ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,34-7,23 (m, 5 H), 7,22-7,14 (m, 2H), 7,11 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 3,98 - 3,90 (m, 1H), 3,21 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 3,11 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 2,69 (dd, J = 17 Hz, 8,0 Hz, 2H), 2,57 (t, J = 6,9 Hz, 1H), 2,50 (ddd, J = 9,3 Hz, 7,5 Hz, 2,1 Hz, 1H), 2,00-2,04 (m, 3H), 1,67-1,45 (m, 3H).

Preparación del Compuesto (I-f):

[0222] A una solución de compuesto **I-e** (2,40 g, 5,72 mmol) y aldehído 2 (1,2 g, 6,87 mmol) en MeOH (35 mL) se añadió ácido acético (0,5 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente para 10 minutos. A continuación, se añadió cianoborohidruro sódico (540 mg, 8,58 mmol) y se continuó agitando la solución a temperatura ambiente durante 3 h. Se añadieron el compuesto adicional 2 (0,3 equiv), AcOH (0,5 equiv) y $NaCNBH_3$ (0,5 equiv) y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 12 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo (**i-f** crudo, 3,50 g) se usó directamente para el siguiente paso sin purificación adicional.

Preparación de Compuesto (I-g):

[0223] A una solución de compuesto **I-f** (crudo, 3,50 g) en MeOH (25 mL) se añadió $NaHCO_3$ saturado (25 mL) a 0°C y la solución se agitó durante 10 min. Se añadió cloroformiato de bencilo (1,75 mL) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a 0ºC, luego se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL), luego se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo (**I-g** bruto, 3,50 g) se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Preparación del Compuesto (I-h):

[0224] Se disolvió el compuesto **I-g** (crudo, 3,50 g) en 4 N HCl en dioxano (30 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se neutralizó con NH_4OH acuoso y se purificó por cromatografía de columna (gel de sílice, $CHCl_3$/MeOH 16:1) para proporcionar el compuesto **I-h** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD) 7,45-7,22 (m, 10H), 7,21-6,99 (m, 4 H), 5,15 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,54-4,36 (m, 1H), 3,55-3.39 (m, 2H), 3,21 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 3,11 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 2,97-2,80 (m, 2H), 2,56 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,52-2,44 (m, 4H), 2,28-2,01 (m, 2H), 1,91 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 1,64-1,43 (m, 2H).

Preparación del Compuesto I-j e I-k

[0225] A una solución del compuesto **I-h** (1,15 g, 2,00 mmol) y triol **Ii** (2,68 g, 10,0 mmol) en metanol (35 mL) se añadió ácido acético (0,91 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió cianoborohidruro sódico (880 mg, 14,0 mmol) y se continuó agitando la solución a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadieron el compuesto adicional **I-i** (6,0 equivalentes), AcOH (8,0 equiv) y $NaCNBH_3$ (8,0 equiv) y se continuó agitando la solución a temperatura ambiente durante 16 horas. Se añadieron hexanal (0,36 mL, 3,00 mmol), AcOH (0,91 mL) y $NaCNBH_3$ (0880 mg, 14,0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por columna de oro de fase inversa C-18 para proporcionar el

compuesto **I-j** y el compuesto **I-k** como sólidos blancos.

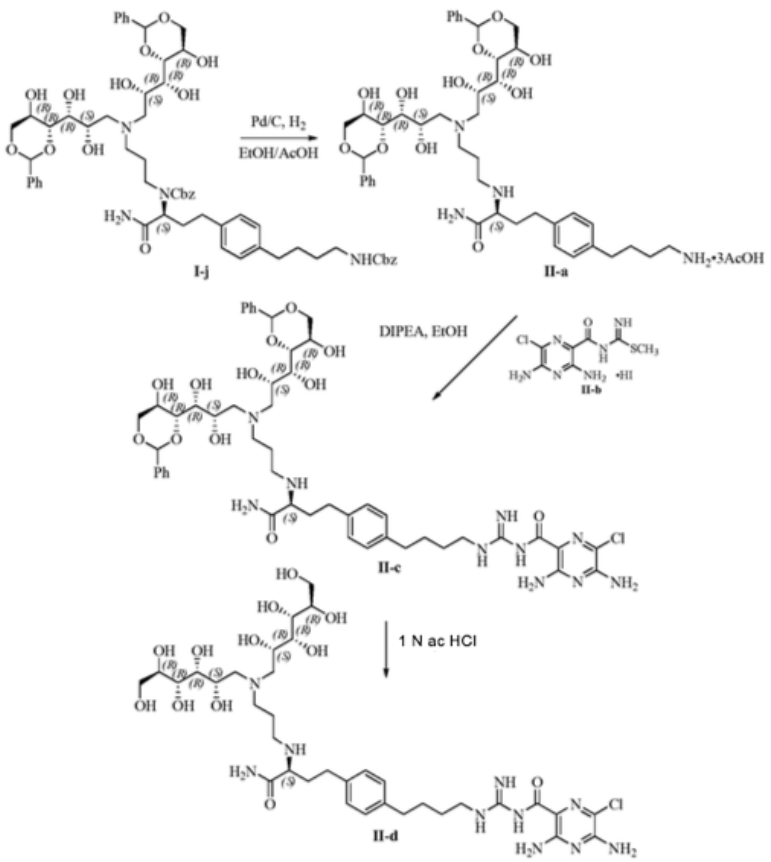
Datos para bencilo 2-((1-amino-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)butilo)fenilo)-1-oxobutan-2-ilo)(3-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((2S,4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)amino)propilo)amino)acetato (compuesto I-j):

[0226] ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) [δ] 7,53-7,39 (m, 4H), 7,37-7,22 (m, 16H), 7,18-6,94 (m, 4H), 5,52-5,37 (m, 2H), 5,09 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,21 (dd, J = 11 Hz, 5,5 Hz, 2H) 4,01-3,89 (m, 4H), 3,88-3,81 (m, 2H), 3,75-3,64 (m, 3H), 3,57 (t, J = 9,5 Hz, 2H), 3,19 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 3,09 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,75-2,40 (m, 12 H), 2,25-2,08 (m, 1H), 2,04 - 1,86 (m, 1H), 1,85-1,65 (m, 3H), 1,63-1,53 (m, 1H), 1,52-1,40 (m, 1H).

Datos para bencilo 2-((1-amino-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)butilo)fenilo)-1-oxobutano-2-ilo)(3-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)(hexilo)amino)propilo)amino)acetato (compuesto I-k):

[0227] ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) de **I-k**, δ 7,58-7,22 (m, 15 H), 7,20-6,95 (m, 4H), 5,53-5,43 (m, 1H), 5,11 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,22 (dd, J = 9,7 Hz, 4,8 Hz, 1H) 4,00-3,83 (m, 4H), 3,80-3,69 (m, 1H), 3,59 (t, J = 10,6 Hz, 1H), 3,20 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,10 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 2,77-2,62 (m, 1H), 2,61-2,31 (m, 10H), 2,27-2,14 (m, 1H), 2,06 - 1,89 (m, 1H), 1,86 - 1,54 (m, 3H), 1,53- 1,44 (m, 1H), 1,41 - 1,00 (m, 10H), 0,85 (t, J = 5,9 Hz, 3H).

Esquema II. Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (II-d).



Preparación del Compuesto II-a:

[0228] Una suspensión de **I-j** (700 mg, 0,65) y 10% Pd/C (300 mg) en EtOH/AcOH (40 ml/4 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **II-a** como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,47-7,40 (m, 4H), 7,35-7,26 (m, 7 H), 7,10-7,07 (m, 3H), 5,49 (s, 2H), 4,24 (dd, J = 10,7 Hz, 5,4 Hz, 1H), 4,18 - 4,09 (m, 2H), 4,00 - 3,88 (m, 3 H), 3,87 - 3,82 (m, 2H), 3,77-3,69 (m, 2H), 3,59 (t, J = 10,0 Hz, 2H), 3,54 - 3,46 (m, 1H), 3,06 (dd, J = 12,7 Hz, J = 9,0 Hz, 1H), 3,00 - 2,93 (m, 1H), 2,92 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 2,83-2,71 (m, 4H), 2,66-2,51 (m, 4H), 2,06-1,85 (m, 4H), 1,95 (s, 9H), 1,73-1,57 (m, 4H), 1,38-1,00 (m, 2H).

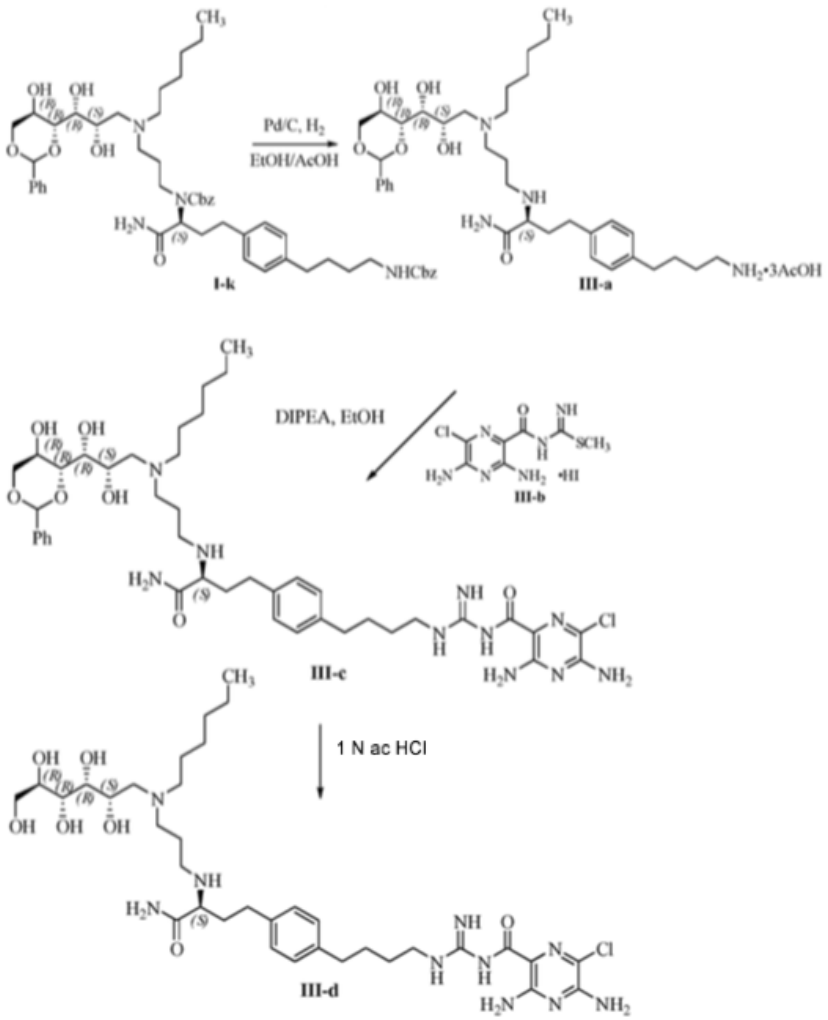
Preparación del Compuesto II-c

[0229] A una solución del compuesto **II-a** (650 mg, 0,65 mmol) y la sal de ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbiamimidotioato de metilo (**II-b**, 409 mg, 1,05 mmol) en EtOH (25 mL) se añadió DIPEA (0,92 mL, 5,20 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 9:1 CH_2Cl_2/MeOH, 80:18:2 $CHCl_3$/CH_3OH/NH_4OH) para proporcionar el compuesto **II-c** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,48 -7,41 (m, 4H), 7,35-7,26 (m, 6H), 7,10 (s, 4H), 5,45 (s, 2H), 4,22 (dd, J = 10,7 Hz, 5,2 Hz, 2H), 4,00 - 3,90 (m, 4H), 4,00-3,88 (m, 2H), 3,85 (dd, J = 5,4 Hz, 3,0 Hz, 2H), 3,71 (t, J = 2.3 Hz, 1H), 3,69 (t, J = 2.3 Hz, 1H), 3,58 (t, J = 11,4 Hz, 2H), 3,25 (t, J = 7,6Hz, 2H), 3,05 (t, J = 6,7 Hz, 1H), 2,73-2,41 (m, 6H), 1,89 - 1,77 (m, 2H), 1,75 - 1,53 (m, 6H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (II-d):

[0230] Una solución del compuesto **II-c** (260 mg, 0,25 mmol) en 1 N ac HCl (25 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna de oro de fase inversa C-18 para proporcionar el **Compuesto II-d** como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,23-7,12 (m, 4H), 4,29-4,18 (m, 2H), 4,05 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 3,90-3,84 (m, 2H), 3,82-3,79 (m, 1H), 3,78-3,76 (m, 1H), 3,74-3,63 (m, 6H), 3,61-3,40 (m, 8H), 3,34 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,26-3,08 (m, 2H), 2,76-2,61 (m, 4H), 2,36-2,25 (m, 2H), 2,24 - 2,15 (m, 2H), 1,81 - 1,67 (m, 4H).

Esquema III. Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (III-d):



Preparación de III-a - (2S)-4-(4-(4-aminobutilo)fenilo)-2-(3-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)(hexilo)amino)propilamino) butanamida triacetato

[0231] Una suspensión de **I-k** (450 mg, 0,54) y 10% de Pd/C (200 mg) en EtOH/AcOH (20 ml/2 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **III-a** como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,50-7,43 (m, 2H), 7,36-7,30 (m, 3 H), 7,13-7,09 (m, 4H), 5,54 (s, 1H), 4,25 (dd, J = 1 0,7 Hz, 5,1 Hz, 2H), 4,17 (ddd, J = 9,3 Hz, 5,8 Hz, 3,1 Hz, 1H), 3,98 (dd, J = 9,5 Hz, 5,3 Hz, 1H), 3,91 (dd, J = 5,6 Hz, 1,8 Hz, 1H), 3,78 (dd, J = 9,5 Hz, 2,2 Hz, 1H), 3,62 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 3,29-3,16 (m, 2H), 3,14-3,0 (m, 2H), 3,04-2,94 (m, 1H), 2,90 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,72 (t, J = 5,3 Hz, 2H), 2,67-2,57 (m, 4H), 1,94 (s, 9H), 1,91-1,84 (m, 2H), 1,83-1,76 (m, 2H), 1,73-1,54 (m, 6H), 1,33-1,15 (m, 7H), 0,86 (t, J = 8,1 Hz, 3H)

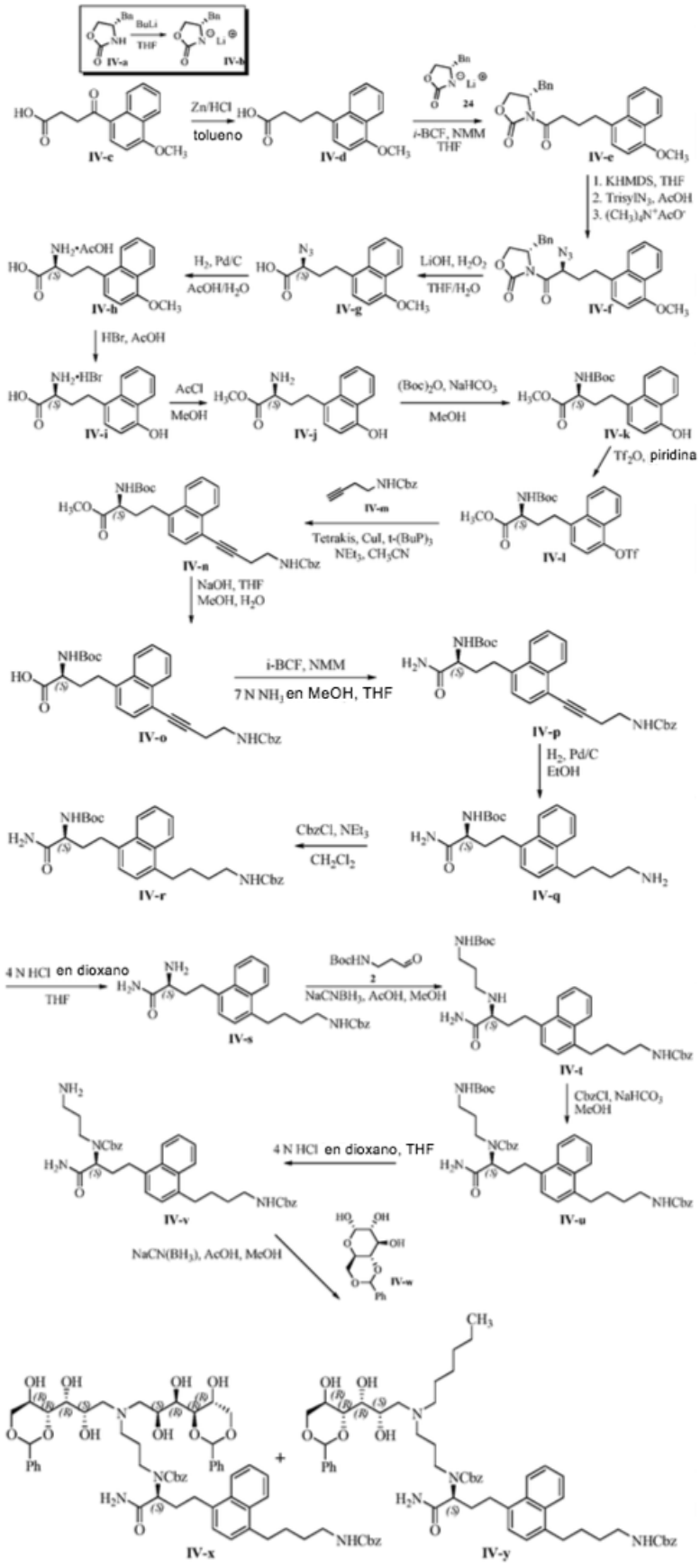
Preparación de III-c - 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((3S)-4-amino-3-(3-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)(hexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida

[0232] A una solución de compuesto **III-a** (400 mg, 0,48 mmol) y sal de ácido metilicoatoico 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidotioato de metilo (**III-b**, 302 mg, 0,77 mmol) en EtOH (15 mL) se añadió DIPEA (0,68 ml, 3,84 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH_2Cl_2/Me-OH 9:1, $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$ 80:18:2) para proporcionar el compuesto **III-c** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,46 (dd, J = 8,0 Hz, 4,6 Hz, 2H), 7,33-7,28 (m, 3H), 7,11 (br s, 4H), 5,52 (s, 1H), 4,23 (dd, J = 10,8 Hz, 5,2 Hz, 1H), 4,02 - 3,92 (m, 2H), 3,89 (dd, J = 5,3 Hz, 2,1 Hz, 1H), 3,75 (dd, J = 9,3 Hz, 2,2 Hz, 1H), 3,60 (t, J = 10,5 Hz, 1H), 3,29-3,21 (m, 2H), 3,07 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 2,76 (dd, J = 12,7 Hz, 5,6 Hz, 2H), 2,68-2,41 (m, 10H), 1,93 - 1,78 (m, 2H), 1,76 - 1,53 (m, 6H), 1,47 - 1,37 (m, 2H), 1,32- 1,16 (m, 6H), 0,86 (t, J = 8,1 Hz, 3H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (III-d):

[0233] Una solución del compuesto **III-c** (230 mg, 0,27 mmol) en 1 N ac HCl (20 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna de oro de fase reversa C-18 para proporcionar el compuesto **III-d** como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,16 (s, 4H), 4,18 (dd, J = 12,0 Hz, 5,6 Hz, 1H), 4,03-3,95 (m, 1H), 3,84 (dd, J = 4,9 Hz, 1,2 Hz, 1H), 3,78 (dd, J = 10,5 Hz, 3,0 Hz, 1H), 3,74-3,63 (m, 3H), 3,42-3,32 (m, 6H), 3,28-3,21 (m, 2H), 3,19-3,04 (m, 2H), 2,76-2,62 (m, 4H), 2,30-2,13 (m, 4H), 1,84-1,65 (m, 6H), 1,46-1,32 (m, 6H), 0,93 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Esquema IV. Preparación de intermedios IV-x y IV-y.



Preparación del compuesto IV-d - ácido 4-(4-metoxinaftaleno-1-ilo)butanoico

[0234] A una solución de ácido 4-(4-metoxinaftaleno-1-ilo)-4-oxobutanoico, compuesto **IV-c** (100 g, 387,5 mmol), en tolueno (500 mL) y ácido clorhídrico concentrado (500 mL) se añadió polvo de Zn (251 g, 3,87 moles) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de Celite. Después de que el filtrado se concentró al 50%, el precipitado resultante se filtró y se secó para proporcionar el compuesto **IV-d** como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12,05 (s, 1H), 8,18 (dd, J = 8,0 Hz, 1,2 Hz, 1H), 8,04 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,58-7,47 (m, 2H), 7,26 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 2,96 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,30 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,85 (t, J = 7,6 Hz, 2H)

Preparación del Compuesto IV-e -(S)-4-bencilo-3-(4-(4-metoxinaftaleno-1-ilo) butanoilo)oxazolidina-2-ona

[0235] A una solución del compuesto **IV-d** (43,5 g, 245,9 mmol) en THF seco (500 mL) se añadió gota a gota n-butilo litio a -78ºC y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos para dar una solución del compuesto **IV-b**. A una solución separada del compuesto **IV-d** (50,0 g, 204,9 mmol) en THF seco (100 mL) se añadió NMM (25,0 g, 245,9 mmol) e *i*-BCF (30,7 g, 245,9 mmol) gota a gota a 0ºC. La mezcla de reacción se agitó durante otros 30 minutos a la misma temperatura, y luego la solución preparada del compuesto **IV-b** se añadió lentamente a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante otras 3 h a temperatura ambiente, se inactivó con NH_4Cl saturado, se concentró para eliminar el THF y se repartió entre EtOAc (1.000 mL) y agua (1.000 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 1.000 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/hexanos 30:70) para proporcionar el compuesto **IV-e** en forma de un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,19 (d, J = 8,3, 1H), 8,09 (d, J = 8,3, 1H), 7,60 - 7,48 (m, 2H), 7,31 - 7,19 (m, 6H), 6,91 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,69 - 4,63 (m, 1H), 4,31 (t, J = 8,6 Hz, 1H), 4,16 (dd, J = 8,8 Hz, 2,8 Hz, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,03-2,99 (m, 2H), 2,95-2,89 (m, 2H), 1,98-1,93 (m, 2H).

Preparación del Compuesto IV-f - (S)-3-((S)-2-azido-4-(4-metoxinaftaleno-1-ilo) butanoílo)-4-benciloxazolidina-2-ona

[0236] A una solución del compuesto **IV-e** (10,0 g, 24,81 mmol) en THF seco (70 mL) se añadió KHMDS (6,40 g, 32,3 mmol) en porciones a -78°C. Después de agitar la mezcla resultante durante 30 min, se añadió azida de trisilo (11,5 g, 37,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2-3 min. Se añadió ácido acético (9,0 g, 148,8 mmol) seguido de acetato de tetrametilo amonio (13,2 g, 99,24 mmol) lentamente a la misma temperatura. La mezcla de reacción se dejó calentar a 27ºC, se agitó durante 16 h, se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (300 mL), se concentró para eliminar el THF y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc/Hexano 30:70) para proporcionar el compuesto IV-f en forma de un aceite incoloro: ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,30 (t, J = 6,1 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,56-7,47 (m, 2H), 7,37-7,28 (m, 3H), 7,20-7,16 (m, 2H), 6,74 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,12-5,08 (m, 1H), 4,54-4,49 (m, 1H), 4,16-4,11 (m, 2H), 3,98 (s, 3H), 3,33-3,27 (m, 3H), 2,84-2,77 (m), 1H), 2,35-2,04 (m, 2H).

Preparación del Compuesto IV-g - ácido (S)-2-azido-4-(4-metoxinaftaleno-1-ilo)butanoico

[0237] A una solución del compuesto IV-f (6,10 g, 13,7 mmol) en THF/H_2O (70 ml/30 mL) se añadió H_2O2 (2,80 g, 82,2 mmol) seguido de porciones de LiOH (1,15 g, 27,4 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a la misma temperatura, se inactivó con Na_2SO3 saturado (200 mL), se concentró a presión reducida para eliminar el THF y se lavó con CH_2Cl_2 (200 mL). La capa acuosa se acidificó con HCl ac 1N y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 × 250 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4, se concentraron y se lavaron con MTBE para proporcionar el compuesto **IV-g** como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 13,15 (s, 1H), 8,19 (dd, J = 8,0 Hz, 1,2 Hz, 1H), 8,00 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,60-7,48 (m, 2H), 7,29 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,21-4,18 (m, 1H), 3,94 (s, 3 H), 3,07 - 3,04 (m, 2H), 2,13- 1,89 (m, 2 H).

Preparación del Compuesto IV-h - acetato de ácido (S)-2-amino-4-(4-metoxinaftaleno-1-ilo)butanoico

[0238] Una suspensión del compuesto **IV-g** (3,20 g, 11,2 mmol) y 10% Pd/C (1,60 g) en AcOH/H_2O (80 mL/20 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar sal acética **IV-h** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 13,15 (s, 1H), 8,18 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,57 - 7,46 (m, 2H), 7,28 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,93 (s, 3 H), 3,04 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,08-1,90 (m, 2H).

Preparación del Compuesto IV-i - hidrobromuro de ácido (S)-2-amino-4-(4-hidroxinaftetano-1-ilo)butanoico

[0239] A una solución del compuesto **IV-h** (2,80 g, 10,81 mmol) en ácido acético (30 mL) se añadió gota a gota ácido bromhídrico (30 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se diluyó con H_2O (15 mL), se basificó ligeramente con amoníaco y se cristalizó durante la noche para proporcionar el compuesto **IV-i** como un

sólido marrón: ESI-MS m/z 246 $[C_{14}H_{15}NO_3+H]^+$.

Preparación del Compuesto IV-j - (S)-metilo 2-amino-4-(4-hidroxinaftaleno-1-ilo)butanoato

[0240] Se añadió cloruro de acetilo (13,5 g, 171,4 mmol) a metanol seco (70 mL) a 0ºC y luego se añadió el compuesto **IV-i** (6,00 g, 24,48 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h y se concentró. El residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **IV-j** como un aceite incoloro: ESI-MS m/z 260 $[C_{15}H_{17}NO_3 + H]^+$.

Preparación del Compuesto IV-k -(S)-metilo 2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-(4-hidroxinaftaleno-1-ilo)butanoato

[0241] A una solución del compuesto **IV-j** (4,80 g, 18,53 mmol) en MeOH/H_2O (40 mL/10 mL) se añadió $NaHCO_3$ (6,20 g, 74,13 mmol) y Boc_2O (4,85 g, 22,2 mmol) a 0ºC. La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 3 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 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para dar el compuesto **IV-k** como un aceite incoloro: ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6) δ 9,91 (s, 1H), 8,15 (dd, J = 8,0 Hz, 1,2 Hz, 1H), 7,98 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,52-7,41 (m, 3H), 7,13 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,05-3,99 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,04-2,86 (m, 2H), 1,97-1,91 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

Preparación del Compuesto IV-i -(S)-metilo 2-(terc-butoxicarbonilamino)-4-(4-(trifluorometilsulfoniloxi)naftaleno-1-ilo)butanoato

[0242] A una solución del compuesto **IV-k** (9,50 g, 26,46 mmol) en piridina (50 mL) se añadió anhídrido tríflico (8,90 g, 282,1 mmol) a 0ºC, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. Después de la concentración, la mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y agua (300 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 proporcionar el compuesto **IV-i** como un aceite marrón: ESI-MS m/z 492 $[C_{21}H_{24}F_3NO_7S+ H]^+$.

Preparación del Compuesto IV-n -(S)-metilo 4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)but-1-inilo)naftaleno-1-ilo)-2-(terc-butoxicarbonilamino)butanoato

[0243] A una solución del compuesto **IV-i** (6,00 g, 12,21 mmol) en CH_3CN anhidro (100 mL) se añadió TEA (4,93 g, 48,8 mmol), 10% $(t\text{-}Bu)_3P$ en hexanos (0,50 g, 2,44 mmol), bencilo but-3-inilcarbamato (**IV-m**, 3,70 g, 18,3 mmol) y CuI (0,11 g, 0,61 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 3 minutos y se añadió $Pd(PPH_3)$ 4 (1,40 g, 1,22 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificarse con argón durante 5 minutos, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por columna (gel de sílice, 40:60 de hexanos/AE) para proporcionar el compuesto **IV-n** como un aceite marrón: ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,35-8,31 (m, 1H), 7,97 - 7,94 (m, 1H), 7,54 - 7,50 (m, 3H), 7,37 - 7,29 (m, 6H), 5,29 - 5,13 (m, 4H), 4,44 (br s, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,56 - 3,49 (m, 2H), 3,14-3,07 (m, 2H), 2,79 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,10-1,98 (m, 2H), 1,42 (s, 9H))

Preparación del Compuesto IV-o - ácido (S)-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)but-1-inilo)naftaleno-1-ilo)-2-(terc-butoxicarbonilamino)butanoico

[0244] A una solución de éster metílico **IV-n** (3,40 g, 6,25 mmol) en THF/MeOH/H_2O (30 ml/30 mL/10 mL) se añadió NaOH (0,75 g, 18,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El valor de pH se ajustó a 9 con 1 N acuoso HCl y se eliminó el disolvente orgánico. El valor de pH se ajustó a 5 y la suspensión se dividió entre CH_2Cl_2 (200 mL) y agua (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **IV-o** como un sólido marrón: ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,28 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 7,91 (br s, 1H), 7,45 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 7,34-7,29 (m, 6H), 7,15 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 5,29-5,12 (m, 4H), 4,31 (br s, 1H), 3,51 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 3,06 (br s, 1H), 2,76 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,30 - 2,04 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

Preparación del Compuesto IV-p - ácido (S)-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)but-1-inilo)naftaleno-1-ilo)-2-(terc-butoxicarbonilamino)butanoico

[0245] A una solución de ácido **IV-o** (2,90 g, 5,47 mmol) en THF (40 mL) se añadió NMM (0,82 g, 8,2 mmol) e *i*-BCF (0,97 g, 7,11 mmol) a 0ºC. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 30 minutos y se añadió NH_3 (7,0 N en metanol, 6,0 mL, 43,7 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se continuó agitando a 0°C durante 2 h, se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después de la concentración, 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 secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se lavó con MTBE para

proporcionar la amida **IV-p** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 8,29 (br s, 1H), 8,13 (br s, 1H), 7,59-7,53 (m, 3H), 7,34-7,28 (m, 9H), 7,03 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 3,98 (br s, 1H), 3,31 (br s, 2H), 3,13-3,01 (m, 3H), 2,72 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 1,98 - 1,84 (m, 2H), 1,42 (s, 9H).

Preparación del Compuesto IV-q -(S)-terc-butilo-1-amino-4-(4-(4-aminobutilo)naftaleno-1-ilo)-1-oxobutano-2-ilcarbamato

[0246] Una suspensión del compuesto **IV-p** (2, 30 g, 4, 34 mmol) y 10% Pd/C (1, 20 g) en EtOH (50 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se lavó con MTBE/hexanos para proporcionar la sal acética **IV-q** como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,05-8,01 (m, 2H), 7,50-7,42 (m, 2H), 7,24-7,20 (m, 2H), 6,22 (br s, 1H), 5,50 (br s, 1H), 5,16 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,20 (br s, 1H), 3,12 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 3,04 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,71 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 2,34-2,24 (m, 1H), 2,07-1,98 (m, 1H), 1,80 -1,70 (m, 6H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del compuesto IV-r

[0247] Se añadió TEA (0,53 g, 5,25 mmol) y CbzCl (0,65 g, 3,85 mmol) a 0°C a una solución agitada del compuesto **IV-q** (1,4 g, 3,50 mmol) en CH_2Cl_2 seco (25 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y 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 para proporcionar el compuesto **IV-r** como un aceite amarillo: ESI-MS m/z 534 $[C_{31}H_{39}N_3O_5 + H]^+$.

Preparación del compuesto IV-s

[0248] A una solución del compuesto **IV-r** (1,75 g, 3,28 mmol) en THF seco (10 mL) se le añadió 4 N HCl en dioxano (20 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se lavó con MTBE para proporcionar el compuesto **IV-s** como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, MeOD-d_3) δ 8,07-8,03 (m, 2H), 7,53-7,49 (m, 2H), 7,31-7,27 (m, 7H), 5,05 (s, 2H), 4,05 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 3,20-3,14 (m, 6H), 2,26-2,22 (m, 2H), 1,76-1,59 (m, 4H).

Preparación del compuesto IV-t

[0249] A una solución del compuesto **IV-s** (1,2 g, 2,77 mmol) y aldehído **2** (0,95 g, 5,54 mmol) en MeOH (25 mL) se añadió ácido acético (0,5 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (0,25 g, 4,15 mmol) y se continuó agitando la solución a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron el compuesto adicional 2 (0,3 equiv), AcOH (0,3 equiv) y $NaCNBH_3$ (0,3 equiv) durante el período de 3 horas y esta adición se repitió cuatro veces hasta que LC-MS mostró un consumo >90% de amina. Después de la concentración, el residuo se dividió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar **IV-t**, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Preparación del Compuesto IV-u

[0250] A una solución del compuesto **IV-t** (crudo, 850 mg) en MeOH/H_2O (25 ml/12 mL) se añadió $NaHCO_3$ (0,36 g, 4,32 mmol) a 0°C y la solución se agitó durante 10 min. Se añadió cloroformato de bencilo (0,50 g, 2,88 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a 0ºC, luego se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL), luego se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para proporcionar **IV-u**, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Preparación del compuesto IV-v

[0251] Se disolvió el Compuesto **IV-u** (en bruto, 750 mg) en 4 N HCl en dioxano (10 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se lavó con MTBE y se neutralizó con NH_4OH acuoso para proporcionar el compuesto **IV-v** como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,06 (br s, 2H), 7,48-7,46 (m, 2H), 7,31-7,19 (m, 11H), 5,48 (s, 2H), 5,13-5,04 (m, 4H), 3,34-3,32 (m, 3H), 3,15 (t, J = 6,9 Hz, 4H), 3,04 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,58 - 2,40 (m, 3H), 2,12 (br s, 1H), 1,76 - 1,57 (m, 6H).

Preparación del Compuesto IV-x y Compuesto IV-y

[0252] A una solución del compuesto **IV-v** (710 mg, 1,13 mmol) y triol **IV-w** (1,52 g, 5,68 mmol) en metanol (50 mL) se añadió ácido acético (1,00 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (490 mg, 7,91 mmol) y la solución se continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron el compuesto **IV-w** (16,0 equiv), AcOH (20,0 equiv) y $NaCNBH_3$ (20,0 equiv) adicionales y se continuó agitando la solución a temperatura ambiente durante 72 h. Se añadieron hexanal (0,45 g, 4,52 mmol),

AcOH (0,91 mL) y $NaCNBH_3$ (350 mg, 5,65 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por columna de oro de fase inversa C-18 para proporcionar el compuesto **IV-x** y el compuesto **IV-y** como sólidos blancos:

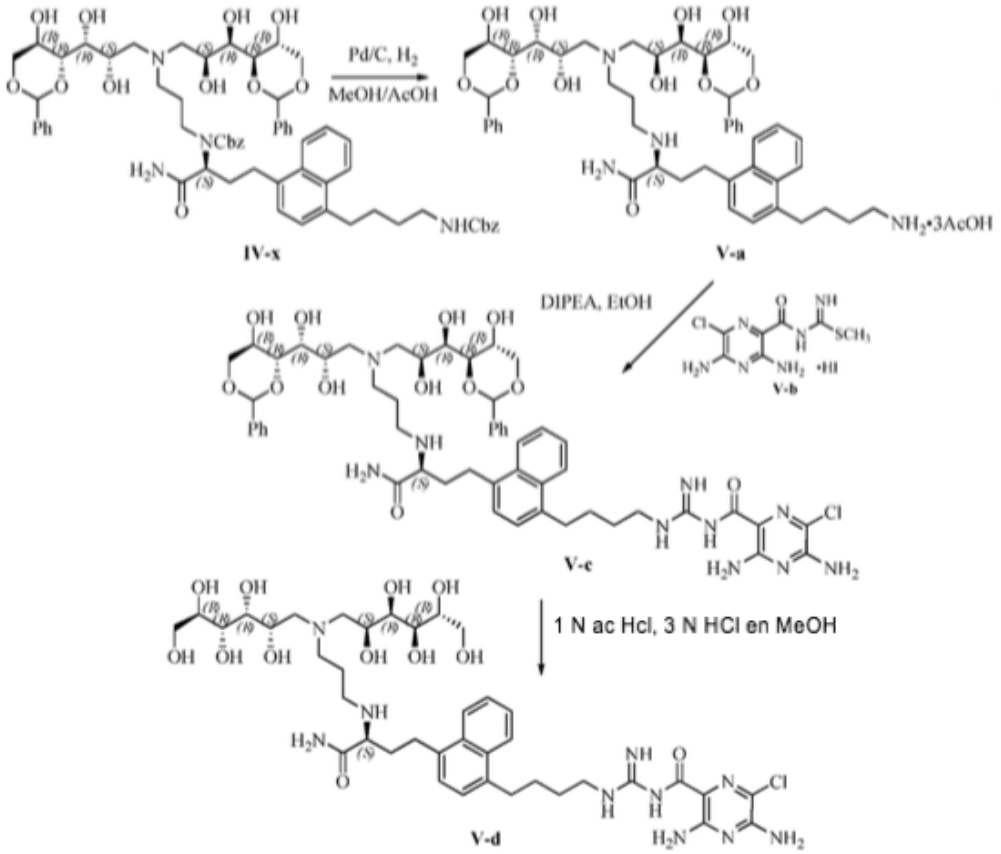
Datos para bencilo 2-(((S)-1-amino-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)butilo)naftaleno-1-ilo)-1-oxobutano-2-ilo)(3-(bis((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)amino)propilo)amino)acetato (Compuesto IV-x):

[0253] ESI-MS m/z 1130 $[C_{63}H_{76}N_4O_{15} + H]^+$.

Datos para bencilo 2-(((S)-1-amino-4-(4-(4-(benciloxicarbonilamino)butilo)naftaleno-1-ilo)-1-oxobutano-2-ilo)(3-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)(hexilo)amino)propilo) amino)acetato (Compuesto IV-y):

[0254] ESI-MS m/z 962 $[C_{56}H_{72}N_4O_{10} + H]^+$.

Esquema V. Preparación de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)nafteleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida



Preparación de V-a - acetato de (2S)-4-(4-(4-aminobutilo)naftaleno-1-ilo)-2-(3-(bis((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R),5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)amino)propilamino)butanamida

[0255] Una suspensión de **IV-x** (425 mg, 0,38 mmol) y 10% de Pd/C (200 mg) en MeOH/AcOH (5,0 mL/1,0 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 8 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío y se precipitó a partir de MTBE/hexanos para proporcionar el compuesto **V-a** en forma de un aceite incoloro: ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 8,10-8,05 (m, 2H), 7,55-7,21 (m, 14 H), 5,40 (s, 2H), 4,24-4,20 (m, 2H), 3,94-3,92 (m, 6H), 3,86-3,53 (m, 12H), 3,15-3,01 (m, 8H), 2,92-2,75 (m, 4H), 1,94 (s, 9H)), 1,76-1,33 (m, 8H).

Preparación de V-c - 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((3S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-

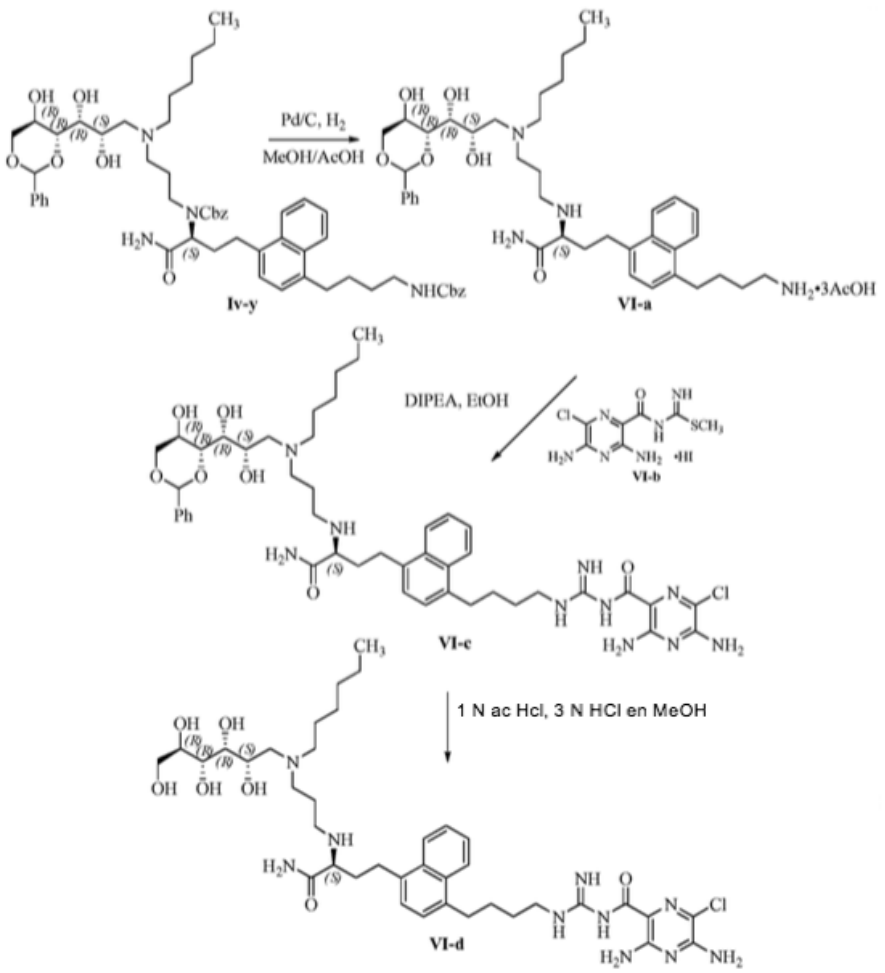
2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida

[0256] A una solución del compuesto **V-a** (356 mg, 0,34 mmol) y sal de ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidotioato de metilo (**V-b**, 213 mg, 0,54 mmol) en EtOH (8,0 mL) se añadió DIPEA (353 mg, 2,73 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0,2 $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$) para proporcionar el compuesto V-c como un sólido amarillo: ESI-MS *m/z* 537 $[C_{53}H_{69}ClN_{10}O_{12} + 2H]^{2+}/2$.

Preparación de V-d - clorhidrato de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida

[0257] Una solución del compuesto **V-c** (120 mg, 0,111 mmol) en 1 N ac HCl (3,0 mL) y 3 N HCl en MeOH (3,0 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna de oro de fase inversa C-18 para proporcionar el compuesto **V-d** como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) δ 8,13 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,53 - 7,31 (m, 4H), 4,18 - 4,16 (m, 2H), 3,95 (br s, 1H), 3,78 - 3,74 (m, 6H), 3,62 - 3,58 (m, 4H), 3,36 - 3,29 (m, 6H), 3,22 - 3,18 (m, 2H), 3,08 - 3,04 (m, 6H), 2,17 - 2,14 (m, 4H), 1,85- 1,73 (m, 4 H) ; ESI-MS *m/z* 4 49 $[C_{39}H_{61}ClN_{10}O_{12} + 2H]^{2+}/2$.

Esquema VI. Preparación de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (VI-d).



Preparación de VI-a - triacetato de (2S)-4-(4-(4-aminobutilo)naftaleno-1-ilo)-2-(3-(((2S,3R)-2,3-dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)(hexilo)amino)propilamino)butanamida

[0258] Una suspensión de **IV-y** (270 mg, 0,28 mmol) y 10% Pd/C (120 mg) en MeOH/AcOH (5,0 mL/1,0 mL) fue

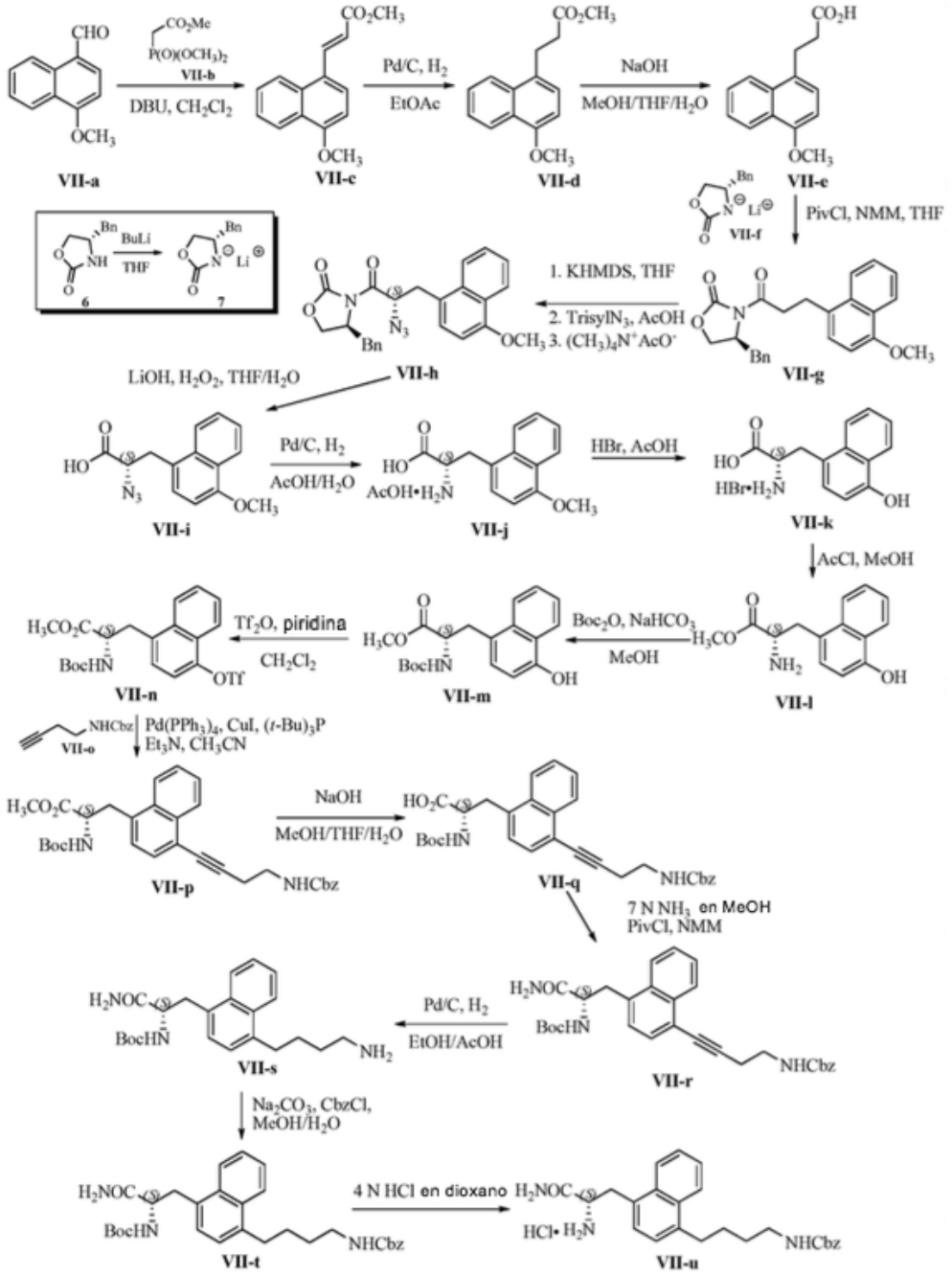
sometida a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 8 h a ta. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **VI-a** como un aceite incoloro: ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 8,09-8,05 (m, 2H), 7,54-7,21 (m, 9H), 5,46 (s, 1H), 4,24-4,21 (m, 2H), 3,95-3,94 (m, 2H), 3,79-3,59 (m, 5H), 3,15-3,07 (m, 6H), 2,96-2,89 (m, 2H), 2,76-2,75 (m, 2H), 1,94 (s, 9H), 1,90-1,62 (m, 10H), 1,28-1,22 (m, 6H), 0,78-0,76 (m, 3H).

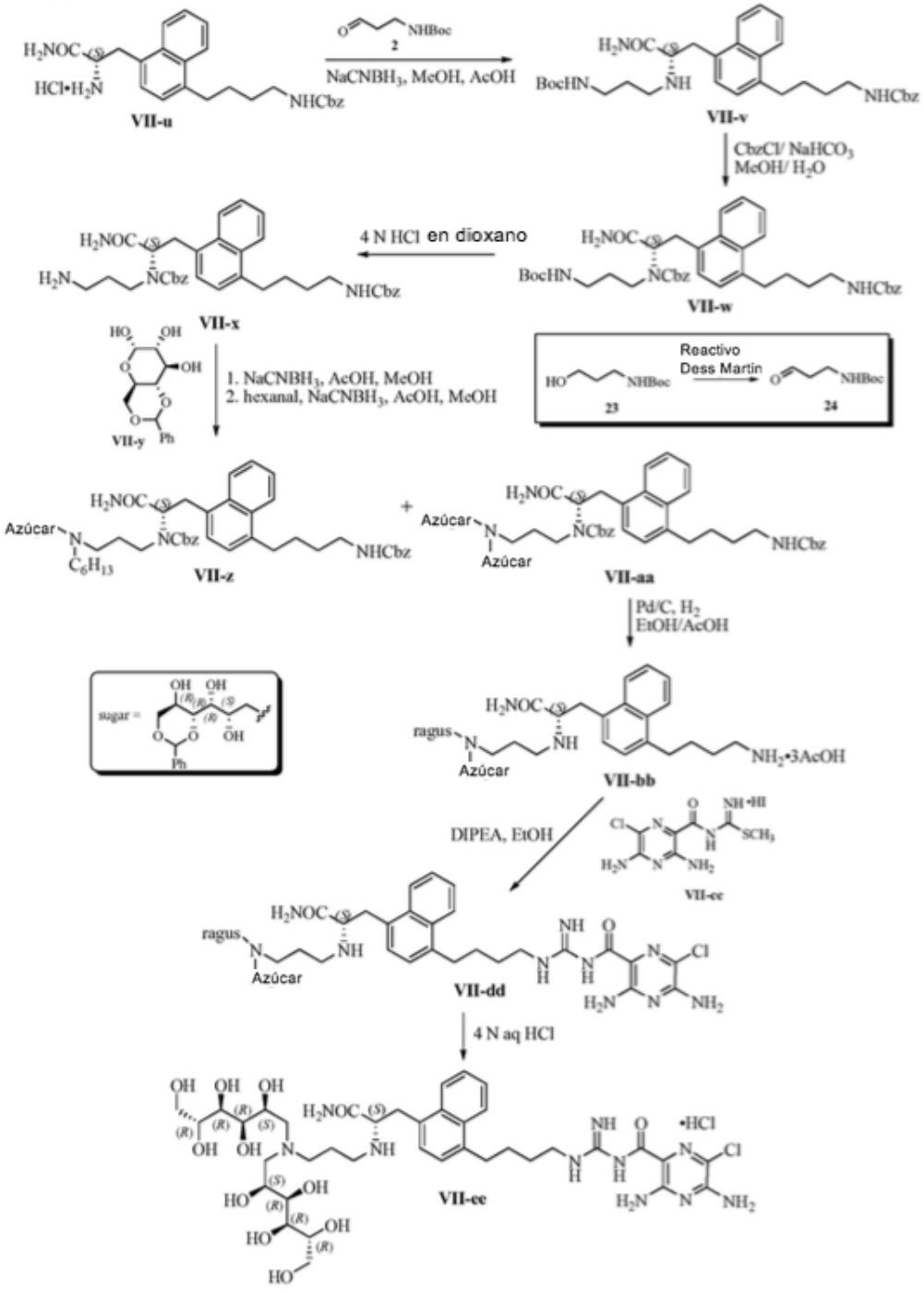
Preparación del Compuesto VI-c - 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((3S)-4-amino-3-(3-(((2S,3R)-2,3- dihidroxi-3-((4R,5R)-5-hidroxi-2-fenilo-1,3-dioxano-4-ilo)propilo)(hexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamamidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida

[0259] A una solución del compuesto **VI-a** (209 mg, 0,24 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidotioato de metilo (**VI-b**, 130 mg, 0,38 mmol) en EtOH (5,0 mL) se añadió de DIPEA (250 mg, 1,92 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0,2 $CHCl_3$/CH_3OH/NH_4OH) para proporcionar el compuesto **VI-c** como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,08 - 8,06 (m, 2H), 7,50-7,41 (m, 4H), 7,28-7,26 (m, 5H), 5,48 (s, 1H), 4,23 (dd, J = 10,4 Hz, 5,2 Hz, 1H), 3,90 - 3,88 (m, 3H), 3,75 (dd, J = 9,6 Hz, 2,4 Hz, 1H), 3,58 (t, J = 10,4 Hz, 1H), 3,20-3,12 (m, 5H), 2,70-2,48 (m, 7H), 1,88 - 1,62 (m, 8H), 1,43- 1,41 (m, 2H), 1,26 - 1,17 (m, 6H), 0,83 (t, J = 8,1 Hz, 3H).

[0260] Preparación del compuesto VI-d - clorhidrato de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida Una solución de compuesto **VI-c** (98 mg, 0,108 mmol) en 1 N ac HCl (2,0 mL) y 3 N HCl en MeOH (2,0 mL) se agitó a ta durante 2 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna de oro de fase inversa C-18 para proporcionar el compuesto **VI-d** como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) δ 8,12 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,83 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,51-7,30 (m, 4H), 4,14-4,12 (m, 1H), 3,76-3,58 (m, 7H), 3,39-2,90 (m, 14H), 2,17 - 1,62 (m, 10H), 1,28-1,19 (m, 6H), 0,78 (t, J = 6,4 Hz, 3H); ESI-MS m/z409 $[C_{39}H_{61}ClN_{10}O_7 + 2H]^{2+}/2$.

Esquema VII. Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamamidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto VII-ee):





Preparación del Compuesto VII-c

[0261] El fosfonoacetato de trimetilo **VII-b** (34,8 mL, 241 mmol) en 300 mL de CH_2Cl_2 anhidro se enfrió a 0ºC y se cargó con DBU (30,5 ml, 322 mmol) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. El aldehído **VII-a** (25,0 g, 134 mmol) en 50 mL de CH_2Cl_2 se cargó gota a gota. La mezcla de reacción se llevó a la temperatura ambiente, se agitó durante 36 h, y se enfrió con 100 mL de agua. La mezcla se dividió, y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexanos/acetato de etilo 10:1) para dar el trans-α,β-éster insaturado **VII-c** deseado (32,0 g, 99%) como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,45 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 8,29 (dd, J = 8,4, 1,5 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,57 (ddd, J = 8,5, 7,0, 1,7 Hz, 1H), 7,49 (ddd, J = 8,3, 6,7, 1,2 Hz, 1H), 6,78 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,43 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,83 (s, 3H).

Preparación del Compuesto VII-d

[0262] Una suspensión del compuesto **VII-c** (32,0 g, 132 mmol) y Pd/C al 10% (5,0 g) en EtOAc (400 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar **VII-d** (32 g, 99%) como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,31 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,54 (ddd, J = 8,4, 7,0, 1,5 Hz, 1H), 7,47 (ddd, J = 8,3, 6,9, 1,3 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,33 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,72 (t, J = 7,7 Hz, 2H).

Preparación del Compuesto VII-e

[0263] Una solución de éster metílico **VII-d** (32,0 g, 131 mmol) en THF/MeOH/H_2O (200 ml/200 mL/75 mL) se cargó con NaOH (31,5 g, 786 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se eliminó y el pH se ajustó a 1 con 1 N acuoso HCl; precipitó un sólido blanco, se filtró, se lavó con agua, y se secó a vacío para proporcionar ácido **VII-e** (29,5 g, 98%) como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12,15 (br s, 1H), 8,19 (dd, J = 8,6, 1,1 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,57 (ddd, J = 8,2, 7,9, 1,3 Hz, 1H), 7,50 (ddd, J = 8,4, 7,1, 1,5 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,21 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,66 (t, J = 7,7 Hz, 2H).

Preparación del compuesto VII-g

[0264] Se cargó una solución del compuesto **VII-f** (26,8 g, 151 mmol) en THF seco (300 mL) con litio de *n*-butilo (76,0 ml, 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 del compuesto **VII-f**. Se cargó otra solución del compuesto **VII-e** (29 g, 126 mmol) en THF seco (300 mL) con NMM (20,7 mL, 189 mmol) y PivCl (18,6 mL, 151 mmol) gota a gota a -78ºC. La mezcla de reacción se agitó durante 1 minuto a la misma temperatura, y la solución preparada del compuesto **VII-f** se añadió lentamente a -78ºC. La mezcla de reacción se agitó durante otros 10 min, se agitó durante 1 h a 0ºC, se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, se inactivó con NH_4Cl saturado, se concentró para eliminar el THF y se repartió entre CH_2Cl_2 (1.000 mL) y agua (1.000 mL)) La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 X 1.000 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH_2Cl_2) para proporcionar el compuesto **VII-g** (16 g, 33%) como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,30 (dd, J = 8,6, 1,3 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,55 (ddd, J = 8,5,6,9, 1,6 Hz, 1H), 7,47 (ddd, J = 8,2, 6,9, 1,2 Hz, 1H), 7,34 - 7,22 (m, 5 H), 7,17 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,73 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,72-4,60 (m, 1H), 4,14 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,13 (s, 1H), 3,47-3,25 (m, 5H), 3,96 (s, 3H), 2,76 (dd, J = 13,2, 9,6 Hz, 1H).

Preparación del Compuesto VII-h

[0265] Una solución del compuesto **VII-g** (16,0 g, 41,1 mmol) en THF seco (500 mL) se cargó con KHMDS (12,8 g, 61,7 mmol) en porciones a -78°C. Después de agitarse la mezcla resultante durante 30 min, se añadió azida de trisilo (19,0 g, 61,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos. Se añadió ácido acético (24,7 mL, 411 mmol) lentamente a la misma temperatura, seguido de acetato de amonio de tetrametilo (10,9 g, 82,2 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 24°C, se agitó durante 16 h, se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (300 mL), se concentró para eliminar el THF y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 × 3 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 90:10 de hexanos/EtOAc, seguido de CH_2Cl_2) para proporcionar el compuesto **VII-h** (13,0 g, 74%) como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8,29 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 8,05 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,56 (ddd, J = 8,1, 6,7, 1,2 Hz, 1H), 7,46 (ddd, J = 8,2, 6,9, 1,2 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,33-7,20 (m, 3H), 7,18-7,12 (m, 2H), 6,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,47 (dd, J = 8,4, 7,0 Hz, 1H), 4,44-4,35 (m, 1H), 4,02 (dd, J = 9,2, 2,7 Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,74 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 3,66 (dd, J = 1.41, 7,0 Hz, 1H), 3,46 (dd, J = 14.3, 8,5 Hz, 1H), 3,24 (dd, J = 13,4, 3,4 Hz, 1H), 2,75 (dd, J = 13,6, 9,7 Hz, 1H).

Preparación del Compuesto VII-i

[0266] Se cargó una solución del compuesto **VII-h** (26,0 g, 60,9 mmol) en THF/H_2O (100 mL/35 mL) con H_2O2 (41,4 mL, 366 mmol) seguido de LiOH (5,11 g, 122 mmol) en porciones a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos, se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, se inactivó con Na_2SO_3 saturado (200 mL), se concentró a presión reducida para eliminar el THF y se lavó con CH_2Cl_2 (500 mL). La capa acuosa se acidificó con 1 N acuoso HCl 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 trituraron con MTBE para proporcionar el compuesto **VII-i** (13,5 g, 82%) como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8,22 (dd, J = 8,4, 1,4 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,60 (ddd, J = 8,2, 6,8, 1,4 Hz, 1H), 7,52 (ddd, J = 8,2, 6,8, 1,3 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,36 (dd, J = 9,5, 5,0 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,59 (dd, J = 14,9, 5,1 Hz, 1H), 3,25 (dd, J = 14,7, 8,9 Hz, 1H).

Preparación del Compuesto VII-j

[0267] Una suspensión de compuesto **VII-ji** (13,5 g, 49,6 mmol) y 10% Pd/C (1,35 g) en AcOH/H_2O (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 Celite y se lavó con AcOH/H_2O seguido de MeOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar la sal acética **VII-j** (12,0 g, 80%) como un sólido amarillo: ESI-MS *m/z* 246 [$C_{14}H_{15}NO_3$ + H]$^+$.

Preparación del Compuesto VII-k

[0268] Se cargó una solución del compuesto **VII-j** (12,0 g, 39,3 mmol) en ácido acético (130 mL) con ácido bromhídrico (130 mL) gota a gota a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo marrón bruto **VII-k** (10,5 g, 86%) se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10,17 (br s, 1H), 8,32 (br s, 3H), 8,20 (dd, J = 8,3, 1,5 Hz, 1H), 8,00 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,57 (ddd, J = 8,2, 6,7, 1,2 Hz, 1H), 7,49 (ddd, J = 8,2, 6,8, 1,1 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,11-3,98 (m, 1H), 3,51-3,36 (m, 2H).

Preparación del Compuesto VII-l

[0269] Se añadió cloruro de acetilo (16,8 mL, 236 mmol) a metanol seco (250 mL) a 0ºC, seguido del compuesto **VII-k** (10,5 g, 33,7 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h y se concentró. El residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (500 mL) y $NaHCO_3$ saturado (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **VII-i** (7,5 g, 91%) como un sólido blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 9,97 (br s, 1H), 8,16 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,52 (ddd, J = 8,1, 6,9, 1,2 Hz, 1H), 7,43 (t, J = 6,7 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 3,62 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 3,51 (s, 3H), 3,3 7-3,26 (m, 2H), 3,22 (dd, J = 14,3, 6,7 Hz, 1H), 3,08 (t, J = 14,3, 7,7, Hz, 1H).

Preparación del compuesto VII-m

[0270] Se cargó una solución del compuesto **VII-i** (7,5 g, 30,6 mmol) en MeOH/H_2O (300 mL/100 mL) con $NaHCO_3$ (25,7 g, 306 mmol) y Boc_2O (10,0 g, 45,9 mmol) a 0ºC. La mezcla resultante se calentó a 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 × 400 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. La cromatografía en columna rápida usando 20% de acetato de etilo/hexanos seguido de CH_2Cl_2 dio el compuesto **VII-m** (9,6 g, 91%) como un sólido blanco: ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): 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 (br s, 1H), 5,14-4,85 (br s, 1H), 4,77-4,51 (m, 1H), 3,78-3,31 (m, 5H), 1,40 (s, 6H), 1,10 (s, 3H).

Preparación del Compuesto VII-n

[0271] Se cargó una solución del compuesto **VII-m** (12,9 g, 37,5 mmol) en piridina (100 mL) con triflato (9,5 mL, 56,3 mmol) a 0ºC, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la concentración, la mezcla de reacción 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 proporcionar el compuesto **VII-n** (22,0 g, bruto) como un aceite marrón: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 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, 5 H), 1,39 (s, 8 H), 1,25 (s, 1 H).

Preparación del Compuesto VII-p

[0272] Se cargó una solución del compuesto **VII-n** (22,0 g, en bruto, 37,51 mmol) en CH_3CN anhidro (250 mL) con TEA (20,5 mL, 150 mmol), 10% (*t*-Bu)$_3$P en hexanos (15,0 mL, 7,50 mmol), butilo-3-inilcarbamato de bencilo (**VII-o**, 11,3 g, 56,3 mmol) y CuI (357 mg, 1,87 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 minutos y se cargó $Pd(PPH_3)_4$ (4,33 mg, 3,75 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificarse con argón durante 5 minutos, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo/hexanos 60:40) para proporcionar el compuesto **VII-p** (14,0 g, 71% en dos etapas) como un aceite marrón: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 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 del Compuesto VII-q

[0273] Se cargó una solución de éster metílico **VII-p** (14,0 g, 26,5 mmol) en una mezcla de THF (150 mL), metanol (150 mL) y agua (75 mL) con NaOH sólido (6,33 g, 159 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Cuando la TLC de la mezcla de reacción mostró que se había completado la reacción, el pH de la mezcla de reacción se llevó a 9-10 añadiendo 1 N HCl (acuoso) y el disolvente orgánico se eliminó. El pH de la

parte acuosa se ajustó a 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 y se concentraron para proporcionar el compuesto **VII-q** (13,0 g, 95%) como un sólido marrón: ^{1}H RMN (400 MHz, 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 VII-r

[0274] Una solución de ácido **VII-q** (4,00 g, 7,7 mmol) en THF (100 mL) se enfrió a 0ºC en un baño de hielo. Se añadió NMM (1,10 mL, 23,2 mmol), seguido de PivCl (1,10 mL, 9,30 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Se añadió NH_3 (7,0 N en metanol, 11,0 mL, 77,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 0ºC durante 2 h, se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El disolvente orgánico se eliminó. El residuo se cargó con agua y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (metanol al 3% en cloroformo) para proporcionar la amida **VII-r** (3,50 g, 88%) como un sólido amarillo claro: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 8,29 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 8,21 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,63-7,52 (m, 4H), 7,36-7,30 (m, 6H), 6,91 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,23-4,22 (m, 1H), 3,61-3,60 (m, 1H), 3,53-3,48 (m, 1H), 3,16-3,06 (m, 1H), 2,74-2,68 (m, 2H), 1,24 (s, 9H).

Preparación del Compuesto VII-s

[0275] Una suspensión del compuesto **VII-r** (3,50 g, 6,8 mmol) y 10% Pd/C (700 mg) en EtOH (100 mL) y AcOH (20 mL) fue sometida a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se trituró con MTBE/hexanos para proporcionar **VII-s** de sal acética (3,0 g, 99%) como un sólido blanquecino: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 8,24-8,21 (m, 1H)), 8,10 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,56-7,54 (m, 2H), 7,31-7,26 (m, 2H), 4,44-4,42 (m, 1H), 3,75-3,68 (m, 1H), 3,64-3,59 (m, 1H), 3,24-3,19 (m, 2H), 3,13 (t, J = 6,2 Hz 2H), 2,92 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 1,84-1,71 (m, 4H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del Compuesto VII-t

[0276] Se cargó una solución de amina **VII-s** (3,0 g, 6,74) en MeOH (100 mL) y agua (50 mL) con Na_2CO_3 (7,14 g, 67,4 mmol) a 0°C y se agitó durante 10 min. Se añadió cloroformiato de bencilo (1,93 mL, 13,4 mmol) a la misma temperatura y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h, se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h más. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL) y la solución se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna (metanol al 3% en cloroformo) para proporcionar la amida **VII-t** (3,10 g, 89%) como un sólido amarillo claro: ESI-MS *m/z* 520 **$[C_30H_37N_3O_5+H]^+$**.

Preparación del Compuesto VII-u

[0277] El compuesto **VII-t** (3,10 g, 5,80 mmol) se disolvió en 4 N HCl en dioxano (40 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 1 hora. Después de la concentración, se obtuvo la sal de amina **VII-u** (2,6 g, 99%) como un sólido blanco, y se usó directamente para la siguiente etapa: ESI-MS *m/z* 420 $[C_{25}H_{29}N_3O_3+H]^+$.

Preparación del Compuesto 2

[0278] Una solución de **1** (10 g) en CH_2Cl_2 (100 mL) se enfrió a 0°C. Después de 10 min, se añadió periodinano de Dess-Martin (29 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió 1 N NaOH (acuoso) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron para proporcionar el aldehído 2 (8,0 g, 80%) como un líquido amarillo claro.

Preparación del Compuesto VII-v

[0279] Se añadió una solución de sal de amina **VII-u** (3,70 g, 8,13 mmol), aldehído (**2**) (1,7 g, 9,75 mmol) y ácido acético (4,88 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió cianoborohidruro sódico (768 mg, 12,2 mmol) y la mezcla se agitó durante 2 h. Se cargaron **2** adicionales (0,3 equiv), AcOH (0,3 equiv) y $NaCNBH_3$ (0,3 equiv) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró a sequedad, y el residuo se lavó con $NaHCO_3$ saturado (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. Este producto bruto (**VII-v**, 8,0 g) se usó directamente para el siguiente paso sin purificación adicional, y la formación del producto se confirmó por los datos LCMS: ESI-MS *m/z* 577 $[C_{33}H_{44}N_4O_5+H]^+$.

Preparación del Compuesto VII-w

[0280] Una solución de amina **VII-v** (producto bruto 8,0 g) en MeOH (90 mL) y agua (30 mL) se cargó con $NaHCO_3$

(6,82 g, 81,3 mmol) a 0°C y se agitó durante 10 min. Se añadió cloroformiato de bencilo (2,47 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a la misma temperatura, se llevó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora más. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL) y la solución se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. Este producto bruto **VII-w** (10,0 g) se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional, y la formación del producto se confirmó mediante datos de LCMS: ESI-MS *m/z* 711 $[C_{41}H_{50}N_4O_7+H]^+$.

Preparación del compuesto VII-x

[0281] Se disolvió el compuesto **VII-w** (producto bruto, 10,0 g) en 4 N HCl en dioxano (25 mL) a temperatura ambiente y se agitó la solución durante 1 h. Después de la concentración, la sal de amina se neutralizó con $NaHCO_3$ acuoso. El residuo se purificó por cromatografía en columna (metanol al 6% en cloroformo) para proporcionar amina **VII-x** (2,50 g, 50% en tres etapas) como un sólido amarillo claro: ESI-MS *m/z* 611 $[C_{36}H_{42}N_4O_5+H]^+$.

Preparación de los compuestos VII-aa y VII-z

[0282] Una solución de amina **VII-x** (2,50 g, 4,09 mmol) en metanol (50 mL) se cargó con triol (**VII-γ**) (4,39 g, 16,4 mmol) y ácido acético (2,45 mL) sucesivamente y se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (1,54 mg, 24,5 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se cargaron **VII-y** (2,0 equiv) adicionales, AcOH (4,0 equiv) y $NaCNBH_3$ (3,0 equiv) y la mezcla se agitó durante 48 h. LC/MS mostró un 90% de consumo de amina. Nuevamente, se añadieron **VII-y** (2,0 equiv), AcOH (4,0 equiv) y $NaCNBH_3$ (3,0 equiv) y la mezcla se agitó durante 24 h. La mezcla de reacción se cargó con hexanal (1,46 mL, 12,2 mmol) y $NaCNBH_3$ (1,26 g, 20,0 mmol), se agitó durante 2 h, y se concentró a sequedad. El residuo se lavó con $NaHCO_3$ saturado (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron. La purificación de los compuestos **VII-aa** y **VII-z** falló mediante cromatografía normal usando el sistema CMA; Se usó cromatografía de fase inversa usando una columna C18 Gold para obtener **VII-z** puro (810 mg, 21%) y **VII-aa** (1,10 g, 25%) respectivamente: ESI-MS *m/z* 947 **$[C_{55}H_{70}N_4O_{10} + H]^+$** ; para **VII-z** y ESI-MS *m/z* 1115 $[C_{62}H_{74}N_4O_{15} + H]^+$ para **VII-aa**.

Preparación del Compuesto VII-bb

[0283] Una suspensión de **VII-aa** (1,10 g, 0,98) y 10% de Pd/C (200 mg) en una mezcla de EtOH (80 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 una almohadilla de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar la sal de amina **VII-bb** (925 mg, 92%) como un sólido blanco: ESI-MS *m/z* 847 **$[C_{46}H_{62}N_4O_{11} + H]^+$**.

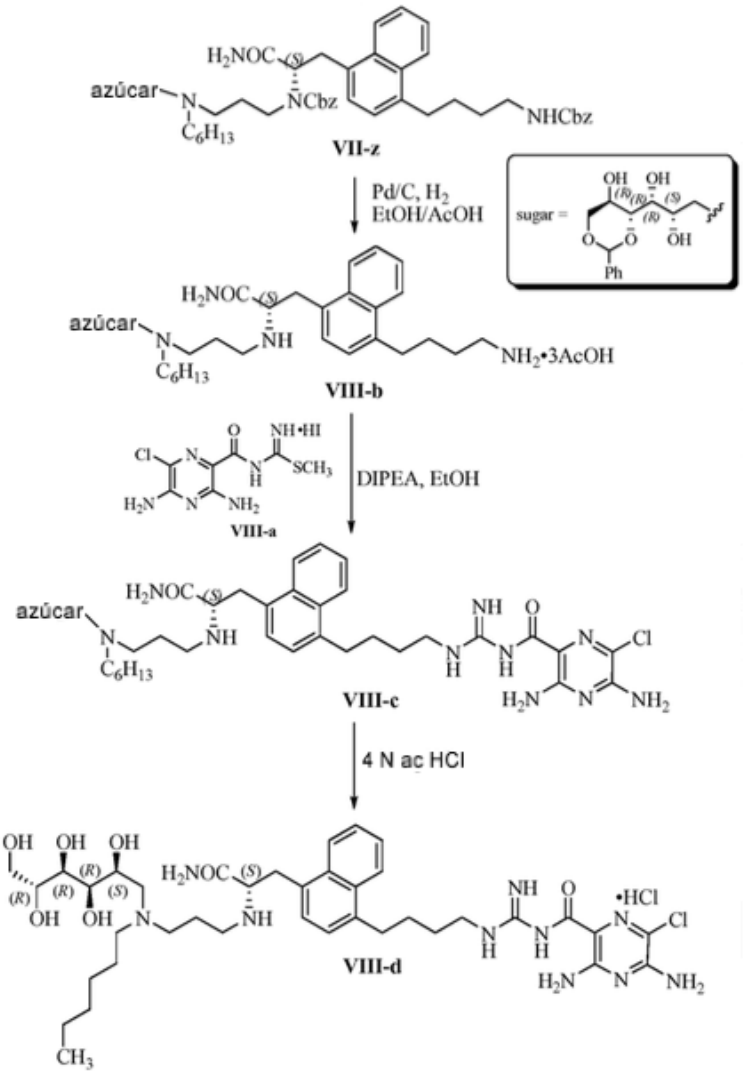
Preparación del compuesto VII-dd

[0284] Una solución de sal de amina **VII-bb** (925 mg, 0,95 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidotioato de metilo (**VII-cc**, 561 mg, 1,44 mmol) en EtOH (10 mL) se cargó con DIPEA (1,35 mL, 7,60 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 80:18:2 $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$) para proporcionar guanidina **VII-dd** (500 mg, 50%) como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 8,21-8,16 (m, 1H), 8,12-8,07 (m, 1H), 7,56-7,49 (m, 2H), 7,45-7,39 (m, 4H), 7,32-7,22 (m, 8 H), 5,45 (s, 2H), 4,21 (dd, J = 10,5, 5,3 Hz, 2H), 3,98-3,89 (m, 4H), 3,83 (dd, J = 4,9, 2,5 Hz, 2H), 3,68 (dd, J = 9,2, 2,5 Hz, 2H), 3,57 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 3, 45-3,37 (m, 2H), 3,27 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 3,24-3,17 (m, 1H), 3,15-3,08 (m, 2H), 2,64-2,44 (m, 6H), 2,43-2,25 (m, 2H), 1,88-1,79 (m, 2H), 1,79-1,68 (m, 2H), 1,54-1,41 (m, 2H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto VII-ee):

[0285] Se añadió 4 N acuoso HCl (20 mL) a **VII-dd** (500 mg, 0,48 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa usando una columna C18 Gold para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **VII-ee** (285 mg, 60%) como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10,53 (br s, 1H), 10,29 (br s, 1H), 9,46 (br s, 1H), 9,32 (br s, 1H), 9,05-8,78 (m, 3H), 8,41-8,33 (m, 1H), 8,17-8,09 (m, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,58 (dd, J = 6,4, 3,2 Hz, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,48-7,35 (m, 1H), 7,32 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,28 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,16-4,05 (m, 2H), 4,04 - 3,96 (m, 1H), 3,84 (dd, J = 12,8, 3,3 Hz, 1H), 3,72 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 3,62 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,58 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,54-3,45 (m, 4H), 3,44-3,30 (m, 9H), 3,28 - 3,18 (m, 2H), 3,15 - 3,01 (m, 2H), 2,99 - 2,85 (m, 2H), 2,28 - 2,13 (m, 2H), 1,81 - 1,63 (m, 4H).
^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 8,25 (dd, J = 8,5, 1,7 Hz, 1H), 8,16 (dd, J = 8,1, 1,5 Hz, 1H), 7,64-7,54 (m, 2H), 7,37 (ABq, J = 7,4 Hz, 2H), 4,25-4,17 (m, 3H), 3,88-3,84 (m, 2H), 3,83 (dd, J = 13,8, 4,8 Hz, 1H), 3,79 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,76 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 3,73-3,63 (m, 5H), 3, 61-3,50 (m, 3H), 3,49-3,42 (m, 4H), 3,41-3,35 (m, 3H), 3,23-3,06 (m, 4H), 2,36-2,23 (m, 2H), 1,93-1,77 (m, 4H).

Esquema VIII. Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (VIIId)



Preparación del Compuesto VIII-b

[0286] Se desgasificó una suspensión de **VII-z** (800 mg, 0,86) y Pd/C al 10% (160 mg) en una mezcla de EtOH (80 mL) y AcOH (20 mL) y se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar la sal de amina **VIII-b** (670 mg, 91%) como un sólido blanco: ESI-MS *m/z* 679 $[C_{39}H_{58}N_4O_6+H]^+$.

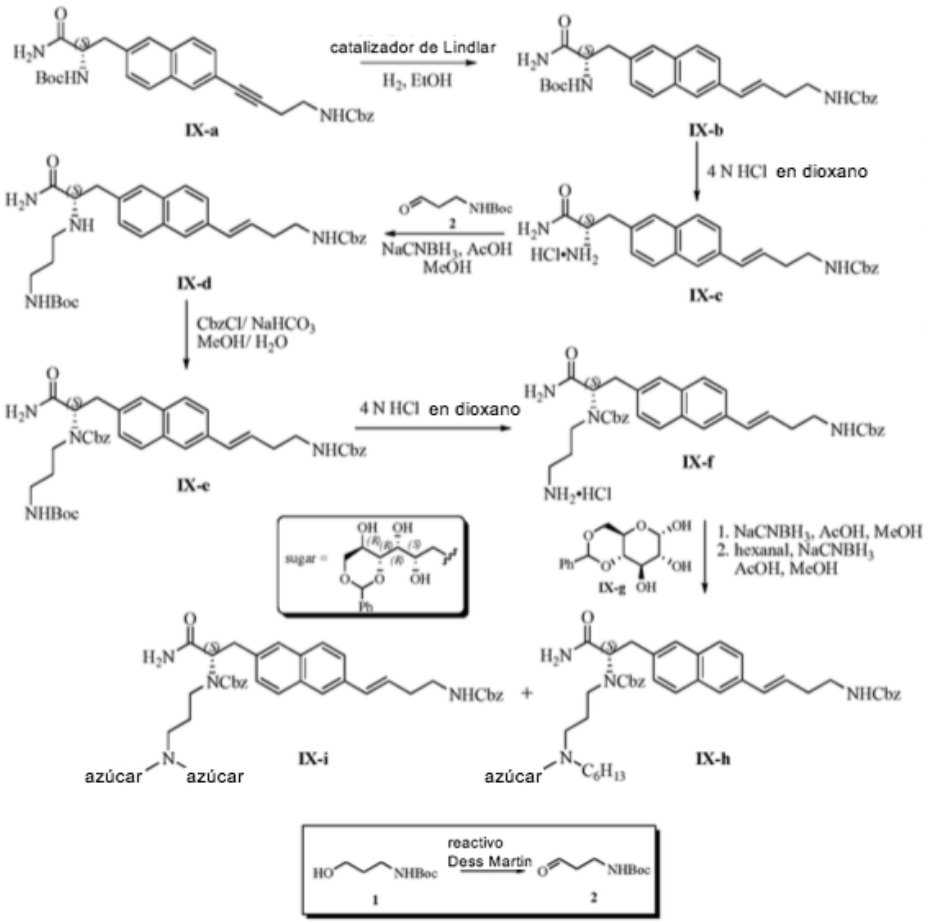
Preparación del Compuesto VIII-d

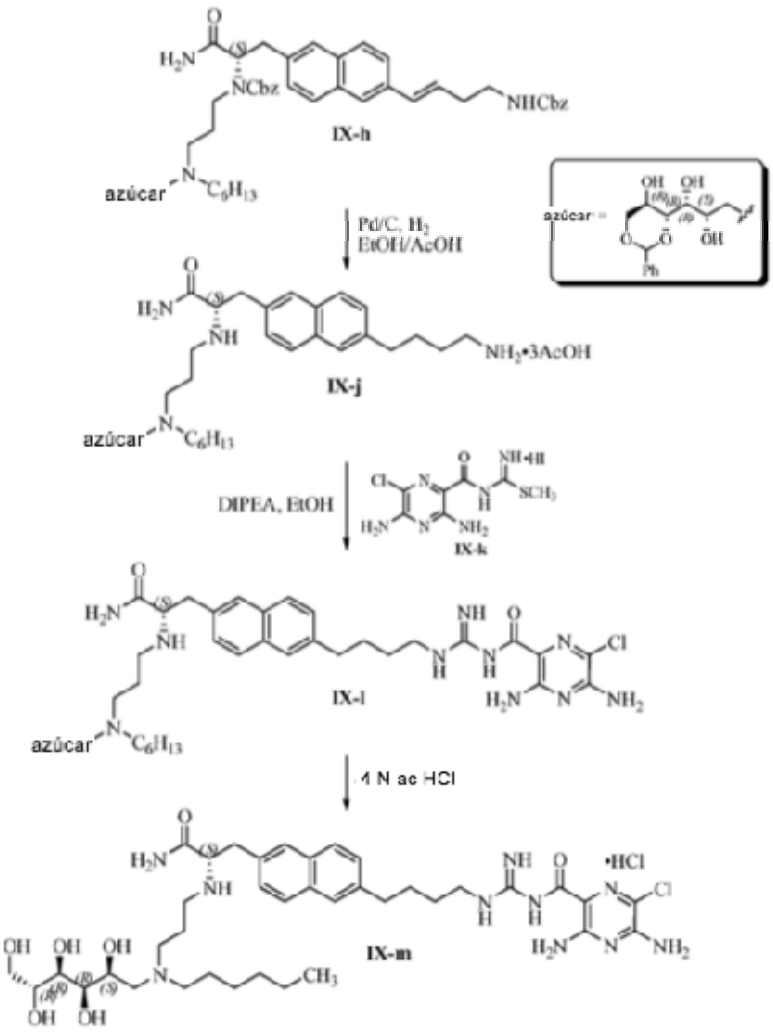
[0287] Una solución de sal de amina **VIII-b** (670 mg, 0,78 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidotioato de metilo (VIII-a, 485 mg, 1,24 mmol) en EtOH (10 mL) se cargó con DIPEA (1,10 mL, 6,24 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel sólido, 80:18:2 de $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$) para proporcionar guanidina **VIII-c** (360 mg, 52%) como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): \ delta 8,24 - 8,18 (m, 1H), 8,14 - 8,07 (m, 1H), 7,56 - 7,48 (m, 2H), 7,47 - 7,40 (m, 2H), 7,32-7,22 (m, 5 H), 5,50 (s, 1H), 4,23 (dd, J = 10,8, 5,8 Hz, 1H), 4,00-3,91 (m, 1H), 3,86 (dd, J = 5,4, 1,9 Hz, 1H), 3,73 (dd, J = 9,5, 2,5 Hz, 1H), 3,59 (t, J = 10,8 Hz, 2H), 3,46-3,37 (m, 2H), 3,12 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,24-3,17 (m, 1H), 2,67 (dd, J = 13,8, 4,5 Hz, 1H), 2,55-2,26 (m, 8H), 1,90 - 1,70 (m, 4H), 1,51 - 1,41 (m, 2H), 1,36 - 1,08 (m, 9H), 0,86 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto VIII-d):

[0288] Se añadió 4 N acuoso HCl (20 mL) a **VIII-dc** (360 mg, 0,40 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa usando una columna C18 Gold para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **VIII-d** (70 mg, 36%) como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10,52 (s, 1H), 10,49-10,28 (m, 1H), 9,72-9,55 (m, 1H), 9,47-9,34 (m, 1H), 9,29 (br s, 1H), 9,01-8,74 (m, 2H), 8,43-8,35 (m, 1H), 8,20-8,11 (m, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,62-7,55 (m, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,47-7,37 (m, 2H), 7,32 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,27 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 3,73-3,67 (m, 2H), 3,60 (dd, J = 10,6, 3,0 Hz, 1H), 3,55-3,45 (m, 2H), 3,44-3,22 (m, 3H), 3,31-3,22 (m, 3H), 3,20-3,00 (m, 5H), 2,98-2,86 (m, 2H), 2,24-2,08 (m, 2H), 1,79-1,61 (m, 6H), 1,36-1,22 (m, 6H), 0,88 (t, J = 6,4 Hz, 3H).
^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 8,26 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,16 (dd, J = 8,1, 1,3 Hz, 1H), 7,63-7,54 (m, 2H), 7,37 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 4,22-4,13 (m, 2H), 3,89-3,81 (m, 2H), 3,77 (dd, J = 10,6, 3,1 Hz, 1H), 3,73-3,64 (m, 3H), 3,55- 3,49 (m, 1H), 3,49-3,46 (m, 1H), 3,43-3,34 (m, 6H), 3,27 - 3,07 (m 5 H). 2,32- 2,17 (m, 2H), 1,93- 1,71 (m, 6H), 1,46 - 1,33 (m, 6H), 0,93 (t, J = 6,4 Hz, 3H).

Esquema IX.
3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida





Preparación del Compuesto IX-b

[0289] Una suspensión de **IX-a** (5,70 g, 11,0 mmol) y 10% de Catalizador Lindlar (1,0 g) en EtOH (100 mL) y THF (20 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 36 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de tierra de diatomeas y el tapón se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $CHCl_3/CH_3OH$ 95: 5) para proporcionar el compuesto **IX-b** (5,20 g, 92%) como un sólido amarillo: ESI-MS *m/z* 518 $[C_{30}H_{35}N_3O_5 + H]^+$.

Preparación del Compuesto IX-c

[0290] Se disolvió el Compuesto **IX-b** (5,20 g, 10,0 mmol) en 4 N HCl en dioxano (40 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. Después de concentrarse, se obtuvo la sal de amina **IX-c** (4,50 g, 99%) como un sólido blanco: ESI-MS mlz 418 **$[C_{25}H_{27}N_3O_3 + H]^+$**419.

Preparación de 3-oxopropilcarbamato de terc-butilo 2

[0291] Una solución de **1** (10 g) en CH_2Cl_2 (100 mL) se enfrió a - 0ºC y después de 10 minutos se añadió Peryodano de Dess-Martin (29 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió 1 N NaOH (acuoso) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se concentraron para proporcionar el aldehído **2** (9,0 g, 91%) como un líquido amarillo claro y se usaron directamente para la siguiente etapa.

Preparación del compuesto IX-d

[0292] Se añadió a una solución de sal de amina **IX-c** (4,50 g, 10,0 mmol) en metanol (100 mL), aldehído (**2**) (2,0 g, 12,0 mmol) de ácido acético (6,0 mL) se añadió y se agitó a ta durante 10 min y luego se añadió cianoborohidruro de

sodio (942 mg, 15,0 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadieron **2** adicionales (0,3 equivalentes), AcOH (0,5 equivalentes), $NaCNBH_3$ (0,5 equivalentes) durante el período de 2 h, y esta adición se repitió tres veces hasta que la LC-MS mostró un consumo >90% de amina. La mezcla de reacción se concentró a sequedad, el residuo se lavó con $NaHCO_3$ saturado (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 x 300 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, se concentraron. El producto bruto **IX-d** (8,0 g) se confirmó por análisis de LC-MS y se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional: ESI-MS *m/z* 575 **$[C_{33}H_{42}N_4O_5 + H]^+$**.

Preparación del Compuesto IX-e

[0293] A una solución de amina **IX-d** (producto bruto 8,0 g) en MeOH (150 mL) y agua (50 mL) se añadió $NaHCO_3$ (8,40 g, 100 mmol) a 0°C y se agitó durante 10 min, luego se añadió cloroformiato de bencilo (3,0 mL, 20,0 mmol) gota a gota a la misma temperatura y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a la misma temperatura, luego se llevó a la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora más. La mezcla se concentró, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL) y la solución se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. Este producto bruto **IX-e** (18,0 g) se confirmó mediante análisis LC-MS y se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional: ESI-MS *m/z* 709 $[C_{41}H_{43}N_4O_7 + H]^+$.

Preparación del Compuesto IX-f

[0294] Se disolvió el Compuesto **IX-e** (producto bruto, 18,0 g) en 4 N HCl en dioxano (50 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. Después de concentrarse, la sal de amina se neutralizó con $NaHCO_3$ acuoso. El residuo se purificó por cromatografía en columna (metanol al 6% en cloroformo) para proporcionar amina **IX-f** (2,50 g, 41% en tres etapas) como un sólido amarillo claro: ESI-MS *m/z* 609 $[C_{36}H_{40}N_4O_5 + H]^+$.

Preparación del Compuesto IX-h y IX-i

[0295] A una solución de amina **IX-f** (2,50 g, 4,10 mmol) en metanol (100 mL), se añadieron sucesivamente triol (**IX-g**) (3,30 g, 12,3 mmol), ácido acético (2,46 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 min, luego se añadieron cianoborohidruro de sodio (1,30 g, 20,5 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. **IX-g** adicional (2,0 equiv), AcOH (5,0 equiv), $NaCNBH_3$ (3,0 equiv) se añadieron durante el período de 16 h y esta adición se repitió durante otro tiempo y se agitó durante 16 h, a esta mezcla de reacción, hexanal (1,47 mL, 12,3 mmol), AcOH (0,7 mL), $NaCNBH_3$ (774 mg) y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a sequedad, el residuo se lavó con $NaHCO_3$ saturado (200 mL) y se extrajo con EtOAc (3 X 300 mL). Las capas orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron, se concentraron. La purificación de los compuestos **IX-h y IX-i** fallaron mediante cromatografía normal usando el sistema CMA, luego se usó columna de fase inversa usando C-18 de oro para proporcionar **IX-h** pura (1,30 g, 34%) e **IX-i** (1,43 g, 28%) respectivamente: ESI-MS *m/z* 945 **$[C_{55}H_{68}N_4O_{10} + H]^+$** para **IX-h** y ESI-MS *m/z* 1113 **$[C_{62}H_{72}N_4O_{15} + H]^+$** para **IX-i**.

Preparación del Compuesto IX-j

[0296] Se desgasificó una suspensión de **IX-h** (1,3 g, 1,37) y Pd/C al 10% (400 mg) en una mezcla de EtOH (100 mL) y AcOH (30 mL) y luego se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de tierra de diatomeas y el tapón se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar la sal de amina **IX-j** (1,15 g, 98%) como un sólido blanco: ESI-MS *m/z* 679 $[C_{39}H_{58}N_4O_6 + H]^+$679.

Preparación del Compuesto IX-l

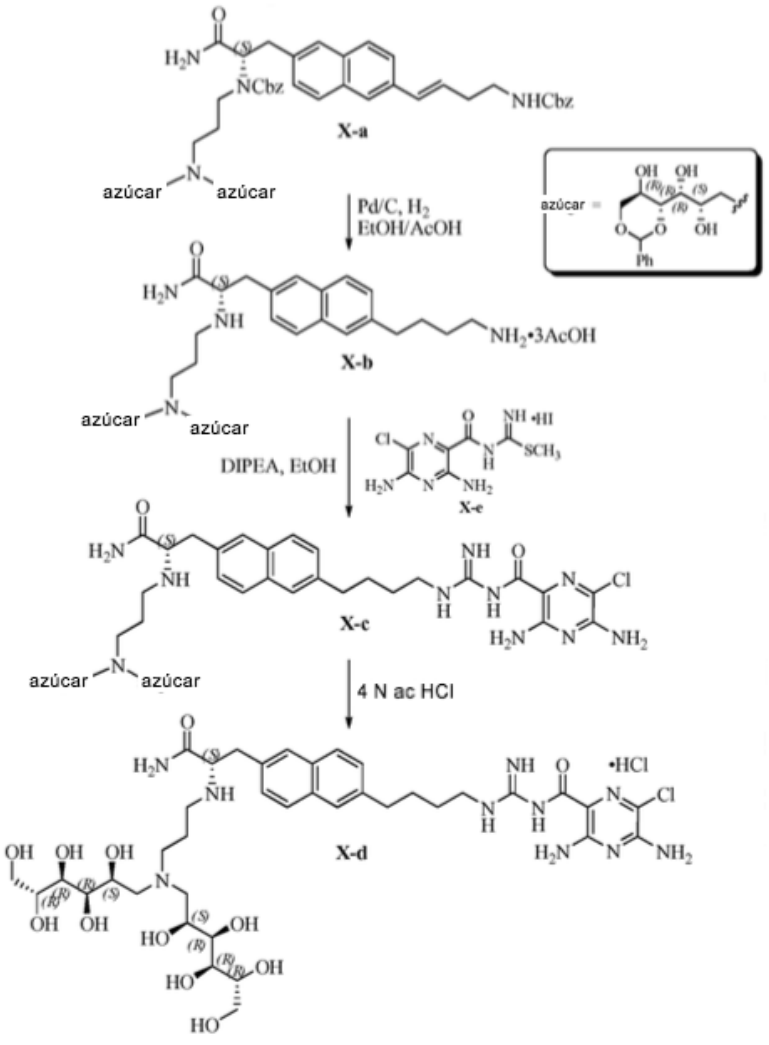
[0297] A una solución de sal de amina **IX-j** (1,15 g, 1,34 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidotioato de metilo (**IX-k**, 834 mg, 2,14 mmol) en EtOH (20 mL) se añadió DIPEA (1,90 mL, 10,72 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$ 80:18:2) para proporcionar guanidina **IX-l** (800 mg, 67%) como un sólido amarillo: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,72 (dd, J = 8,3, 2,7 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,44 (d, J = 7,4, 3,9 Hz, 2H), 7,38-7,32 (m, 2H), 7,32-7,27 (m, 3H), 5,51 (s, 1H), 4,25 (dd, J = 10,8, 5,8 Hz, 1H), 4,04-3,93 (m, 2H), 3,89 (dd, J = 5,3, 1,7 Hz, 1H), 3,74 (dd, J = 9,2, 2,0 Hz, 1H), 3,61 (t, J = 11,0 Hz, 1H), 3,45 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 3,17-3,05 (m, 1H), 2,95 (dd, J = 13,8, 7,4 Hz, 1H), 2,83 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,80-2,69 (m, 3H), 2,67-2,56 (m, 2H), 2,54-2,44 (m, 3H), 1,87-1,78 (m, 2H), 1,76-1,67 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 2H), 1,36-1,17 (m, 6H), 1,16-1,01 (m, 4H), 0,85 (t), J = 7,3 Hz, 3H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto IX-m):

[0298] Se añadió 4 N ac HCl (25 mL) a **IX-l** (800 mg, 0,89 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura

ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó, el residuo se purificó por columna de fase inversa usando columna C-18 de oro para proporcionar sal de ácido clorhídrico **IX-m** (500 mg, 62%) como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 10,51 (br s, 1H), 9,29 (br s, 1H), 8,94 (br s, 1H), 8,82 (br s, 1H), 7,77 (dd, J = 8,7, 3,1 Hz, 2H), 7,68 (d, J = 10,7 Hz, 2H), 7,59 (br s, 1H), 7,47-7,34 (m, 4H), 7,17 (br s, 1H), 5,97-5,09 (m, 3H), 4,64 (br s, 1H), 4,44 (br s, 1H), 3,96 (br s, 1H), 3,69 (d, J = 11,1 Hz, 1H), 3,56-3,49 (m, 1H), 3,48-3,40 (m, 2H), 3,17-2,90 (m, 6H), 2,84-2,66 (m, 1H), 2,78 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,75-1,67 (m, 2H), 1,65-1,55 (m, 2H), 1,30-1,07 (m, 6H), 0,85 (t, J = 7,2 Hz, 3H).
^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) 7,77 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,70 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,40 (dt, J = 8,6, 1,7 Hz, 2H), 4,15-4,08 (m, 1H), 3,83-3,77 (m, 2H), 3,76-3,64 (m, 4H), 3,37 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 3,24 (d, J = 10,6 Hz, 2H), 3,20 -3,08 (m, 4H), 2,85 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,97-2,76 (m, 5H), 1,95-1,80 (m, 4H), 1,79-1,70 (m, 2H), 1,55 (br s, 1H), 1,35-1,12 (m, 6H), 1,45-1,36 (m, 1H), 0,90 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

Esquema X
3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida



Preparación del Compuesto X-b

[0299] Se desgasificó una suspensión de **X-a** (1,43 g, 1,28) y Pd/C al 10% (400 mg) en una mezcla de EtOH (100 mL) y AcOH (40 mL) y luego se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de tierra de diatomeas y el tapón se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar la sal de amina Xb (1,30 g, 99%) como un sólido blanco: ESI-MS *m/z* 847 $[C_{46}H_{62}N_4O_{11} + H]^+$.

Preparación del Compuesto X-c

[0300] A una solución de sal de amina **X-b** (1,30 g, 1,26 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidotioato de metilo (**X-e**, 788 mg, 2,02 mmol) en EtOH (20 mL) se añadió DIPEA (1,79 mL, 10,0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$ 80:18:2) para proporcionar guanidina **X-c** (900 mg, 68%) como un sólido amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,70 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,59 (s, 2H), 7,46 - 7,39 (m, 4H), 7,34 - 7,24 (m, 8 H), 5,45 (s, 2H), 4,21 (dd, J = 10,7, 5,5 Hz, 2H), 3,99-3,88 (m, 6H), 3,82 (dd, J = 5,3, 2,4 Hz, 2H), 3,67 (dd, J = 9,8, 2,9 Hz, 2H), 3,57 (t, J = 10,6, 2H), 3,23 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 3,06 (dd, J = 13,4, 6,6 Hz, 1H), 2,93 (dd, J = 13,6, 7,5 Hz, 1H), 2,79 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,63-2,45 (m, 5H), 2,44-2,36 (m, 2H), 1,84 - 1,73 (m, 2H), 1,70 - 1,60 (m, 2H), 1,57 - 1,44 (m, 2H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto Xd):

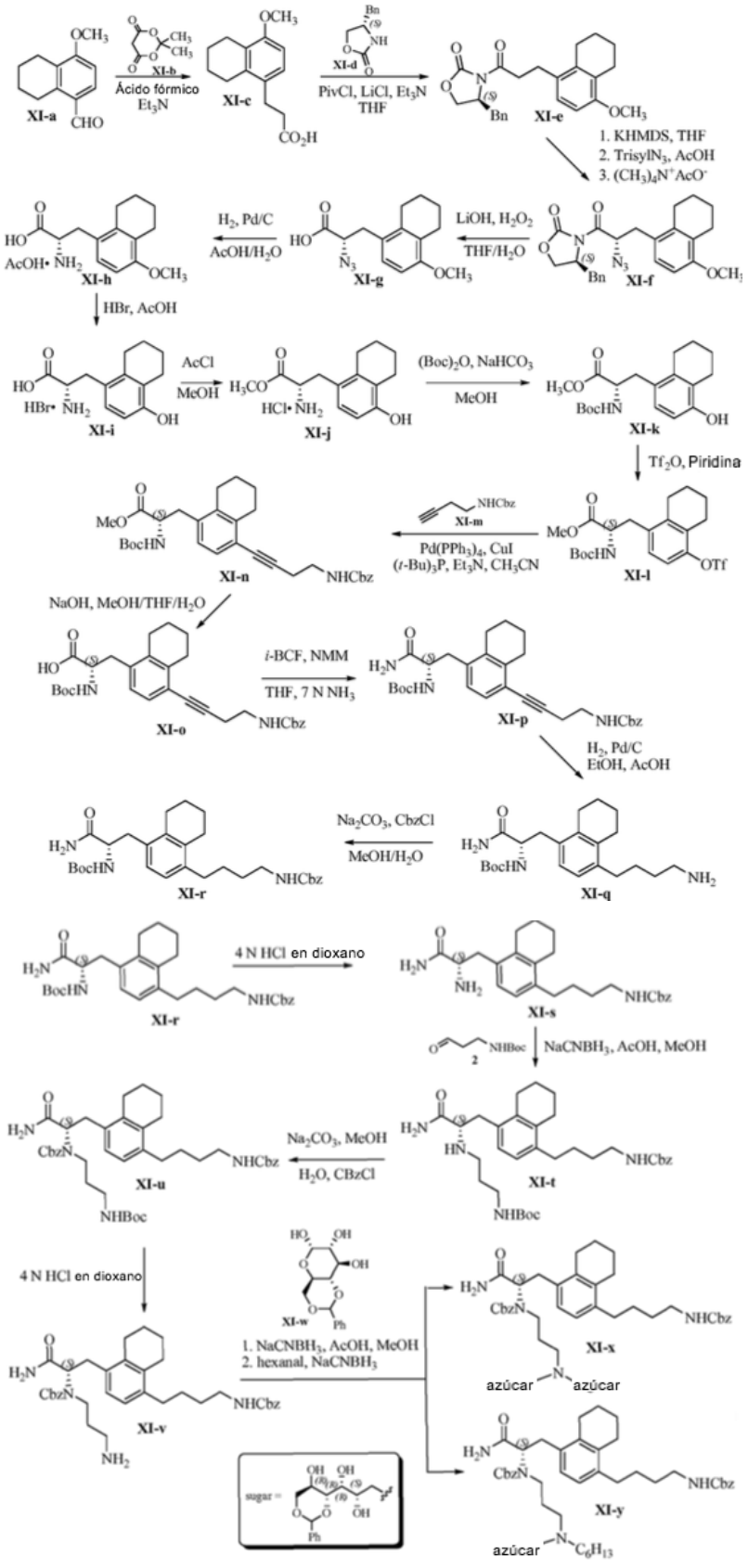
[0301] Se añadió 4 N ac HCl (30 mL) a **X-c** (900 mg, 0,85 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se eliminó el disolvente, el residuo se purificó mediante columna de fase inversa usando columna de C-18 de oro para proporcionar sal de ácido clorhídrico **X-d** (590 mg, 70%) como un sólido higroscópico amarillo: ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6) 10,51 (br s, 1H), 9,81 (br s, 1H), 9,29 (s, 1H)), 8,94 (br s, 1H), 8,83 (br s, 1H), 7,94 (br s, 1H), 7,80 (br s, 1H), 7,78 (br s, 1H), 7,71 (br s, 1H), 7,68 (br s, 1 hora), 7,59 (br s, 1H), 7,46 - 7,35 (m, 4H). 5,47 (br s, 2H), 4,84 (br s, 1H), 4,69-4,54 (m, 3H), 4,43 (br s, 1H), 4,18 - 3,98 (m, 3H), 3,74-3,67 (m, 2H), 3,63-3,61 (m, 1H), 3,60-3,56 (m, 1H), 3,55-3,38 (m, 6H), 3,27-3,09 (m, 3H), 3,02-2,86 (m, 2H), 2,79 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,25-2,09 (m, 2H), 1,79-1,67 (m, 2H), 1,65-1,54 (m, 2H).
^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD) 7,79 (br s, 1H), 7,77 (br s, 1H), 7,74 (br s, 1H), 7,66 (br s, 1H), 7,40 (dt, J = 6,8, 1,6 Hz, 2H), 4,24-4,12 (m, 3H), 3,86-3,82 (m, 2H), 3,80 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 3,77 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 3,74-3,63 (m, 6H0, 3,52-3,33 (m, 6H), 3,36 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,28-3,21 (m, 2H), 3,15-3,07 (m, 2H), 2,86 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,28 - 2,04 (m, 2H), 1,90 - 1,80 (m, 2H), 1,79 - 1,70 (m, 2H).

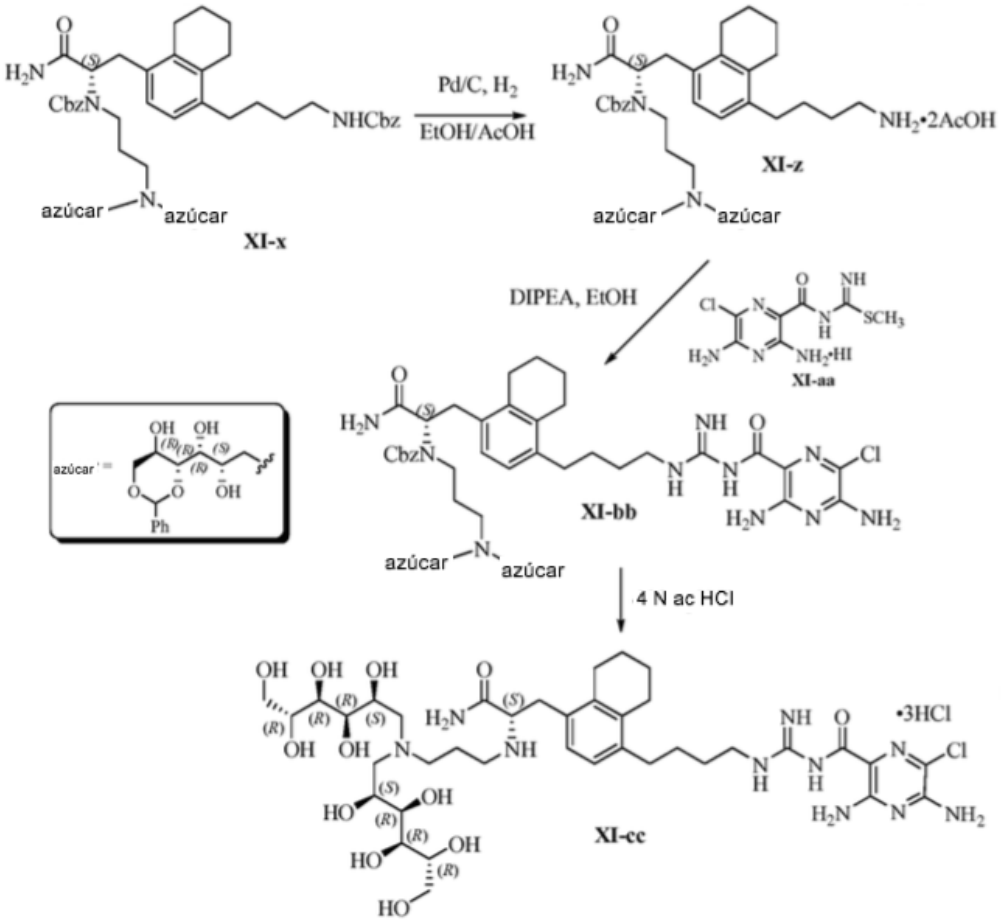
Preparación de derivados de tirosina de 1,4-tetralinilo

[0302]

Esquema XI

3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida





Preparación del compuesto XI-c

[0303] Se añadió TEA (340 mL) lentamente a ácido fórmico (150 mL) a 0°C. Después de la adición de TEA, se añadieron el compuesto **XI-a** (76,4 g, 401,6 mmol) y el compuesto **XI-b** (59,2 g, 415,0 mL). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12 h, se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua helada (600 mL). El pH de la solución se ajustó a 11 mediante la adición de NaOH acuoso (70 g) en agua (1,4 l). La solución resultante se extrajo con EtOAc (600 mL por 3 veces) y se acidificó a pH 2-3, El precipitado blanco se filtró y se secó a vacío a 50ºC para proporcionar el compuesto **XI-c** (74,6 g, 79%) en forma de un sólido de color blanquecino. ^{1}H RMN (400 MHz, MeOD-d_4): δ 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,67 (dd, J = 8,4 Hz, 8,4 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 2,81 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,67 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,62 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,49 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,78-1,73 (m, 4H).

Preparación del Compuesto XI-e

[0304] Se cargó una solución de **XI-c** (36 g, 153,8 mmol) en THF seco (400 mL) con TEA (56 mL, 400,0 mmol) y cloruro de pivaloilo (22,7 mL, 184,6 mmol) gota a gota a -10ºC. jefe. La mezcla se agitó durante 40 minutos a -10ºC seguido de la adición del compuesto **XI-d** (32,7 g, 184,6 mmol) y la solución de LiCl (8,5 g, 184,6 mmol) en THF (200 mL). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 12 h, se inactivó con $NaHCO_3$ saturado, se concentró para eliminar el THF y se repartió entre EtOAc (1.000 mL) y agua (1.000 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 800 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se recristalizó en EtOAc/hexano (3:1, V/V) para proporcionar el compuesto **XI-e** (40,7 g, 78%) como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,32-7,25 (m, 3H), 7,20 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,68-4,62 (m, 1H), 4,18-4,16 (m, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,31 (dd, J = 13,6, 3,2 Hz, 1H), 3,23-3,16 (m, 2H), 2,95-2,91 (m, 2H), 2,78-2,71 (m, 3H), 2,66 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 1,80-1,75 (m, 4H).

Preparación del compuesto XI-f

[0305] Una solución del compuesto **XI-e** (25,0 g, 63,5 mmol) en THF seco (500 mL) se cargó con KHMDS (18,0 g, 95,3 mmol) en porciones a -78°C. Después de agitarse la mezcla resultante durante 30 min, se añadió azida de trisilo (25,0 g, 82,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2-3 min. Se añadió ácido acético (19,1 g, 317,5

mmol) a la misma temperatura, seguido de acetato de potasio (31,0 g, 317,5 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 27ºC, se agitó durante 16 h y se inactivó con salmuera (500 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (3 x 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con $NaHCO_3$ saturado y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, hexano/EtOAc 90:10) para proporcionar el compuesto **XI-f** (15,0 g, 60%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,34-7,28 (m, 3H), 7,25-7,20 (m, 2H), 7,01 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,61 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,36 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 4,55-4,45 (m, 1H), 4,10 (dd, J = 9,2, 2,4 Hz, 1H), 3,94 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,30 (dd, J = 11.2, 3,2 Hz, 1H), 3,12 (dd, J = 8,0, 2,4 Hz, 2H), 2,81-2,72 (m, 3H), 2,63 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 1,80-1,73 (m, 4H).

Preparación del compuesto XI-g

[0306] Se cargó una solución del compuesto **XI-f** (22,0 g, 50,6 mmol) en THF/H_2O (450 mL/150 mL) con H_2O_2 (25 mL, 253 mmol) seguido de LiOH (4,7 g, 111 mmol) en porciones a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a la misma temperatura, se inactivó con Na_2SO_3 saturado (300 mL), se concentró a presión reducida para eliminar el THF y se lavó con CH_2Cl_2 (200 mL). La capa acuosa se acidificó con 2 N acuoso HCl y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 250 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **XI-g** (11,0 g, 79%) como un sólido blanquecino. El producto bruto se usó directamente para el próximo paso sin purificación.

Preparación del Compuesto XI-h

[0307] Una suspensión de compuesto **XI-g** (10,0 g, 36,3 mmol) y 10% de Pd/C (3,50 g) en AcOH/H_2O (200 mL/50 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 12 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar sal acética **XI-h** (8,0 g, 88%) como un sólido amarillo. El producto bruto se usó directamente para el próximo paso sin purificación.

Preparación del Compuesto XI-i

[0308] Se cargó gota a gota una solución del compuesto **XI-h** (13,0 g, 52,3 mmol) en ácido acético (150 mL) con 40% de ácido bromhídrico (150 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se diluyó con H_2O (15 mL), se basificó ligeramente con amoníaco y se cristalizó durante la noche para proporcionar el compuesto **XI-i** (15,0 g, 90%) como un sólido marrón. El producto se caracterizó por LC/MS y se usó para el siguiente paso sin purificación. ESI-MS *m/z* 236 **$[C_{13}H_{17}NO_3 + H]^+$**.

Preparación del Compuesto XI-j

[0309] Se añadió cloruro de acetilo (26,0 g, 332 mmol) a metanol seco (210 mL) a 0°C seguido de compuesto **XI-i** (15,0 g, 47,4 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h y se concentró. El residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **XI-j** (15,0 g, bruto) como un aceite incoloro. El producto bruto se caracterizó por LC/MS y se usó para el siguiente paso sin purificación. ESI-MS *m/z* 250 **$[C_{14}H_{19}NO_3 + H]^+$**.

Preparación del Compuesto XI-k

[0310] Se cargó una solución del compuesto **XI-j** (15,0 g, 47,0 mmol) en MeOH/H_2O (160 mL/160 mL) con $NaHCO_3$ (17,0 g, 200,0 mmol) y Boc_2O (12,8 g, 60,0 mmol) a 0ºC. La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 3 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 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para dar el compuesto **XI-k** (9,0 g, 50% en tres etapas del compuesto **XI-h**) como un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,77 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,55 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,95 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,70 (s, 1H), 4,50 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,42 (dd, J = 14,0, 6,0 Hz, 1H), 2,89-2,84 (m, 1H), 2,68-2,63 (m, 4H), 1,79 (t, J = 3,2 Hz, 4H), 1,40 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XI-l

[0311] Se cargó una solución del compuesto **XI-k** (9,40 g, 26,9 mmol) en piridina (100 mL) con triflato (11,4 g, 40,4 mmol) a 0ºC, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de la concentración, la mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y agua (300 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 proporcionar el compuesto **XI-l** (9,10 g, 71%) como un aceite marrón. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,29-7,26 (m, 2H), 5,04 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,12-3,04 (m, 1H), 2,95-2,90 (m, 1H), 2,80-2,73 (m, 4H), 1,83-1,79 (m, 4H), 1,38 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XI-n

[0312] Una solución del compuesto **XI-l** (9,10 g, 18,9 mmol) en CH_3CN anhidro (100 mL) se cargó con TEA (7,6 g, 75,6 mmol), $(t\text{-}Bu)_3P$ en hexanos (0,76 g, 3,78 mmol), butilo-3-inilcarbamato de bencilo (**XI-m**, 5,74 g, 28,3 mmol) y CuI (180 mg, 0,94 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 3 minutos y se añadió $Pd(PPH_3)_4$ (2,18 g, 1,89 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificarse con argón durante 5 min, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por columna para proporcionar el compuesto **XI-n** (7,50 g, 74% en dos etapas) como un aceite marrón. Los datos de ^1H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,36-7,25 (m, 5 H), 7,15 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,12 (br s, 3H), 4,97 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,52 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,46 - 3,40 (m, 2H), 3,11-3,04 (m, 1H), 2,95-2,83 (m, 3H), 2,68 - 2,64 (m, 4H), 1,77 - 1,75 (m, 4H), 1,39 (s, 9H).

Preparación del compuesto XI-o

[0313] Una solución de éster de metilo **XI-n** (7,50 g, 14,04 mmol) en THF/MeOH/H_2O (50 mL/50 mL/25 mL) se cargó con NaOH (1,12 g, 28,08 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El valor de pH se ajustó a 9 con 1 N acuoso HCl y se eliminó el disolvente orgánico. El valor de pH del residuo se ajustó a 5, y la suspensión 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 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **XI-o** (6,50 g, 90%) como un sólido marrón. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,44 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 7,33-7,28 (m, 5 H), 7,15 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,07-4,01 (m, 1H), 3,61-3,58 (m, 1H), 3,24-3,15 (m, 2H), 3,02-2,97 (m, 1H), 2,79-2,75 (m, 3H), 2,66-2,64 (m, 2H), 2,58 (t, J = 7,0, Hz, 2H), 1,73-1,69 (m, 4H), 1,31 (s, 9H).

Preparación del compuesto XI-p

[0314] Se cargó una solución de ácido **XI-o** (6,50 g, 12,5 mmol) en THF (200 mL) con NMM (1,89 g, 18,75 mmol) e *i*-BCF (2,04 g, 15,0 mmol) a 0ºC. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y se añadió NH_3 (7,0 N en metanol, 29, 4 mL, 206 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción continuó agitándose a 0ºC durante 2 h, se calentó a temperatura ambiente, y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, 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 secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se lavó con MTBE para proporcionar la amida **XI-p** (5,90 g, 70%) como un sólido amarillo. ^1H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,44 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 7,33-7,28 (m, 5 H), 7,15 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,99 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,12-4,05 (m, 1H), 3,62-3,53 (m, 1H), 3,25-3,13 (m, 3H), 2,94-2,88 (m, 1H), 2,74-2,67 (m, 4H), 2,60 (t, J = 7,0, Hz, 2H), 1,74-1,69 (m, 4H), 1,31 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XI-q

[0315] Una suspensión de compuesto **XI-p** (5,90 g, 11,3 mmol) y 10% de Pd/C (59 mg) en EtOH (100 ml)/ AcOH (20 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se lavó con MTBE/hexanos para proporcionar sal acética **XI-q** (6,50 g, bruto) como un líquido incoloro. ESI-MS *m/z* 390 $[C_{22}H_{35}N_3O_3 + H]^+$.

Preparación del compuesto XI-r

[0316] Una solución agitada de compuesto **XI-q** (6,50 g, bruto) en MeOH (300 ml)/agua (100 mL) se cargó con Na_2CO_3 y CbzCl (4,20 g, 25,06 mmol) a 0°C y se agitó a la misma temperatura durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y el disolvente se eliminó y se repartió entre CH_2Cl_2 (500 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 para proporcionar el compuesto **XI-r** (3,90 g, 66% en dos etapas) como un sólido amarillo. ^1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,37-7,32 (m, 5H), 6,96-6,89 (m, 2H), 5,65 (br s, 1H), 5,29 (br s, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,71-4,69 (m, 1H), 4,31-4,28 (m, 1H), 3,21 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 3,11-2,95 (m, 2H), 2,74 (br s, 2H), 2,67 (br s, 2H), 2,54 (br s, 2H), 1,73-1,69 (m, 4H), 1,40 (s, 9H).

Preparación del compuesto XI-s

[0317] Se cargó una solución del compuesto **XI-r** (3,90 g, 7,45 mmol) en dioxano con 4 N HCl en dioxano (30 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se lavó con MTBE para proporcionar el compuesto **XI-s** (3,0 g, 95%) como un aceite amarillo. ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,33-7,25 (m, 5 H), 7,00 - 6,97 (m, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,00 - 3,92 (m, 1H), 3,20 - 2,98 (m, 4H), 2,77-2,65 (m, 4H), 2,57 (br s, 2H), 1,81-1,77 (m, 4H), 1,55-1,54 (m, 4H).

Preparación del compuesto XI-t

[0318] Una solución de compuesto **XI-s** (3,0 g, 7,09 mmol) y un aldehído **2** (1,47 g, 8,51 mmol) en MeOH (100 mL) se cargó con ácido acético (5,0 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (670 mg, 10,63 mmol) y la solución continuó agitándose a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadieron el compuesto adicional **2** (0,3 equiv), AcOH (0,5 equiv) y $NaCNBH_3$ (0,5 equiv) y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo **XI-t** (3,50 g, bruto) se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Preparación del compuesto XI-u

[0319] Se cargó una solución del compuesto **XI-t** [3,50 g, en bruto en MeOH/H_2O (100 mL/50 ml)] con Na_2CO_3 saturado a 0°C y la solución se agitó durante 10 min. Se añadió cloroformiato de bencilo (1,53 g, 9,05 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0ºC, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL), luego se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró y purificó en columna para proporcionar **XI-u** (3,20 g, 65% en dos etapas) en forma de un aceite amarillo. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,32-7,26 (m, 13H), 6,91-6,73 (m, 3H), 5,15-4,95 (m, 4H), 4,48-4,31 (m, 1H), 3,63-3,51 (m, 1H), 3,17-3,03 (m, 9H), 2,87-2,67 (m, 4H), 2,57 (br s, 7H), 1,76-1,63 (m, 7H), 1,53-1,52 (m, 6H), 1,48-1,39 (br s, 20H).

Preparación del Compuesto XI-v;

[0320] Se disolvió el compuesto **XI-u** (3,20 g, 4,48 mmol) en 4 N HCl en dioxano (50 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se lavó con MTBE para proporcionar el compuesto **XI-v** (2,50 g, 92%) como un sólido blanquecino. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,33-7,28 (m, 9H), 6,92-6,73 (m, 2H), 5,12-4,99 (m, 4H), 4,57-4,52 (m, 1H), 3,71-3,60 (m, 1H), 3,20 - 3,03 (m, 7H), 2,81 - 2,53 (m, 8H), 1,89 - 1,71 (m, 6H), 1,53 (br s, 4H).

Preparación de los compuestos XI-x y XI-y

[0321] Una solución del compuesto **XI-v** (2,50 g, 4,07 mmol) y triol **XI-w** (2,18 g, 8,14 mmol) en metanol (10 mL) se cargó con ácido acético (2,5 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (370 mg, 6,15 mmol) y la solución continuó agitándose a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron el compuesto adicional **XI-w** (2,0 equiv), AcOH (10 equiv) y $NaCNBH_3$ (1,5 equiv) y la solución continuó en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron hexanal (2,00 mL, 20,3 mmol), AcOH (1,10 mL) y $NaCNBH_3$ (370 mg, 6,15 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó mediante columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto **XI-x** (310 mg, 7%) y el compuesto **XI-y** (510 mg, 14%) en forma de sólidos blancos. ^{1}H RMN para el compuesto **XI-x** (400 MHz, CD_3OD): δ 7,44 (br s, 5H), 7,32-7,28 (m, 16 H), 6,83-6,77 (m, 2H), 5,53-5,45 (m, 2H), 5,18-5,04 (m, 4H), 4,45 (br s, 1H), 4,23- 4,14 (m, 2H), 3,97 - 3,91 (m, 6H), 3,83 (br s, 6 H), 3,69 (br s, 2 H), 3,58 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 3,17 - 3,04 (m, 5 H), 2,76 - 2,51 (m, 12 H), 1,79 - 1,64 (m, 4H), 1,50 (br s, 6H).
^{1}H RMN para el compuesto **XI-y** (400 MHz, CD_3OD): δ 7,45 (br s, 2H), 7,34-7,26 (m, 14 H), 6,79-6,75 (m, 2H), 5,50 (br s, 1H), 5,05 (m, 4H), 4,55-4,44 (m, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 3,98 - 3,92 (m, 3H), 3,75-3,57 (m, 3H), 3,20 - 3,29 (m, 6H), 2,66-2,45 (m, 10H), 1,75-1,67 (m, 5H), 1,53 (br s, 6H), 1,28-1,18 (m, 10H), 0,86 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

Preparación del compuesto XI-z

[0322] Una suspensión de **XI-x** (310 mg, 0,273 mmol) y Pd/C a 10% (30 mg) en EtOH/AcOH (50 mL/10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h en temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se precipitó en MTBE/hexanos para proporcionar el compuesto **XI-z** (205 mg, 87%) como un aceite sin olor. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,47-7,43 (m, 4H), 7,32-7,27 (m, 6H), 6,93-6,89 (m, 2H), 5,52 (s, 2H), 4,27-4,15 (m, 4H), 3,99-3,86 (m, 4H), 3,76-3,73 (m, 2H), 3,16-3,09 (m, 3H), 3,02-2,82 (m, 6H), 2,78-2,69 (m, 7H), 2,59 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,80-1,71 (m, 5H), 1,69-1,53 (m, 5H).

Preparación del Compuesto XI-bb

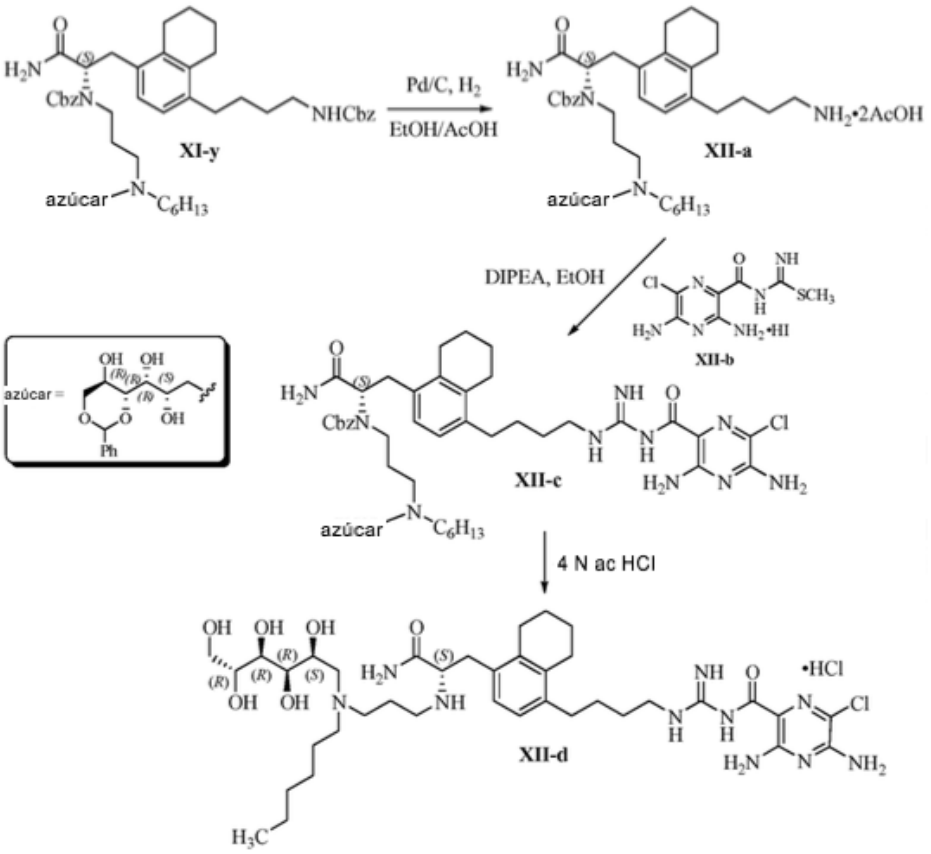
[0323] Una solución de compuesto **XI-z** (205 mg, 0,205 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidotioato de metilo (**XI-aa**, 85 mg, 0,328 mmol) en EtOH (25 mL) se cargó con DIPEA (211 mg, 1,64 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0,2 $CHCl_3$/CH_3OH/NH_4OH) para proporcionar el compuesto **XI-bb** (160 mg, 63%) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,46-7,42 (m, 4H), 7,30-7,28 (m, 6H), 6,89 (br s, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,24-4,19 (m, 2H), 3,99-3,83 (m, 6H), 3,71-3,53 (m, 5H), 2,83-2,73 (m, 6H), 2,64-2,52 (m,

8H), 1,77 (br s, 4H), 1,66-1,55 (m, 6H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidacilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto XI-cc):

[0324] Una solución del compuesto **XI-bb** (160 mg, 0,134 mmol) en 4 N acuoso HCl (5,0 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante una columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto **XI-cc** (75 mg, 56%) como un sólido higroscópico amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 6,99 (s, 2H), 4,22 - 4,18 (m, 2H), 3,97 - 3,91 (m, 1H), 3,85 - 3,64 (m, 11 H), 3,50 - 3,35 (m, 10H), 3,12-3,06 (m, 4H), 2,80-2,75 (m, 4H), 2,63 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,20 (br, s, 2H), 1,81-1,64 (m, 8H).

Esquema XII
3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida



Preparación del Compuesto XII-a

[0325] Una suspensión de **XI-γ** (510 mg, 0,529 mmol) y 10% de Pd/C (150 mg) en EtOH/AcOH (50 mL/10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h en temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se precipitó en MTBE/hexanos para proporcionar el compuesto **XII-a** (290 mg, 85%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,49-7,46 (m, 2H), 7,33-7,31 (m, 3H), 6,93 (br s, 2H), 5,57 (s, 1H), 4,29-4,14 (m, 2H), 4,03-3,94 (m, 2H), 3,81-3,57 (m, 2H), 3,25-3,15 (m, 6H), 3,09-2,83 (m, 7H), 2,72-2,57 (m, 8H), 1,80-1,55 (m, 12H), 1,31 - 1,25 (m, 16H), 0,89 (t, J = 6,6 Hz, 3 H).

Preparación del Compuesto XII-c

[0326] Una solución de compuesto **XII-a** (290 mg, 0,339 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidotioato de metilo y sal de ácido yodhídrico (**XII-b**, 145 mg, 0,560 mmol) en EtOH (25 mL) se cargó con DIPEA (360 mg, 2,79 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0,2 de $CHCl_3$/CH_3OH/NH_4OH) para producir el

compuesto **XII-c** (250 mg, 65%) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,45-7,44 (m, 2H), 7,30-7,28 (m, 3H), 6,91 (br s, 2H), 5,51 (s, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,26-4,21 (m, 1H), 4,00-3,86 (m, 3H), 3,76-3,53 (m, 2H), 3,27-3,22 (m, 3H), 2,93-2,67 (m, 7H), 2,62-2,32 (m, 9H), 1,78 (br s, 4H), 1,67-1,50 (m, 6H), 1,36-1,11 (m, 8H), 0,86 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

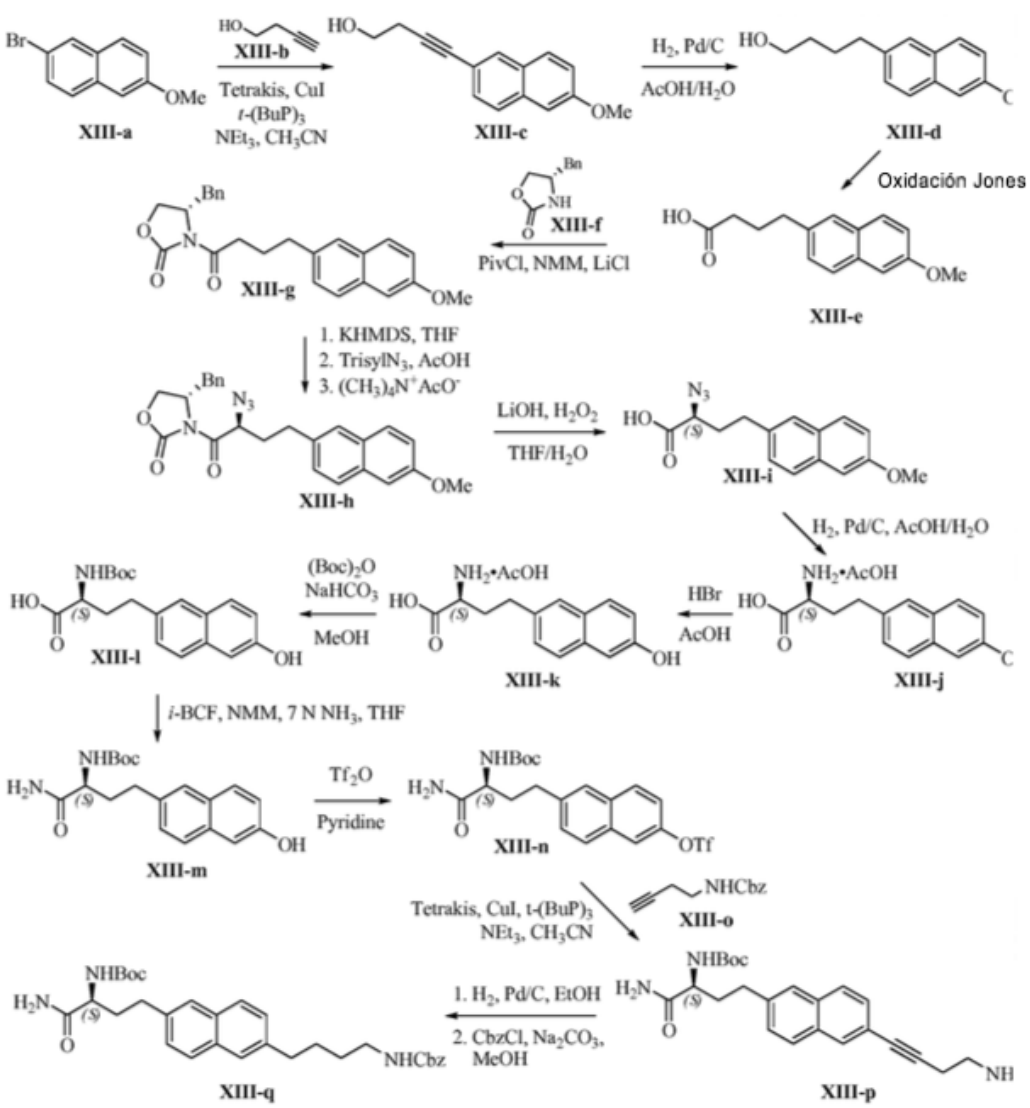
Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidacilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (Compuesto XII-d):

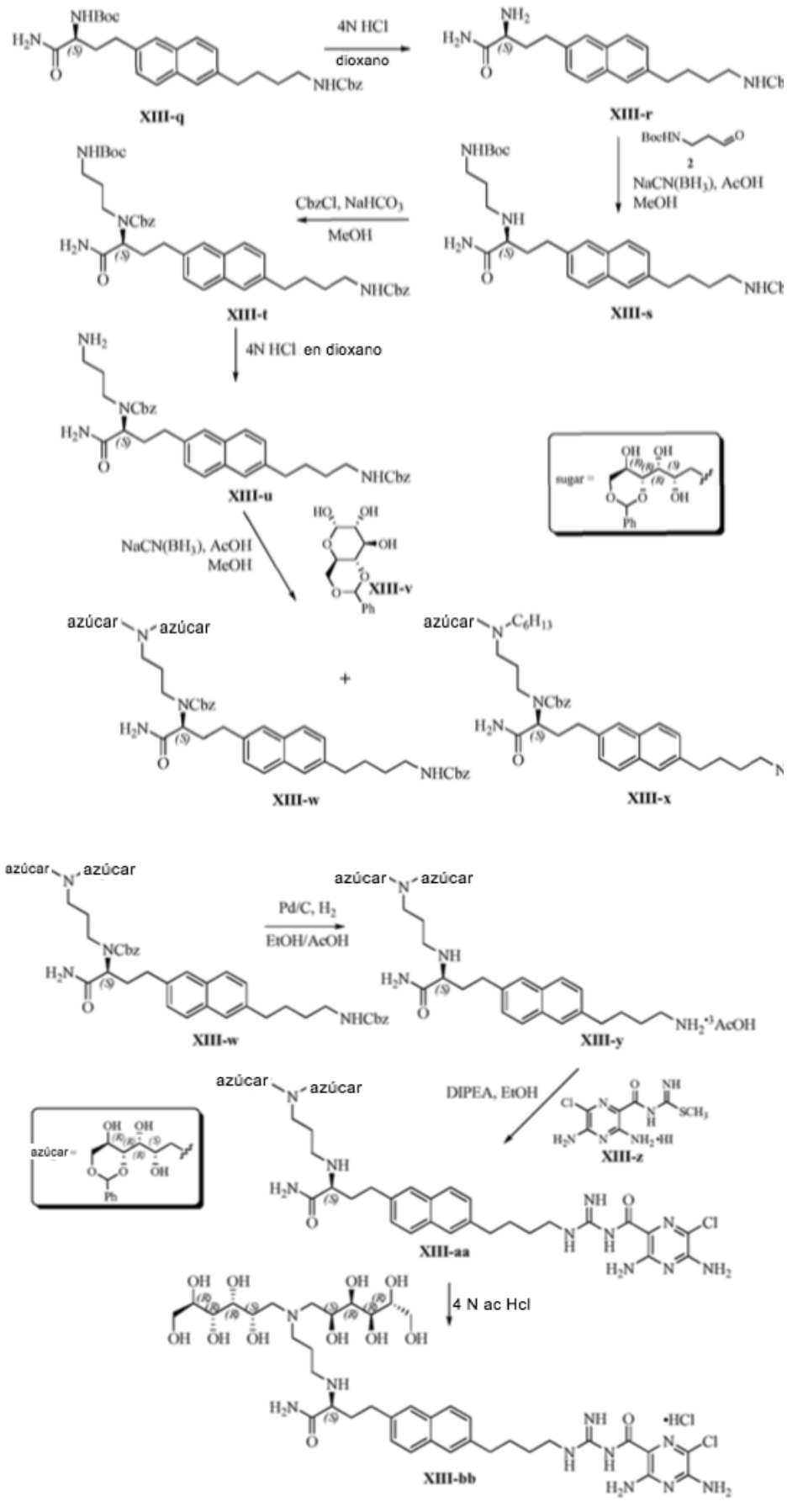
[0327] Una solución del compuesto **XII-c** (250 mg, 0,267 mmol) en 4 N acuoso HCl (5,0 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto **XII-d** (125 mg, 55%) como un sólido higroscópico amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 6,98 (s, 2H), 4,18 - 4,14 (m, 1H), 3,84 - 3,76 (m, 2H), 3,71 - 3,64 (m, 4H), 3,38 - 3,35 (m, 4H), 3,23-2,99 (m, 7H), 2,80-2,75 (m, 4H), 2,63 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,15-2,09 (m, 2H), 1,81-1,64 (m, 10H), 1,38 (ancho, s, 6H), 0,93 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

Preparación de derivados de homotirosina de 2,6-naftilo

[0328]

Esquema XIII
3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxopropilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida




4N HCl
dioxano
XIII-q
XIII-r
CbzCl, NaHCO3
MeOH
NaCN(BH3), AcOH
MeOH
XIII-t
XIII-s
4N HCl en dioxano
XIII-u
sugar =
NaCN(BH3), AcOH
MeOH
XIII-v
azúcar
azúcar
XIII-w
XIII-x
Pd/C, H2
EtOH/AcOH
XIII-y
DIPEA, EtOH
XIII-z
XIII-aa
4 N ac Hcl
XIII-bb

Preparación del Compuesto XIII-c

[0329] Se cargó una solución del compuesto **XIII-a** (10,0 g, 42,1) en CH_3CN anhidro (200 mL) con TEA (17,0 g, 168,7 mmol), 10% $(t\text{-}Bu)_3P$ en hexanos (1,70 g, 8,42). mmol), but-3-ina-1-ol (**XIII-b**, 4,42 g, 63,1 mmol) y CuI (400 mg, 2,10 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 3 minutos y se añadió $Pd(PPH_3)_4$ (4,86 g, 4,21 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificarse con argón durante 5 min, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por columna (gel de sílice, 80:20 hexanos/AE) para proporcionar el compuesto **XIII-c** (7,20 g, 76%) como un sólido amarillo. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,85 (br s, 1H), 7,68-7,63 (m, 2H), 7,44-7,40 (m, 1H), 7,16-7,08 (m, 2H), 3,87-3,81 (m, 2H), 3,91 (s, 3H), 2,73 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 1,85 (t, J = 6,2 Hz, 2H).

Preparación del compuesto XIII-d

[0330] Una suspensión del compuesto **XIII-c** (7,20 g, 31,7 mmol) y Pd/C al 10% (2,16 g) en EtOH (50 ml)/AcOH 10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró a vacío, se basificó con Na_2CO_3 saturado y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y la fase orgánica se concentró a presión reducida para proporcionar **XIII-d** (5,20 g, 71%) como un sólido amarillo, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 7,65 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,53 (br s, 1H), 7,30-7,25 (m, 2H), 7,12-7,10 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,67 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,82-1,70 (m, 2H), 1,68-1,58 (m, 2H).

Preparación del Compuesto XIII-e

[0331] Se cargó una solución agitada del compuesto **XIII-d** (5,20 g, 22,5 mmol) en acetona (100 mL) con reactivo de Jones recién preparado (1,3 equiv) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante otros 30 min a temperatura ambiente y se añadió el reactivo de Jones (0,5 equiv) para completar la reacción. La acetona se decantó de la mezcla de reacción y las sales sólidas de cromo se lavaron con acetona en exceso. Las capas de acetona se combinaron, se enfriaron con IPA y se concentraron a presión reducida para obtener el sólido bruto. Este sólido se purificó por tratamiento ácido/base para proporcionar el compuesto **XIII-e** puro (4,20 g, 76%) en forma de un sólido de color blanquecino. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ 12,04 (s, 1H), 7,76-7,72 (m, 2H), 7,59 (br s, 1H), 7,33-7,26 (m, 2H), 7,14-7,10 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 2,71 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,24 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,92-1,82 (m, 2H).

Preparación del Compuesto XIII-g

[0332] Una solución del compuesto **XIII-e** (4,20 g, 1 7,1 mmol) en THF seco (50 mL) se cargó con trietilamina (4,30 g, 42,8 mmol) y cloruro de pivaloilo (2,46 g, 20,5 mmol) seguido de cloruro de litio (860 mg, 20,5 mmol). El compuesto **XIII-f** (3,6 g, 20,5 mmol) se añadió a -25ºC, y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se evaporó y el residuo se trituró con 1N NaOH. La capa acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (2 x 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó mediante lavados con MTBE y hexano para proporcionar el compuesto **XIII-g** (5,50 g, 79%) como un sólido blanquecino. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,77-7,63 (m, 2H), 7,58 (br s, 1H), 7,33-7,23 (m, 5 H), 7,18-7,16 (m, 2H), 7,13-7,10 (m, 2H), 4,62-4,56 (m, 1H), 4,12-4,07 (m, 2H), 3,26-3,22 (m, 1H), 3,08-2,94 (m, 2H), 2,86-2,82 (m, 2H), 2,72-2,66 (m, 1H), 2,15-2,07 (m, 2H).

Preparación del Compuesto XIII-h

[0333] Una solución de compuesto **XIII-g** (11,2 g, 27,79 mmol) en THF seco (300 mL) se cargó con KHMDS (7,18 g, 36,1 mmol) en porciones a -78ºC. Después de agitarse la mezcla resultante durante 30 min, se añadió azida de trisilo (12,8 g, 41,68 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2-3 min. Se añadió ácido acético (10,0 g, 166,7 mmol) lentamente a la misma temperatura, seguido de acetato de tetrametilamonio (14,7 g, 111,1 mmol). La mezcla se calentó a 27ºC, se agitó durante 4 h, se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (300 mL), se concentró para eliminar el THF, y se extrajo con EtOAc (2 × 3 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, hexano/EtOAc 70:30) para proporcionar el compuesto **XIII-h** (8,10 g, 65%) como un aceite incoloro, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-i

[0334] Una solución del compuesto **XIII-h** (8,10 g, 18,2 mmol) en THF/H_2O (100 mL/25 mL) se cargó con H_2O_2 (3,7 g, 109,2 mmol) seguido de LiOH (1,56 g, 36,4 mmol) en porciones a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a la misma temperatura, se inactivó con Na_2SO_3 saturado (200 mL), se concentró a presión reducida para eliminar el THF y se lavó con CH_2Cl_2 (200 mL). La capa acuosa se acidificó con 1 N acuoso HCl y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x

250 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4, se concentraron y se lavaron con MTBE para proporcionar el compuesto **XIII-i** (4,10 g, 80%) como un sólido blanquecino, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-j

[0335] Una suspensión de compuesto **XIII-i** (4,10 g, 14,3 mmol) y 10% de Pd/C (410 Mg) en AcOH/H_2O (50 mL/15 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar la sal acética **XIII-j** (3,40 g, 91%) como un sólido blanco, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-k

[0336] Una solución del compuesto **XIII-j** (3,40 g, 13,1 mmol) en ácido acético (30 mL) se cargó con ácido bromhídrico (30 mL) gota a gota a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto **XIII-k** (2,60 g, 81%) como un sólido marrón. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,72-7,59 (m, 3H), 7,45-7,27 (m, 1H), 7,19-7,03 (m, 1H), 4,01 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 2,99 -2,81 (m, 2H), 2,38-2,14 (m, 2H).

Preparación del Compuesto XIII-l

[0337] Se cargó una solución del compuesto **XIII-k** (13,8 g, 56,3 mmol) en MeOH/H_2O (160 mL/100 mL) con $NaHCO_3$ (4,50 g, 112,6 mmol) y Boc_2O (14,7 g, 67,5 mmol) a 0°C. La mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 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 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para dar el compuesto **XIII-l** (14,0 g, 73%) como un sólido blanco. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 12,43 (br s, 1H), 9,58 (br s, 1H), 7,66-7,58 (m, 2H), 7,52 (br s, 1H), 7,26-7,21 (m, 2H), 7,07 - 7,02 (m, 2H), 3,88 - 3,82 (m, 1H), 2,79 - 2,64 (m, 2H), 2,01 - 1,86 (m, 2H), 1,40 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XIII-m

[0338] Se cargó una solución de ácido **XIII-l** (13,7 g, 39,7 mmol) en THF (150 mL) con DIPEA (7,68 g, 59,5 mmol) y T_3P (18,9 g, 59,5 mmol) a 0ºC. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y se añadió NH_3 (7,0 N en metanol, 29,4 mL, 206 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a 0ºC durante 1 h, se calentó a temperatura ambiente, y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, 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 secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se lavó con MTBE para proporcionar la amida **XIII-m** (7,20 g, 53%) como un sólido amarillo pálido. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ 9,60 (s, 1H), 7,66-7,51 (m, 3H), 7,28-7,16 (m, 4H), 7,06-6,94 (m, 4H), 6,15 (s, 1H), 3,90-3,82 (m, 1H), 2,84-2,58 (m, 2H), 1,98-1,80 (m, 2H), 1,40 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XIII-n

[0339] Se cargó una solución del compuesto **XIII-m** (7,20 g, 20,9 mmol) en piridina (70 mL) con triflato (8,90 g, 31,3 mmol) a 0ºC, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de la concentración, la mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y agua (300 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 proporcionar el compuesto **XIII-n** (6,80 g, 69%) como un sólido marrón, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-p

[0340] Se cargó una solución del compuesto **XIII-n** (6,80 g, 14,2) en CH_3CN anhidro (150 mL) con TEA (5,7 g, 57,1 mmol), 10% $(t\text{-}Bu)_3P$ en hexanos (0,57 g, 2,84 mmol), butilo-3-inilcarbamato de bencilo (XIII-o, 4,30 g, 21,5 mmol) y CuI (134 mg, 0,71 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 3 minutos y se añadió $Pd(PPH_3)_4$ (1,60 g, 1,42 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificarse con argón durante 5 min, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por columna (gel de sílice, 80:20 hexanos/AE) para proporcionar el compuesto **XIII-p** (4,50 g, 60%) como un sólido marrón. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (30 0 MHz, CD_3OD): δ 7,83 (s, 1H), 7,72-7,60 (m, 3H), 7,43-7,24 (m, 7 H), 5,10 (s, 2H), 4,04 (br s, 1H), 3,37 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,85-2,75 (m, 2H), 2,64 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,20-1,90 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XIII-q

[0341] Una suspensión del compuesto **XIII-p** (4,50 g, 8,50 mmol) y 10% Pd/C (135 mg) en EtOH (500 ml)/AcOH (10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró a vacío y se lavó con MTBE/hexanos para proporcionar sal acética (4,20 g, bruto) como un sólido blanquecino, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-q

[0342] Se cargó una solución agitada de compuesto bruto de **XIII-q** (4,20 g, bruto) en MeOH/H_2O (100 mL/500 mL) con Na_2CO_3 saturado y CbzCl (2,68 g, 15,7 mmol) a 0°C y se agitó a la misma temperatura durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó y la mezcla se repartió entre CH_2Cl_2 (500 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 para proporcionar el compuesto **XIII-q** (2,80 g, 62% en dos etapas) como un aceite amarillo, que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-r

[0343] Se cargó una solución del compuesto **XIII-q** (2,80 g, 5,25 mmol) en dioxano con 4 N HCl en dioxano (30 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó al vacío y el residuo se lavó con MTBE para proporcionar el compuesto **XIII-r** (1,90 g, 82%). Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,75-7,69 (m, 2H), 7,64-7,54 (m, 2H), 7,36-7,25 (m, 8H), 5,04 (s, 2H), 3,98 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 3,14 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,87 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,33-2,15 (m, 2H), 1,75- 1,68 (m, 2H), 1,58 - 1,51 (m, 2H).

Preparación del Compuesto XIII-s

[0344] Se cargó una solución del compuesto **XIII-r** (1,90 g, 4,38 mmol) y el aldehído **2** (910 g, 5,26 mmol) en MeOH (80 mL) con ácido acético (2,6 g, 43,8 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (413 mg, 6,57 mmol) y la solución continuó agitándose a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadieron el compuesto adicional 2 (0,3 equiv), AcOH (0,5 equiv) y $NaCNBH_3$ (0,5 equiv) y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el residuo en bruto **XIII-s** (2,50 g), que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-t

[0345] Una solución del compuesto **XIII-s** (2,50 g, en bruto en MeOH/H_2O (80 mL/30 mL) se cargó con Na_2CO_3 saturado a 0°C y la solución se agitó durante 10 min. Cloroformato de bencilo (1,0 g, 6,30 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0ºC, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL) y luego se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y se purificó por cromatografía en columna para proporcionar **XIII-t** (1,90 g, 62% en dos etapas), que se usó directamente para la siguiente etapa. Los datos de LC-MS son consistentes con el producto.

Preparación del Compuesto XIII-u

[0346] Se disolvió el compuesto **XIII-t** (1,90 g, 2,62 mmol) en 4 N HCl en dioxano (30 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se lavó con MTBE para proporcionar el compuesto **XIII-u** (1,30 g, 82%) como un sólido blanquecino. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,69-7,63 (m, 2H), 7,56-7,55 (m, 2H), 7,35-7,21 (m, 16 H), 5,15-5,04 (m, 5 H), 4,59-4,45 (m, 2H), 3,75- 3,59 (m, 9H), 3,57 - 3,34 (m, 3H), 3,20 - 3,12 (m, 5 H), 3,08 - 2,94 (m, 6H), 2,76 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,35-2,15 (m, 3H), 2,02-1,81 (m, 6H), 1,76 - 1,49 (m, 4H).

Preparación del compuesto XIII-w y XIII-x

[0347] Se cargó una solución del compuesto **XIII-u** (1,30 mg, 2,08 mmol) y triol **XIII-v** (1,08 g, 4,16 mmol) en metanol (80 mL) con ácido acético (1,2 g, 20,8 mmol) y la reacción la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (193 mg, 3,12 mmol) y la solución continuó agitándose a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron el compuesto adicional **XIII-x** (2,0 equiv), AcOH (4,0 equiv) y $NaCNBH_3$ (3,0 equiv) y la solución continuó en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron hexanal (1,0 mL, 10,4 mmol), AcOH (1,10 mL) y $NaCNBH_3$ (193 mg, 3,12 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó mediante columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto

XIII-w (550 mg, 25%) y el compuesto **XIII-x** (400 mg, 21%) como sólidos blancos. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto.
^{1}H RMN para el compuesto **XIII-w** (300 MHz, CD_3OD): δ 7,67-7,65 (m, 2H), 7,55-7,40 (m, 3H), 7,31-7,26 (m, 22 H), 5,42-5,29 (m, 2H), 5,04 (s, 4H), 4,21 - 4,15 (m, 2H), 3,94 - 3,84 (m, 6H), 3,68 - 3,50 (m, 5 H), 3,14 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,78 - 2,61 (m, 10H), 1,73-1,68 (m, 4H), 1,58 - 1,51 (m, 2 H).
^{1}H RMN para el compuesto **XIII-x** (400 MHz, CD_3OD): δ 7,68 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 7,53-7,49 (m, 2H), 7,42-7,27 (m, 16 H), 5,48-5,42 (m, 1H), 5,11 (br s, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,50-4,38 (m, 1H), 4,23-4,19 (m, 1H), 3,97-3,88 (m, 3H), 3,75-3,48 (m, 3H), 3,13-3,10 (m, 3H), 2,78 - 2,71 (m, 5H), 2,48 - 2,29 (m, 5H), 2,15 - 2,02 (m, 1H), 1,80 - 1,51 (m, 6H), 1,33-1,14 (m, 6H), 0,82 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Preparación del Compuesto XIII-z

[0348] Una suspensión de **XIII-γ** (550 mg, 0,487 mmol) y 10% de Pd/C (165 mg) en EtOH/AcOH (50 mL/10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 8 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se precipitó en MTBE/hexanos para proporcionar el compuesto **XIII-z** (400 mg, 95%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,73-7,56 (m, 4H), 7,41-7,23 (m, 14H), 5,45 (s, 2H), 4,25-4,13 (m, 5H), 3,98-3,83 (m, 5H), 3,74-3,50 (m, 6H), 3,13-2,98 (m, 5H), 3,00-2,71 (m, 10H), 1,82-1,66 (m, 7H)

Preparación del Compuesto XIII-aa

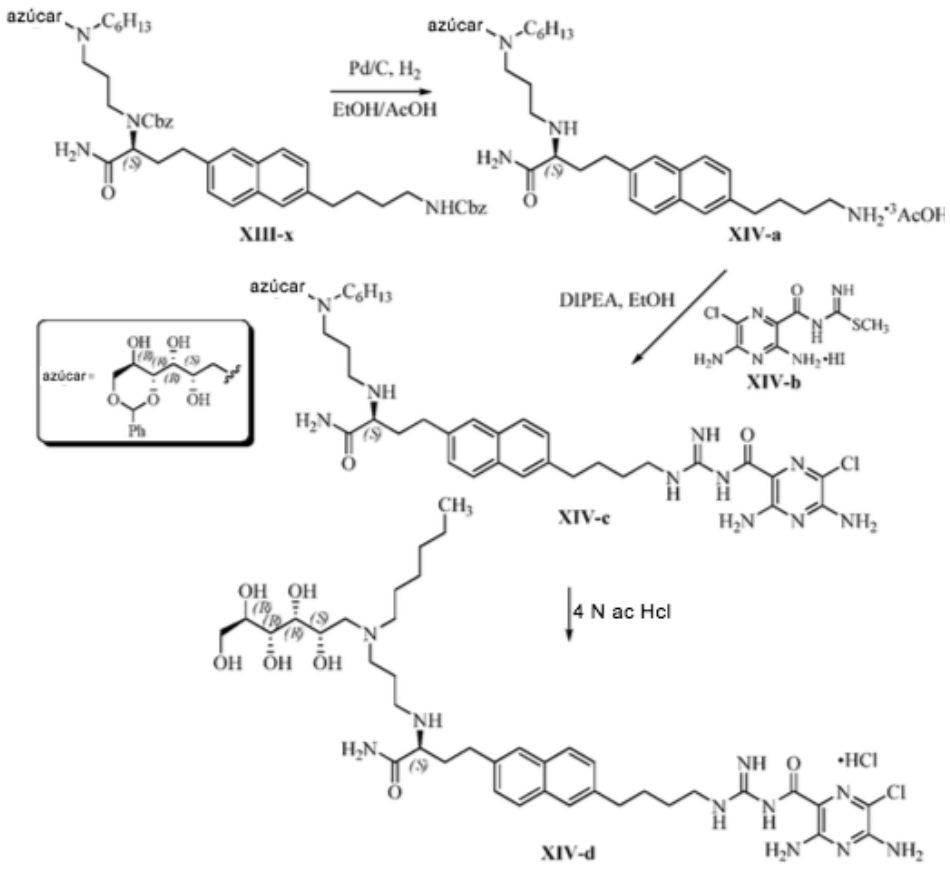
[0349] Una solución de compuesto **XIII-z** (400 mg, 0,465 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidotioato de metilo (**XIII-aa**, 193 mg, 0,744 mmol) en EtOH (50 mL) se cargó con DIPEA (480 mg, 3,72 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0,2 de $CHCl_3$/CH_3OH/NH_4OH) para proporcionar el compuesto **XIII-bb** (350 mg, 70%) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 7,72-7,67 (m, 2H), 7,60 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 7,44-7,41 (m, 4H), 7,34-7,26 (m, 8H), 5,49 (s, 1H), 5,45 (s, 2H), 4,24 - 4,18 (m, 2H), 3,99 - 3,90 (m, 4H), 3,85-3,82 (m, 2H), 3,71 - 3,68 (m, 2H), 3,56 (t, J = 10,5 Hz, 2H), 3,16-3,06 (m, 1H), 2,85-2,74 (m, 4H), 2,68-2,62 (m, 4H), 2,58-2,47 (m, 3H), 1,98-1,81 (m, 6H), 1,70-1,58 (m, 4H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (XIII-bb):

[0350] Una solución del compuesto **XIII-aa** (350 mg, 0,326 mmol) en 1 N acuoso HCl (5,0 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto **XIII-bb** (250 mg, 86%) como un sólido higroscópico amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,75 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,60 (br, s, 2H), 7,37-7,32 (m, 2H), 4,16 (br, s, 2H), 3,81 - 3,75 (m, 4H), 3,73-3,63 (m, 6H), 3,48-3,44 (m, 2H), 3,37-3,34 (m, 7H), 3,13-3,10 (m, H), 2,85 (t, J = 2 Hz, 4H), 2,25-2,15 (m, 3H), 1,92-1,69 (m, 4H).

Esquema XIV

3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida



Preparación de XIV-a

[0351] Una suspensión de **XIII-x** (400 mg, 0,416 mmol) y 10% de Pd/C (120 mg) en EtOH/AcOH (50 mL/10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h en temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto **XIV-a** (270 mg, 93%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,73 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 7,48-7,39 (m, 3H), 7,36-7,24 (m, 6H), 5,52 (s, 1H), 4,23-4,15 (m, 2H), 4,00 - 3,94 (m, 2H), 3,80 - 3,77 (m, 1H), 3,64 - 3,57 (m, 2H), 3,22- 3,07 (m, 4H), 3,04-2,91 (m, 3H), 2,85-2,75 (m, 6H), 1,82-1,77 (m, 4H), 1,73-1,54 (m, 5H), 1,33-1,11 (m, 10H), 0,82 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

Preparación de XIV-c

[0352] Una solución del compuesto **XIV-a** (270 mg, 0,390 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidotioato de metilo (XIV-b, 163 mg, 0,62 mmol) en EtOH (50 mL) se cargó con DIPEA (402 mg, 3,12 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de CH_2Cl_2/MeOH, 8:2:0,2 de $CHCl_3$/CH_3OH/NH_4OH) para dar el compuesto **XIV-c** (180 mg, 57%) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,71-7,68 (m, 2H), 7,60-7,59 (m, 2H), 7,46-7,42 (m, 2H), 7,34-7,25 (m, 5 H), 5,50 (s, 1H), 4,25-4,21 (m, 1H), 4,01-3,88 (m, 3H), 3,76-3,71 (m, 1H), 3,63-3,55 (m, 1H), 3,15-3,09 (m, 1H), 2,84 -2,73 (m, 5H), 2,61-2,43 (m, 8H), 2,02-1,79 (m, 4H), 1,73-1,59 (m, 4H), 1,43-1,41 (m, 2H), 1,29-1,15 (m, 8H), 2,02-1,79 (m, 4H), 1,73-1,59 (m, 4H), 1,43-1,41 (m, 2H), 1,29-1,15 (m, 8H), 0,84 (t, J = 6,8 Hz, 3H).

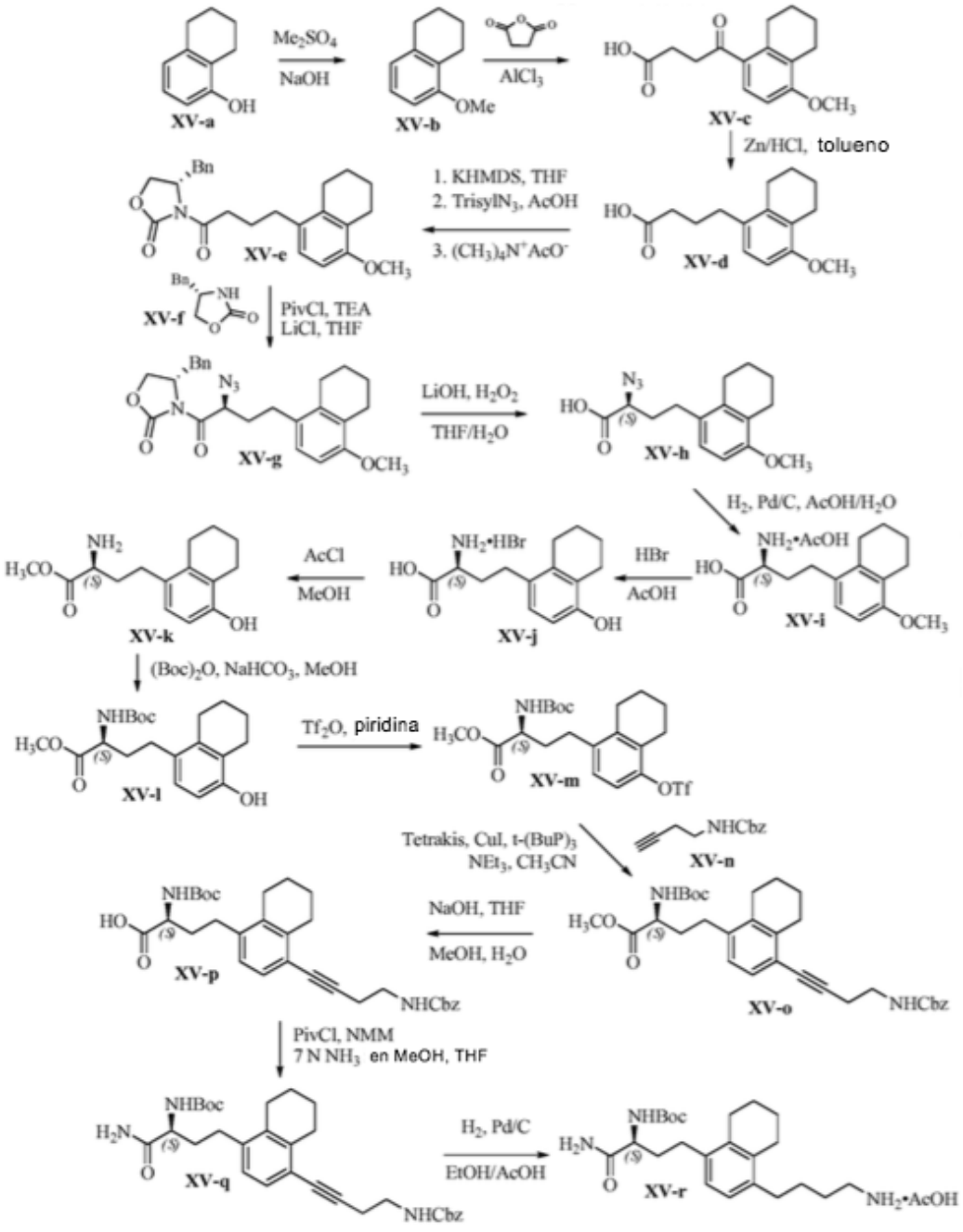
Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(6-((S)-4-amino-3-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)naftaleno-2-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (XIV-d)

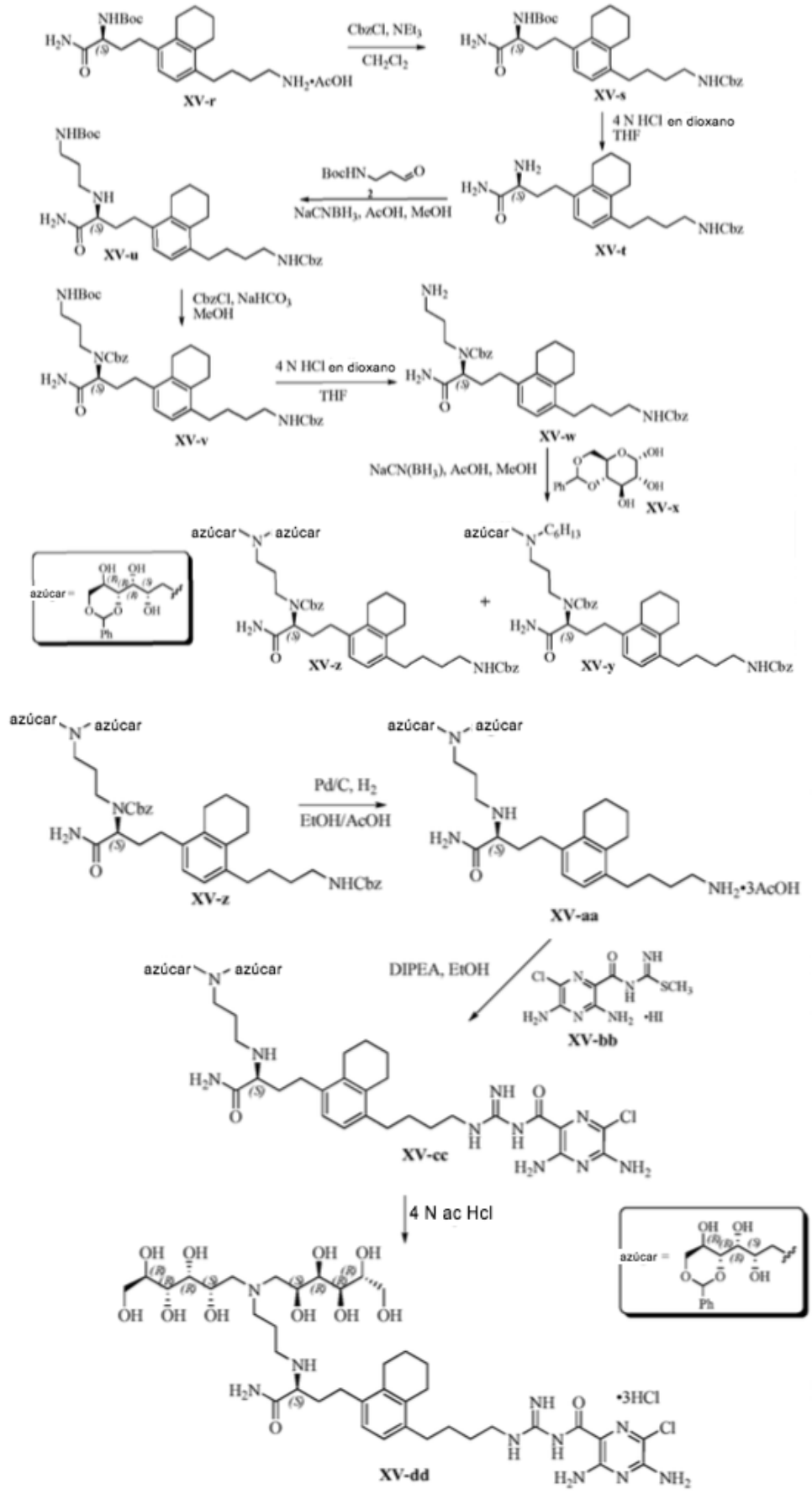
[0353] Una solución del compuesto **XIV-c** (180 mg, 0,199 mmol) en 4 N acuoso HCl (2,0 mL) se agitó a temperatura

ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto XIV-d (82 mg, 50%) como un sólido higroscópico amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,75 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,66 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,38 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 4,18-4,16 (m, 1H), 4,04-4,02 (m, 1H), 3,85-3,76 (m, 2H), 3,71-3,64 (m, 3H), 3,48-3,46 (m, 1H), 3,38-3,34 (m, 8H), 3,25- 3,08 (m, 5H), 2,92- 2,81 (m, 4H), 1,38 (br s, 6H), 0,93 (t, J = 6,6 Hz, 3H).

Esquema XV

3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxopropilo)-5,6,7,8-tetrahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (XV-dd):




NHBoc
CbzCl, NEt3
CH2Cl2
NH2•AcOH
XV-r
NHCbz
XV-s
4 N HCl en dioxano
THF
BocHN
NaCNBH3, AcOH, MeOH
XV-u
XV-t
CbzCl, NaHCO3
MeOH
NCbz
XV-v
XV-w
NaCN(BH3), AcOH, MeOH
XV-x
azúcar
XV-z
XV-y
Pd/C, H2
EtOH/AcOH
XV-aa
DIPEA, EtOH
XV-bb
XV-cc
4 N ac Hcl
•3HCl
XV-dd

Preparación del Compuesto XV-b

[0354] Se cargó una solución del compuesto **XV-a** (100 g, 674 mmol) en THF seco (600 mL) con sulfato de dimetilo (102 g, 809 mmol) seguido de NaOH (32,4 g, 809 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se concentró para eliminar el disolvente y se diluyó con agua. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, hexano/EtOAc 90:10) para proporcionar el compuesto **XV-b** (108 g, 98%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,05 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,64 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,74 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 1,81 - 1,71 (m, 4H).

Preparación del Compuesto XV-c

[0355] Una solución de anhídrido succínico (12,3 g, 123 mmol) en CH_2Cl_2 (150 mL) se cargó con $AlCl_3$ (18,4 g, 138 mmol) en porciones a 0ºC. Después de 10 minutos, se añadió el compuesto **XV-b** (20,0 g, 123 mmol) disuelto en CH_2Cl_2 (50 mL) a la mezcla de reacción a la misma temperatura. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se vertió en agua helada y se acidificó con HCl. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite para eliminar $Al(OH)_3$ y se lavó con acetato de etilo caliente. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. El disolvente se concentró para obtener un sólido, y el compuesto se purificó adicionalmente mediante trituración con lavado con hexano para obtener el compuesto **XV-c** (22,3 g, 69%) como un sólido blanco. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,68 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,16 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,90 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,67-2,60 (m, 4H), 1,78-1,64 (m, 4H).

Preparación del Compuesto XV-d

[0356] Se cargó una solución del compuesto **XV-c** (30 g, 114 mmol) en tolueno (300 mL) con ácido clorhídrico concentrado (300 mL) seguido de polvo de Zn (74,8 g, 1145 mmol) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3 h, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de Celite. Después de que el filtrado se concentró al 50%, el precipitado resultante se filtró y se secó para proporcionar el compuesto **XV-d** (24,0 g, 85%) como un sólido blanquecino. Los datos de ^{1}H RMN y LC-MS son consistentes con el producto. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 2,67 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 2,61 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 2,57-2,49 (m, 2H), 2,35-2,28 (m, 2H), 1,85-1,68 (m, 4H).

Preparación del Compuesto XV-e

[0357] Se cargó una solución del compuesto **XV-d** (20 g, 80,6 mmol) en THF seco (500 mL) con Et_3N (28 mL, 96,8 mmol), PivCl (11,9 mL, 96,7 mmol) y LiCl (3,418 g, 96,8 mmol), seguido del compuesto **XV-f** (17,1 g, 96,8 mmol) a -25ºC, y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se evaporó y el residuo se trató con 1 N NaOH. La capa acuosa se separó y se extrajo con diclorometano (2 x 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por trituración con MTBE y hexano para obtener el compuesto **XV-e** (26 g, 79%) como un sólido. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,37-7,27 (m, 3H), 7,23-7,15 (m, 2H), 6,98 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,63 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,70-4,61 (m, 1H), 4,21-4,1 1 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,30 (dd, J = 9,7 Hz, 1H), 3,14-2,79 (m, 3H), 2,80-2,52 (m, 7H), 2,05-1,88 (m, 2H), 1,89-1,64 (m, 4H).

Preparación del Compuesto XV-g

[0358] Una solución del compuesto **XV-e** (30,0 g, 73,7 mmol) en THF seco (300 mL) se cargó con KHMDS (19,1 g, 95,8 mmol) en porciones a -78ºC. Después de agitarse la mezcla resultante durante 30 min, se añadió azida de trisilo (34,2 g, 110,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2-3 min. Se añadió ácido acético (26,5 g, 442 mmol) lentamente a la misma temperatura seguido de acetato de tetrametilamonio (29,5 g, 221 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 27ºC, se agitó durante 4 h, se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (300 mL), se concentró para eliminar el THF, y se extrajo con EtOAc (2 x 500 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, hexano/EtOAc 70:30) para proporcionar el compuesto **XV-g** (18,3 g, 55%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,37-7,27 (m, 3H), 7,23-7,18 (m, 2H), 6,96 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,62 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,03-4,98 (m, 1H), 4,61-4,54 (m, 2H), 4,23-4,10 (m, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,32 (dd, J = 10,3 Hz, 1H), 2,86- 2,77 (m, 2H), 2,73- 2,61 (m, 5 H), 2,17 - 2,07 (m, 1H), 2,05-1,95 (m, 1H), 1,82-1,70 (m, 4 H).

Preparación del Compuesto XV-h

[0359] Una solución del compuesto **XV-g** (40,5 g, 20,0 mmol) en THF/H_2O (150 mL/50 mL) se cargó con H_2O_2 (61,4 mL, 542 mmol) seguido de LiOH (7,57 g, 181 mmol) en porciones a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a la misma temperatura, se inactivó con Na_2SO_3 acuoso saturado (200 mL), se concentró a presión reducida para eliminar el THF y se lavó con CH_2Cl_2 (200 mL). La capa acuosa se acidificó con 1 N acuoso HCl y se extrajo con

CH_2Cl_2 (2 x 250 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4, se concentraron y se trituraron con MTBE para proporcionar el compuesto **XV-h** (20,0 g, 77%) como un sólido blanquecino. ^{1}H RMN (300 MHz, CD_3OD): δ 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,64 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,93 (dd, J = 7,9, 4,1 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,72-2,55 (m, 6H), 2,08 - 1,83 (m, 2H), 1,81 - 1,63 (m, 4H).

Preparación del Compuesto XV-i

[0360] Una suspensión de compuesto **XV-h** (41,0 g, 144 mmol) y 10% de Pd/C (8,0 g) en AcOH/H_2O (480 mL/160 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar sal acética **XV-i** (40,0 g, 86%) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 6,98 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 3,97 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,76-2,55 (m, 7H), 2,14-1,99 (m, 2H), 1,84-1,67 (m, 5H), 1,93 (s, 3H).

Preparación del Compuesto XV-j

[0361] Se cargó una solución de compuesto **XV-i** (41,3 g, 128 mmol) en ácido acético (250 mL) con ácido bromhídrico (250 mL) gota a gota a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se diluyó con H_2O (15 mL), ligeramente alcalinizado con amoniaco, y se cristalizó durante la noche para proporcionar el compuesto **XV-j** (40,0 g, 95%) como un sólido marrón. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 8,35 (br s, 1H), 6,74 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,56 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 4,01-3,90 (m, 1H), 2,55-2,38 (m, 4H), 2,05-1,85 (m, 2H), 1,78-1,56 (m, 6H),

Preparación del Compuesto XV-k

[0362] Se añadió cloruro de acetilo (60,5 mL, 852 mmol) a metanol seco (400 mL) a 0°C, seguido del compuesto **XV-j** (40,0 g, 122 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3 h y se concentró. El residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (500 mL) y $NaHCO_3$ saturado (300 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **XV-k** (30,0 g, 83%) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 6,77 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,51 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 2,70-2,57 (m, 4H), 2,53 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 1,83-1,69 (m, 6H).

Preparación del Compuesto XV-l

[0363] Se cargó una solución del compuesto **XV-k** (30,0 g, 114 mmol) en MeOH/H_2O (300 mL/100 mL) con $NaHCO_3$ (39,0 g, 456 mmol) y Boc_2O (30,0 g, 137 mmol) a 0ºC. La mezcla resultante se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 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 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na_2SO_4, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 70:30 hexanos/AE) para proporcionar el compuesto **XV-l** (31,0 g, 85%) como aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,80 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,56 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,32 (br s, 1H), 5,29 (s, 1H), 4,45-4,30 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,69 - 2,43 (m, 6H), 1,88 - 1,72 (m, 6H), 1,46 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XV-m

[0364] Se cargó una solución del compuesto **XV-l** (31,0 g, 85,4 mmol) en piridina (70 mL) con triflato (21,5 mL, 128 mmol) a 0ºC, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después de la concentración, la mezcla de reacción se repartió entre CH_2Cl_2 (300 mL) y agua (300 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 proporcionar el compuesto **XV-m** (41,0 g en bruto) como un aceite marrón. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,01 (s, 2H), 5,22-5,11 (m, 1H), 4,44-4,34 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,78 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,71-2,52 (m, 4H), 2,16 - 2,02 (m, 1H), 1,89 - 1,73 (m, 5H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XV-o

[0365] Se cargó una solución del compuesto **XV-m** (41,0 g, bruto) en CH_3CN anhidro (400 mL) con TEA (46,8 mL, 342 mmol), 10% (t-Bu)$_3$P en hexanos (34,5 mL, 17,0 mmol), butilo-3-inilcarbamato de bencilo (XV-n, 20,6 g, 103 mmol) y CuI (0,81 g, 4,26 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 3 minutos y se añadió $Pd(PPH_3)_4$ (9,86 g, 8,53 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificarse con argón durante 5 minutos, la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por columna (gel de sílice, 80:20 hexanos/AE) para proporcionar el compuesto **XV-o** (25 g, 54% en dos etapas) como un aceite marrón. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,38-7,31 (m, 5 H), 7,15 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,19-5,05 (m, 4H), 4,43-4,31 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,47-3,37 (m, 2H), 2,82 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,69-2,55 (m, 5H), 2,13- 2,00 (m, 1H), 1,82- 1,70 (m, 6H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XV-p

[0366] Una solución de éster metílico **XV-o** (23,0 g, 42,0 mmol) en THF/MeOH/H_2O (200 mL/200 mL/65 mL) se cargó con NaOH (10,0 g, 252 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El valor de pH se ajustó a 9 con 1 N acuoso HCl y se eliminó el disolvente orgánico. El valor de pH del residuo se ajustó a 5, y la suspensión 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 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el compuesto **XV-p** (16,0 g, 72%) como un sólido marrón. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,38-7,20 (m, 5 H), 7,09 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 4,16-4,02 (m, 1H), 3,34 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,81 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,70-2,58 (m, 6H), 2,08-1,93 (m, 1H), 1,90 - 1,81 (m, 1H), 1,80 - 1,68 (m, 4H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XV-q

[0367] Se cargó una solución de ácido **XV-p** (11,0 g, 20,6 mmol) en THF (200 mL) con NMM (3,39 mL, 31,0 mmol) y PivCl (3,0 mL, 24,7 mmol) a 0ºC. La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y se añadió NH_3 (7,0 N en metanol, 29,4 mL, 206 mmol) gota a gota. La mezcla de reacción continuó agitándose a 0°C durante 1 h, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, 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 secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se trituró con MTBE para proporcionar la amida **XV-q** (12,0 g, en bruto) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,35-7,22 (m, 5 H), 7,09 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 5,07 (s, 2H), 4,09 - 3,97 (m, 1H), 3,39 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,80 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,70 - 2,56 (m, 6H), 1,82- 1,67 (m, 6H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto XV-r

[0368] Una suspensión de compuesto **XV-q** (12,0 g, bruto) y 10% de Pd/C (2,50 g) en EtOH (300 mL)/AcOH 960 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró al vacío y se trituró con MTBE/hexanos para proporcionar sal acética **XV-r** (12,0 g, bruto) como un sólido blanquecino. Este producto se usó directamente para el siguiente paso. $[M + H]^+$ 264.

Preparación del Compuesto XV-s

[0369] Se cargó una solución agitada de compuesto **XV-r** (12,0 g, bruto) en MeOH (300 mL)/agua (100 mL) con Na_2CO_3 (21,8 g, 206 mmol) y CbzCl (6,27 mL, 41,2 mmol) a 0°C y se agitó a la misma temperatura durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, y el disolvente se separó y se repartió entre CH_2Cl_2 (500 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 para proporcionar el compuesto **XV-s** (15,0 g, bruto) como un aceite amarillo. Este producto se usó directamente para el siguiente paso. $[M + H]^+$ 538.

Preparación del Compuesto XV-t

[0370] Se cargó una solución del compuesto **XV-s** (15,0 g, en bruto) con 4 N HCl en dioxano (60 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a vacío y el residuo se trituró con MTBE para proporcionar el compuesto **XV-t** (15,0 g, bruto). Este producto se usó directamente para el siguiente paso. $[M + H]^+$ 438.

Preparación del Compuesto XV-u

[0371] Una solución del compuesto **XV-t** (15,0 g, en bruto) y el aldehído **2** (4,27 g, 24,2 mmol) en MeOH (100 mL) se cargó con ácido acético (12,5 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (1,94 g, 30,9 mmol) y la solución continuó agitándose a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadieron el compuesto adicional **XV-u** (0,3 equiv), AcOH (0,5 equiv) y $NaCNBH_3$ (0,5 equiv) y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo (20 g, crudo) se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. $[M + H]^+$ 595.

Preparación del Compuesto XV-w

[0372] Una solución del compuesto **XV-u** (20 g, en bruto en MeOH/H_2O (300 mL/100 mL) se cargó con Na_2CO_3 (21,8 g, 206 mmol) a 0°C y la solución se agitó durante 10 min. Se añadió cloroformato de bencilo (6,77 mL, 41,2 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0ºC, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Después de la concentración, el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 (200 mL) y se lavó con agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo (20 g, bruto) se usó

directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. $[M + Na]^+$ 752.

Preparación del Compuesto XV-w

[0373] Se disolvió el compuesto **XV-v** (20 g, en bruto) en 4 N HCl en dioxano (50 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 2 h. Después de la concentración, el residuo se trituró con MTBE, se neutralizó con $NaHCO_3$ acuoso y se purificó por cromatografía ultrarrápida usando un sistema CMA para proporcionar el compuesto **XV-w** (3,50 g, 27% en 7 etapas) como un sólido blanquecino. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,43-7,24 (m, 10H), 6,83 (s, 2H), 5,16 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,54-4,42 (m, 1H), 3,58-3,44 (m, 1H), 3,42-3,33 (m, 2H), 3,15-3,10 (m, 2H), 3,00-2,86 (m, 2H), 2,71-2,57 (m, 4H), 2,56-2,45 (m, 5H), 2,32-1,87 (m, 2H), 1,79-1,65 (m, 4H), 1,59-1,48 (m, 4H).

Preparación de los compuestos XV-y y XV-z

[0374] Una solución del compuesto **XV-w** (3,50 mg, 5,57 mmol) y triol **XV-x** (6,00 g, 22,3 mmol) en metanol (50 mL) se cargó con ácido acético (3,35 mL) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió cianoborohidruro sódico (1,40 g, 22,3 mmol) y la solución continuó agitándose a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron el compuesto adicional **XV-x** (2,0 equiv), AcOH (4,0 equiv) y $NaCNBH_3$ (3,0 equiv) y la solución continuó en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron hexanal (2,00 mL, 16,8 mmol), AcOH (1,10 mL) y $NaCNBH_3$ (1,75 g, 27,9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. Después de la concentración, el residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y $NaHCO_3$ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por columna C18 de oro de fase reversa para proporcionar el compuesto **XV-z** (2,50 g, 40%) y compuesto **XV-y** (1,30 g, 24%) como sólidos blancos: ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,51-7,19 (m, 20H), 6,87-6,74 (m, 2H), 5,51-5,32 (m, 2H), 5,16-5,20 (m, 2H), 4,45-4,25 (m, 1H), 4,20 (dd, J = 10,8, 5,6 Hz, 2H), 4,00-3,90 (m, 3H), 3,89-3,80 (m, 2H), 3,75-3,63 (m, 2H), 3,55 (t, J = 11.3 Hz, 2H), 3,11 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,80-2,36 (m, 12H), 2,20-2,01 (m, 1H), 1,99-1,83 (m, 1H), 1,82-1,62 (m, 6H), 1,57-1,44 (m, 4H), 1,41 - 1,21 (m, 2H), 0,94 - 0,86 (m, 1H).

Preparación del Compuesto XV-aa

[0375] Una suspensión de **XV-z** (2,50 g, 2,20 mmol) y 10% de Pd/C (500 mg) en EtOH/AcOH (100 mL/20 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h en temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con MeOH. El filtrado se concentró al vacío y se trituró con MTBE/hexanos para proporcionar el compuesto **XV-aa** (2,20 g, 96%) como un sólido blanco. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,45-7,38 (m, 4H), 7,30-7,24 (m, 6H), 6,87 (s, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,23 (dd, J = 10,9, 5,7 Hz, 2H), 4,17 - 4,10 (m, 2H), 3,98 - 3,90 (m, 2H), 3,84 (d d, J = 5,1, 2,3 Hz, 2H), 3,72 (dd, J = 9,4, 2,3 Hz, 2H), 3,65-3,54 (m, 4H), 3,13-2,96 (m, 4H), 2,93-2,81 (m, 2H), 2,80-2,47 (m, 11H),.95 (s, 9H), 1,81-1,54 (m, 10H), 1,40-1,23 (m, 2H).

Preparación de XV-cc

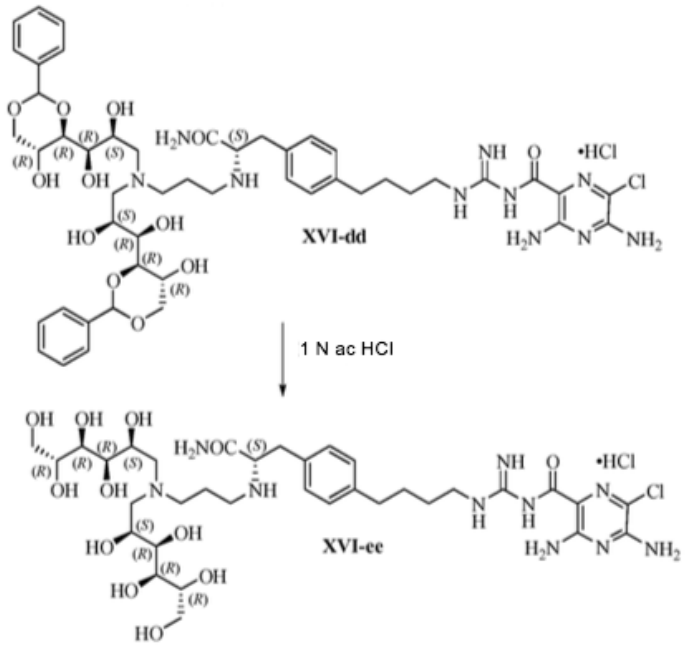
[0376] Una solución de compuesto **XV-aa** (2,20 g, 2,10 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidotioato de metilo (**XV-b**b, 1,30 g, 3,36 mmol) en EtOH (15 mL) se cargó con DIPEA (2,98 mL, 16,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH_2Cl_2/MeOH 10:1, $CHCl_3/CH_3OH/NH_4OH$ 8:2:0,2) para proporcionar el compuesto **XV-cc** (1,24 g, 55%) como un sólido amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,45-7,39 (m, 4H), 7,35-7,24 (m, 6H), 6,88 (s, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,21 (dd, J = 10,7, 5,3 Hz, 2H), 4,00-3,89 (m, 4H), 3,85 (dd, J = 5,1, 2,5 Hz, 2H), 3,70 (dd, J = 9,3, 2,5 Hz, 2H), 3,57 (t, J = 10,7 Hz, 2H), 3,24 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,08 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 2,74-2,41 (m, 16H), 1,80-1,70 (m, 6H), 1,71-1,52 (m, 6H).

Preparación de la sal de hidrocloruro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-4-amino-3-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-4-oxobutilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-ilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (XV-dd):

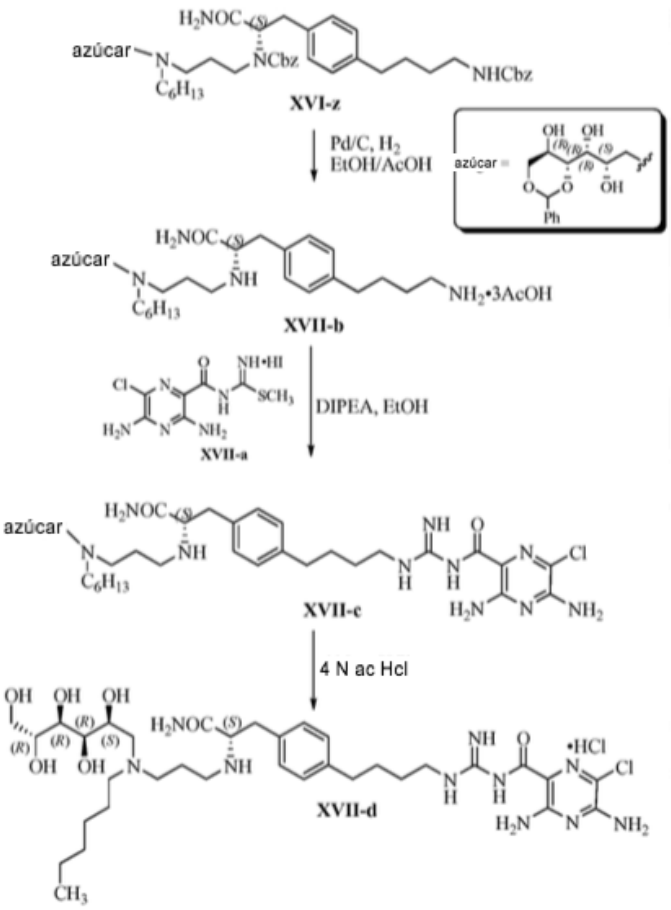
[0377] Se cargó el Compuesto **XV-cc** (1,24 g, 1,15 mmol) con 4 N acuoso HCl (50 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante una columna C18 de oro de fase inversa para proporcionar el compuesto **XV-d**d (700 mg, 61%) como un sólido higroscópico amarillo. ^{1}H RMN (400 MHz, DMSO-d_6): δ 10,50 (br s, 1H), 9,67-9,54 (m, 1H), 9,25 (t, J = 5,4 Hz, 1H), 9,14-9,02 (m, 1H), 8,94 - 8,87 (m, 2H), 8,86-8,72 (m, 1H), 8,23 (br s, 1H), 7,81 (br s, 2H), 7,42 (s, 3H), 6,91 (ABq, J = 7,8 Hz, 2H), 5,54-5,38 (m, 1), 5,02-4,22 (m, 3H), 4,11-4,00 (m, 2H), 3,95-3,84 (m, 1H), 3,71 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 3,59 (dd, J = 10,7, 2,4 Hz, 2H), 3,54-3,44 (m, 5H), 3,44 (dd, J = 10,9, 5,4 Hz, 2H), 3,42-3,16 (m, 13 H), 3,03-2,82 (m, 2H), 2,70-2,58 (m, 3H), 2,54 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 2,23-2,10 (m, 2H), 2,09-2,06 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,76-1,67 (m, 4H), 1,65-1,48 (m, 5H),
^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 6,94 (s, 2H), 4,25-4,18 (m, 2H), 4,03 (t, J = 6,2 Hz, 1H), 3,86 (d, J = 4,6 Hz, 2H), 3,78 (dd, J = 10,6, 2,3 Hz, 2H), 3,75-3,62 (m, 6H), 3,61-3,51 (m, 2H), 3,50-3,41 (m, 4H), 3,36 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 3,21-3,09

(m, 2H), 2,77-2,68 (m, 4H), 2,68-2,60 (m, 4H), 2,33-2,21 (m, 2H), 2,16-2,05 (m, 2H), 1,83-1,76 (m, 4H), 1,75-1,71 (m, 2H), 1,70-1,61 (m, 2H).
HRMS $[M + H]^+$ calculó $C_{39}H_{66}ClN_{10}O_{12}$: 901,4506, y encontró 901,4553.

Esquema XVI. La síntesis de la sal de hidrocloruro 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(bis((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)fenilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (XVI-ee)



Esquema XVII. La síntesis de la sal de hidrocloruro 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((S)-3-amino-2-(3-(hexilo((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilo)amino)propilamino)-3-oxopropilo)fenilo)butilo)carbamimidoílo)-6-cloropirazina-2-carboxamida (XVII-d)



[0378] Se pueden usar varios ensayos para caracterizar los compuestos de la presente invención. Los ensayos representativos se discuten a continuación.

Ensayo 1. Medida *in vitro* de la actividad de bloqueo del canal de sodio y la reversibilidad

[0379] Un ensayo utilizado para evaluar el mecanismo de acción y/o potencia de los compuestos de la presente invención implica la determinación de la inhibición del fármaco lumenal de las corrientes de sodio epiteliales de las vías respiratorias medidas bajo corriente de cortocircuito (ISC) utilizando monocapas epiteliales de las vías respiratorias montadas en cámaras Ussing. Este ensayo se describe en detalle en Hirsh, AJ, Zhang, J., Zamurs, A., et al. Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonyl)-N'-4-[4-(2,3-dihydroxypropoxy)phenyl]butylguanidine methanesulfonate (552-02), a novel epithelial sodium channel blocker with potential clinical efficacy for CF lung disease. J. Pharmacol. Exp. Ther.. 2008; 325 (1): 77 - 88. Las células obtenidas de vías respiratorias humanas, de perros, de oveja o de roedor recién cortadas se siembran en insertos Snapwell™ de 0,4 micras porosos (CoStar), se cultivan en condiciones de interfaz aire-líquido (ALI) en medios definidos hormonalmente y se analizan para determinar la actividad de transporte de sodio (ISC). bañado en Krebs Bicarbonate Ringer (KBR) en el uso de cámaras. Todas las adiciones de drogas de prueba son para el baño lumenal con protocolos de adición de dosis de medio log (de 1 x 10^{-11} M a 3 x 10^{-5} M), y se registra el cambio acumulativo en ISC (inhibición). Todos los fármacos se preparan en dimetilsulfóxido como soluciones madre a una concentración de 1 x 10^{-2} M y se almacenan a -20ºC. Ocho preparaciones se realizan típicamente en paralelo; dos preparaciones por ciclo incorporan amilorida y/o benzamilo como controles positivos. Después de administrar la concentración máxima (5 x 10^{-5} M), el baño lumenal se intercambia tres veces con solución de KBR libre de fármaco fresca, y se mide el ISC resultante después de cada lavado durante aproximadamente 5 minutos de duración. La reversibilidad se define como el porcentaje de retorno al valor de referencia para la corriente de sodio después del tercer lavado. Todos los datos de las abrazaderas de tensión se recopilan a través de una interfaz de computadora y se analizan fuera de línea.

[0380] Las relaciones dosis-efecto para todos los compuestos son consideradas y analizadas por el programa Prism 3.0. Los valores de CI_{50}, las concentraciones efectivas máximas y la reversibilidad se calculan y se comparan con amilorida y benzamilo como controles positivos. La potencia de la actividad de bloqueo del canal de sodio de los compuestos representativos con respecto a la amilorida en células recién escindidas de las vías respiratorias caninas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Inhibición de la corriente de cortocircuito por el compuesto (Ia) en células del epitelio bronquial canino (CBE) (CI_{50} nM)

Número de compuesto	Potencia del bloqueo del canal de sodio **CI_{50} (nM)**
Amilorida	781
II-d	10,6
III-d	2,6
Vd	24
VI-d	14,3
XIII-bb	12,5
XIV-d	6,0
XV-dd	7,3
XVI-ee	35,6
XVII-d	2,9
VIIee	40,8
VIII-d	8,8
X-d	27,4
IX-m	11,3
XI-cc	5,5
XII-d	8,4

Ensayo 2. Estudios de eliminación mucociliar (CCM) en ovejas

[0381] El modelo animal que se ha usado con más frecuencia para medir los cambios en CCM es el modelo de oveja. El efecto de los compuestos para potenciar el aclaramiento mucociliar (CCM) puede medirse usando un modelo *in vivo* descrito por Sabater et al., Journal of Applied Physiology, 1999, págs. 2191-2196, incorporado aquí como referencia.
En estos estudios, las ovejas adultas fueron restringidas e intubadas nasalmente con un tubo endotraqueal. Los artículos de ensayo en aerosol se administraron durante 10-15 minutos a ovejas. Después se administró coloide radiomarcado de ^{99m}Tc-azufre (TSC, 3,1 mg/ml, que contenía aproximadamente 20 mCi) a un tiempo específico cuatro u ocho horas después del artículo de prueba. El aerosol radiomarcado se administró a través del tubo endotraqueal durante aproximadamente 5 minutos. Luego se extubó a las ovejas y se midieron los recuentos radiactivos totales en el pulmón cada 5 minutos durante un período de observación de 1 hora. La tasa de eliminación de radiomarcadores del pulmón es representativa de la tasa de CCM en el animal. La ventaja de este sistema es que simula de cerca el entorno pulmonar humano. El modelo también permite la recolección de información PK/PD simultánea a través del muestreo de plasma y orina durante el período de prueba. También hay varias técnicas para medir las concentraciones de drogas en la superficie de las vías respiratorias durante las mediciones de CCM. Incluyen la recolección de condensados de aire exhalado o un método de papel de filtro para obtener ASL a través de una broncoscopia.

[0382] El modelo ovino descrito anteriormente se usó para evaluar los efectos *in vivo* (eficacia/durabilidad) del **Compuesto II-d** administrado en aerosol sobre CCM. Tratamientos que consisten en 4 mL de **Compuesto II-d**, Ejemplo Comparativo 1, (S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2,3-diamino-3-oxopropoxi)fenilo)butilo)carbamimidoilo)pirazina-2-carboxamida, vehículo (H_2O estéril destilado) o agente de prueba en combinación con HS. Para determinar si se combina HS con el **Compuesto II-d** CCM, HS se administró inmediatamente después de la administración del **Compuesto II-d**. Las soluciones de prueba se aerosolizaron usando un nebulizador Raindrop a un caudal de ocho litros por minuto y se conectaron a un sistema de dosimetría que consistía en una válvula de solenoide y una fuente de aire comprimido (20 psi). La dosis depositada de fármaco en los pulmones de las ovejas después de una administración en aerosol con el nebulizador Raindrop se estima en un 8-15% de la dosis. Usando un nebulizador Raindrop, TSC radiomarcado se administró durante aproximadamente 3 minutos, ya sea 4 u 8 horas después del tratamiento con medicamentos para evaluar la eficacia/durabilidad. Los recuentos radiactivos se midieron en una región central en el pulmón derecho a intervalos de 5 minutos durante una hora con una cámara gamma. Se utilizaron tres métodos de análisis:1) velocidad inicial de aclaramiento (pendiente) en los primeros 30 min ajustados mediante el área de regresión lineal 2) debajo de la curva para el aclaramiento% en el tiempo durante una hora, y 3) la eliminación máxima obtenida en una hora.

[0383] El efecto del **Compuesto II-d** a 0,024 nmol/kg, 0,24 nmol/kg y 2,4 nmol/kg se ensayó y se comparó con el vehículo (4 mL de H_2O estéril) en CCM de oveja cuatro horas después de la dosificación (Figura 1). Los análisis de los efectos se muestran en la Tabla 2. A todas las dosis ensayadas, el **Compuesto II-d** mejoró el CCM en comparación con el control del vehículo. Se consideró que la dosis de 0,24 nmol/kg era un efecto de CCM máximo

(100%) en la parte superior de la curva de respuesta a la dosis como se ilustra en la Figura 2. La dosis de DE_{50} para el **Compuesto II-d** fue de aproximadamente 0,024 nmol/kg. Es importante destacar que las dosis tan altas como 24 nmol/kg (1.000 veces el DE_{50}) no mostraron aumento en el potasio plasmático (un marcador de hipercalemia) como se ve en la Figura 2.

Tabla 2. CCM en ovejas a las 4 h después de la dosis del compuesto (Ia) o vehículo

Dosis de Compuesto II-d	Pendiente Inicial (4,0-4,5h)	AUC(%Cl-h)	Aclaramiento máximo
0,24 nmol/kg (3 μM)	41,9±3,7* (4)	19,8±1,4* (4)	34,4±2,9* (4)
0,024 nmol/kg (300 nM)	26,5±1,4* (4)	11,5±0,9* (4)	20,5±1,0* (4)
Vehículo (H_2O) 4 mL	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

Los datos se informan como la media ±DE (n) *Indica la importancia (p<0,05) del vehículo.

[0384] La Figura 3 demuestra que el efecto potente e *in vivo* en el CCM de oveja también se transfiere a la serie de compuestos naftilo.

Ensayo 3. Liquidación y metabolismo del fármaco líquido en la superficie de las vías respiratorias (ASL) por el epitelio de la vía aérea humana

[0385] La desaparición del **Compuesto II-d** de la superficie apical y del metabolismo epitelial de las vías respiratorias se evaluó en células del epitelio bronquial humano (HBE) (Tabla 3). En estos experimentos, se añadieron 25 µL de una solución 25 µM de bloqueador ENaC a la superficie apical de las células HBE cultivadas en una interfaz aire/líquido, y la concentración del fármaco en el compartimento apical y basolateral se midió durante 2 h mediante UPLC. Después de 2 h de incubación del **Compuesto II-d** en la superficie apical (37°C), no se detectaron metabolitos ni en los lados apical ni basolateral y no se detectó ningún **Compuesto II-d** en el lado basolateral.

Tabla 3. Desaparición apical y metabolismo del Compuesto II-d y compuestos relacionados frente al ejemplo comparativo 1 en HBE

Compuesto	% de masa de fármaco inicial en el lado apical (padre y metabolito, 2h)	% de masa apical como metabolitos (2h)	% de masa apical inicial en el lado basolateral (2h)	% en el lado basolateral como metabolitos (2h)
II-d	88,0±21 %	Ninguno	1,6±0,15%	Ninguno
Valores representan la media ± DE				

Ensayo 4. Hidratación de las vías respiratorias y bloqueo del canal de sodio (modelo *in vitro*)

[0386] Parion Sciences ha desarrollado modelos experimentales para evaluar la hidratación de las vías respiratorias en cultivos celulares (Hirsh, A.J., Sabater, J.R., Zamurs, A., et al. Evaluation of second generation amiloride analogs as therapy for CF lung disease. J. Pharmacol Exp. Ther. 2004; 311 (3): 929-38.Hirsh, AJ, Zhang, J., Zamurs, A., y col. Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonyl)-N'-4-[4-(2,3-dihydroxy propoxy)phenyl]butyl-guanidine methanesulfonate (552-02), a novel epithelial sodium channel blocker with potential clinical efficacy for CF lung disease. J. Pharmacol Exp. Ther. 2008; 325 (1): 77-88).

[0387] Las células CBE primarias se plaquean en membranas porosas recubiertas de colágeno mantenidas en una interfaz aire-líquido para evaluar el mantenimiento del volumen líquido de superficie a lo largo del tiempo. Al comienzo del experimento, cada inserto Snapwell de 12 mm se retiró de la placa que contenía medio de cultivo de interfaz aire-líquido, se secó, se pesó y 50 µL de vehículo (DMSO al 0,1%) o bloqueador ENaC (10 µM en 0,1% DMSO) aplicado a la superficie apical y se registró la masa. Los insertos se devolvieron inmediatamente a una placa transwell (500 µL, Krebs Ringer Bicarbonate (KRB), pH 7,4 en la cámara inferior) y se colocaron en una incubadora de CO_2 a 37ºC, 5%. Para reducir el artefacto debido a un gradiente osmótico de hidratos de carbono apical sobre la pérdida de agua, la glucosa no se incluyó en el tampón apical. El compuesto (1a) se probó y se comparó con el vehículo, y la masa de ASL fue monitoreada en serie desde 0-8 o 24 h. La masa del líquido de superficie se convirtió a volumen en mL. Los datos se informan como % de volumen inicial (100% = 50 µL).

[0388] La duración de la inhibición del transporte de sodio se determinó indirectamente midiendo el tampón retenido después de que se añadiera un volumen de 50 µl de tampón experimental a la superficie apical de células CBE. Solamente el 12,5±12,1% del vehículo (tampón) permaneció en la superficie después de 8 horas y se observó un pequeño aumento en la retención de líquidos en la superficie con amilorida 10 µM en el vehículo (25±19,2% después

de 8 horas). En comparación, el **Compuesto II-d** aumentó significativamente la retención de líquido en la superficie apical, manteniendo el 112±11% (n = 6) del líquido de superficie durante 8 horas.

[0389] Para ensayar adicionalmente el **Compuesto II-d**, la duración de la incubación aumentó de ocho a 24 horas. Amilorida no se ensayó durante 24 horas ya que la mayoría del efecto desapareció después de ocho horas. Después de 24 horas, solo quedaba el 11% del tampón del vehículo, mientras que el **Compuesto II-d** mantuvo el 70.668,0% (n = 42) de líquido de superficie durante 24 horas, una pérdida de solo el 16% con respecto a la medida de 8 horas, sugiriendo que el **Compuesto II-d** exhibe un efecto duradero en la retención de líquidos.

Ejemplos comparativos

[0390] Los presentes compuestos de Fórmula (A) son más potentes y/o se absorben menos rápidamente de superficies mucosas, especialmente superficies de las vías respiratorias, en comparación con bloqueadores de canales de sodio conocidos, tales como amilorida y compuestos de tercera generación tales como el Ejemplo Comparativo 1 descrito abajo. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula (A) tienen una semivida más larga en las superficies de la mucosa en comparación con estos compuestos conocidos como se evidencia por los datos mostrados en la Tabla 4. La desaparición del **Compuesto II-d** 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 4). En estos experimentos, se añadieron 25 µL de una solución 25 µM de bloqueador ENaC a la superficie apical de las células HBE cultivadas en una interfaz aire/líquido, y la concentración del fármaco en el compartimento apical y basolateral se midió durante 2 h mediante UPLC. Después de 2 h de incubación de los compuestos de la presente invención en la superficie apical (37°C), no se detectaron metabolitos ni en los lados apical ni basolateral y solo se detectaron pequeñas cantidades de estos compuestos en el lado basolateral. Por el contrario, la mayor parte del Ejemplo Comparativo 1 se eliminó del lado apical con 83% metabolizado al ácido carboxílico menos activo, ácido (S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino)-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)propanoico, estructura a continuación.

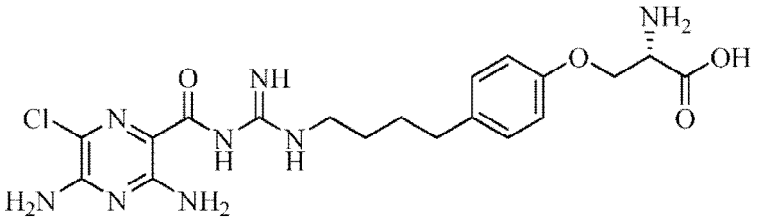
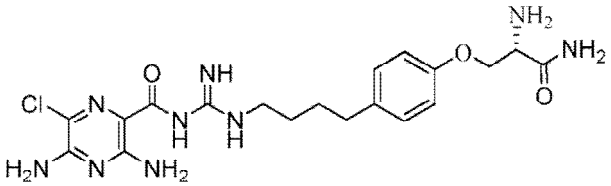


Tabla 4. Desaparición apical y metabolismo del Compuesto II-d y compuestos relacionados frente al ejemplo comparativo 1 en HBE

Compound	% de masa de fármaco inicial en el lado apical (padre y metabolito, 2h)	% de masa apical como metabolitos (2h)	% de masa apical inicial en el lado basolateral (2h)	% en el lado basolateral como metabolitos (2h)
II-d	88,0±21 %	Ninguno	1,6±0,15%	Ninguno
Ejemplo comparativo 1	41,6±7,6% (8% Parent)	83,0±3,5%	8,3±0,2 (1% Parent)	94,7±1,0%
III-d	53,8±5,9%	Ninguno	3,5±2,2%	Ninguno
V-d	25,6±5,1 %	Ninguno	9,3±0,86%	Ninguno
VI-d	67,3±25,6%	Ninguno	1,2±0,5%	Ninguno
XIII-bb	72,6±2,9%	Ninguno	4,2±1,9%	Ninguno
XIV-d	62,2±14,9%	Ninguno	0,32±0,6%	Ninguno
XV-dd	39,4±6,7%	Ninguno	1,81±1,6%	Ninguno
XVI-ee	77,7±12,2%	Ninguno	14,9±1,4%	Ninguno
XVII-d	76,6±14,7%	Ninguno	1,9±1,7%	Ninguno
VII-ee	66,8±14,1 %	Ninguno	6,4±2,1 %	Ninguno
VIII-d	62,7±4,7%	Ninguno	2,0±0,8%	Ninguno
X-d	66,9±22,9%	Ninguno	5,0±3,3%	Ninguno
IX-m	61,3±7,7%	Ninguno	1,1±0,2%	Ninguno
XI-cc	55,6±17,7%	Ninguno	1,8±0,3%	Ninguno
XII-d	31,4±17,4%	Ninguno	9,6±6,3%	Ninguno
Los valores representan la media ± DE				

[0391] Ejemplo comparativo 1, (S)-3,5-diamino-6-cloro-N-(N-(4-(4-(2,3-diamino-3-oxopropoxi)fenilo)butilo)carbamamidoilo)pirazina-2-carboxamida, que tiene la estructura:



se reivindica, describe o dentro de las descripciones de los documentos WO 2003/070182 (patentes de EE.UU. N^{os} 6.858.615, 7.186.833, 7.189.719, 7.192.960 y 7.332.496), como bloqueadores de los canales de sodio que tienen propiedades medicinales útiles y se pueden preparar mediante los métodos descritos y otros conocidos en el arte.

[0392] El compuesto del Ejemplo Comparativo 1 se puede ver 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 el Compuesto 2 en las páginas 42-43 del documento WO 2008/031028. Para tener actividad útil en el tratamiento de la Fibrosis Quística y la EPOC, un compuesto debe tener propiedades que mejoren el aclaramiento mucociliar (CCM) en dosis que no elevan el potasio en plasma, lo que eventualmente conducirá a hipercalemia, una condición seria y peligrosa, en dosificación múltiple. Por lo tanto, debe evitarse en esta clase de compuestos, que se sabe que elevan el potasio en plasma si se excretan significativamente por el riñón. Para evaluar este potencial, es beneficioso tener actividad de CCM *in vivo* y no causar elevación de potasio en plasma a la dosis útil. Un modelo para evaluar esto es el modelo de CCM de oveja que se describe a continuación.

[0393] Como se puede ver a partir de la Tabla 5 y la Figura 4, la DE50 para el Ejemplo Comparativo 1 en el modelo de CCM de oveja es de aproximadamente 240 nmol/kg (3 mM) utilizando tres medidas diferentes (pendiente, AUC y Aclaramiento Máximo). A esta dosis, que sería una dosis clínicamente activa, el Ejemplo Comparativo 1 provoca un aumento en el potasio en plasma (Figura 5) que en la dosificación repetida conducirá a hipercalemia. Por lo tanto, el Ejemplo Comparativo I es inaceptable para uso humano, mientras que el **Compuesto II-d** produce un CCM seguro y efectivo con una relación beneficio/riesgo superior a 1.000 en este modelo.

Tabla 5. CCM en ovejas a las 4 h después de la dosis del vehículo, Ejemplo Comparativo 1 o Compuesto II-d

Dosis	Pendiente inicial (4,0-4,5h)	AUC (% CI x h)	Aclaramiento máximo
Ejemplo Comparativo 1 240 nmol/kg (3mM)	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 II-d 0,024 nmol/kg (300 µM)	26,5±1,4* (4)	11,5±0,9* (4)	20,5±1,0* (4)
Vehículo H_2O (4 mL)	17,2±6,8 (8)	7,3±1,5 (8)	12,2±2,9 (8)

[0394] La Figura 6 representa gráficamente el porcentaje de eliminación de moco en el tiempo por el **Compuesto II-d** y el Ejemplo Comparativo 1, como se describe en el modelo de CCM, anterior. Se obtuvo un porcentaje similar de eliminación de moco por el **Compuesto II-d** a una dosis 10.000 veces menor que la observada en el Ejemplo Comparativo 1. El **Compuesto II-d** proporcionó un efecto máximo en un intervalo de dosis clínicamente relevante.

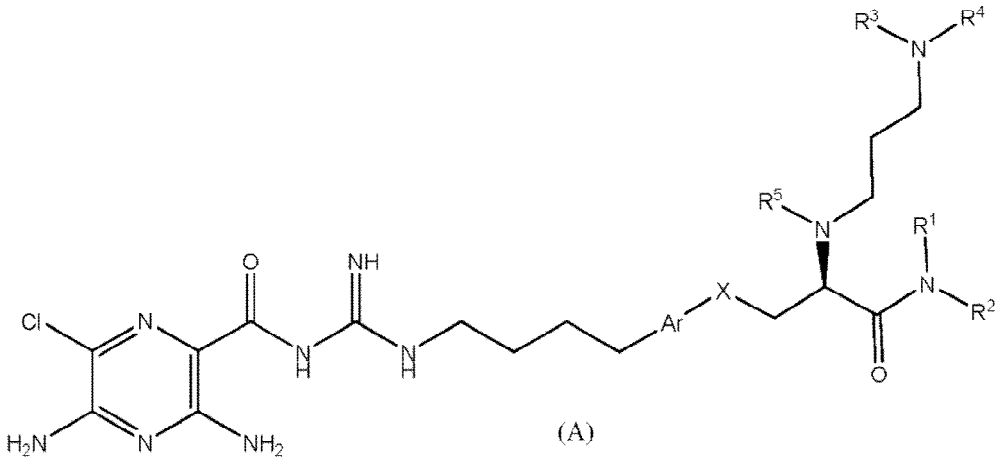
[0395] La Figura 7 ilustra el aumento significativo en los niveles de potasio en plasma a una dosis eficaz observada en el plasma de la oveja que recibe el ejemplo comparativo 1 en el estudio de CCM. El **Compuesto II-d** es 10.000 veces más potente en CCM de oveja que el Ejemplo Comparativo 1 sin elevación de Plasma K a dosis tan altas como 24 nmol/kg (1.000 veces la dosis de DE_{50}), mientras que el Ejemplo Comparativo 1 tiene elevaciones de K de plasma en la dosis aproximada DE50 de 3 mM (Figuras 6 y 7). Esto, de nuevo, demuestra la ventaja de potencia y seguridad única e inesperada del **Compuesto II-d** como se ve en la Tabla 6 con un Índice Terapéutico de seguridad renal de 10.000 a 100.000 veces mayor que el Ejemplo Comparativo 1.

Tabla 6. Relación terapéutica (beneficio/riesgo)

Compuesto	CCM Dosis submaximal más alta	Alta dosis en ovejas sin elevación de potasio de plasma	Relación terapéutica
Ejemplo Comparativo 1	3 mM	300 mM	0,1
II-d	300 nM	300 mM	1.000
Relación	10.000	1	10.000

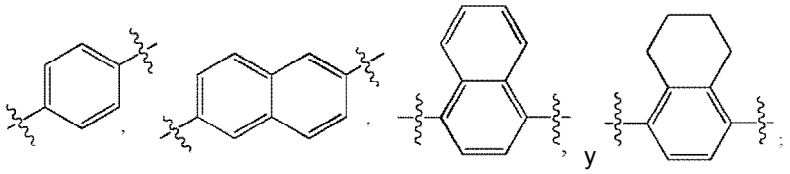
Reivindicaciones

1. Un compuesto de Fórmula (A):



(A)

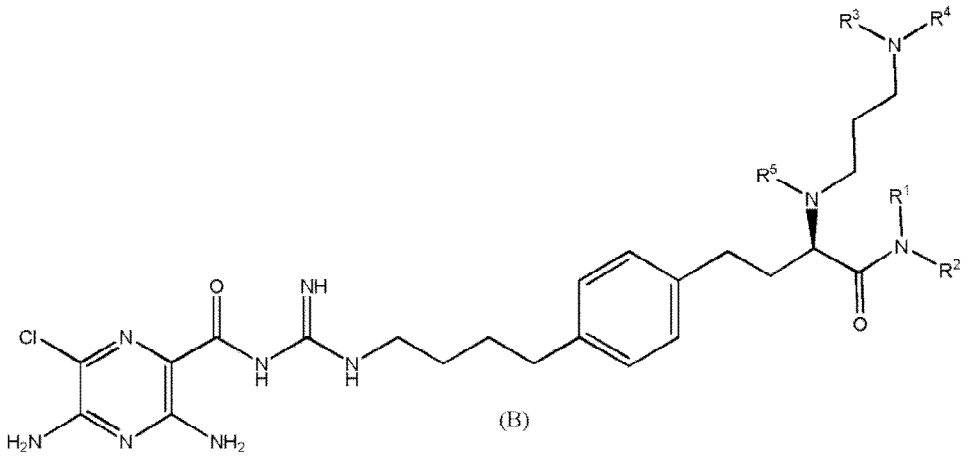
en donde Ar es un resto seleccionado del grupo de:



X se selecciona de $-CH_2-$, -O-, y -S-;
R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_6;
o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 miembros o 6 miembros que contiene opcionalmente un heteroátomo en el anillo adicional seleccionado entre N y O;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

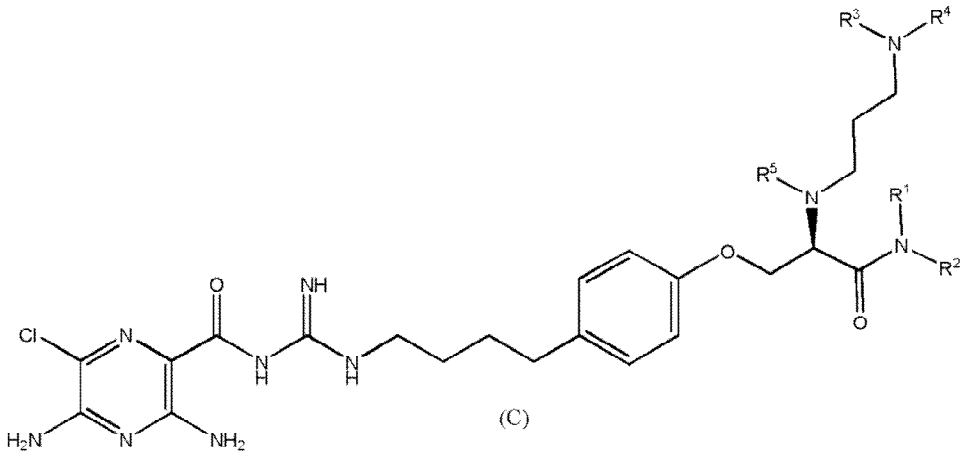
o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 de una de las siguientes fórmulas:



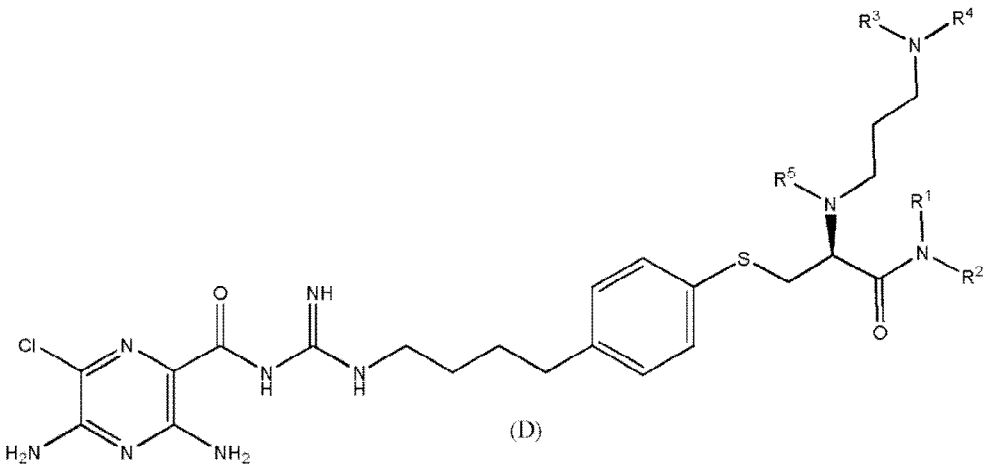
(B)

;



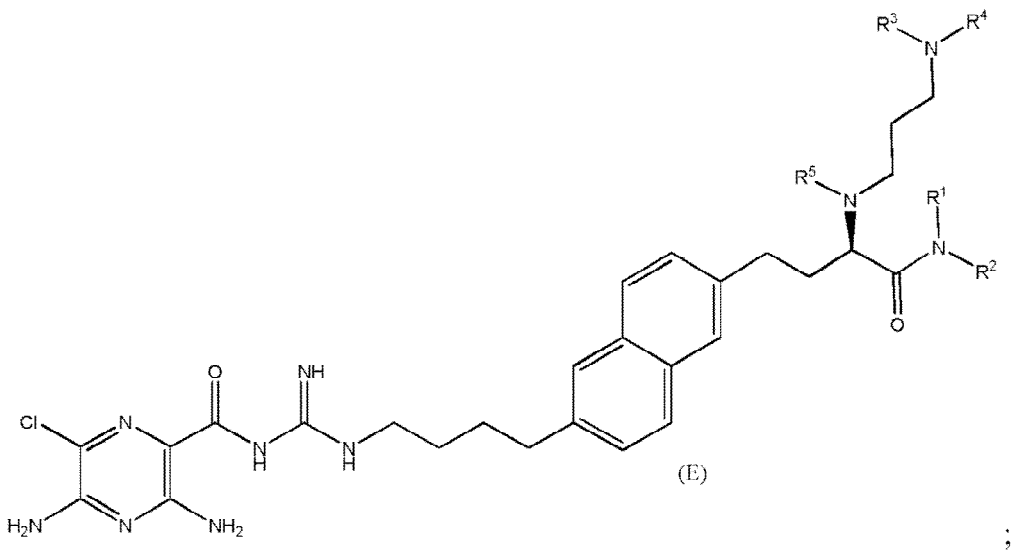
(C)

;



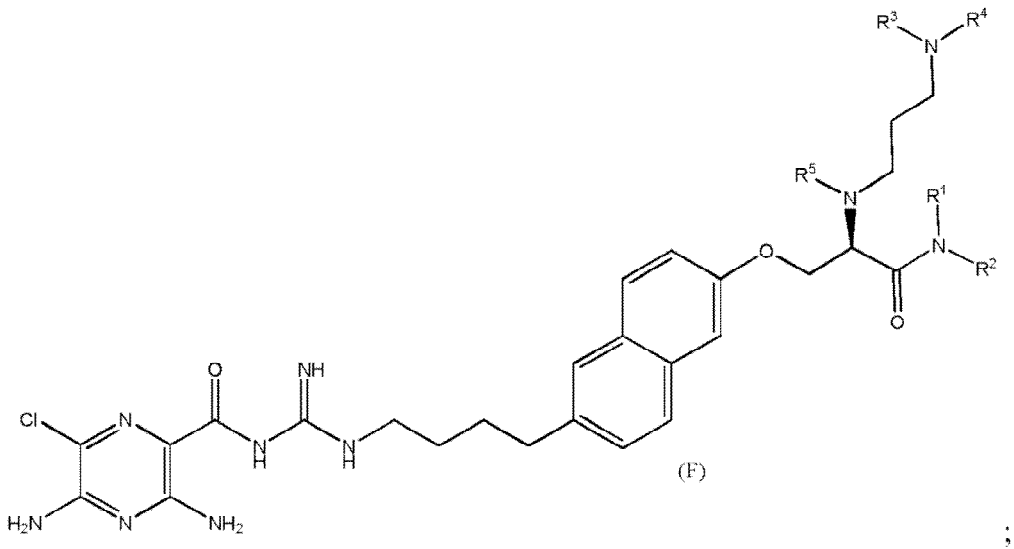
(D)

;



(E)

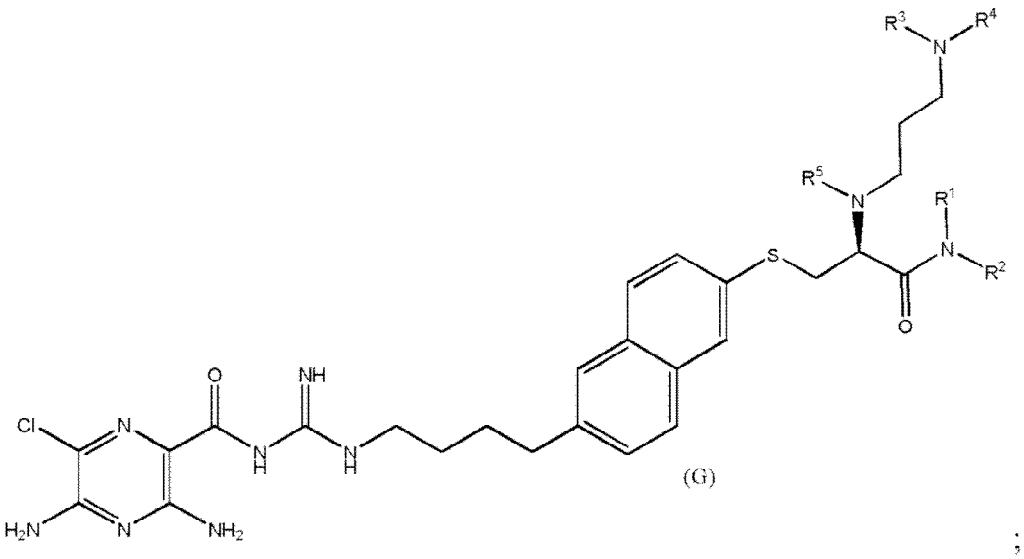
;



(F)

;

o



(G)

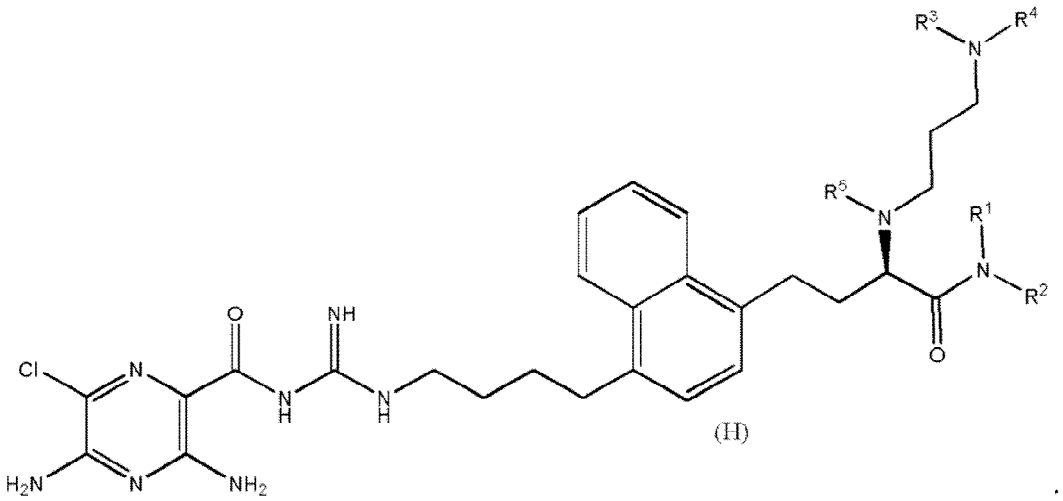
;

en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_6;
o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 miembros o 6 miembros que contiene opcionalmente un heteroátomo en el anillo adicional seleccionado entre N y O;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;

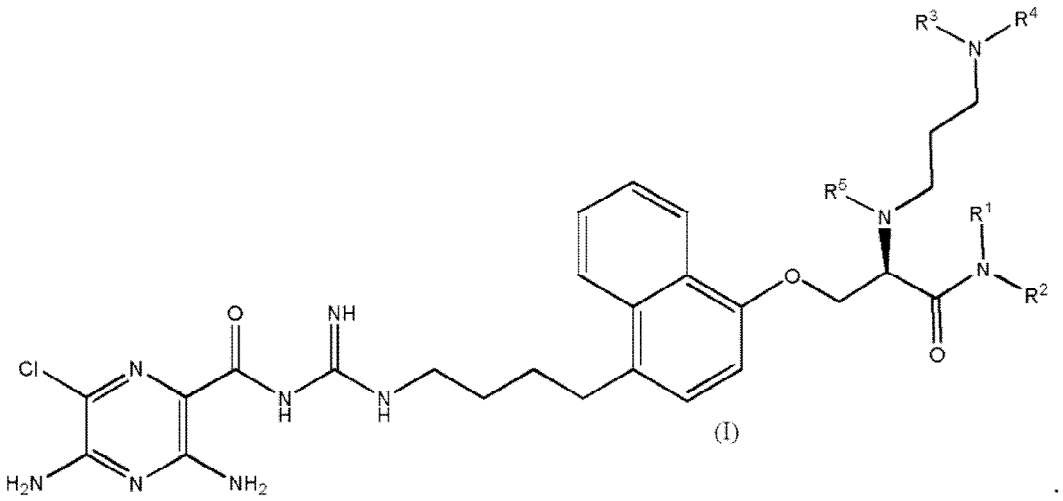
o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 de una de las siguientes fórmulas:



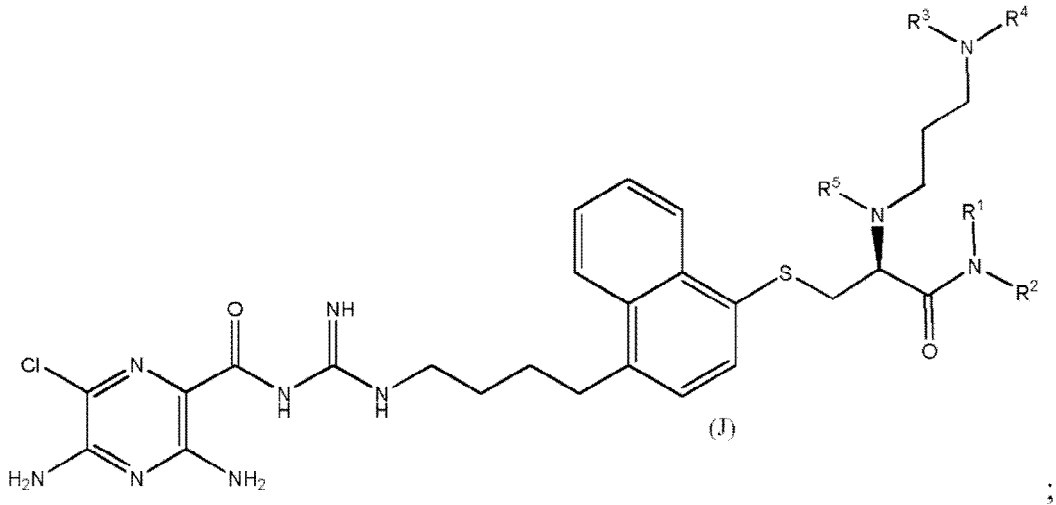
(II)

;



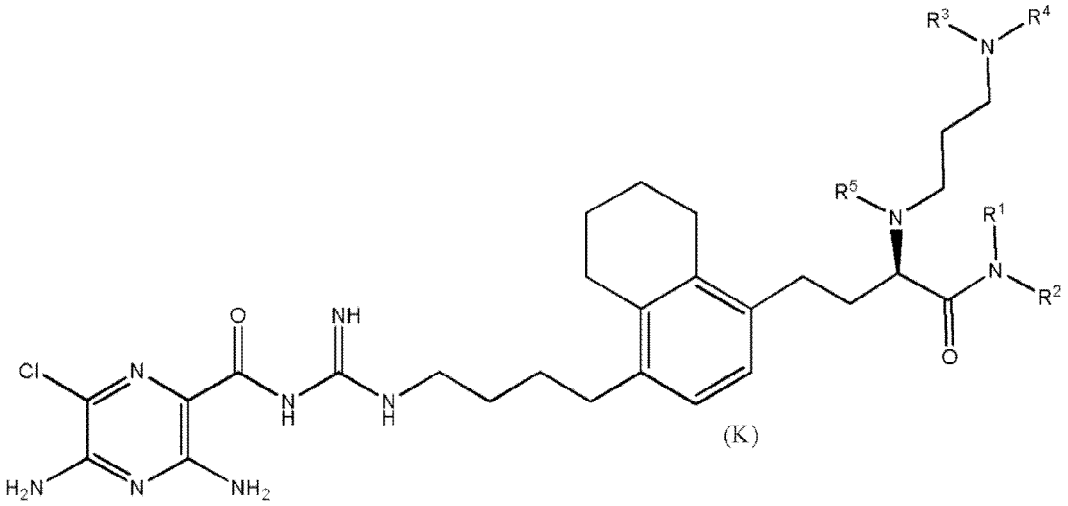
(I)

;

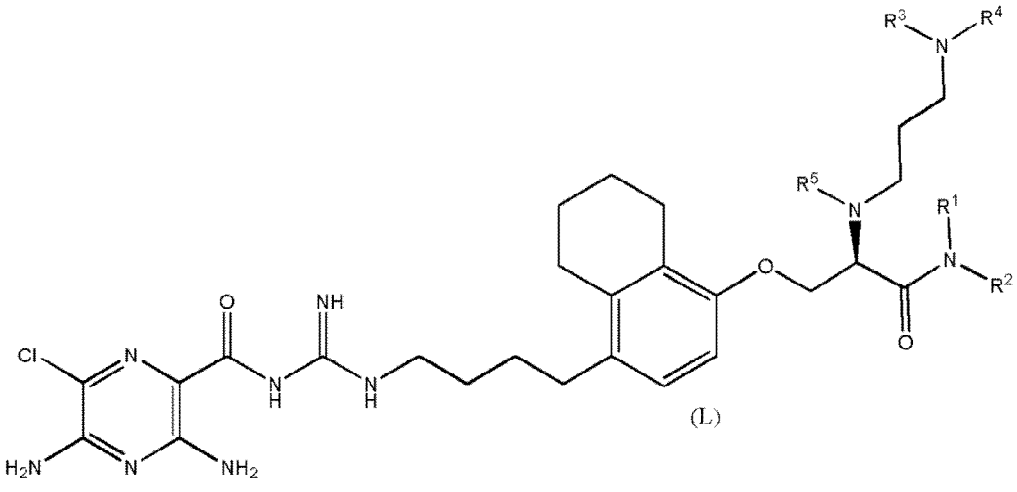


(J)

;



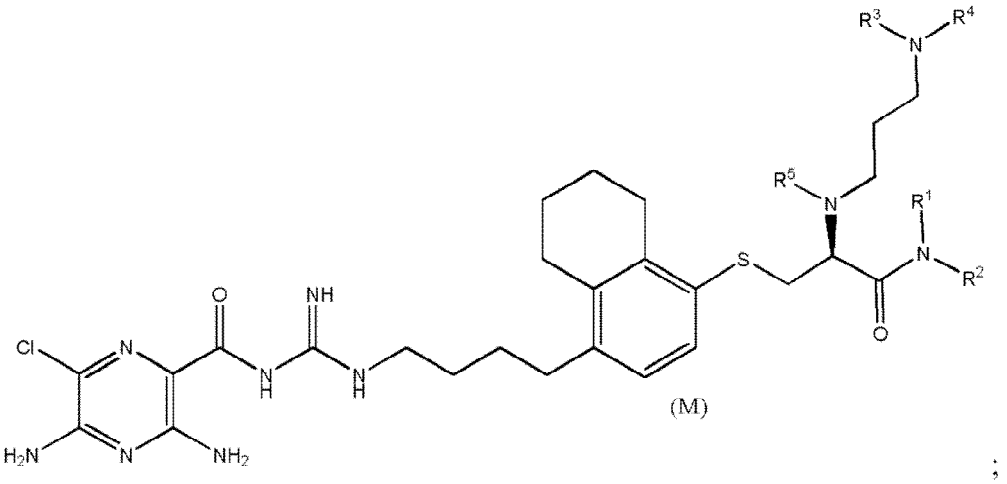
(K)



(L)

;

o



(M)

;

en donde:

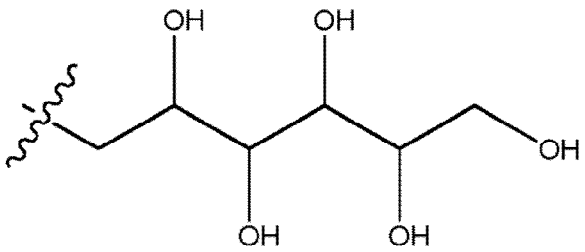
R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H y alquilo C_1-C_6;
o R^1 y R^2 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 miembros o 6 miembros que contiene opcionalmente un heteroátomo en el anillo adicional seleccionado entre N y O;
R^3 es un grupo alquilo que tiene de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono;
R^4 es un grupo alquilo polihidroxilado que tiene de 3 a 8 átomos de carbono; y
R^5 se selecciona de H y alquilo C_1-C_3;
o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el grupo alquilo polihidroxilado R^3 tiene la fórmula $-CH_2-(CHR^5)_n$, en donde 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 sean OH, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula $-CH_2-CHOH-(CHR^6)_m$, en donde m es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6, y R^6 es independientemente en cada caso H u OH, con la condición de que al menos uno de los grupos R^6 sea OH, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

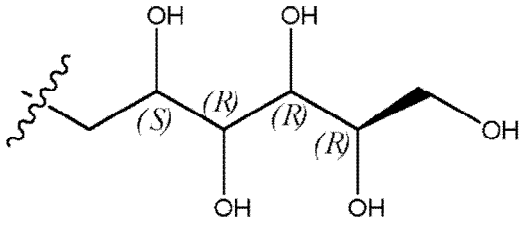
6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula $-CH_2-(CHOH)_n-CH_2OH$, en donde n es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 o 6, o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de los mismos.

7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula:



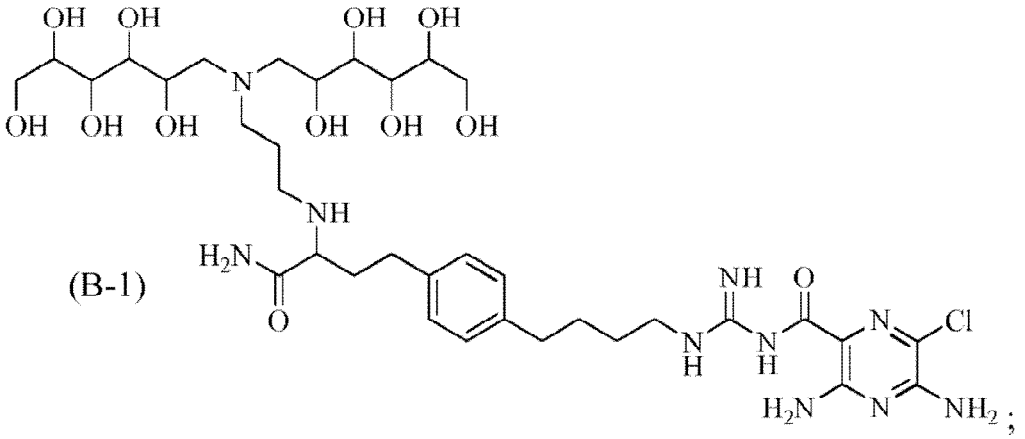
o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el grupo alquilo polihidroxilado tiene la fórmula:

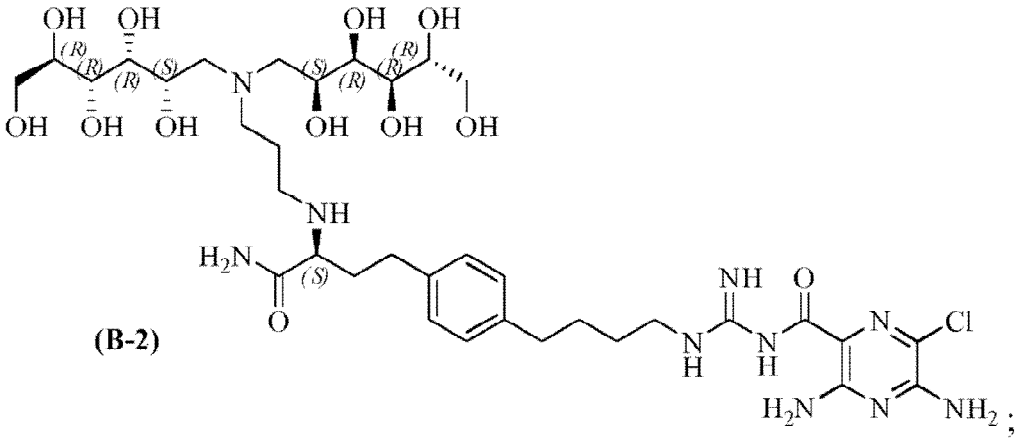


o una sal o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

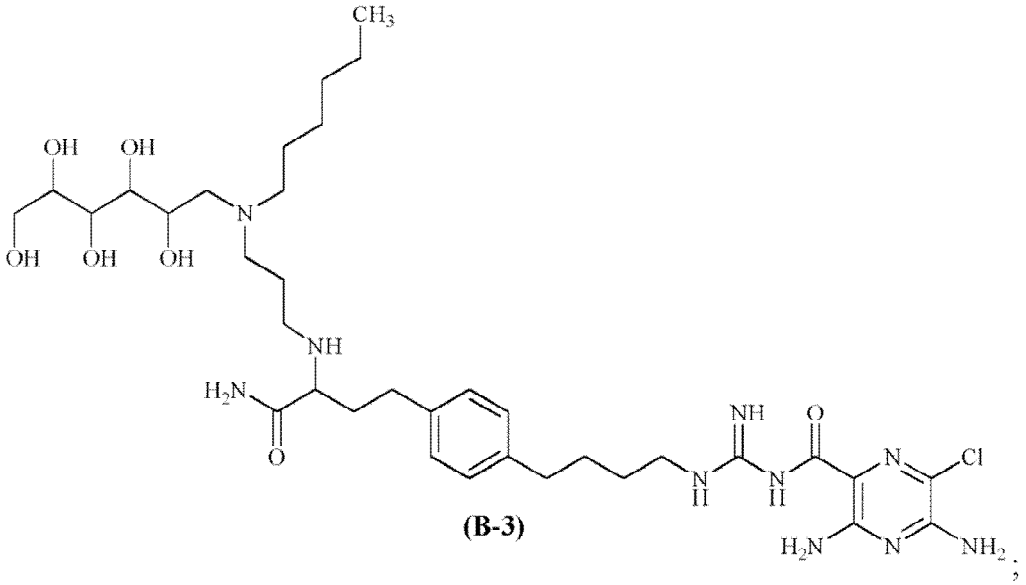
9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 4-8 que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:



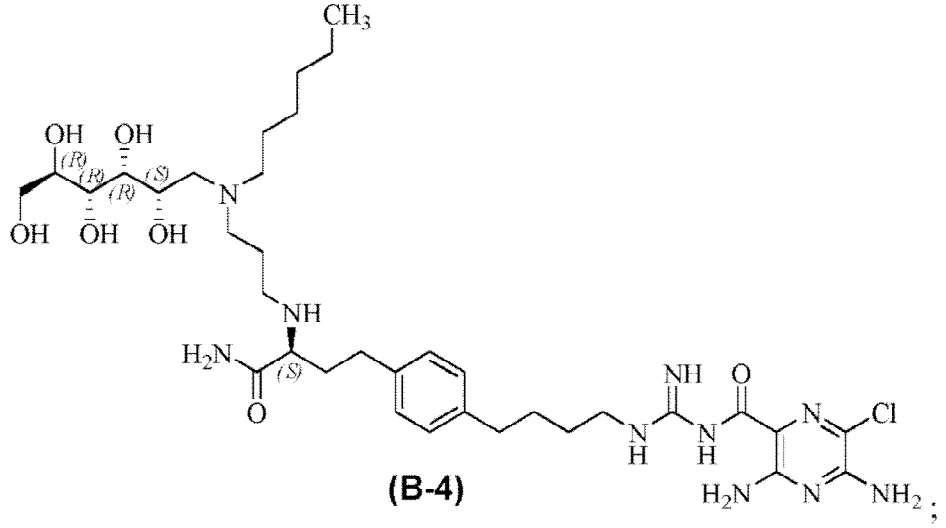
(B-1)



(B-2)

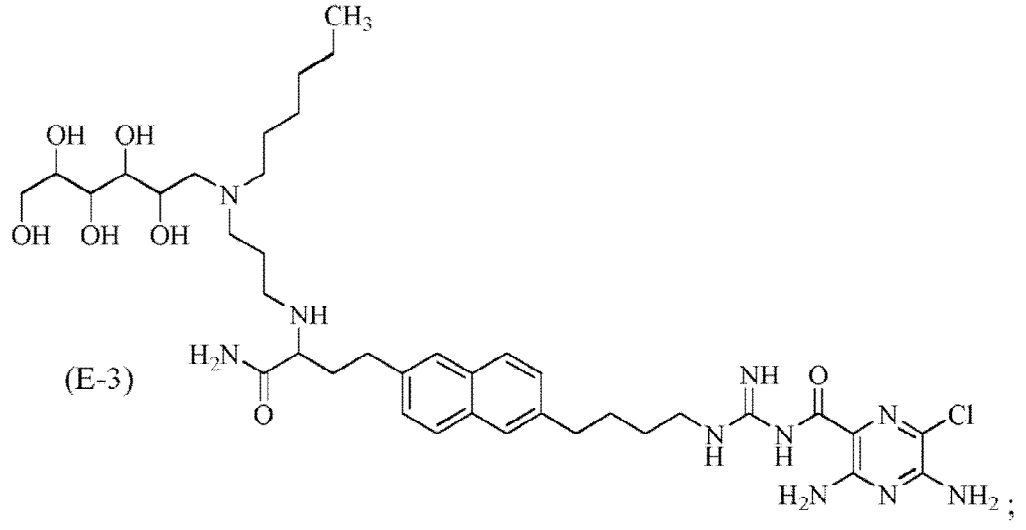


(B-3)

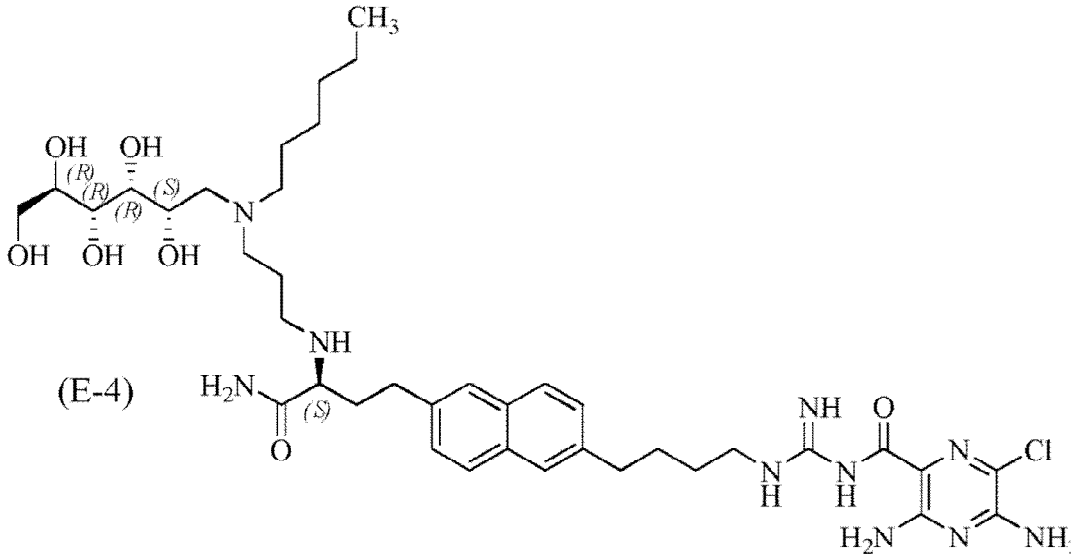


(B-4)

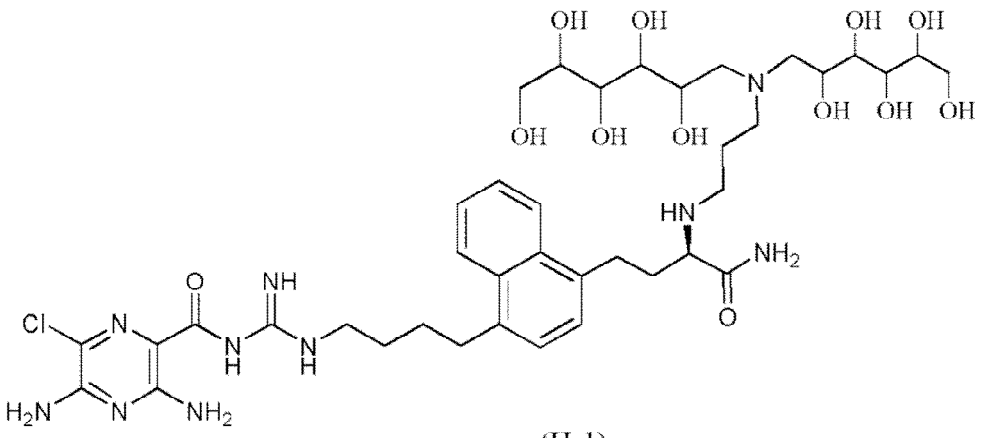
(E-3)



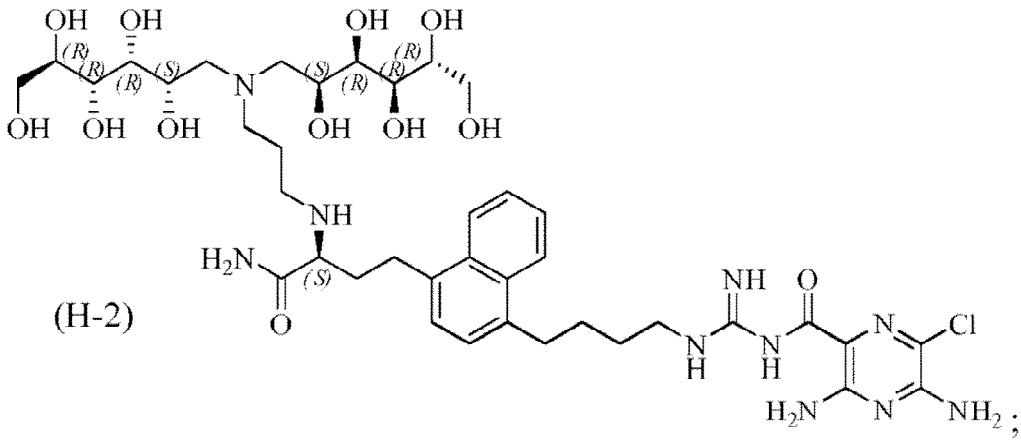
(E-4)



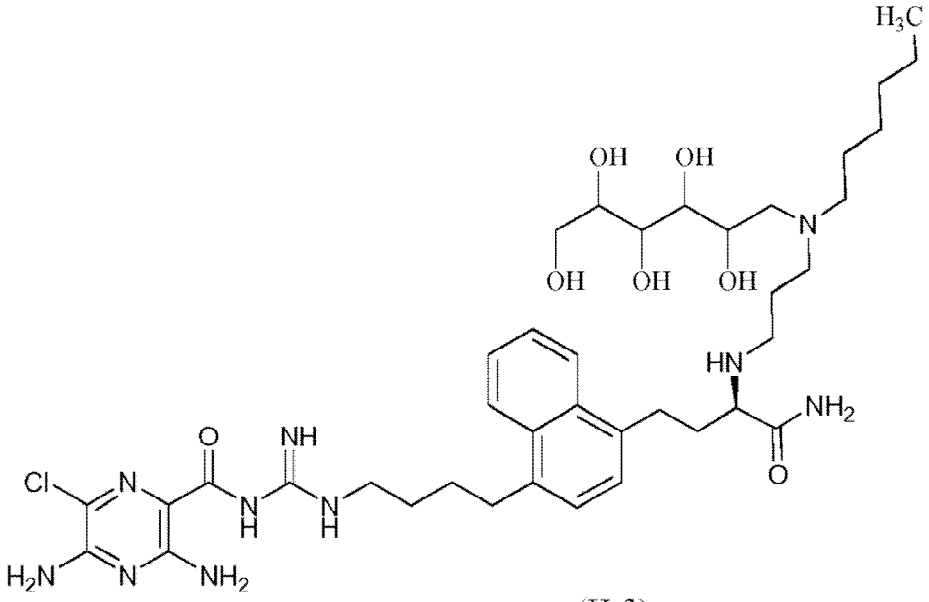
(H-1)



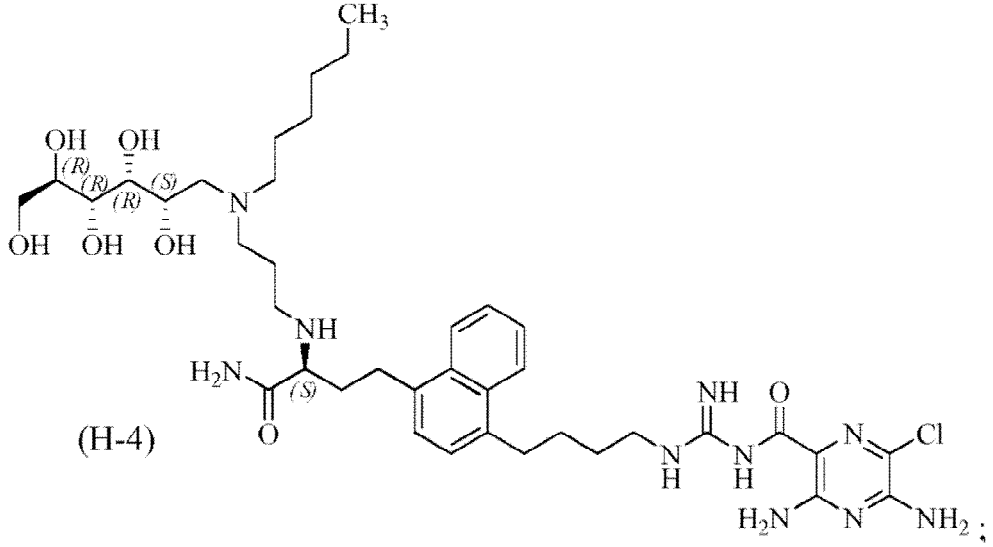
(H-2)



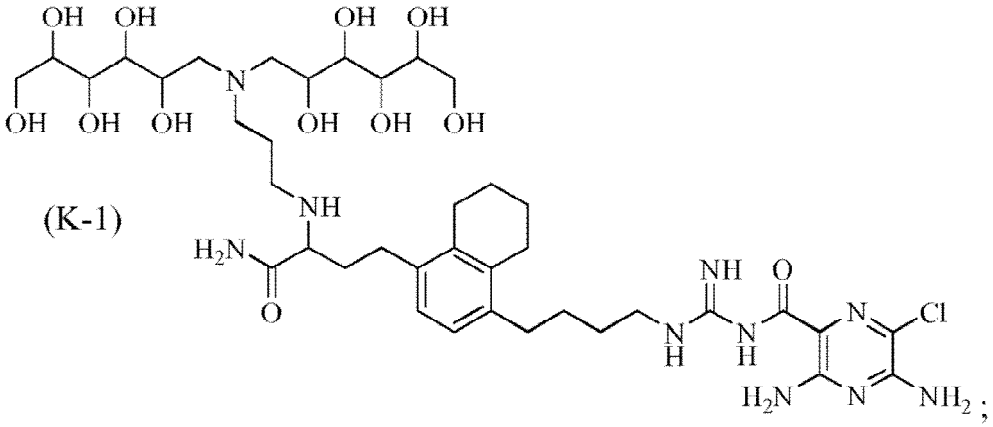
;



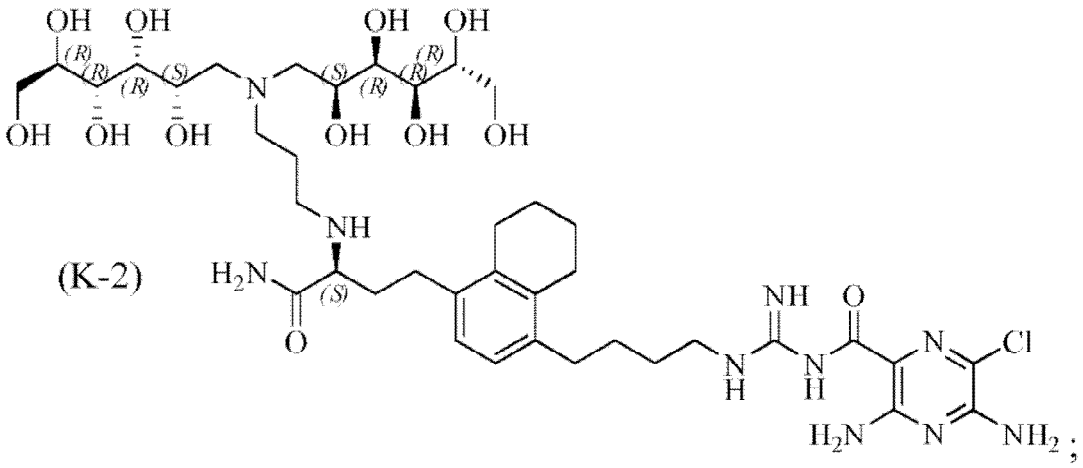
(H-3) ;



(H-4) ;



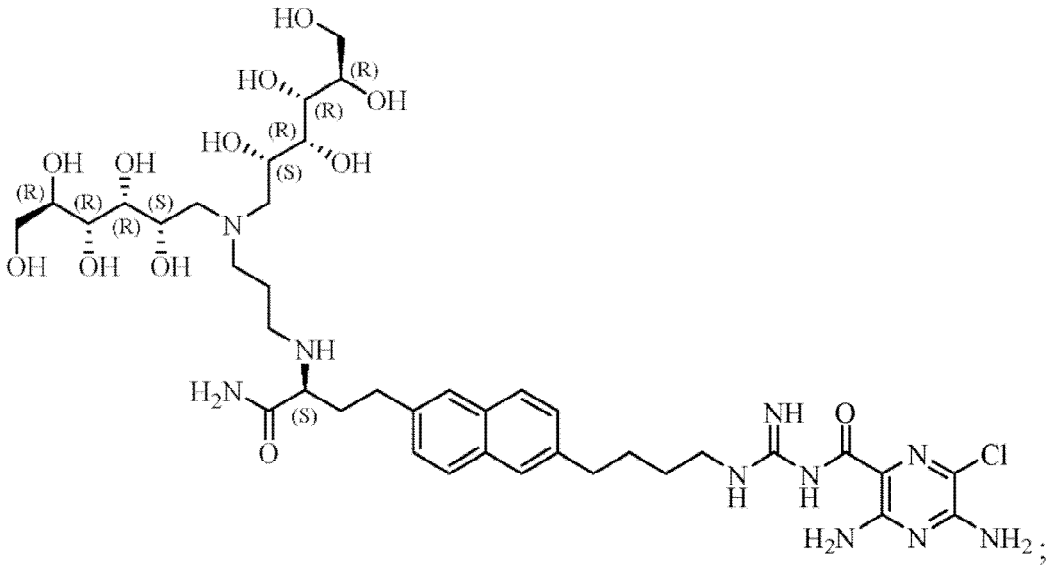
(K-1) ;



(K-2)

;

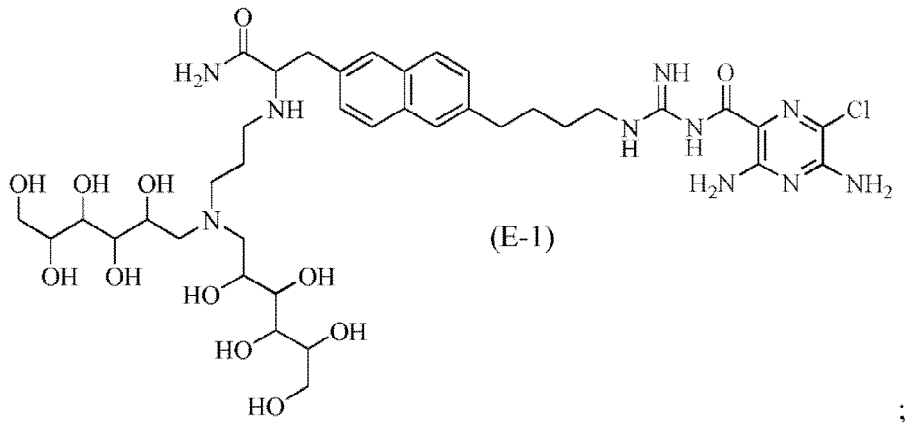
y



;

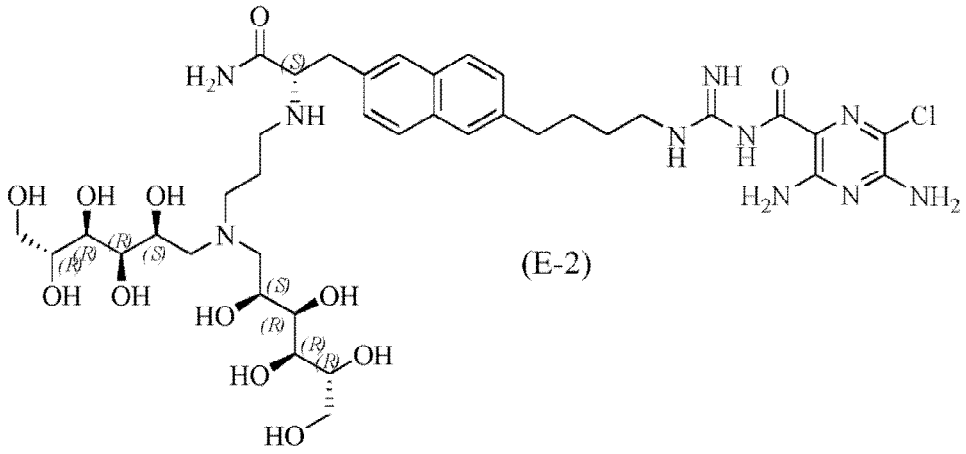
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10. Un compuesto de una de las siguientes fórmulas:



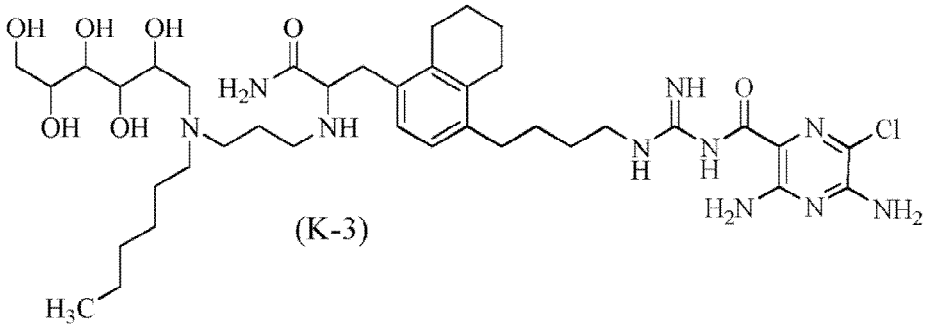
(E-1)

;



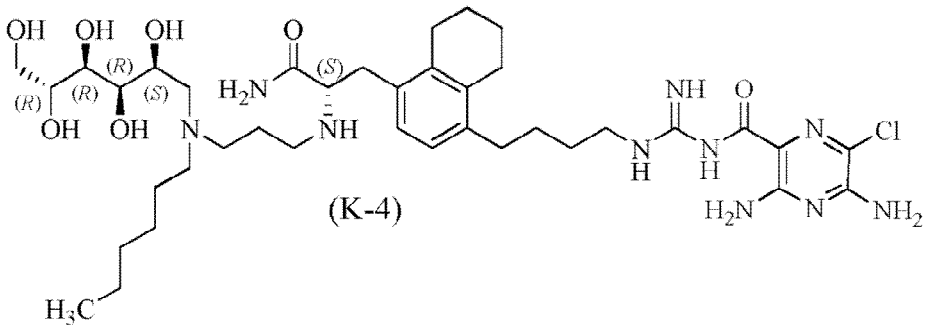
(E-2)

;



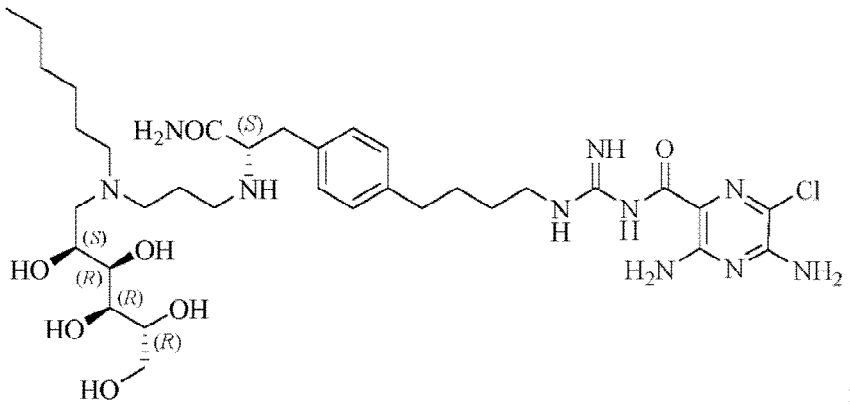
(K-3)

;

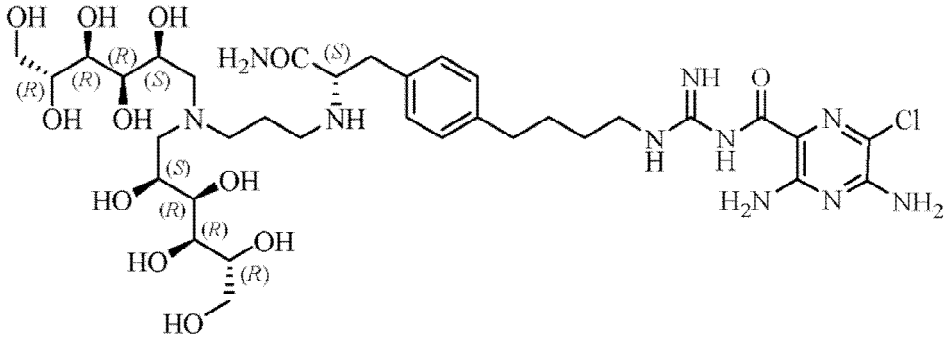


(K-4)

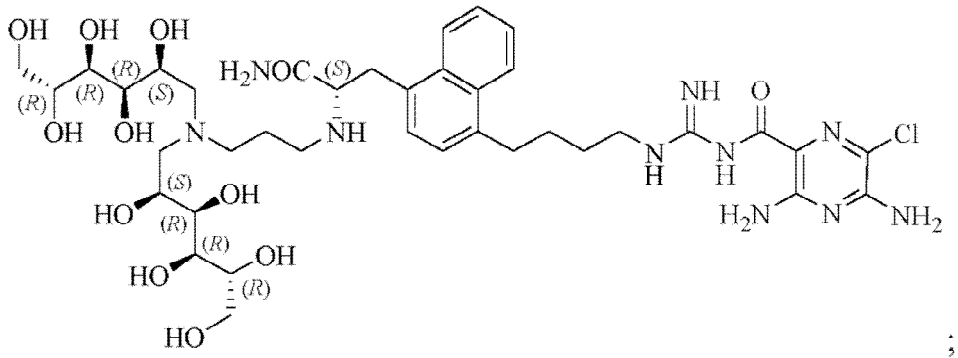
;



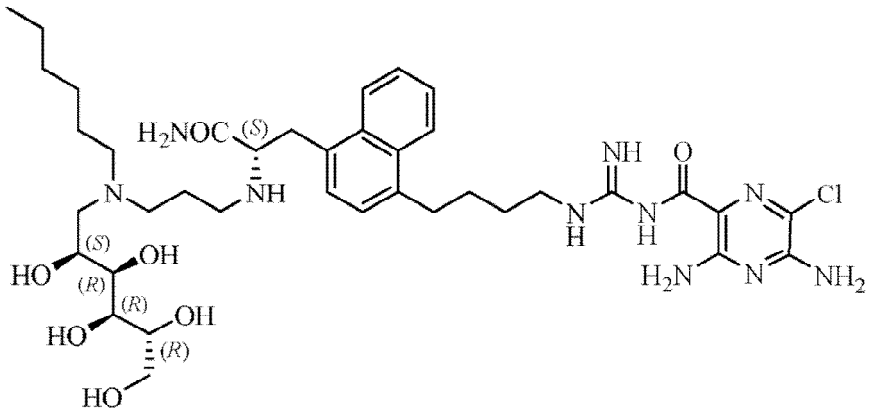
;



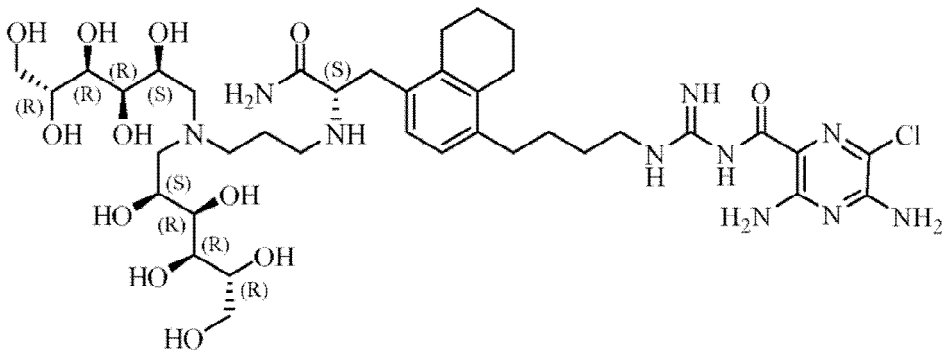
;



;



;

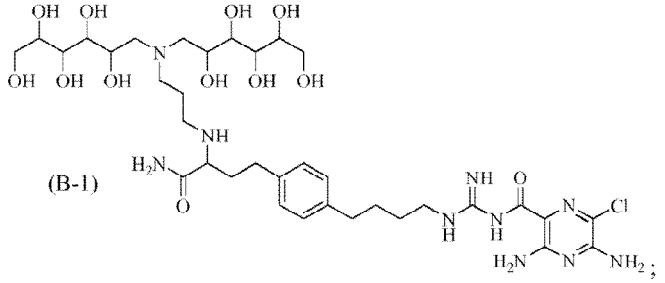


;

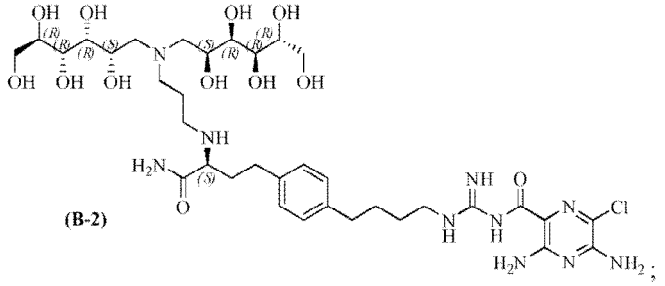
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 4-8, en el que el compuesto es de una de las

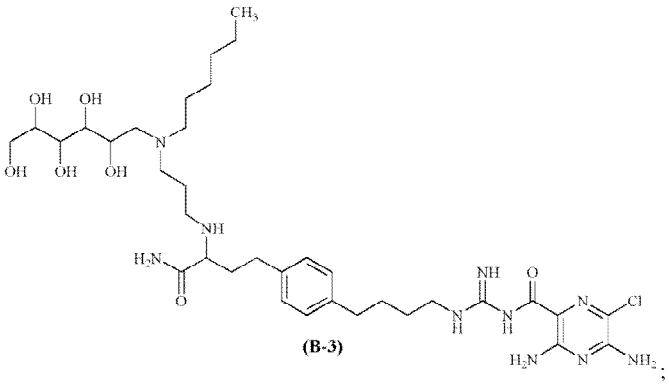
siguientes fórmulas:



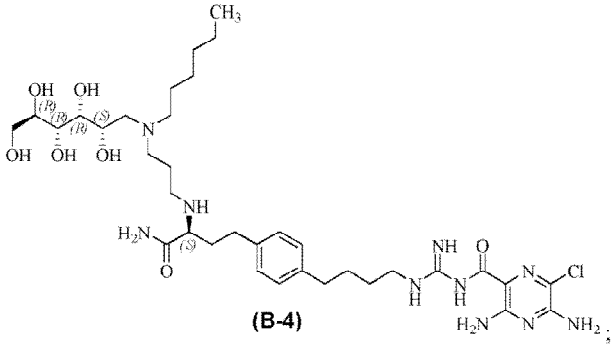
(B-1)



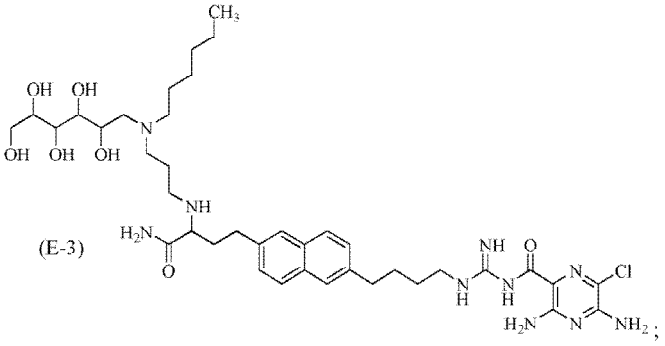
(B-2)



(B-3)

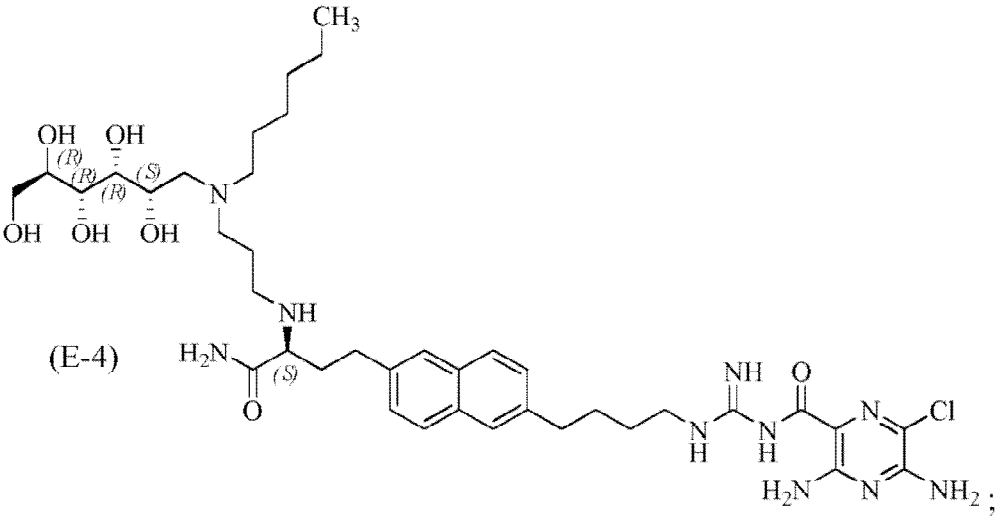


(B-4)

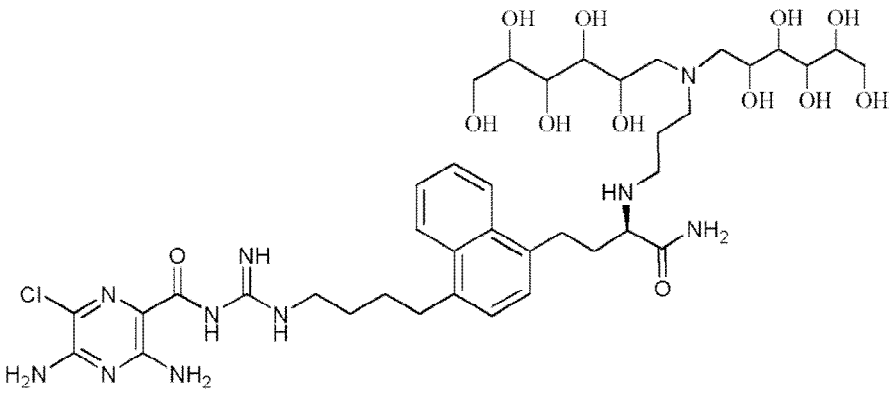


(E-3)

(E-4)

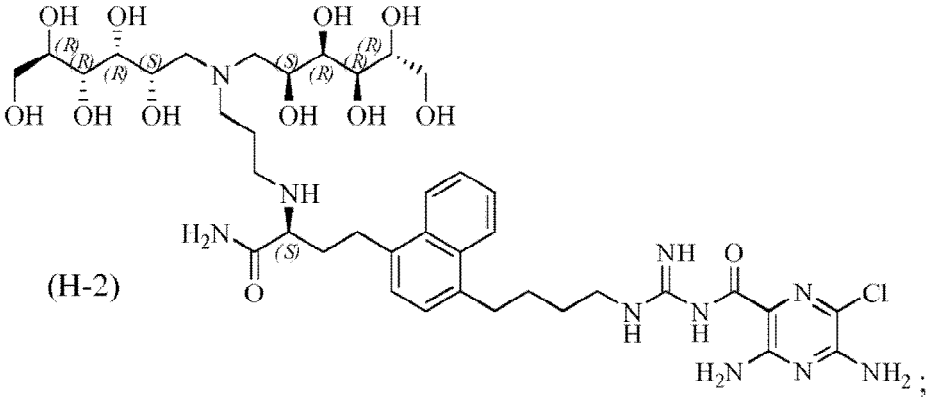


;



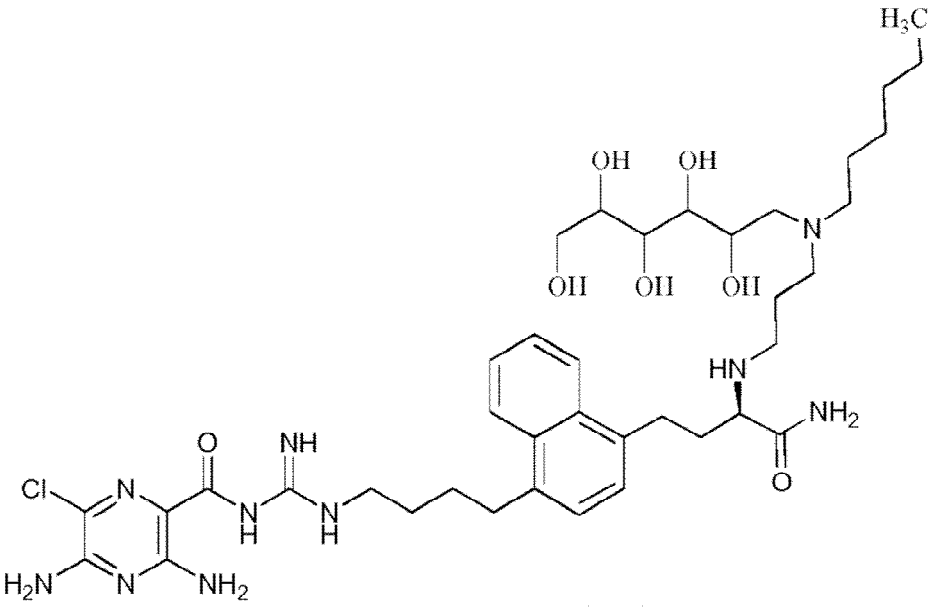
(H-1)

;

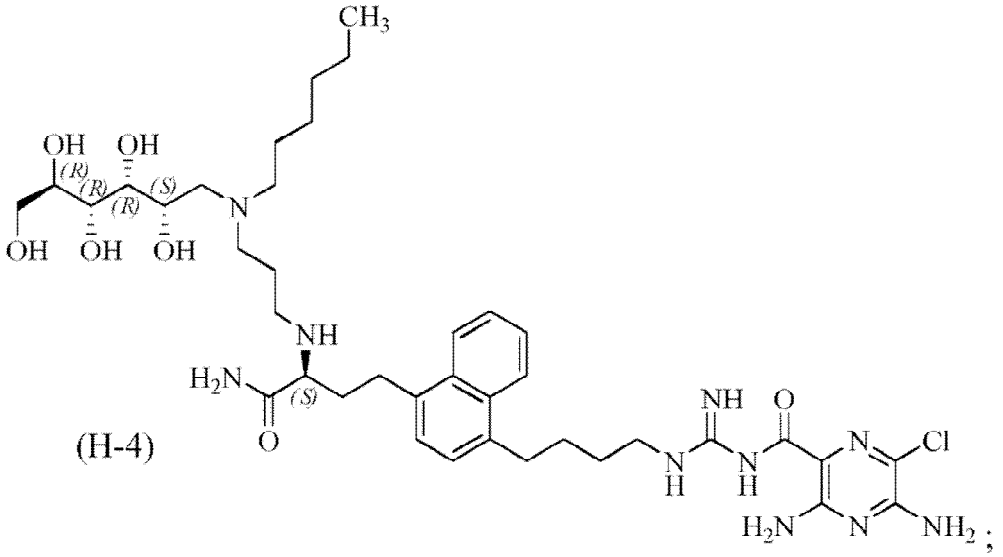


(H-2)

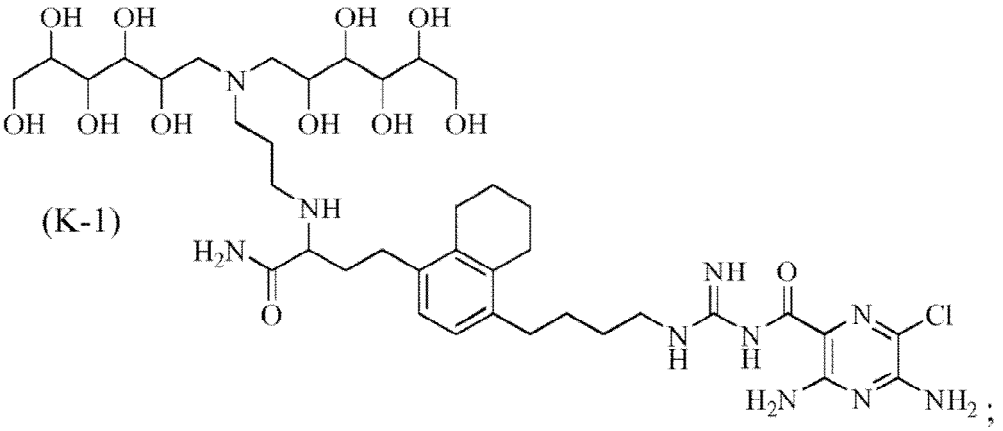
;



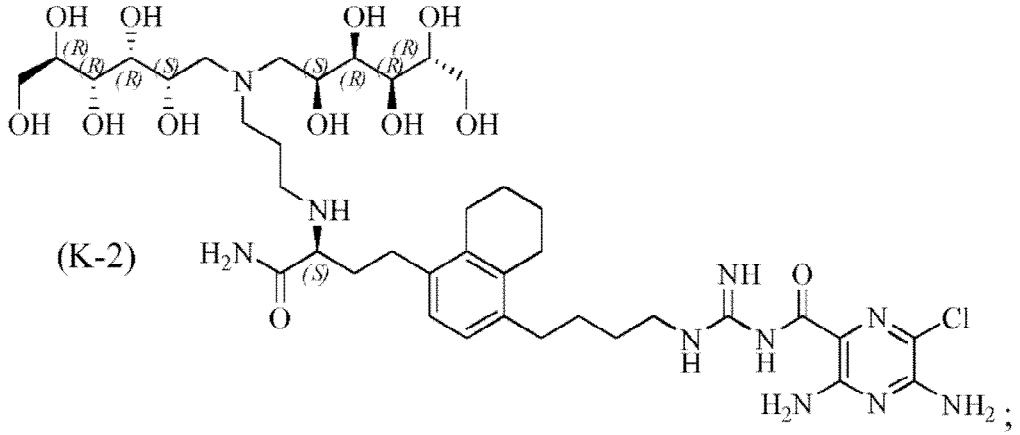
(H-3) ;



(H-4) ;

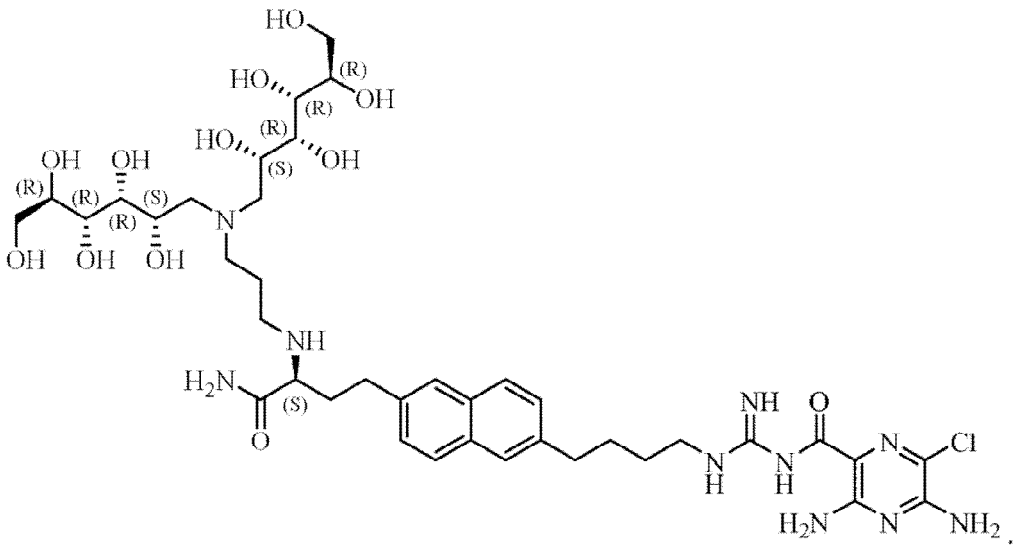


(K-1) ;



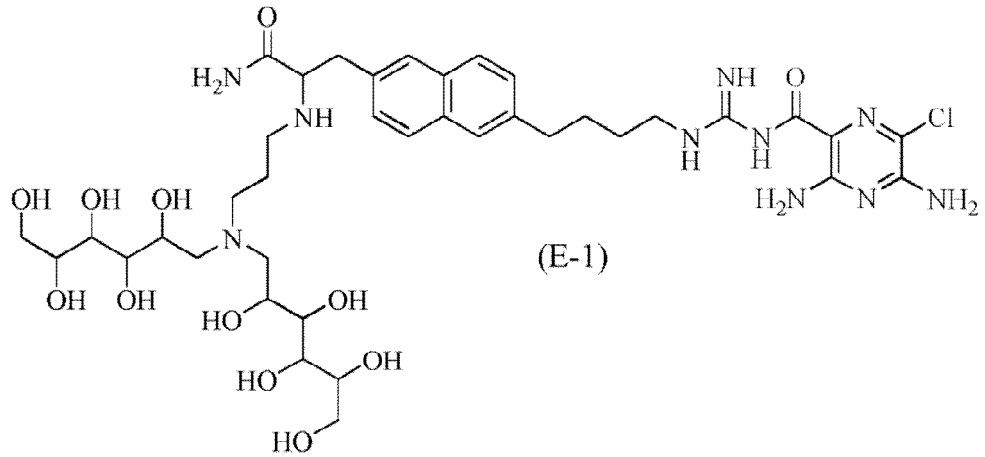
;

y

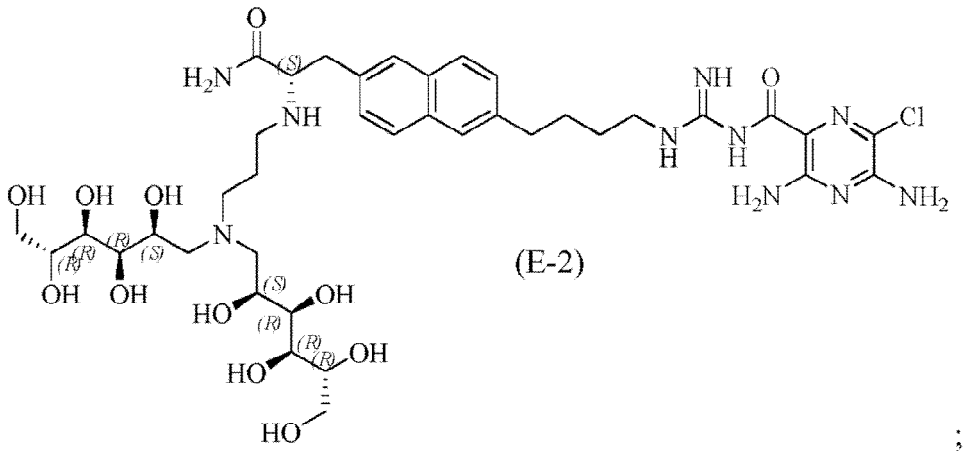


.

12. El compuesto de la reivindicación 10, en donde el compuesto es de una de las siguientes fórmulas:

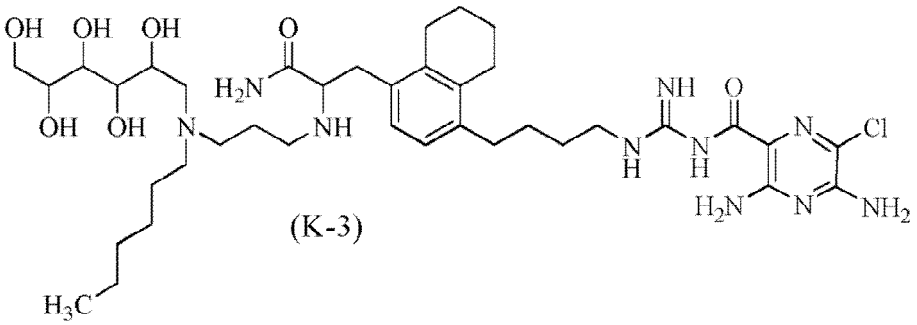


;



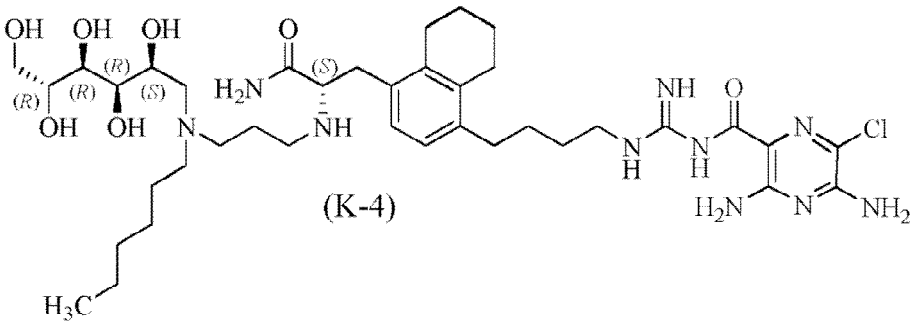
(E-2)

;



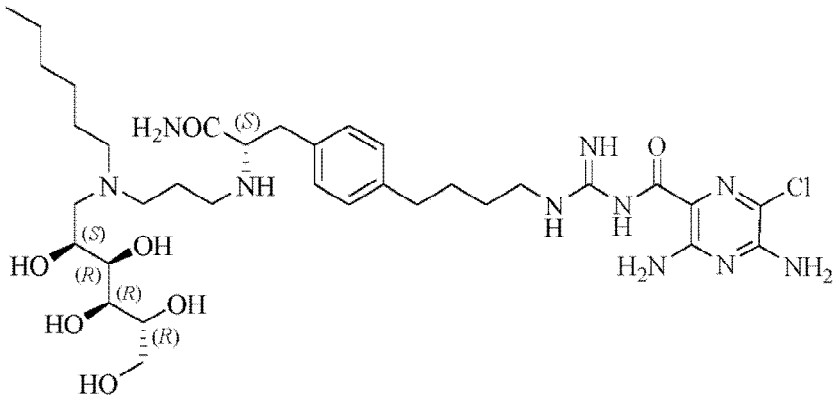
(K-3)

;

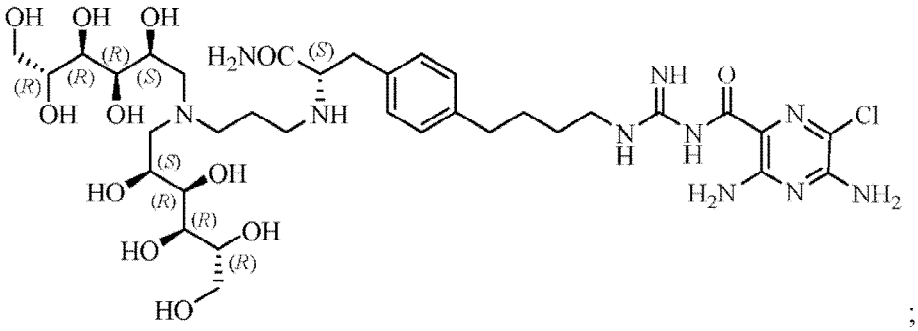


(K-4)

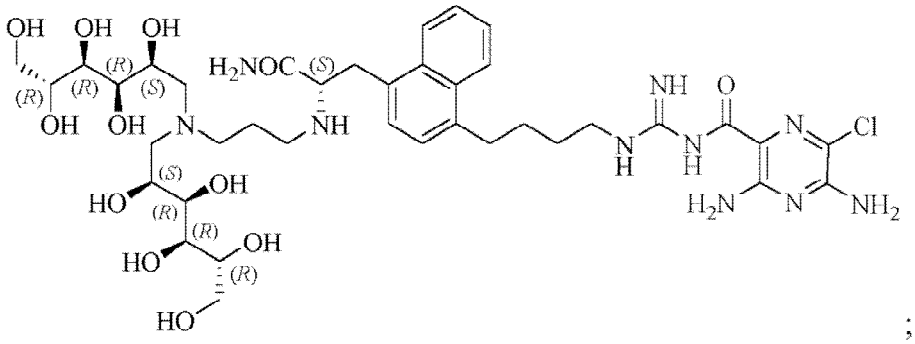
;



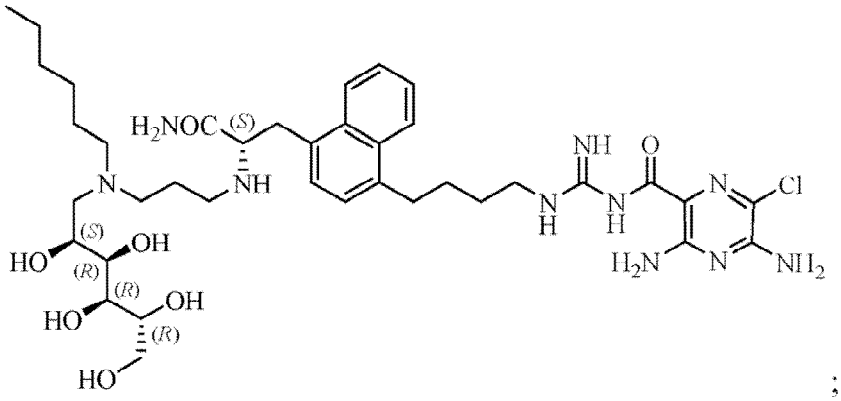
;



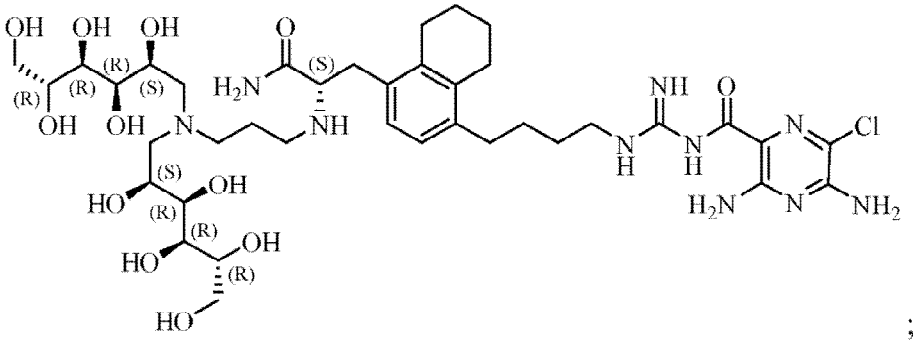
;



;

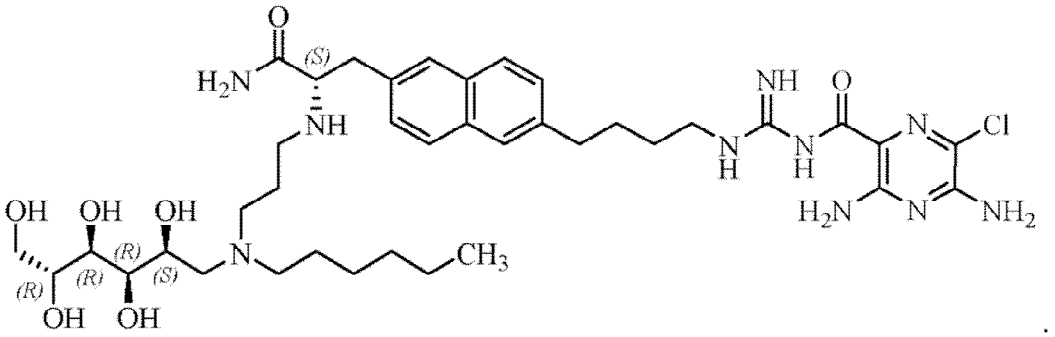


;



;

o



13. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

14. La composición de la reivindicación 13, en donde dicha composición es adecuada para inhalación.

15. La composición de la reivindicación 13 o 14, en donde dicha composición es una solución para aerosolización y administración por nebulizador o inhalador de dosis medida.

16. La composición de la reivindicación 13 o 14, en la que dicha composición es una pólvora para la administración por inhalador de polvo seco.

17. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 13-16, que comprende además una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente terapéuticamente activo seleccionado de moduladores de CFTR, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β–agonistas, agonistas de receptores P2Y2, agonistas de receptores activados por proliferadores de peroxisoma, inhibidores de quinasas, agentes antiinfecciosos y antihistamínicos.

18. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizar el método para bloquear canales de sodio en un ser humano.

19. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para promover la hidratación de las superficies de la mucosa o restaurar la defensa de la mucosa en un ser humano.

20. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como medicamento.

21. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13-17, para uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea, enfermedad pulmonar obstructiva crónica. (EPOC), asma, bronquiectasias (incluyendo bronquiectasias debidas a condiciones distintas de la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos posvírica, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis, bronquiolitis asociada al trasplante y traqueobronquitis asociada a ventilador, o prevención de neumonía asociada a ventilador en un ser humano que lo necesite.

22. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13-17, para uso en el tratamiento de boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis, deshidratación nasal, incluyendo deshidratación nasal provocada 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 la promoción de hidratación ocular o corneal, en un ser humano que lo necesite.

23. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 13-17, para uso en el tratamiento de la fibrosis quística en un ser humano que lo necesite.

24. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 13-17, para uso en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en un ser humano que lo necesite.

25. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 13- 17, para uso en el tratamiento de discinesia ciliar primaria en un ser humano que lo necesite.

26. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 13-17, para uso en el tratamiento de bronquiectasias en un ser humano que lo necesite.

27. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para prevenir, mitigar y/o tratar efectos deterministas para la salud del tracto respiratorio y/u otros órganos corporales causados por aerosoles respirables que contienen radionucleidos en un ser humano que lo necesite.

28. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un osmolito.

29. La composición farmacéutica de la reivindicación 28, en la que el osmolito es solución salina hipertónica o manitol.

30. La composición farmacéutica de la reivindicación 28 o 29, en la que el osmolito es una solución salina hipertónica.

Figura 1. Respuesta de dosis del compuesto II-d en ovejas CCM a 4 horas post dosis

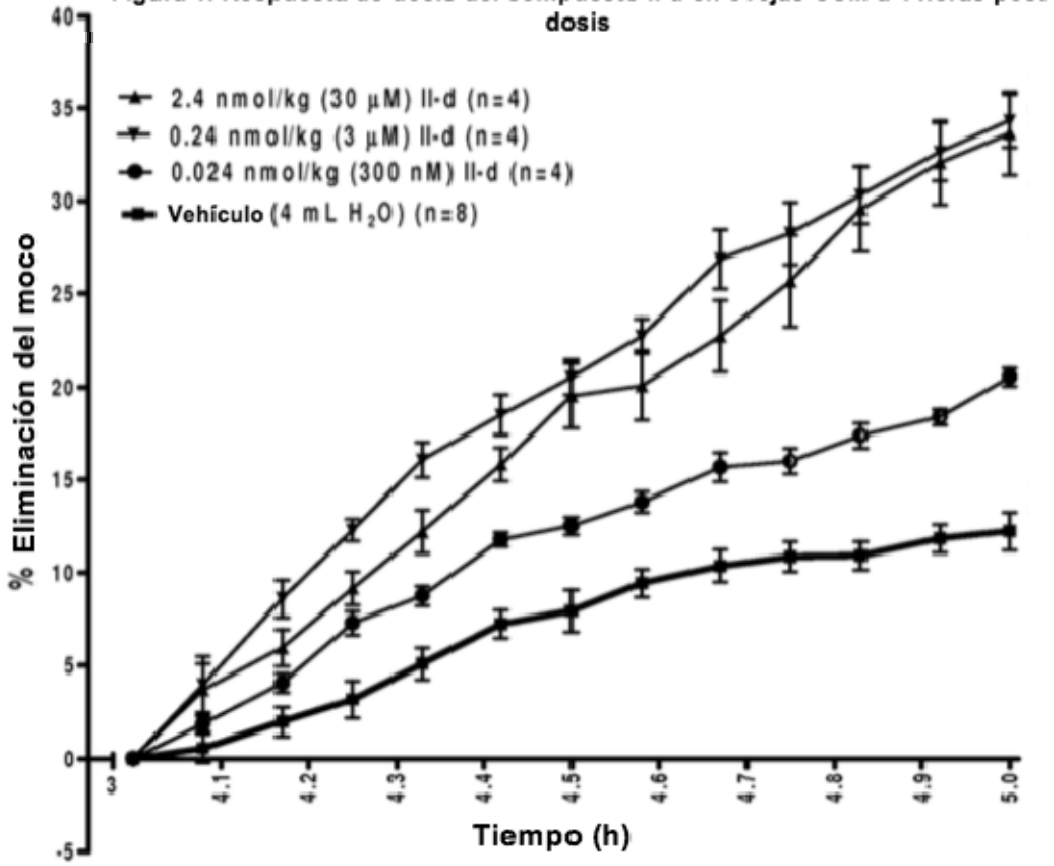


Figura 2. Efecto del compuesto II-d en potasio de plasma de oveja desde Predosis

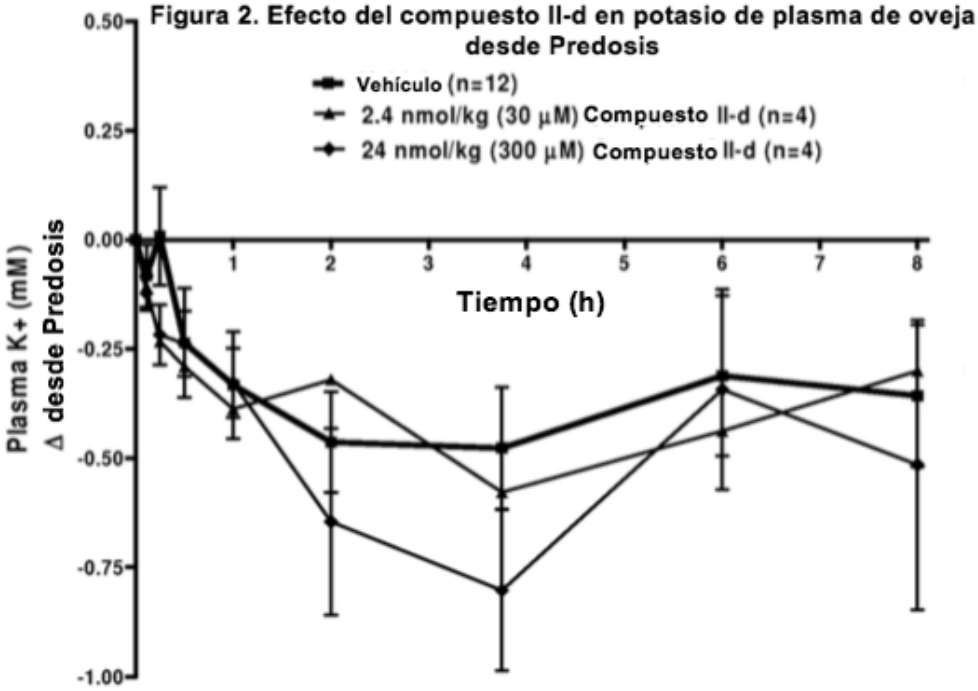


Figura 3. Efecto del compuesto V-d en oveja CCM a 4 horas post dosis

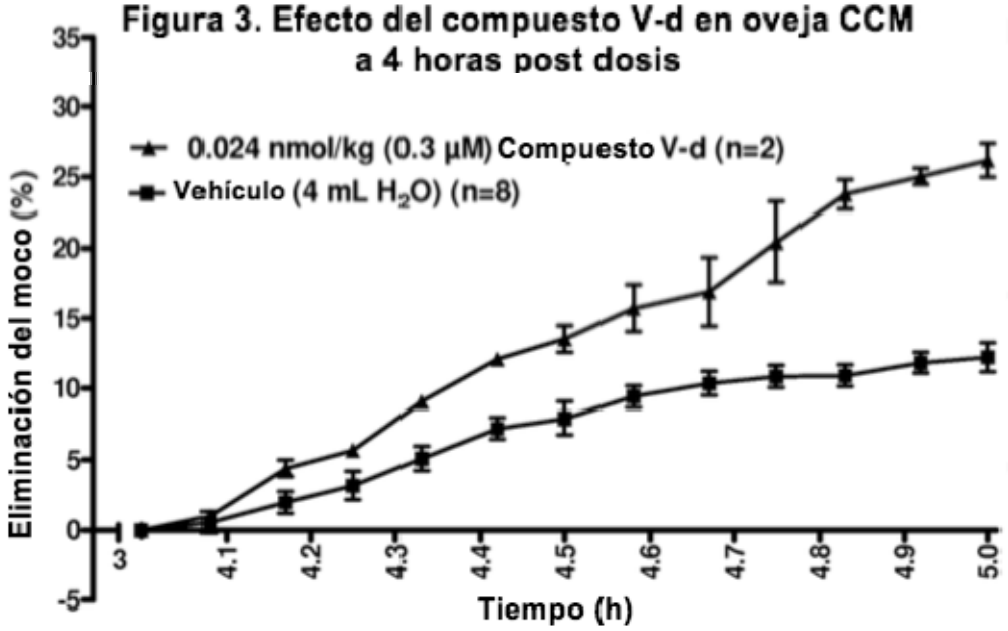


Figura 4. Efecto del Ejemplo Comparativo I en oveja CCM a 4 horas post dosis

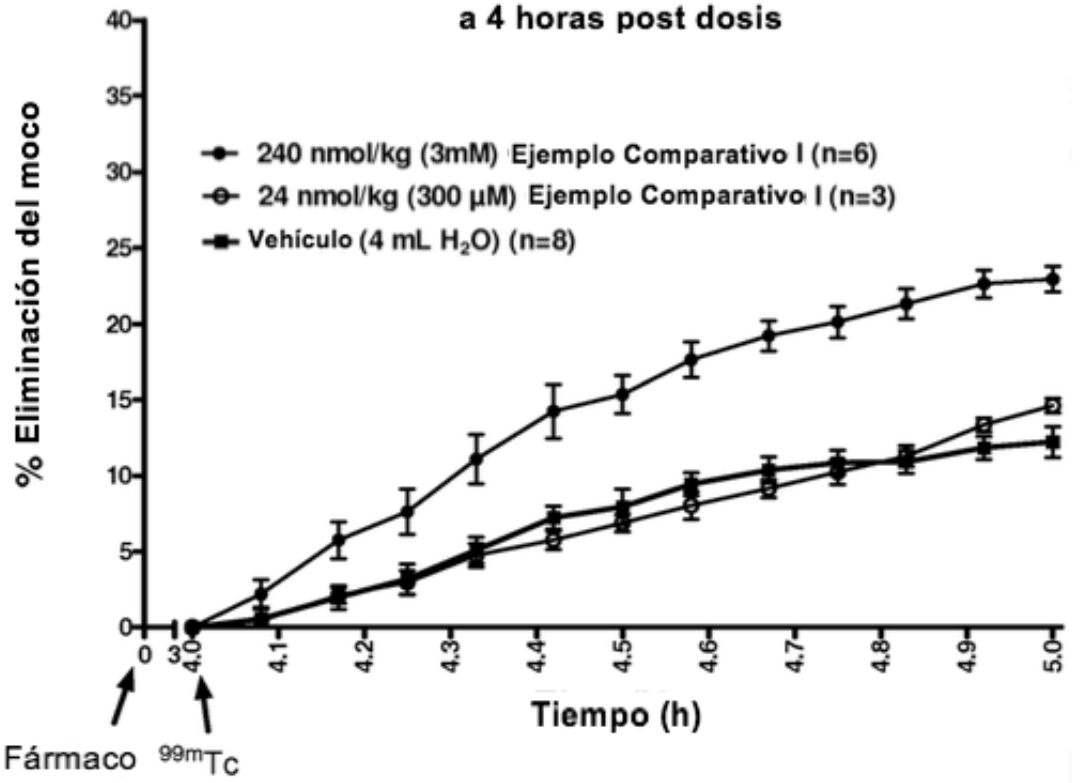


Figura 5. Ejemplo Comparativo I eleva niveles de potasio de plasma en ovejas a la dosis DE_{50}

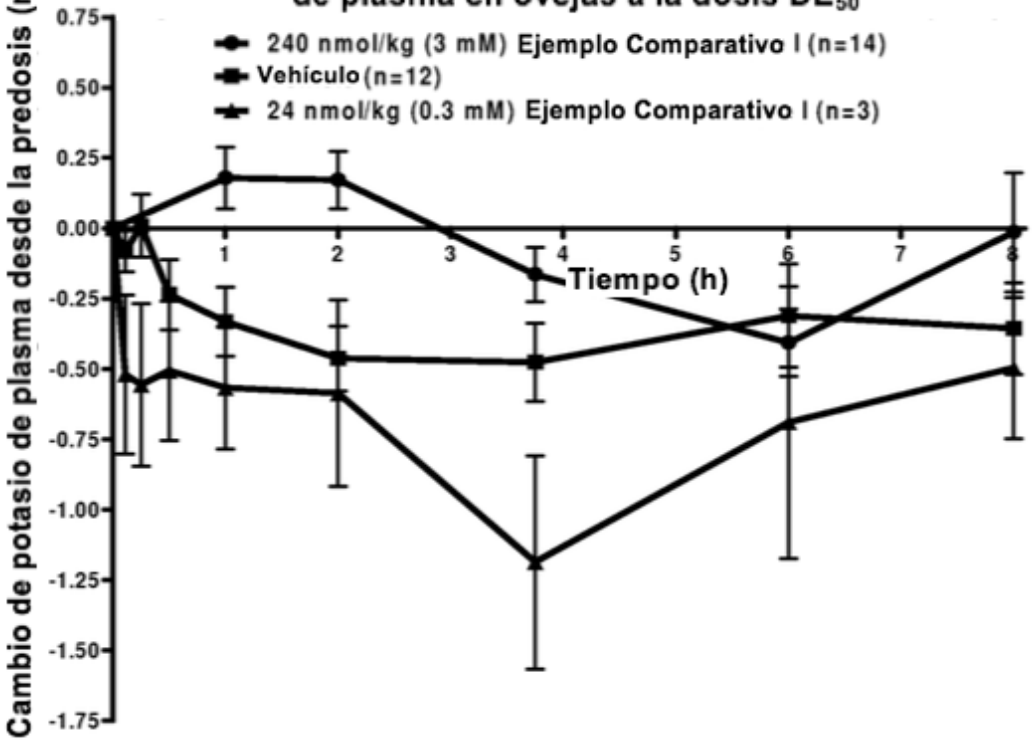


Figura 6. Efecto del Compuesto II-d y el Ejemplo Comparativo I en ovejas CCM a 4 horas post dosis

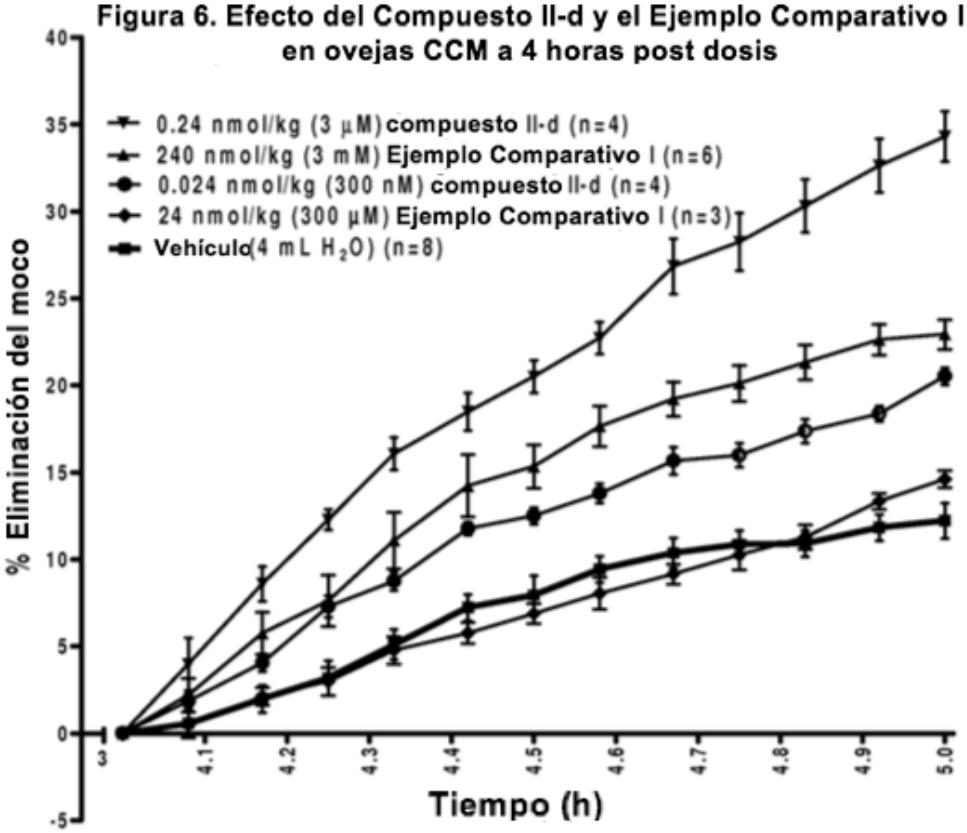
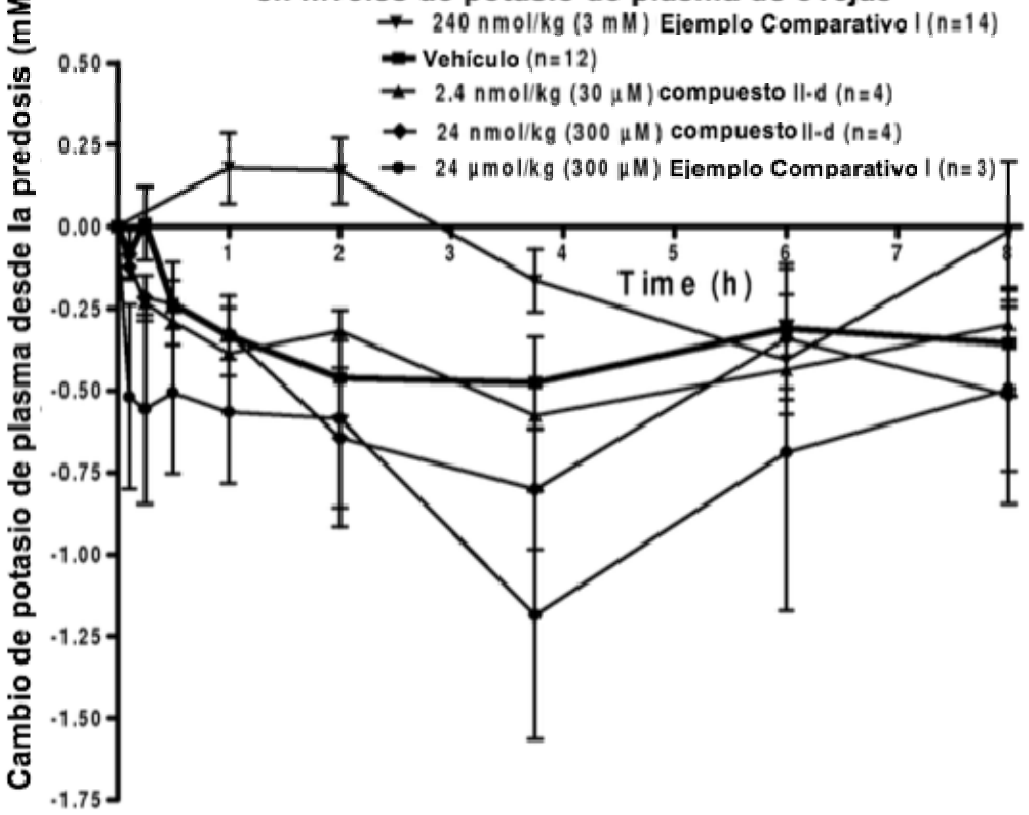



Figura 7. Efecto del Compuesto II-d y el Ejemplo Comparativo I en niveles de potasio de plasma de ovejas