

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 588**

51 Int. Cl.:

C07D 241/32 (2006.01)

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.05.2013 PCT/US2013/043080**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.12.2013 WO13181232**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2013 E 13797599 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018 EP 2855435**

54 Título: **Dendrímero como aminoamidas que posee actividad de bloqueador de canal de sodio para el tratamiento del ojo seco y otras enfermedades mucosas**

30 Prioridad:

29.05.2012 US 201261652481 P

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

11.07.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**JOHNSON, MICHAEL, ROSS;
THELIN, WILLIAM ROBERT y
BOUCHER, RICHARD, C.**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 675 588 T3

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

Dendrímero como aminoamidas que posee actividad de bloqueador de canal de sodio para el tratamiento del ojo seco y otras enfermedades mucosas**Descripción**

- 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION
- Campo de la invención
- 10 **[0001]** La presente invención se refiere a bloqueadores de canales de sodio. La presente invención también incluye compuestos para uso en una variedad de métodos de tratamiento que usan estos bloqueadores de canales de sodio de la invención, sus formas de sal farmacéuticamente aceptables, que son útiles como bloqueadores de canales de sodio, composiciones que contienen los mismos, métodos terapéuticos que incluyen, pero no se limitan a tratar el ojo seco, tratar el ojo seco asociado a la enfermedad de Sjogren, promover la hidratación ocular, promover la hidratación corneal y el tratamiento de otras enfermedades y usos de la mucosa para la misma y los procesos para preparar la misma. La presente invención también se refiere a nuevos compuestos para uso en el tratamiento del ojo seco, que incluyen particularmente (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazaniildi)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidinohexanamida) y sus formas de sal farmacéuticamente aceptables, que son útiles como bloqueantes de los canales de sodio, composiciones que contienen los mismos, métodos terapéuticos que incluyen, pero no se limitan a, tratar el ojo seco, tratar el ojo seco asociado a la enfermedad de Sjogren, promover la hidratación ocular, promover la hibridación corneal y el tratamiento de otras enfermedades de la mucosa y usos para el mismo y procesos para preparar el mismo.
- 25 Descripción del fondo
- [0002]** Las células epiteliales de la mucosa en la interfaz entre el entorno y el cuerpo han desarrollado varias "defensas innatas", es decir, mecanismos de protección. Una función principal de tal defensa innata consiste en limpiar estas superficies de microorganismos, partículas y otros materiales extraños. Este proceso requiere la presencia de una capa de líquido para impulsar estos microorganismos, partículas y otros materiales extraños lejos del cuerpo para evitar la colonización de microorganismos y/o daño tisular. 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 (C1⁻ y/o HCO₃⁻) junto con el agua (y un contraión catiónico) y la absorción del líquido epitelial. a menudo reflejando la absorción de Na⁺, junto con el agua y el contra anión (C1⁻ y/o HCO₃⁻). 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 poca) y la absorción (relativamente demasiada). Los procesos críticos de transporte de sal que caracterizan una serie de disfunciones de la mucosa reside en la capa epitelial de la superficie de la mucosa.
- 40 **[0003]** La enfermedad crónica del ojo seco, también conocida como queratoconjuntivitis sicca, es una de las enfermedades oculares diagnosticadas con más frecuencia, que afecta a más de 5 millones de personas solo en los Estados Unidos. El ojo seco se caracteriza por la insuficiencia del líquido lagrimal acuoso en los ojos, que produce irritación dolorosa, inflamación en la superficie ocular y visión deteriorada, y es causada por la falla de las glándulas lacrimales para secretar líquido ante la continua absorción líquida dependiente de Na⁺ en las superficies conjuntivas. El ojo seco es una enfermedad multifactorial, que resulta de una etiología común de la película lagrimal insuficiente, que causa daño en la superficie ocular y síntomas de incomodidad ocular.
- 50 **[0004]** Las pocas terapias actuales disponibles, que incluyen tanto agentes inmunosupresores como reemplazos de lágrimas de venta libre, no son suficientemente eficaces para muchos usuarios o solo proporcionan un alivio transitorio de los síntomas del ojo seco. El mercado de ojo seco está dominado por los reemplazos de lágrimas de venta libre (OTC) o las lágrimas artificiales, que se estima que se utilizarán por ~ 80% de los pacientes con ojo seco. Los desgarros artificiales proporcionan un alivio sintomático inmediato de la sensación de quemazón e irritación ocular al agregar líquido a la superficie ocular. Sin embargo, los beneficios de las lágrimas artificiales son de corta duración ya que las gotas de la identificación de la gripe se eliminan rápidamente de la superficie ocular, proporcionando, como máximo, alivio paliativo y que requieren una aplicación frecuente durante todo el día.
- 60 **[0005]** Mientras que los individuos con ojo seco pueden no exhibir inflamación ocular evidente, como ojos rojos inflamados, la inflamación ocular crónica ahora se reconoce bien como un factor significativo que perpetúa el ciclo crónico del ojo seco. El medicamento recetado aprobado para el tratamiento del ojo seco crónico es Restasis® (emulsión de ciclosporina A al 0,05%, Allergan), que se comercializa para aumentar la producción de lágrimas "en pacientes cuya producción de lágrimas se presume está suprimida debido a la inflamación ocular asociada a queratoconjuntivitis sicca". En un ensayo pivotal de fase 3 de seis meses en sujetos con ojo seco, Restasis aumentó estadísticamente el volumen de lágrimas (evaluado mediante humectación Schirmer) en el 15% de los individuos tratados, en comparación con el 5% en el vehículo. Si bien el mecanismo de Restasis no se comprende completamente, se especula que la inhibición de la inflamación ocular crónica puede, con el tiempo, restablecer la sensibilidad corneal y mejorar el desgarro reflejo. Sin embargo, Restasis tiene una tasa de respuesta baja, una
- 65

demora de 3 meses para un beneficio terapéutico completo y efectos secundarios, como la quema en la aplicación.

[0006] Por lo tanto, el desarrollo de nuevos agentes hidratantes para tratar el ojo seco sería de gran beneficio para el medio terapéutico. El volumen de película lagrimal en la superficie ocular representa un equilibrio entre la producción de líquido lagrimal y la pérdida de fluido a través del drenaje, la evaporación o la absorción epitelial. Al igual que otros tejidos epiteliales, el epitelio de la conjuntiva y la córnea son capaces de regular el estado de hidratación de la superficie de la mucosa a través del transporte activo de sal y agua.

[0007] Un enfoque para reponer la capa de líquido protector en las superficies de la mucosa es "reequilibrar" el sistema mediante bloqueo del canal 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) y es un regulador clave de la absorción de sodio (y agua) en numerosos tejidos, incluido el ojo. ENaC se expresa en la superficie apical del epitelio corneal y conjuntival en roedores, mamíferos más grandes y en el hombre donde funciona como una vía crítica para la absorción de sodio (y agua) (Krueger B, Schlötzer-Schrehardt U, Haerteis S, Zenkel M, Chankiewicz VE, Amann KU, Kruse FE, Korbmayer C. Cuatro subunidades ($\alpha\beta\gamma\delta$) del canal de sodio epitelial (ENaC) se expresan en el ojo humano en varios lugares. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012; 53 (2): 596-604)

[0008] En una serie de estudios bioeléctricos *in vivo*, Levin et al. (Levin MH, Kim JK, Hu J, Verkman AS. Potential difference measurements of ocular surface Na^+ absorption analyzed using an electrokinetic model. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006; 47 (1): 306-16) confirmaron que el transporte de sodio mediado por ENaC es un contribuyente sustancial a la diferencia de potencial eléctrico de la superficie ocular. Además, la adición tópica de la amilorida bloqueadora ENaC produjo una duplicación aproximada del volumen lagrimal que permaneció elevada durante >60 minutos después de la administración en ratas (Yu D, Thelin WR, Rogers TD, Stutts MJ, Randell SH, Grubb BR, Boucher RC. Regional differences in rat conjunctival ion transport activities. Am J Physiol Cell Physiol. 2012; 303 (7): C767-80.) y conejos (Hara S, Hazama A, Miyake M, Kojima T, Sasaki Y, Shimazaki J, Dogru M y Tsubota K. The Effect of Topical Amilorida Eye Drops on Tear Quantity in Rabbits. Molecular Vision 2010; 16: 2279-2285).

[0009] Tomados en conjunto, estos datos proporcionan una importante prueba de concepto de que la inhibición de ENaC aumentará el volumen de lágrimas. Se predice que la inhibición de ENaC en el ojo preserva las secreciones lagrimales y mantiene la hidratación en la superficie ocular. Debido a que ENaC se coloca en la superficie apical del epitelio, es decir, la superficie de la mucosa interfacial ambiental, para inhibir el Na^+ mediado por ENaC y la absorción de líquidos, un bloqueador ENaC de la clase amilorida (que bloquea el dominio extracelular de ENaC) debe ser entregado a la superficie de la mucosa y, lo que es más importante, mantenido en este sitio, para lograr utilidad terapéutica. La presente invención describe enfermedades caracterizadas por muy poco líquido en las superficies mucosales y bloqueadores de canales de sodio "tópicos" diseñados para exhibir la potencia incrementada, absorción de mucosidad reducida y disociación lenta ("desvinculación" o desprendimiento) de ENaC requerida para la terapia de estas enfermedades.

[0010] El uso de bloqueadores ENaC se ha descrito para una diversidad de enfermedades que se mejoran mediante una mayor hidratación de la mucosa. En particular, se ha informado del uso de bloqueantes ENaC en el tratamiento de enfermedades respiratorias como la bronquitis crónica (BC), fibrosis quística (FQ) y EPOC, que reflejan la incapacidad del cuerpo para eliminar la mucosidad normalmente de los pulmones y finalmente provocan una infección crónica de las vías respiratorias. 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.

[0011] Los datos indican que el problema iniciador tanto en la bronquitis crónica como en la fibrosis quística 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 la bronquitis crónica y la fibrosis quística.

[0012] Las enfermedades pulmonares obstructivas crónicas se caracterizan por la deshidratación de las superficies de las vías respiratorias y la retención de secreciones mucosas en los pulmones. Los ejemplos de tales enfermedades incluyen fibrosis quística, bronquitis crónica y discinesia ciliar primaria o secundaria. Dichas enfermedades afectan aproximadamente a 15 millones de pacientes en los Estados Unidos y son la sexta causa de muerte. Otras enfermedades de las vías respiratorias o enfermedades pulmonares que se caracterizan por la acumulación de secreciones mucosas retenidas incluyen la sinusitis (una inflamación de los senos paranasales asociada con la infección de las vías respiratorias superiores) y la neumonía.

5 **[0013]** La bronquitis crónica (BC), que incluye la forma genética letal más común de la bronquitis crónica, la fibrosis
 10 quística (FQ), son enfermedades que reflejan la incapacidad del cuerpo para eliminar el moco normalmente de los
 pulmones, lo que finalmente produce una infección crónica de las vías respiratorias. En el pulmón normal, la defensa
 primaria contra la infección crónica de las vías respiratorias intrapulmonares (bronquitis crónica) está mediada por la
 15 eliminación continua de moco de las superficies de las vías respiratorias bronquiales. Esta función en salud
 efectivamente elimina del pulmón toxinas y patógenos potencialmente nocivos. Datos recientes indican que el
 problema iniciador, es decir, el "defecto básico", tanto en BC como en FQ, es la falla para eliminar la mucosidad de
 las superficies de las vías respiratorias. La falla en eliminar el moco refleja un desequilibrio entre la cantidad de
 20 líquido y mucina en las superficies de las vías respiratorias. Este "líquido de superficie de las vías respiratorias"
 (ASL) se compone principalmente de sal y agua en proporciones similares al plasma (es decir, isotónico). Las
 macromoléculas de mucina se organizan en una "capa de moco" bien definida que normalmente atrapa las bacterias
 inhaladas y se transporta fuera del pulmón mediante la acción de cilios que laten en una solución acuosa de baja
 viscosidad denominada "líquido periciliar" (PCL). En el estado de enfermedad, hay un desequilibrio en las
 cantidades de moco como ASL en las superficies de las vías respiratorias. Esto da como resultado una reducción
 relativa de ASL que conduce a la concentración de moco, la reducción de la actividad lubricante de la PCL y la
 incapacidad de eliminar el moco a través de la actividad ciliar a la boca. La reducción del aclaramiento mecánico del
 moco del pulmón conduce a la colonización bacteriana crónica de moco adherido a las superficies de las vías
 respiratorias. Es la retención crónica de bacterias, la falla de las sustancias antimicrobianas locales para matar las
 bacterias atrapadas por el moco de forma crónica, y las consiguientes respuestas inflamatorias crónicas del cuerpo a
 este tipo de infección superficial, que conducen a los síndromes de BC y FQ .

25 **[0014]** La población afectada actual en los EE.UU. es de 12.000.000 de pacientes con la forma adquirida
 (principalmente por la exposición al humo del cigarrillo) de la bronquitis crónica y aproximadamente 30.000 pacientes
 con la forma genética, la fibrosis quística. Aproximadamente el mismo número de ambas poblaciones está presente
 en Europa. En Asia, hay poca FQ, pero la incidencia de BC es alta y, al igual que el resto del mundo, va en aumento.

30 **[0015]** Actualmente existe una gran necesidad médica no cubierta de productos que tratan específicamente BC y FQ
 en el nivel del defecto básico que causa estas enfermedades. Las terapias actuales para la bronquitis crónica y la
 fibrosis quística se centran en el tratamiento de los síntomas y/o los efectos tardíos de estas enfermedades. Por lo
 tanto, para la bronquitis crónica, β -agonistas, esteroides inhalados, agentes anticolinérgicos y teofilinas orales e
 inhibidores de la fosfodiesterasa están en desarrollo. Sin embargo, ninguno de estos medicamentos trata
 eficazmente el problema fundamental de la incapacidad para eliminar el moco del pulmón. De manera similar, en la
 fibrosis quística, se usa el mismo espectro de agentes farmacológicos. Estas estrategias se han complementado con
 35 estrategias más recientes diseñadas para despejar el pulmón de FQ del ADN ("Pulmozyme"; Genentech) que se ha
 depositado en el pulmón por neutrófilos que han intentado en vano matar las bacterias que crecen en masas de
 moco adherentes y el uso de antibióticos inhalados ("TOBI") diseñados para aumentar los propios mecanismos de
 muerte de los pulmones para eliminar las placas de bacterias adheridas al moco adherente. Un principio general del
 cuerpo es que si la lesión iniciadora no se trata, en este caso la retención/obstrucción del moco, las infecciones
 bacterianas se vuelven crónicas y cada vez más refractarias a la terapia antimicrobiana. Por lo tanto, una importante
 40 necesidad terapéutica insatisfecha para las enfermedades pulmonares BC y FQ es un medio eficaz para rehidratar
 el moco de las vías respiratorias (es decir, restablecer/expandir el volumen del ASL) y promover su eliminación, con
 bacterias, del pulmón.

45 **[0016]** R.C. Boucher, en el documento US 6.264.975, describe el uso de bloqueadores de los canales de
 pirazinoilguanidina sódica para hitorizar las superficies de la mucosa. Estos compuestos, tipificados por los
 conocidos diuréticos amilorida, benzamilo y fenamilo, son efectivos. Sin embargo, estos compuestos adolecen de la
 desventaja significativa de que son (1) relativamente impotentes, lo cual es importante porque la masa de fármaco
 que puede inhalarse por el pulmón es limitada; (2) se absorbe rápidamente, lo que limita la vida media de la droga
 en la superficie de la mucosa; y (3) son libremente disociables de ENaC. La suma de estas desventajas
 50 incorporadas en estos diuréticos bien conocidos produce compuestos con potencia y/o vida media efectiva
 insuficiente en las superficies de la mucosa para tener un beneficio terapéutico para hidratar las superficies de la
 mucosa.

55 **[0017]** R.C. Boucher, en la patente de los Estados Unidos N° 6.926.911, sugiere el uso de bloqueadores de los
 canales de sodio relativamente impotentes, tales como amilorida, con osmolitos para el tratamiento de las
 enfermedades de las vías respiratorias. Esta combinación no proporciona ninguna ventaja práctica sobre ningún
 tratamiento solo y no es clínicamente útil (véase Donaldson et al, N Eng J Med 2006; 353: 241-250). Se descubrió
 que amilorida bloquea la permeabilidad al agua de las vías respiratorias y niega el beneficio potencial del uso
 60 concurrente de solución salina hipertónica y amilorida.

[0018] El documento US 2008/124491 describe compuestos de pirazinoilguanidina que son bloqueadores de los
 canales de sodio epiteliales que bloquean la sensación de sabor asociada con la sal y el sabor agrio.

65 **[0019]** La patente de los Estados Unidos N° 5.817.028 de Anderson describe un método para la provocación del
 estrechamiento del paso de aire (para evaluar la susceptibilidad al asma) y/o la inducción de esputo en sujetos
 mediante la inhalación de manitol. Se sugiere que se puede usar la misma técnica para inducir el esputo y promover

el aclaramiento mucociliar. Las sustancias sugeridas incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol y dextrosa.

5 **[0020]** Claramente, lo que se necesita son fármacos que sean más efectivos para restablecer la eliminación del moco de los pulmones de pacientes con BC/FQ. El valor de estas nuevas terapias se reflejará en las mejoras en la calidad y la duración de la vida de las poblaciones de FQ y BC.

10 **[0021]** Otras superficies mucosas en y sobre el cuerpo exhiben diferencias sutiles en la fisiología normal de los líquidos de superficie protectores en sus superficies, pero la fisiopatología de la enfermedad refleja un tema común, es decir, muy poco líquido protector de superficie. 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.

15 **[0022]** En la rinosinusitis, existe un desequilibrio, como en BC, entre la secreción de mucina y la disminución relativa de ASL. Finalmente, en el tracto gastrointestinal, 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.

20 **[0023]** La bibliografía publicada incluye una serie de solicitudes de patente y patentes otorgadas a Parion Sciences Inc., dirigidas a análogos de pirazinoilguanidina como bloqueantes de los canales de sodio. Ejemplos de tales publicaciones incluyen las Publicaciones PCT N^{os} WO2007146867, WO2003/070182, WO2003/070184, WO2004/073629, WO2005/025496, WO2005/016879, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2006/023573, WO2006/023617, WO2007/018640, WO2007146870, WO2007/146869, WO2008030217, WO2008/031028, WO2008/031048, WO2013/003386, WO2013/003444, y las patentes de EE.UU. N^{os} 6858614, 6858615, 6903105, 6.995.160, 7.026.325, 7.030.117, 7064129, 7186833, 7189719, 7192958, 7192959, 7192960, 7241766, 7247636, 7247637, 7317013, 7332496, 7368447, 7368450, 7368451, 7375102, 7.375.107, 7388013, 7399766, 7410968, 7807834, 7.820.678, 7842697, 7868010, 7.956.059, 7.981.898, 8.008.494, 8.022.210, 8.058.278, 8.124.607, 8.143.256, 8.163.758, 8.198.286, 8.211.895, 8.198.286, 8.227.474 y 8.324.218.

30 **[0024]** Sigue existiendo la necesidad de nuevos compuestos bloqueadores del canal de sodio con una potencia y eficacia mejoradas en los tejidos de la mucosa, especialmente en los tejidos oculares. 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.

35 SUMARIO DE LA INVENCION

[0025] Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que son más potentes y/o se absorben menos rápidamente a partir de superficies mucosas, tales como superficies oculares, y/o son menos reversibles en comparación con los compuestos conocidos.

45 **[0026]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que son más potentes y/o se absorben menos rápidamente y/o exhiben menos reversibilidad, en comparación con compuestos tales como amilorida, benzamilo y fenamilo. Por lo tanto, los compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada en las superficies de la mucosa en comparación con los compuestos conocidos.

50 **[0027]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que (1) se absorben menos rápidamente de superficies mucosas, especialmente superficies oculares, en comparación con compuestos conocidos y (2) cuando se absorben de superficies mucosas después de la administración a estas superficies, se excretan principalmente no renalmente para minimizar las posibilidades de hipercalcemia.

55 **[0028]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que (1) se absorben menos rápidamente de las superficies mucosas, especialmente las superficies oculares, en comparación con los compuestos conocidos y (2) se convierten *in vivo* en derivados metabólicos de los mismos que tienen eficacia reducida en el bloqueo de los canales de sodio en comparación con el Compuesto original administrado con el fin de minimizar las posibilidades de hipercalcemia.

60 **[0029]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que son más potentes y/o se absorben menos rápidamente y/o exhiben menos reversibilidad, en comparación con compuestos tales como amilorida, benzamilo y fenamilo. Por lo tanto, dichos compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada en las superficies de la mucosa en comparación con los compuestos previos.

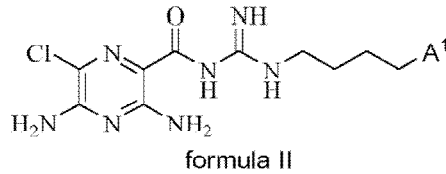
65 **[0030]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos que son metabólicamente estables. Por lo tanto, dichos compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada en las superficies de la mucosa en comparación con los compuestos previos.

[0031] Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos para uso en métodos de tratamiento que aprovechen las propiedades farmacológicas de los compuestos descritos anteriormente.

5 [0032] En particular, un objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos para usar en métodos de tratamiento que se basan en la rehidratación de las superficies de la mucosa.

[0033] En particular, un objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos para uso en métodos de tratamiento de ojo seco y enfermedades oculares relacionadas.

10 [0034] Los objetos de la presente invención se pueden lograr con una clase de pirazinoilguanidina representada por un Compuesto de fórmula (II):



20 e incluye racematos, diastereómeros, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en los que:

25 A¹ es un carbociclo aromático de miembros C₆-C₁₅ sustituido con al menos un R⁵ que está representado por una de las siguientes fórmulas:

30

35

40

45

50

55

60

65

5

10

15

20

25

30

35

40

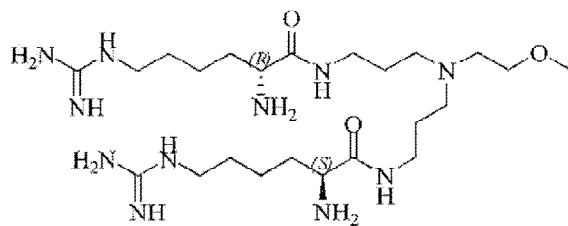
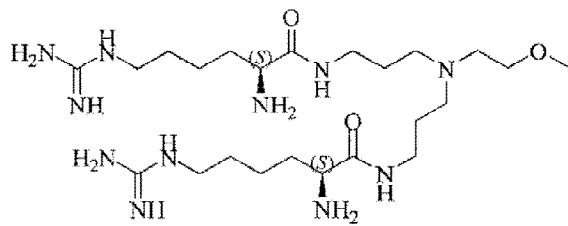
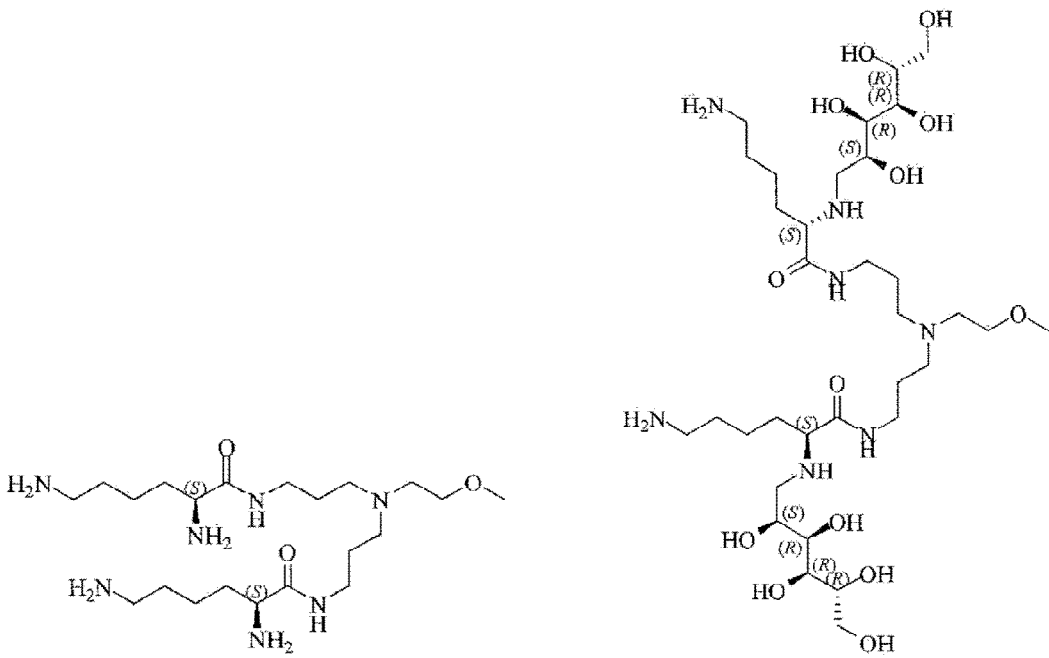
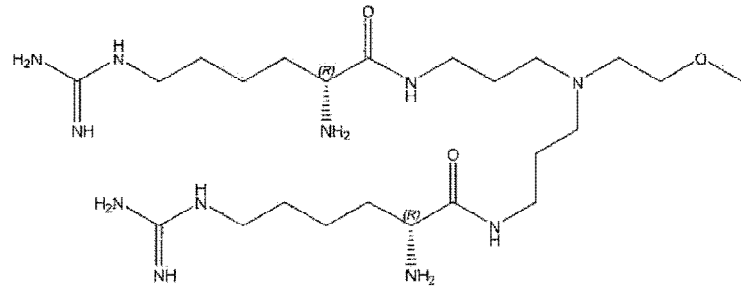
45

50

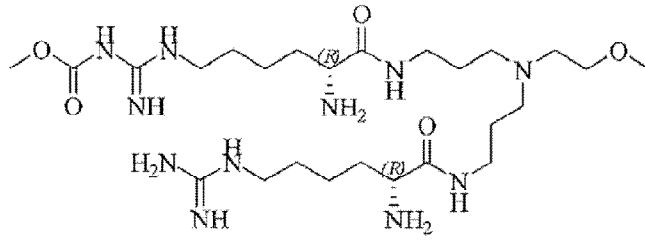
55

60

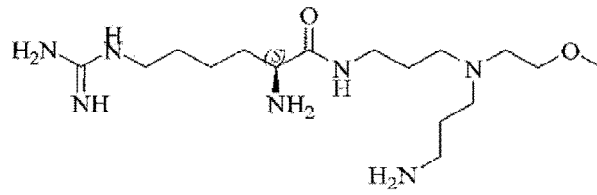
65



5

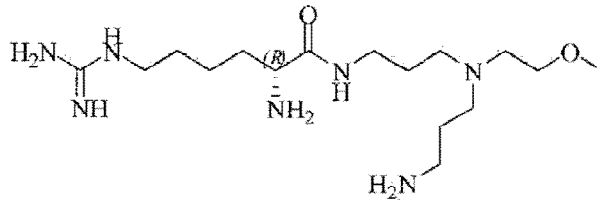


10



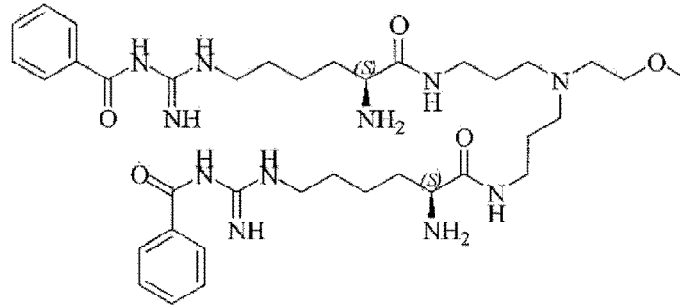
15

20



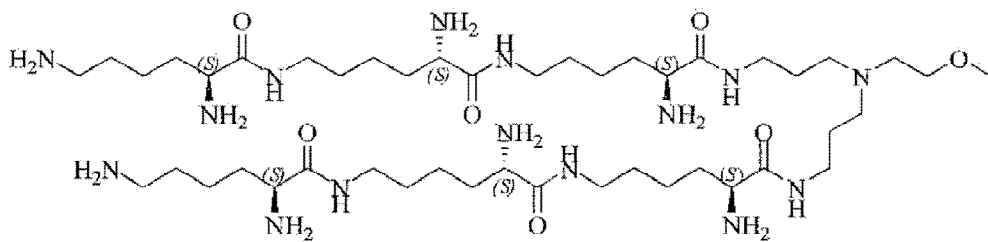
25

30



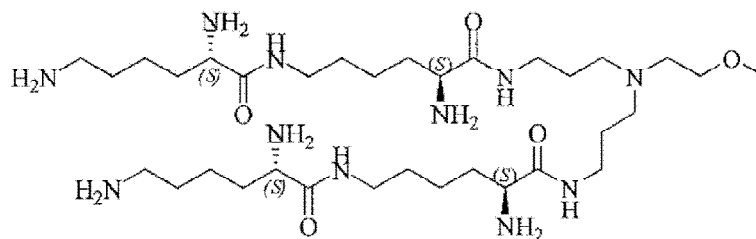
35

40



45

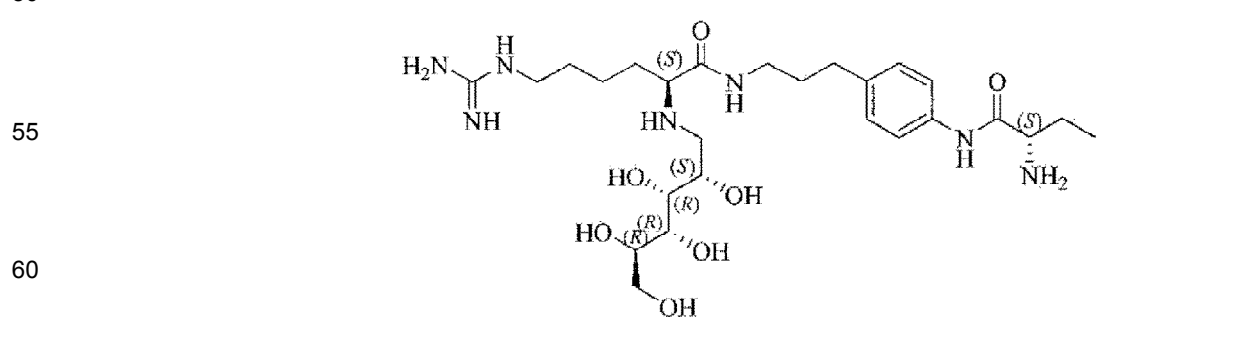
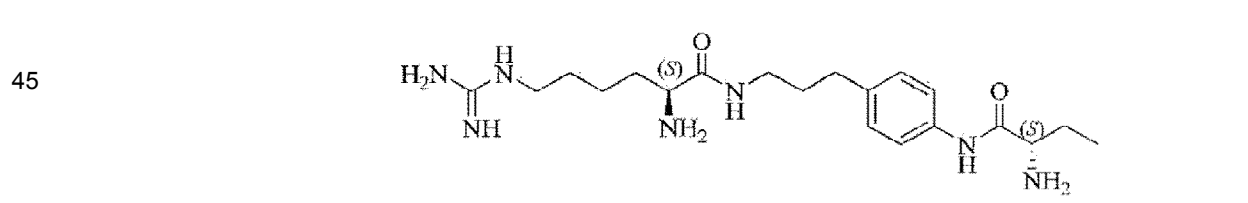
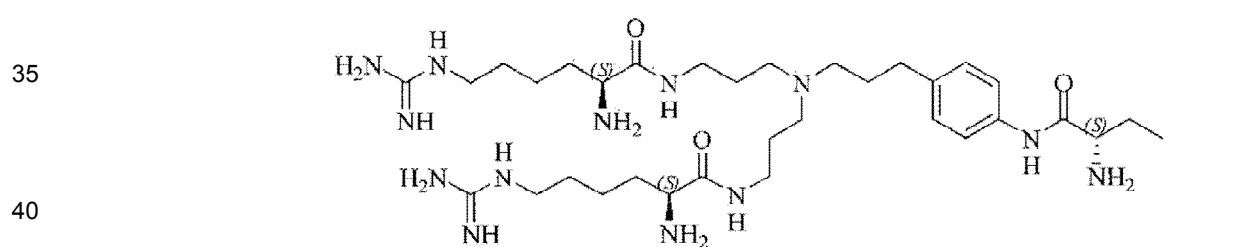
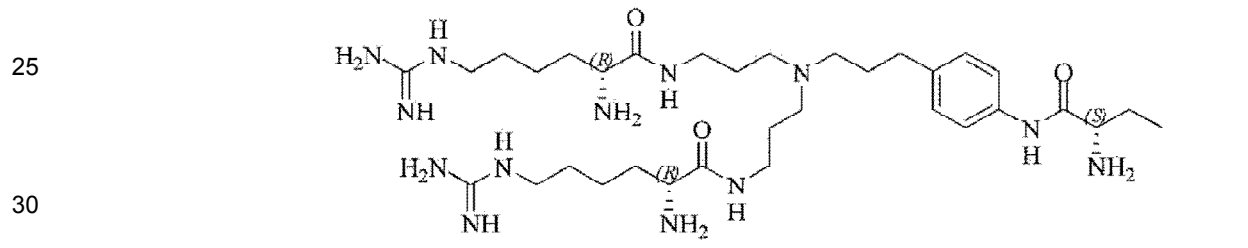
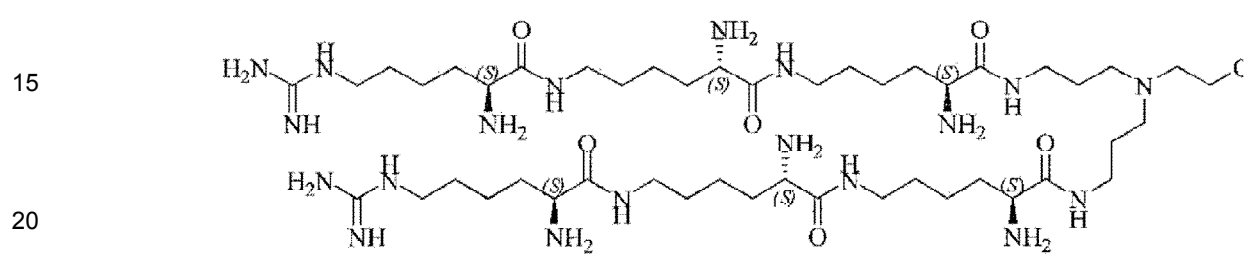
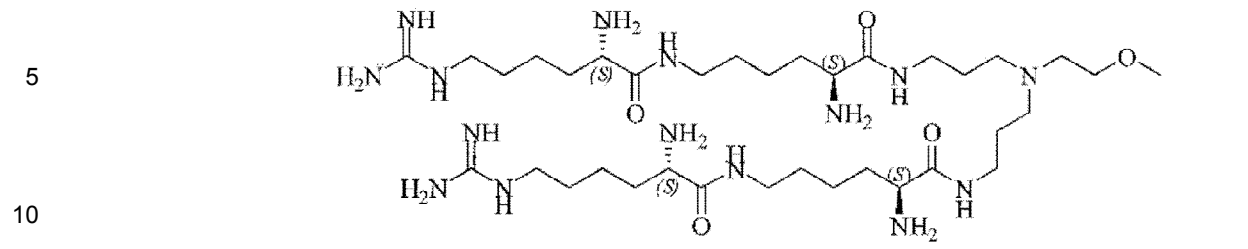
50



55

60

65



5

10

15

20

25

30

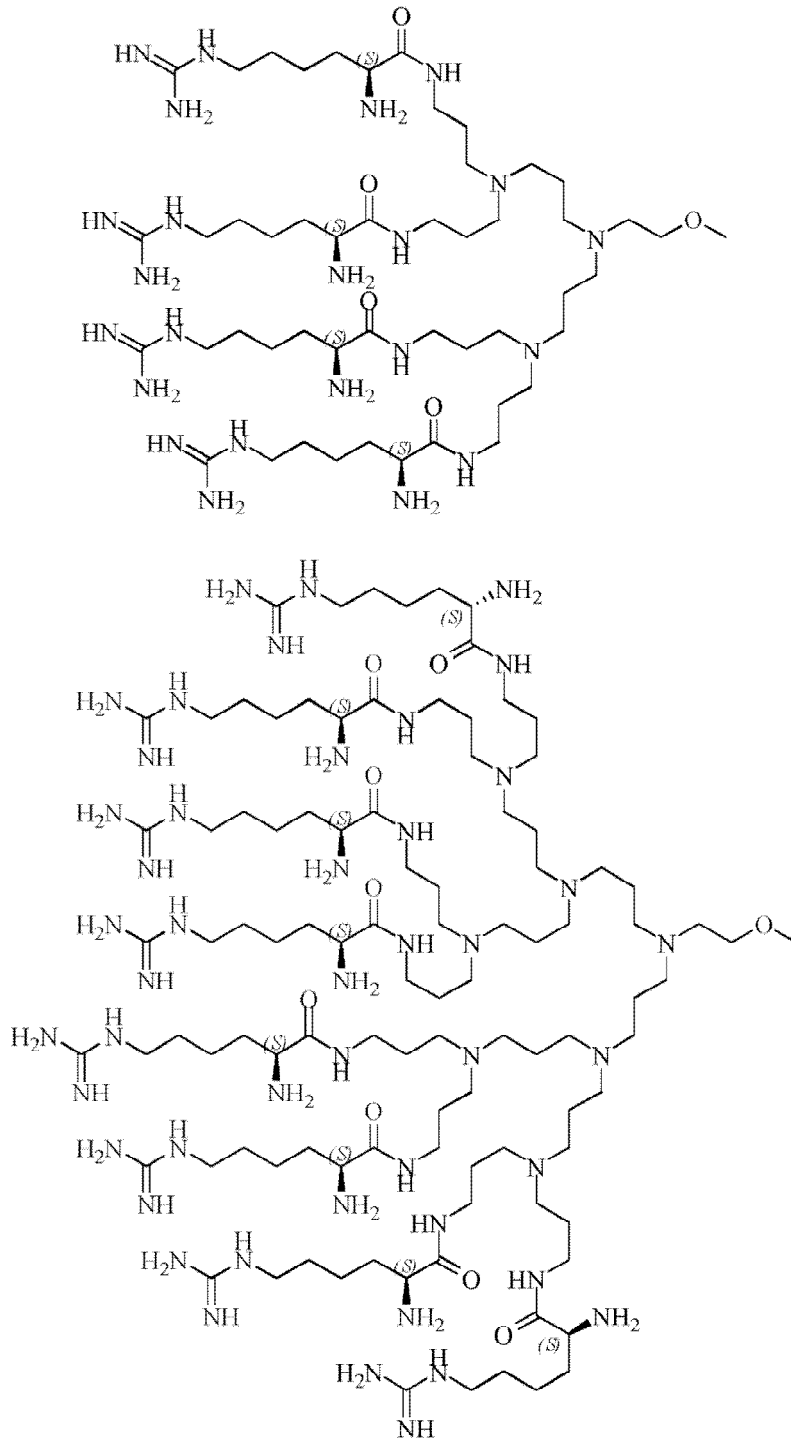
35

40

45

50

55



[0035] El presente también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un Compuesto descrito en este documento.

60 **[0036]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para promover la hidratación de las superficies de la mucosa, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a una superficie de la mucosa de un sujeto.

65 **[0037]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en el presente documento para uso en un

método para restaurar la defensa de la mucosa, que comprende:

Administrar tópicamente una cantidad efectiva del Compuesto descrito aquí en la superficie de la mucosa de un sujeto que lo necesita.

5 **[0038]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método de bloqueo de ENaC, que comprende:

10 poner en contacto canales de sodio con una cantidad eficaz de un Compuesto representado por lo descrito en este documento.

[0039] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para promover el aclaramiento de moco en las superficies de la mucosa, que comprende:

15 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto representado en este documento a una superficie de la mucosa de un sujeto.

[0040] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar el ojo seco, que comprende:

20 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento al ojo del sujeto que lo necesite.

[0041] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar el ojo seco asociado a la enfermedad de Sjogren, que comprende:

25 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento al ojo del sujeto que lo necesite.

[0042] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar la inflamación ocular causada por ojo seco, que comprende:

30 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento al ojo del sujeto que lo necesite.

[0043] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para promover la hidratación ocular, que comprende:

35 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento al ojo del sujeto.

[0044] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para promover la hidratación corneal, que comprende:

40 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento al ojo del sujeto.

[0045] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la bronquitis crónica, que comprende:

45 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

[0046] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la fibrosis quística, que comprende:

50 administrar una cantidad eficaz del Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

[0047] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar la rinosinusitis, que comprende:

55 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

[0048] La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método de tratamiento de la deshidratación nasal, que comprende:

60 administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a los conductos nasales de un sujeto que lo necesita.

[0049] En una realización específica, la deshidratación nasal se produce administrando oxígeno seco al sujeto.

65 **[0050]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un

método para tratar la sinusitis, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 5 **[0051]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la neumonía, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 10 **[0052]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la neumonía inducida por ventilador, que comprende:

administrar un Compuesto eficaz descrito en este documento a un sujeto por medio de un ventilador.

- 15 **[0053]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar el asma, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 20 **[0054]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la discinesia ciliar primaria, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 25 **[0055]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar otitis media, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 30 **[0056]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para inducir esputo con fines de diagnóstico, que comprende:

administrar una cantidad eficaz del Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 35 **[0057]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 40 **[0058]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar enfisema, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 45 **[0059]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar la enfermedad de Sjogren, que comprende:

administrar una cantidad eficaz del Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

- 50 **[0060]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar la sequedad vaginal, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento al tracto vaginal de un sujeto que lo necesite.

- 55 **[0061]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para su uso en un método para tratar la piel seca, que comprende:

administrar una cantidad efectiva de un Compuesto descrito aquí a la piel de un sujeto que lo necesite.

- 60 **[0062]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar la boca seca (xerostomía), que comprende:

administrar una cantidad eficaz del Compuesto descrito en este documento a la boca del sujeto que lo necesite.

- 65 **[0063]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un

método para tratar el síndrome de obstrucción intestinal distal, que comprende:

administrar una cantidad eficaz del Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

5 **[0064]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para tratar la esofagitis, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

10 **[0065]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar bronquiectasias, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

15 **[0066]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar el estreñimiento, que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite. En una realización de este método, el Compuesto se administra por vía oral o mediante un supositorio o enema.

20 **[0067]** La presente invención también proporciona un Compuesto descrito en el presente documento para su uso en un método para tratar la diverticulitis crónica que comprende:

administrar una cantidad eficaz de un Compuesto descrito en este documento a un sujeto que lo necesite.

25 **[0068]** Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos para uso en tratamientos que comprenden el uso de osmolitos junto con bloqueadores de los canales de sodio de fórmula (II) que son más potentes, más específicos y/o se absorben menos rápidamente de las superficies de las mucosas. y/o son menos reversibles en comparación con compuestos tales como amilorida, benzamilo y fenamilo.

30 **[0069]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos para uso en tratamientos que usan bloqueadores de canales de sodio de fórmula (II) que son más potentes y/o se absorben menos rápidamente y/o exhiben menos reversibilidad, en comparación con compuestos tales como amilorida, benzamilo y fenamilo cuando se administran con un potenciador osmótico. Por lo tanto, tales bloqueadores de los canales de sodio cuando se usan junto con osmolitos proporcionarán una semivida farmacodinámica prolongada en las superficies de la mucosa en comparación con cualquier Compuesto utilizado solo.

35 **[0070]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar compuestos para uso en tratamientos que usan bloqueadores de canales de sodio de fórmula (II) y osmolitos juntos que se absorben menos rápidamente de las superficies de la mucosa, especialmente las superficies de las vías respiratorias, en comparación con compuestos tales como amilorida, benzamilo y fenamilo.

40 **[0071]** Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar composiciones que contienen bloqueadores de los canales de sodio de fórmula (II) y osmolitos.

45 **[0072]** Los objetos de la invención se pueden lograr con un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar una enfermedad mejorada por aclaramiento mucociliar incrementado y la hidratación de la mucosa que comprende administrar una cantidad eficaz de un Compuesto de fórmula (II) como se define aquí y un osmolito a un sujeto que necesita un aclaramiento mucociliar aumentado e hidratación de la mucosa.

50 **[0073]** Los objetos de la invención también se pueden lograr con un Compuesto descrito en este documento para uso en un método de inducción de esputo para fines de diagnóstico, que comprende administrar una cantidad eficaz de un Compuesto de fórmula (II) como se define en la presente memoria y un osmolito a sujeto que lo necesite.

55 **[0074]** Los objetos de la invención también se pueden lograr con un Compuesto descrito en este documento para uso en un método para tratar ántrax, que comprende administrar una cantidad eficaz de un Compuesto de fórmula (II) como se define en la presente memoria y un osmolito a un sujeto que lo necesite.

60 **[0075]** Los objetos de la invención también se pueden lograr con un Compuesto descrito en este documento para uso en un método del tratamiento profiláctico, preventivo o terapéutico posterior a la exposición contra enfermedades o afecciones causadas por patógenos, particularmente patógenos que pueden usarse en bioterrorismo, que comprende administrar una cantidad eficaz de un Compuesto de fórmula (II) a un sujeto que lo necesite.

65 **[0076]** Los objetos de la invención también pueden realizarse con una composición que comprende un Compuesto de fórmula (II) como se define en la presente memoria y un osmolito como se define en la presente memoria.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0077] Una apreciación más completa de la invención y muchas de sus ventajas se pueden obtener fácilmente haciendo referencia a la información en el presente documento junto con las siguientes figuras:

5 Figura 1: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con Amilorida. El volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo se muestran para comparación. Las barras de error son el error estándar.

10 Figura 2: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **51**. Se muestra el volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

15 Figura 3: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **75**. Se muestra el volumen de lágrimas de ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

20 Figura 4: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **P-59**. El volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo se muestran para comparación. Las barras de error son el error estándar.

25 Figura 5: Evaluaciones del volumen de desgarro durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **46**. Se muestra el volumen de desgarro de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

30 Figura 6: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **45**. Se muestra el volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

35 Figura 7: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **145**. Se muestra el volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

40 Figura 8: Evaluaciones del volumen de desgarro durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **82**. Se muestra el volumen de desgarro de ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

45 Figura 9: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **15**. El volumen de lágrimas de ExLac y las ratas normales tratadas con un vehículo se muestran para comparación. Las barras de error son el error estándar.

50 Figura 10: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **9**. El volumen de lágrimas de ExLac y las ratas normales tratadas con un vehículo se muestran para comparación. Las barras de error son el error estándar.

55 Figura 11: Evaluaciones del volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **42**. Se muestra el volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

60 Figura 12: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **116**. Se muestra el volumen de lágrimas de ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

65 Figura 13: Evaluaciones del volumen de desgarro durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **102**. Se muestra el volumen de desgarro de ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

70 Figura 14: Evaluaciones del volumen de desgarro durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **133**. Se muestra el volumen de desgarro de ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

75 Figura 15: Evaluaciones de volumen de lágrimas durante 6 horas en ratas ExLac con el Compuesto **90**. Se muestra el volumen de lágrimas de las ratas ExLac y normales tratadas con un vehículo para comparación. Las barras de error son el error estándar.

80 Figura 16: Imágenes confocales que muestran la reconstrucción x-z de córneas de ratón representadas como células corneales (marcadas con Calceína) o el fármaco de tratamiento (amilorida o Compuesto 9) tomadas una hora después de la aplicación al epitelio corneal.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0078] Como se usa en este documento, los siguientes términos se definen como se indica. "Un Compuesto de la invención" significa un Compuesto de Fórmula II o una sal, particularmente una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

60 **[0079]** "Un Compuesto de Fórmula II" significa un Compuesto que tiene la fórmula estructural designada aquí como Fórmula II. Los compuestos de Fórmula II incluyen solvatos e hidratos (es decir, aductos de un Compuesto de Fórmula II con un disolvente). En aquellas realizaciones en las que un Compuesto de Fórmula II 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 II también incluyen tampones de la(s) fórmula(s) representada(s).

[0080] 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, comercializado por CambridgeSoft Corp./PerkinElmer.

5 **[0081]** En algunas representaciones de estructuras químicas en las que los átomos de carbono no tienen un número suficiente de variables adjuntas representadas para producir una valencia de cuatro, se debe suponer que los sustituyentes de carbono restantes necesarios para proporcionar una valencia de cuatro son hidrógeno. De forma similar, en algunas estructuras químicas en las que se establece un enlace sin especificar el grupo terminal, tal enlace es indicativo de un grupo metilo (Me, $-\text{CH}_3$), como es convencional en la técnica.

10 **[0082]** La presente invención se basa en el descubrimiento de que los compuestos de fórmula (II) son más potentes y/o se absorben menos rápidamente de las superficies de la mucosa, y/o son menos reversibles en comparación con los compuestos conocidos.

15 **[0083]** La presente invención también se basa en el descubrimiento de que los compuestos de fórmula (II) son más potentes y/o se absorben menos rápidamente y/o exhiben menos reversibilidad, en comparación con compuestos tales como amilorde, benzamilo y fenamilo. Por lo tanto, los compuestos darán una semivida farmacodinámica prolongada en las superficies de la mucosa en comparación con los compuestos conocidos.

20 **[0084]** La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos abarcados por la fórmula (II) (1) se absorben menos rápidamente de las superficies mucosas, especialmente las superficies oculares, en comparación con los compuestos conocidos y (2) cuando se absorben de las superficies musculares después de la administración a las superficies de la mucosa, se excretan principalmente no renalmente para minimizar las posibilidades de hipercalcemia. La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos abarcados por la fórmula (II) (1) se absorben menos rápidamente de superficies mucosas, especialmente superficies oculares, en comparación con compuestos conocidos y (2) se convierten *in vivo* en derivados metabólicos de los mismos que tienen una eficacia reducida en el bloqueo de los canales de sodio en comparación con el Compuesto original administrado con el fin de minimizar las posibilidades de hipercalcemia.

30 **[0085]** La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos abarcados por la fórmula (II) (1) se absorben menos rápidamente de las superficies de la mucosa, especialmente las superficies oculares, en comparación con los compuestos conocidos y (2) no se convierten *in vivo* en derivados metabólicos de los mismos que tienen una eficacia potenciada o similar en el bloqueo de canales de sodio en comparación con el Compuesto original administrado para minimizar las posibilidades de hipercalcemia.

35 **[0086]** La presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos abarcados por la fórmula (II) son para uso en métodos de tratamiento que aprovechan las propiedades farmacológicas de los compuestos descritos anteriormente.

40 **[0087]** En particular, la presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos abarcados por la fórmula (II) rehidratan las superficies de la mucosa.

45 **[0088]** En particular, la presente invención también se basa en el descubrimiento de que ciertos compuestos abarcados por la fórmula (II) son útiles en el tratamiento del ojo seco y enfermedades oculares relacionadas.

50 **[0089]** A^1 es un carbociclo aromático de miembros C_6-C_{15} sustituido con al menos un R^5 . El término aromático es un término bien conocido de la química y designa sistemas conjugados de electrones $4n^1 + 2$ que están dentro de un sistema de anillos, es decir, con 6, 10, 14, etc. electrones π en donde, de acuerdo con la regla de Huckel, n^1 es 1, 2, 3, etc. Los electrones $4n^1 + 2$ pueden estar en cualquier anillo de tamaño, incluidos aquellos con saturación parcial, siempre que los electrones estén conjugados. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, 5H-ciclohepta-1,3,5-trieno, benceno, naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, etc., se considerarían aromáticos.

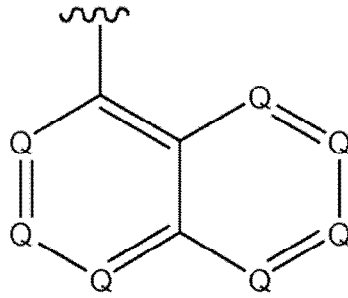
55 **[0090]** El carbociclo aromático C_6-C_{15} puede ser monocíclico, bicíclico o tricíclico y puede incluir anillos parcialmente saturados. Ejemplos no limitantes de estos carbociclos aromáticos comprenden benceno, 5H-ciclohepta-1,3,5-trieno, naftaleno, fenantreno, azuleno, antraceno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, 1,2-dihidronaftaleno, indeno, 5H-dibenzo[a,d]ciclohepteno, etc.

60 **[0091]** El carbociclo aromático C_6-C_{15} se puede unir al resto de butileno a través de cualquier átomo de carbono del anillo, según sea apropiado, a menos que se especifique lo contrario. Por lo tanto, cuando el aromático bicíclico parcialmente saturado es 1,2-dihidronaftaleno, puede ser 1,2-dihidronaftaleno-1-ilo, 1,2-dihidronaftaleno-3-ilo, 1,2-dihidronaftaleno-5-ilo, etc. En una realización preferida A^1 es fenilo, indenilo, naftalenilo, 1,2-dihidronaftalenilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftalenilo, antracenoilo, fluorenilo, fenantrenilo, azulenilo, ciclohepta-1,3,5-trienilo o 5H-dibenzo[a,d]cicloheptenilo. En otra realización preferida, A^1 es naftaleno-1-ilo. En otra realización preferida, A^1 es naftaleno-2-ilo.

65 **[0092]** En otra realización preferida, A^1 es

5

10

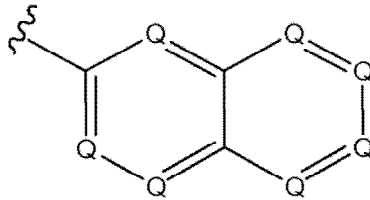


15 en donde cada Q es, independientemente, C-H, C-R⁵ o C-R⁶, con la condición de que al menos un Q sea C-R⁵. Por lo tanto, Q puede ser 1, 2, 3, 4, 5 o 6 C-H. Por lo tanto, Q puede ser 1, 2, 3, 4, 5 o 6 C-R⁶. En una realización particularmente preferida, cada R⁶ es H.

20 **[0093]** En otra realización preferida, A¹ es

20

25

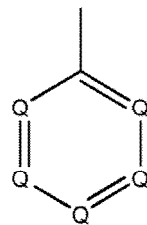


30

en donde cada Q es, independientemente, C-H o C-R⁵ con la condición de que al menos un Q sea C-R⁵. Por lo tanto, Q puede ser 1, 2, 3, 4, 5 o 6 C-H. En otra realización preferida, A¹ es

35

40

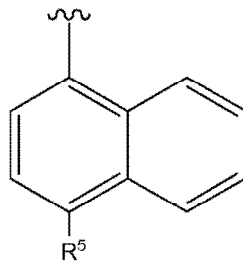


45

en donde cada Q es, independientemente, C-H, o C-R⁵, con la condición de que al menos un Q sea C-R⁵. Por lo tanto, Q puede ser 1, 2, 3 o 4 C-H. En una realización particularmente preferida, A¹ es

50

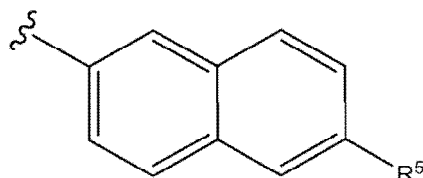
55



60 **[0094]** En otra realización particularmente preferida, A¹ es

60

65

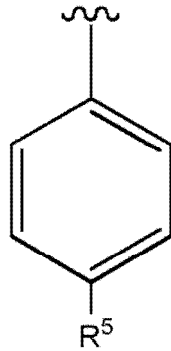


En otra realización particularmente preferida, A¹ es

5

10

15



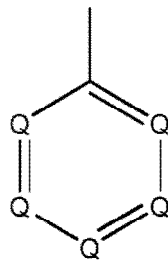
[0095] En un aspecto preferido de la fórmula II, A¹ se selecciona de fenilo, indenilo, naftalenilo, 1,2-dihidronaftalenilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftalenilo, antracenilo, fluorenilo, fenantrenilo, azuleno, ciclohepta-1,3,5-trienilo o 5H-dibenzo[a,d]cicloheptenilo.

20

[0096] En otro aspecto preferido de la fórmula II, A¹ es

25

30



35

en donde cada Q es, independientemente, C-H, o C-R⁵, con la condición de que al menos un Q sea C-R⁵. Preferiblemente, 4 Q son C-H. Más preferiblemente, R⁵ es

40

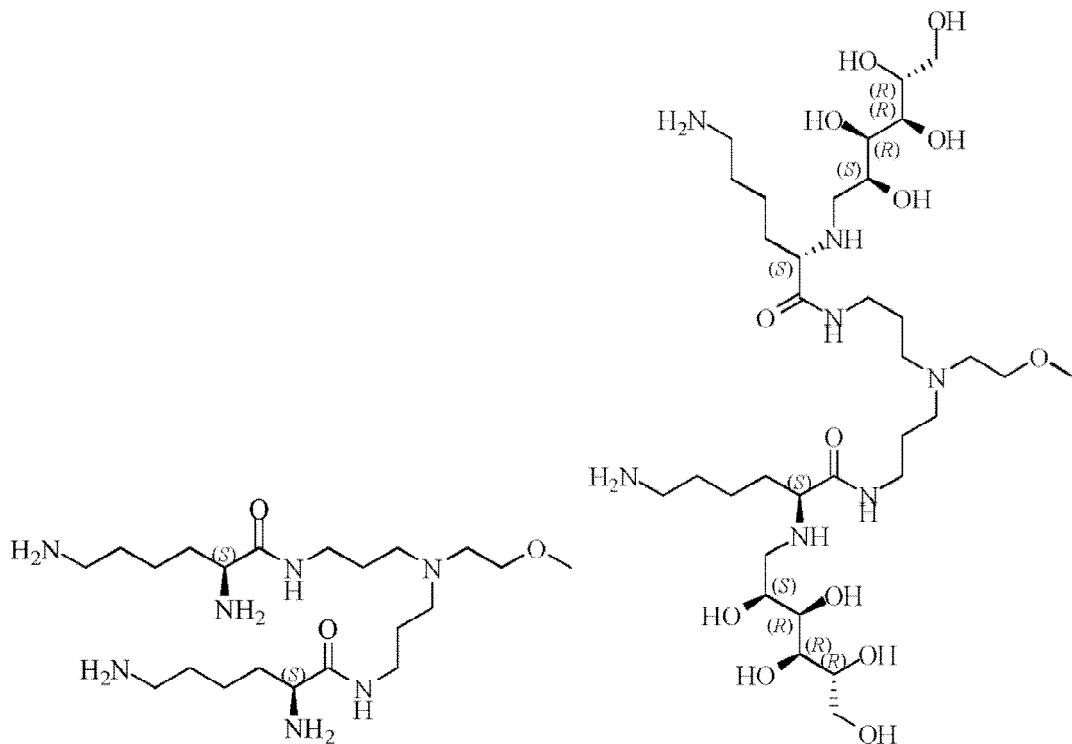
45

50

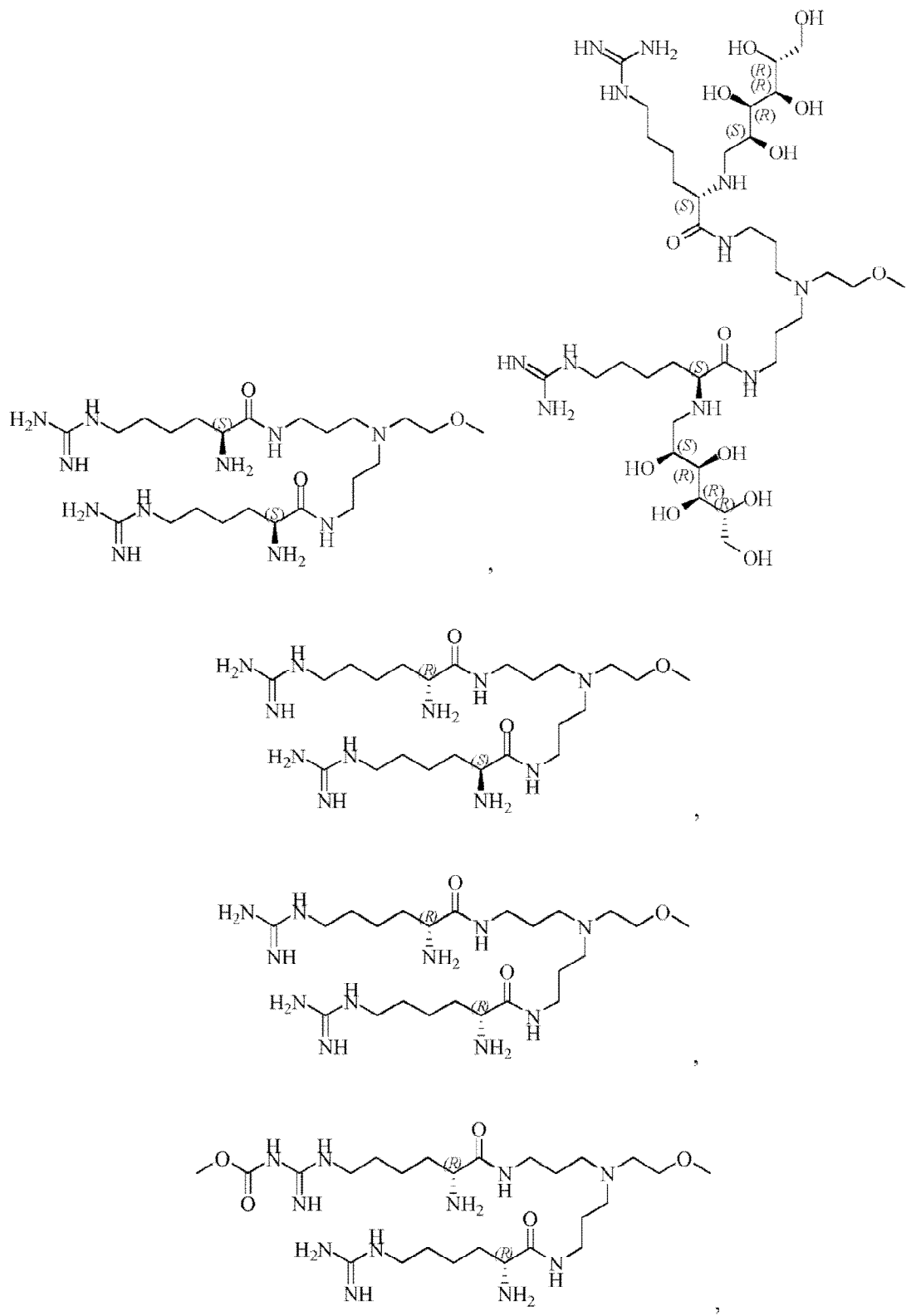
55

60

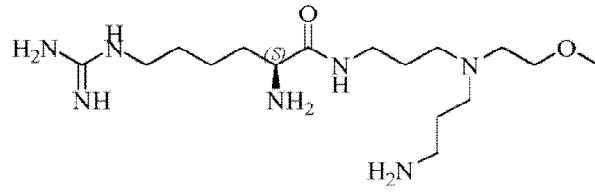
65



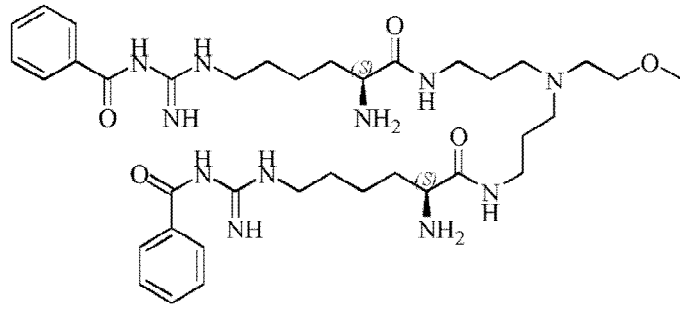
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



5

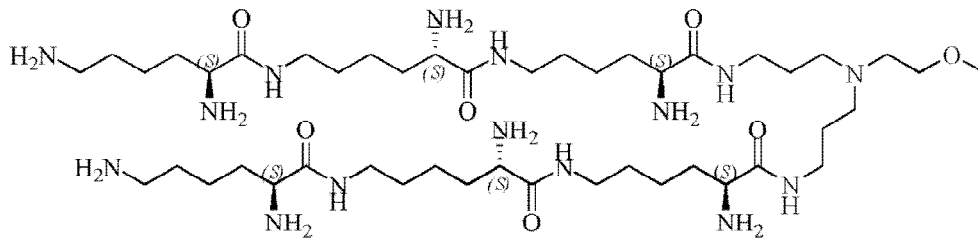


10



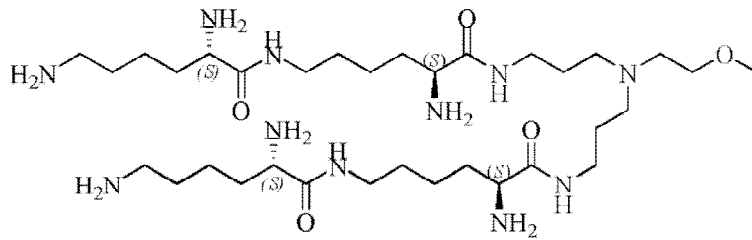
15

20



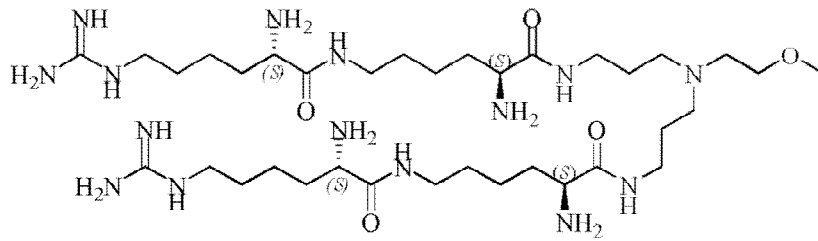
25

30



35

40



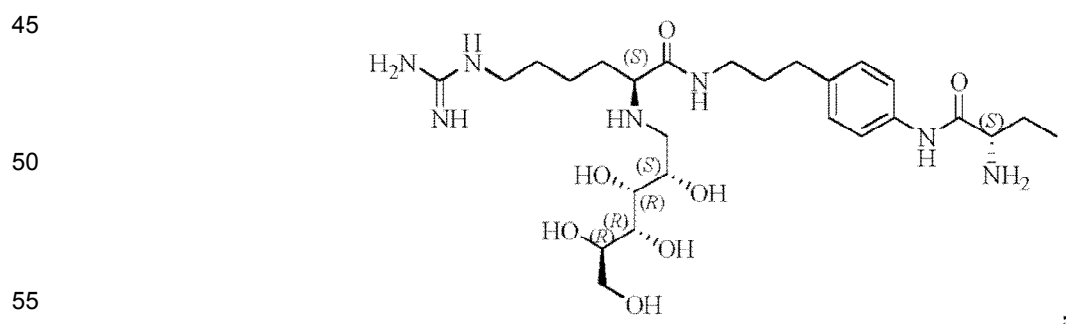
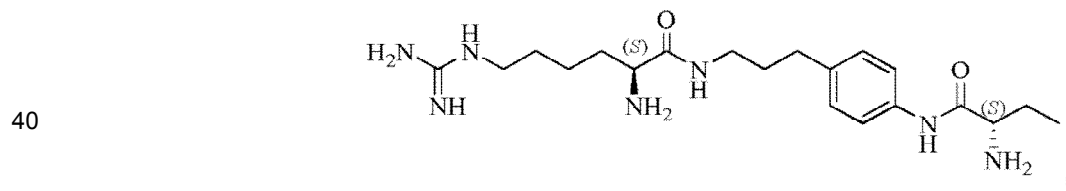
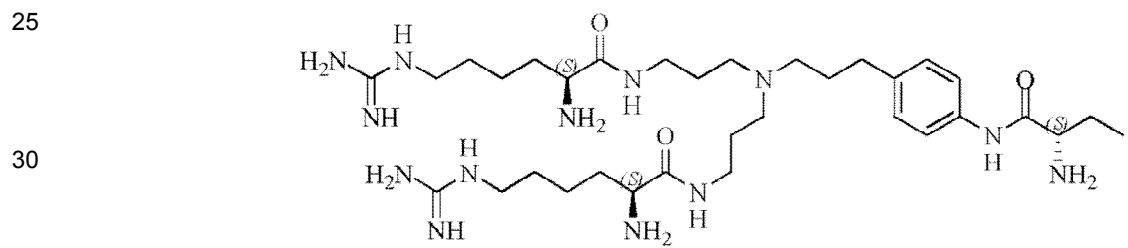
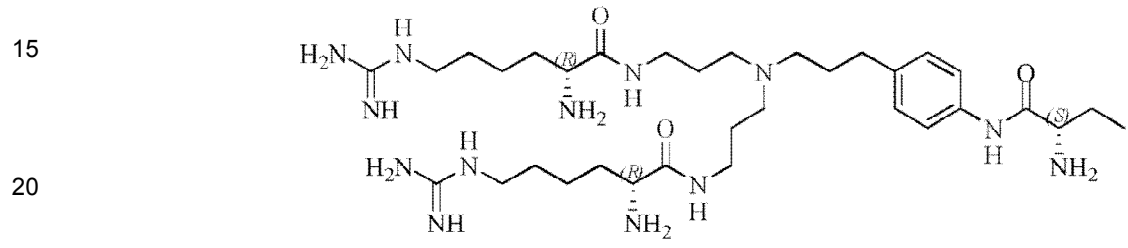
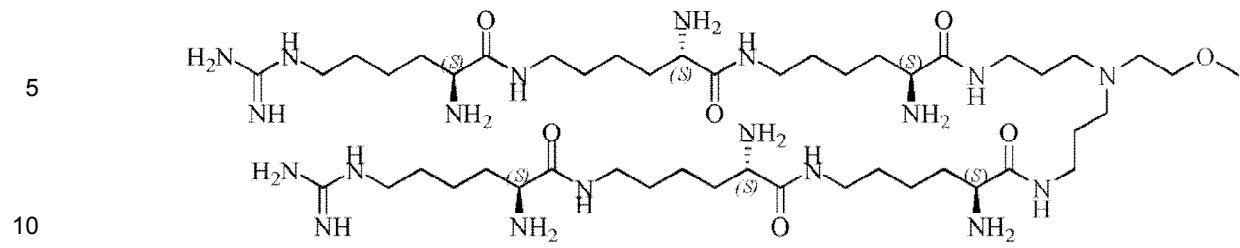
45

50

55

60

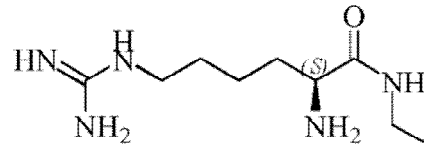
65



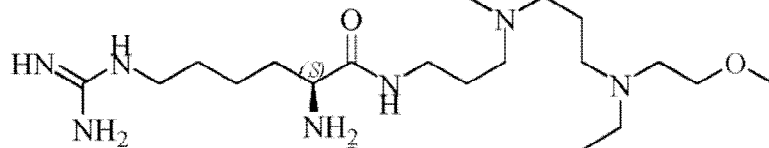
60

65

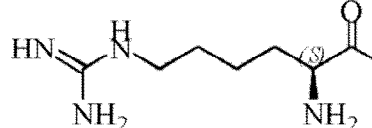
5



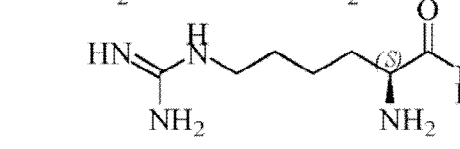
10



15



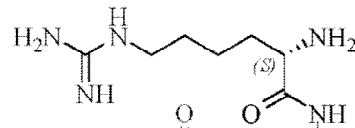
20



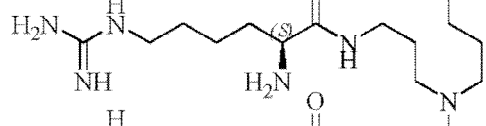
25

o

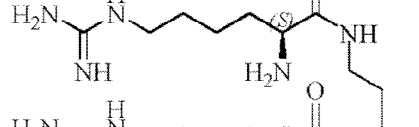
30



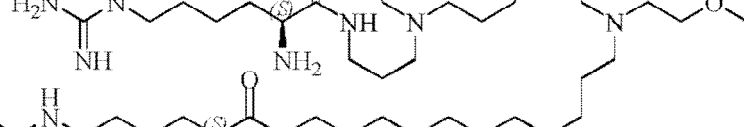
35



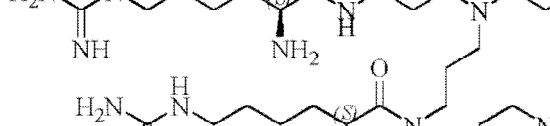
40



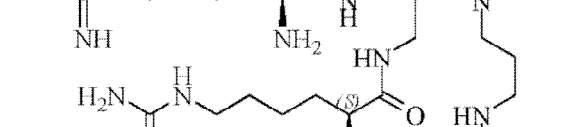
45



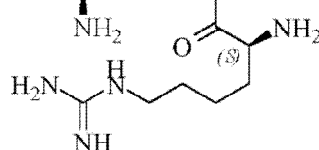
50



55



60



65

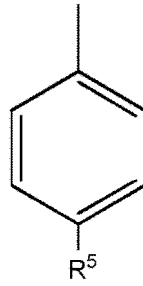
y cuatro Q son C-H.

[0097] En otro aspecto preferido de la fórmula II, A¹ es

5

10

15



Más preferiblemente, R⁵ es

20

25

30

35

40

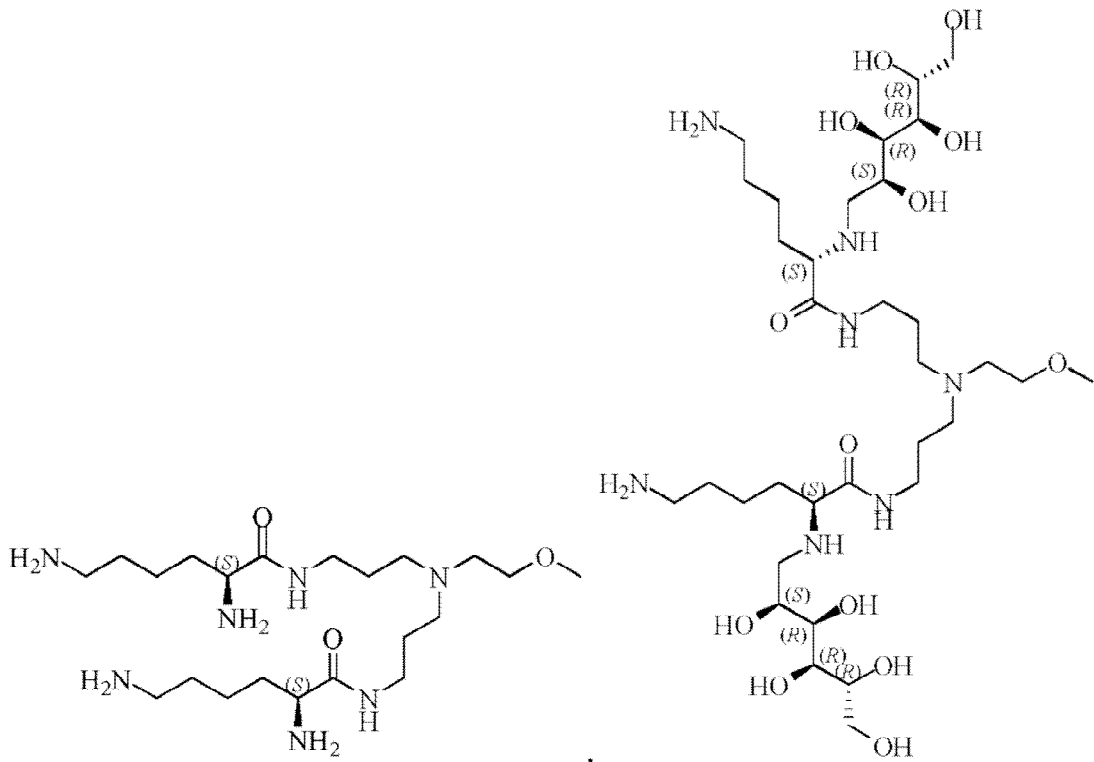
45

50

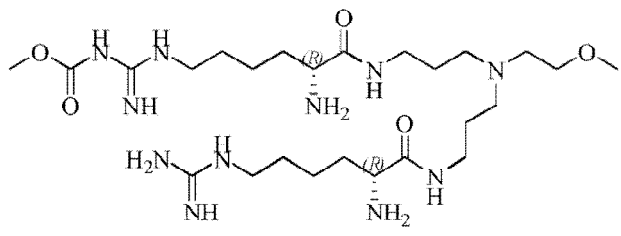
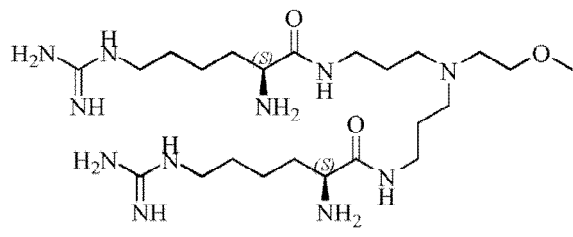
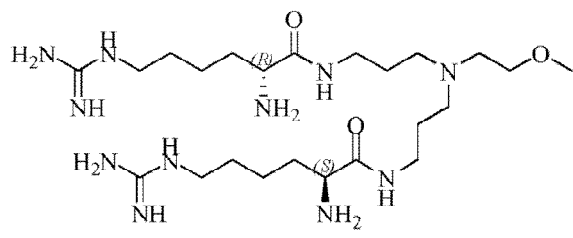
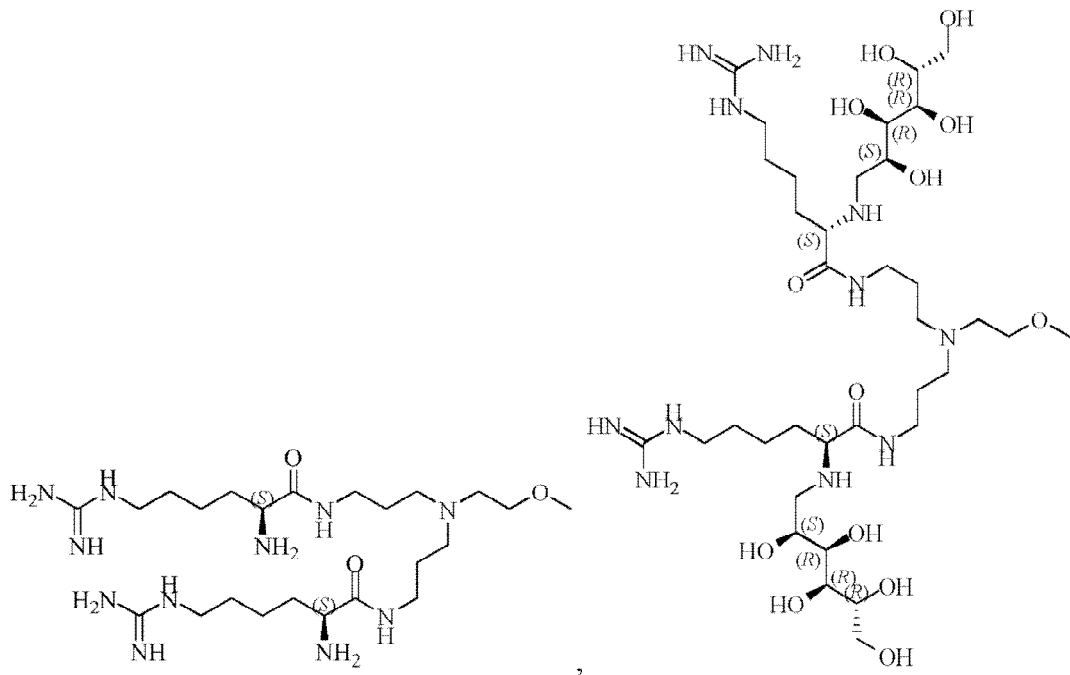
55

60

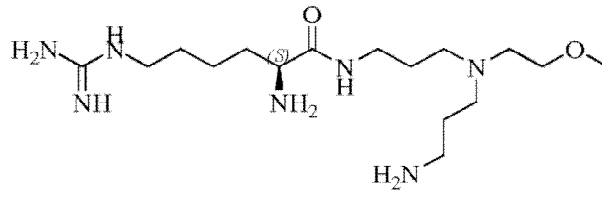
65



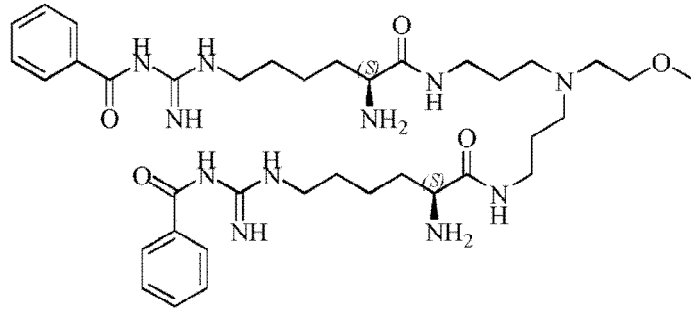
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



5



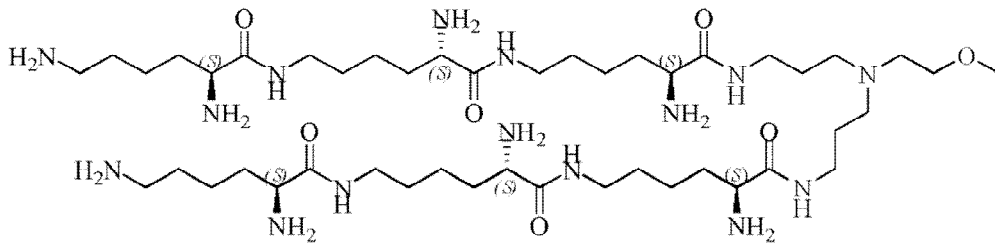
10



15

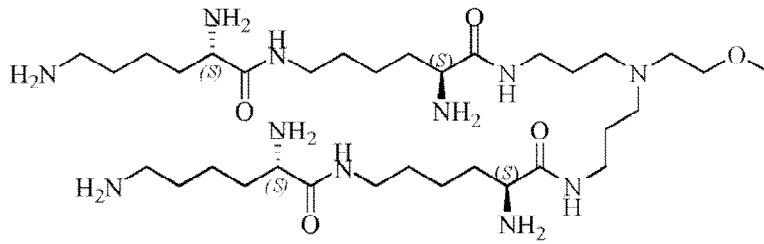
20

25



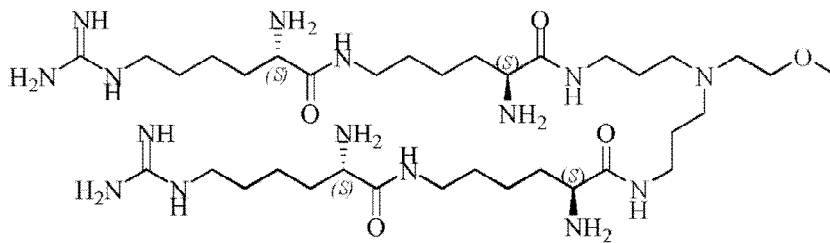
30

35



40

45



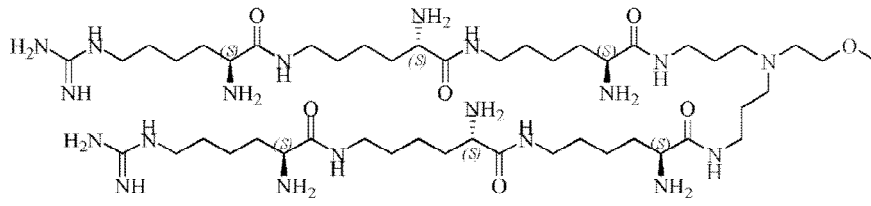
50

55

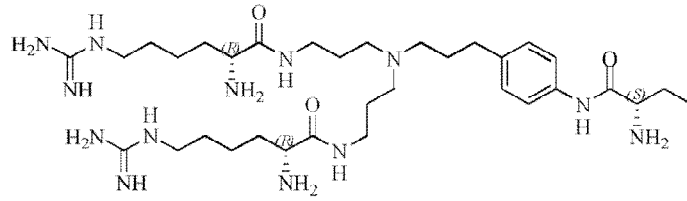
60

65

5

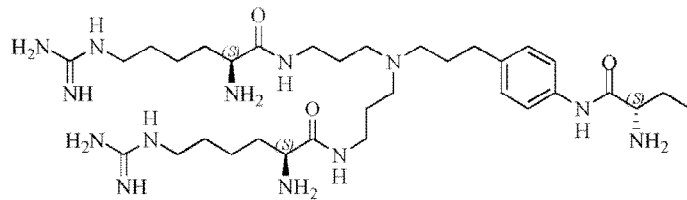


10



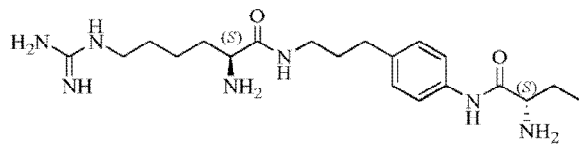
15

20



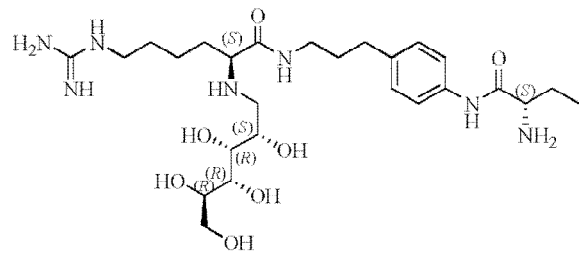
25

30



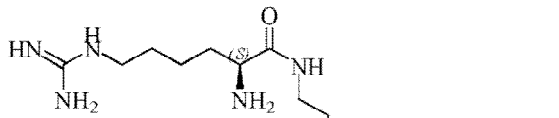
35

40

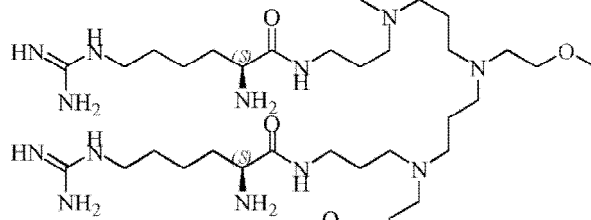


45

50

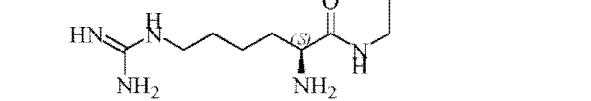


55



60

65



o

5

10

15

20

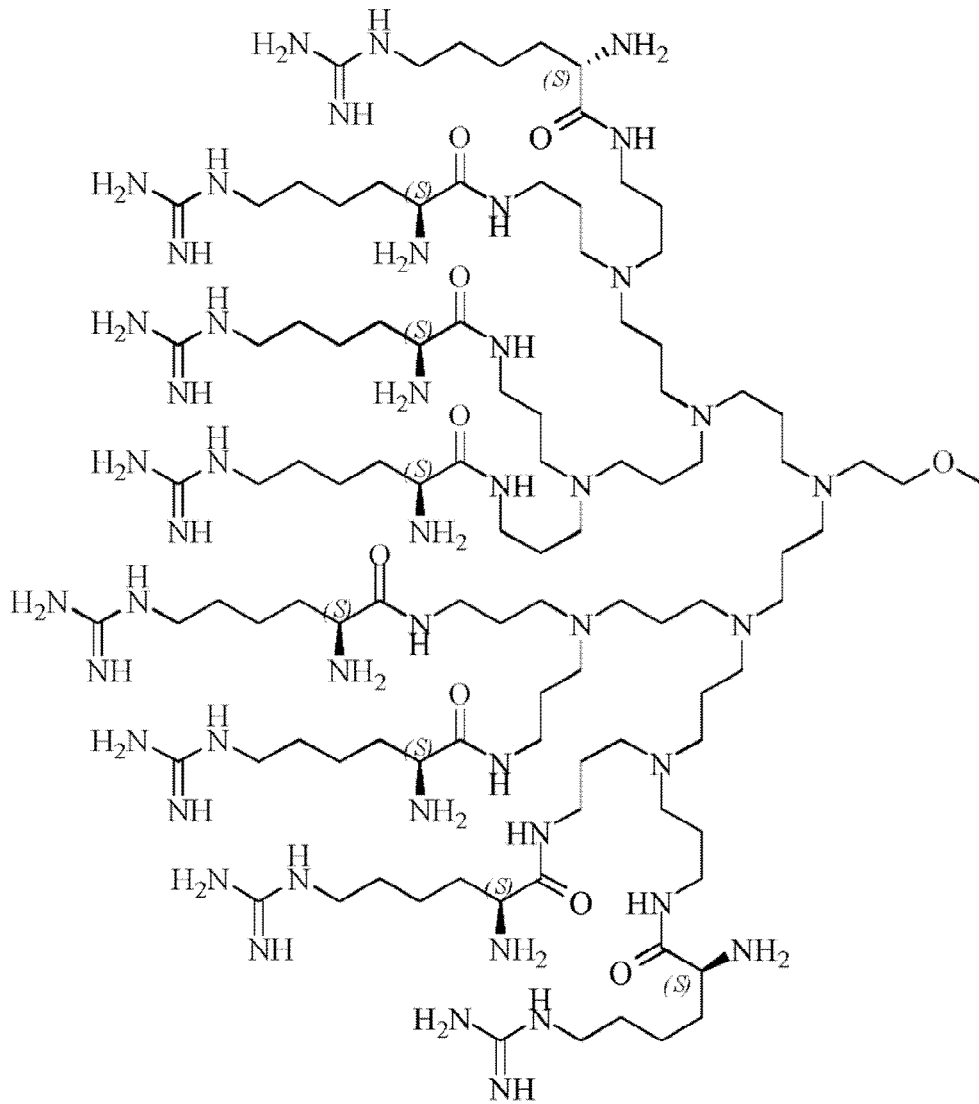
25

30

35

40

45



[0098] En una realización particularmente preferida, los compuestos de fórmula II son:

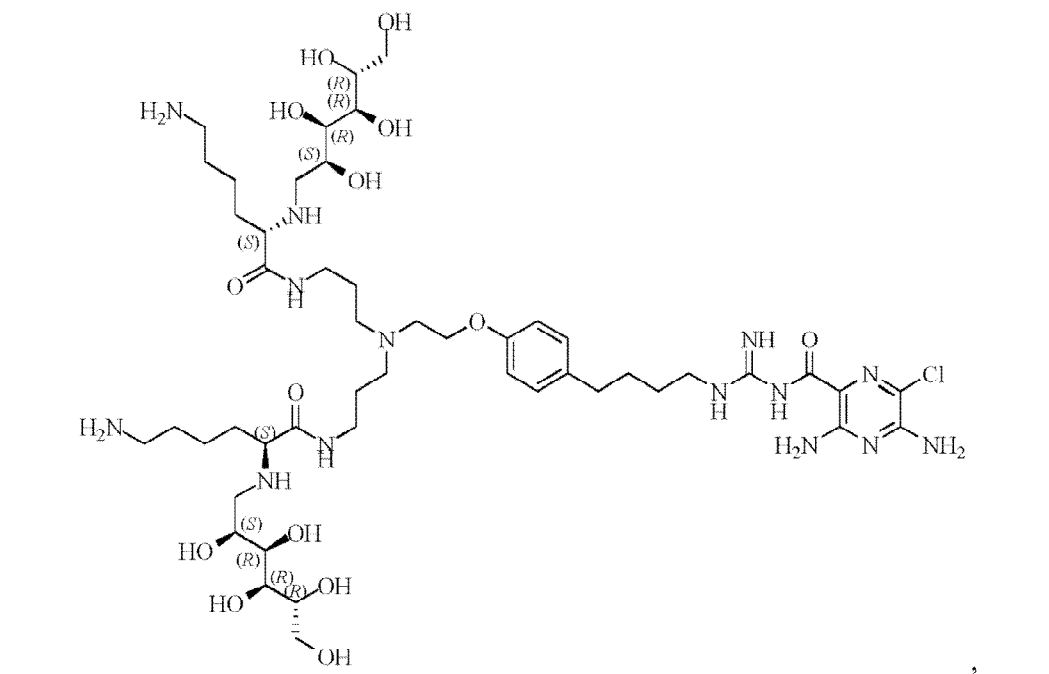
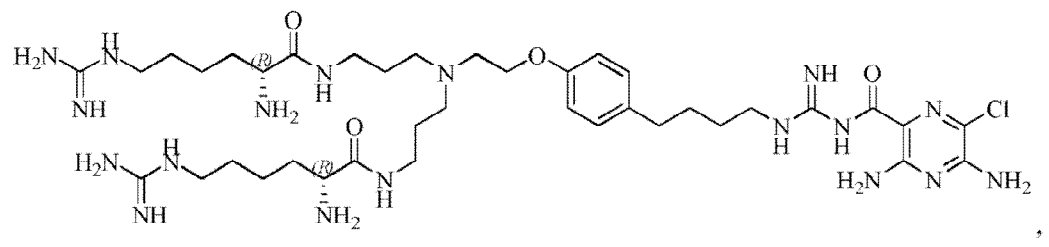
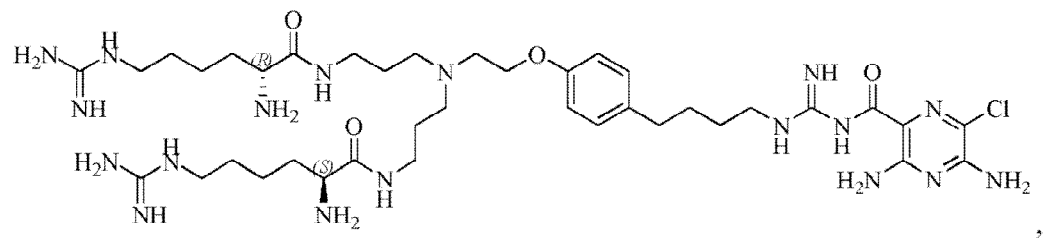
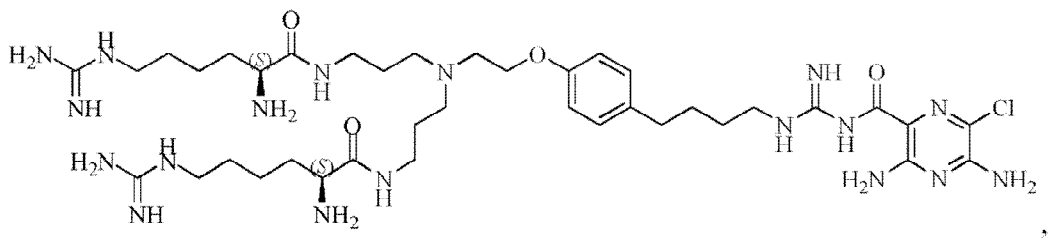
50

55

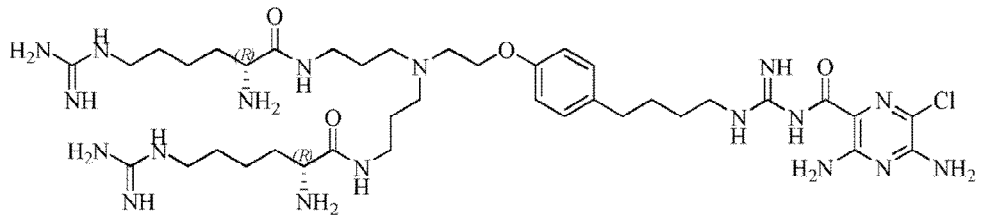
60

65

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

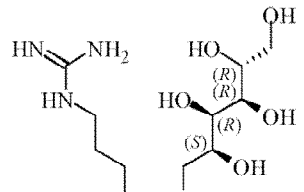


5

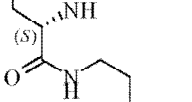


10

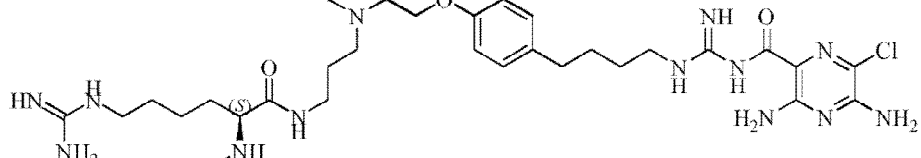
15



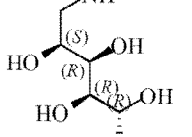
20



25

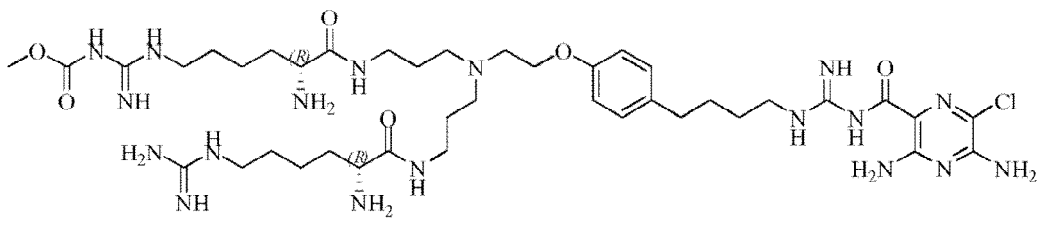


30



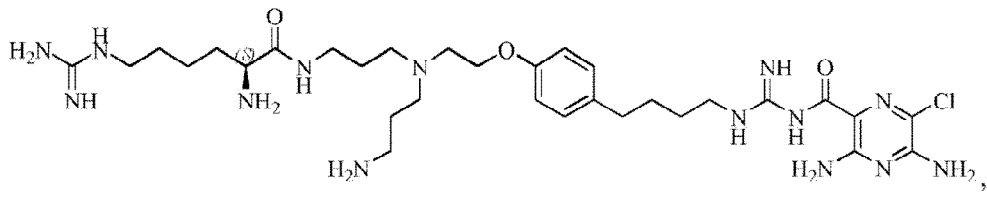
35

40



45

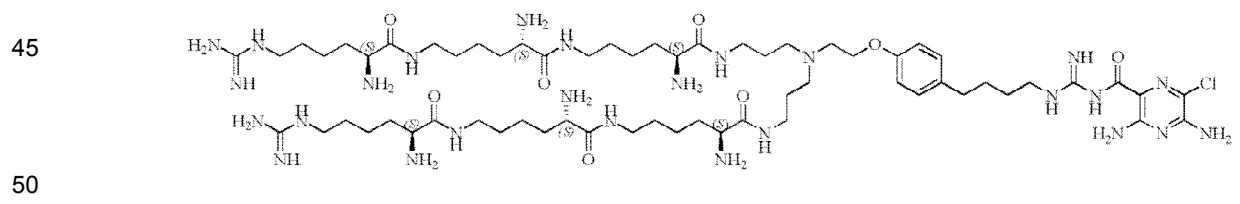
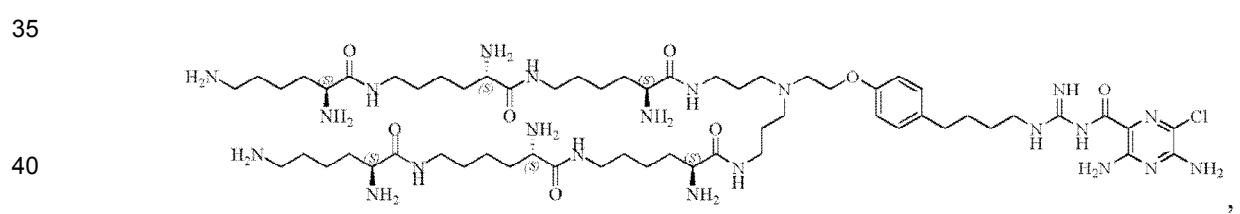
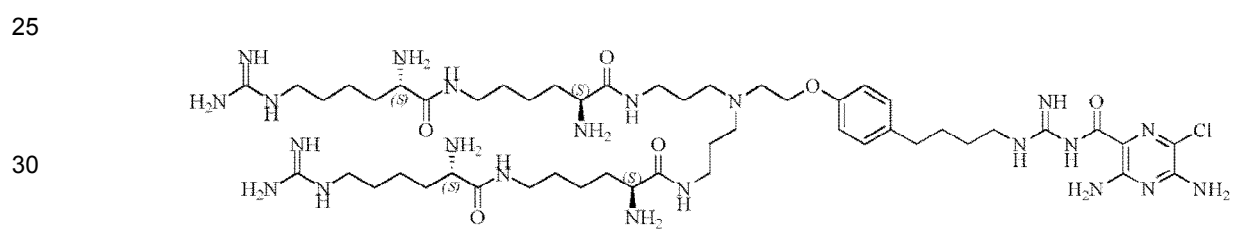
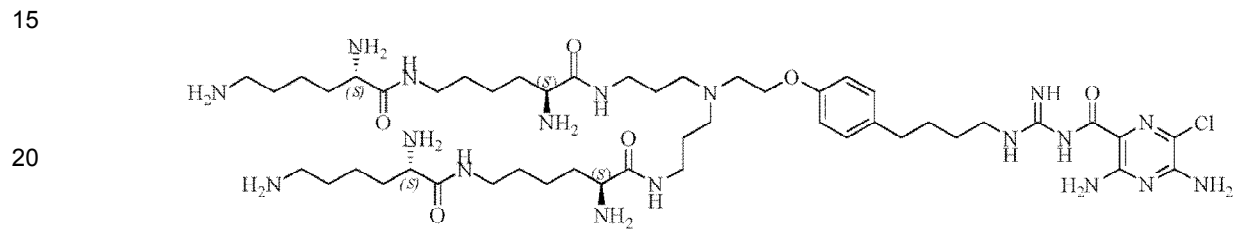
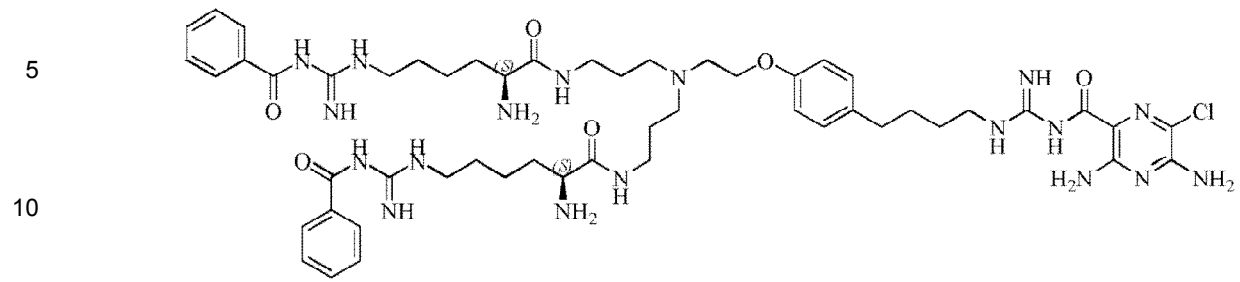
50



55

60

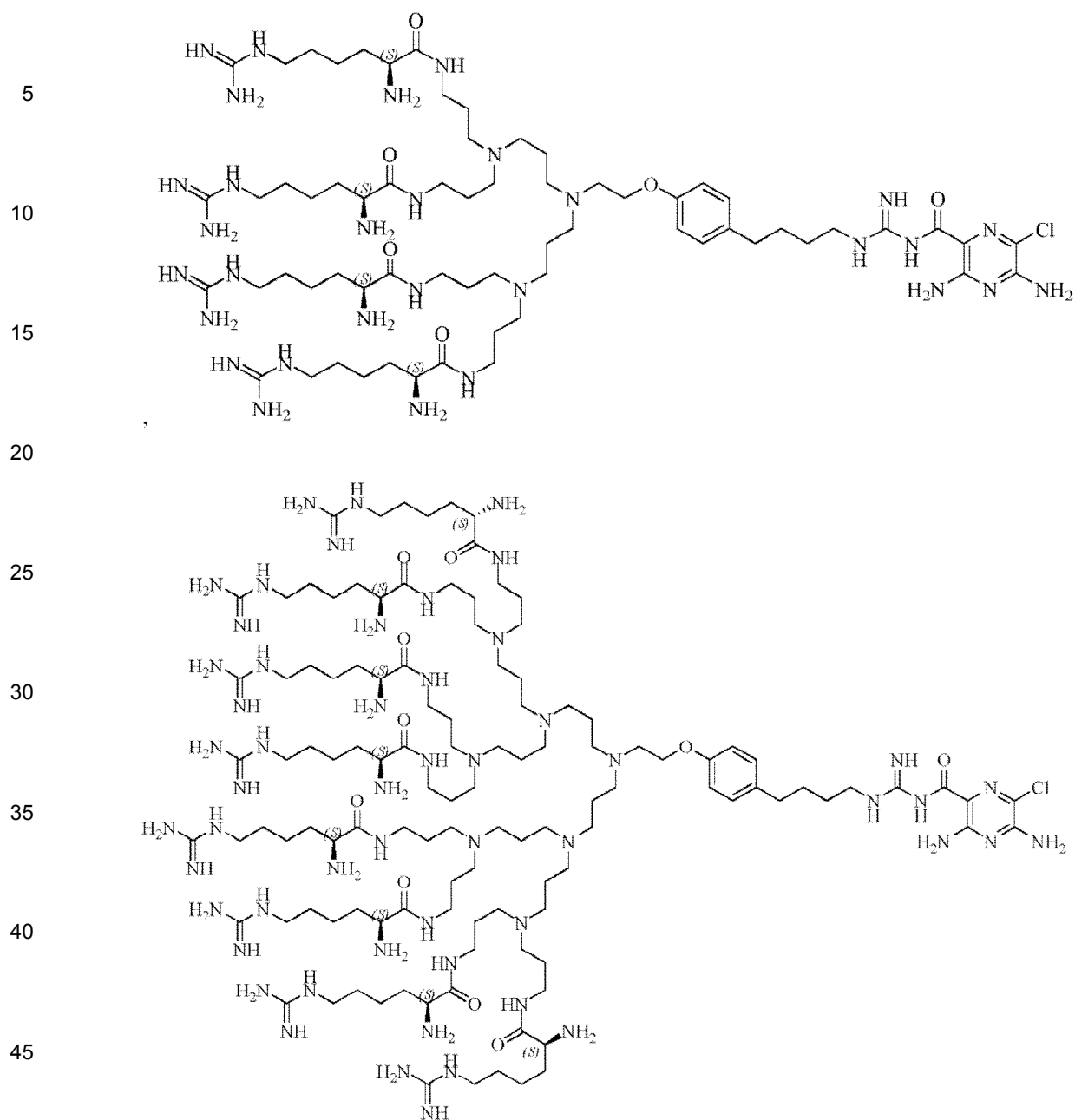
65



55

60

65



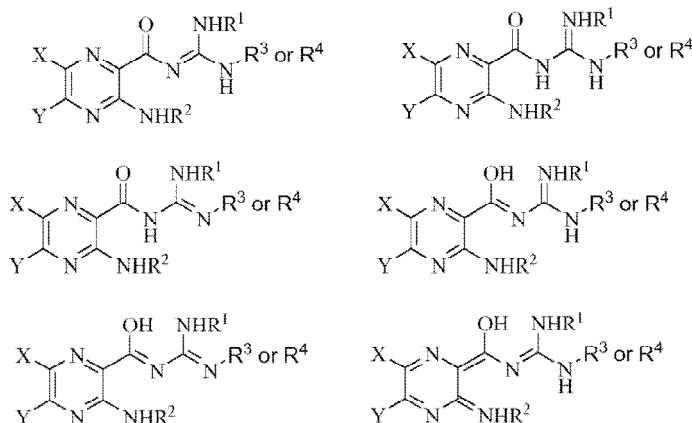
50 **[0099]** Los compuestos descritos en este documento pueden prepararse y usarse como la base libre. Alternativamente, los compuestos pueden prepararse y usarse como una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales que retienen o potencian la actividad biológica deseada del Compuesto original y no imparten efectos toxicológicos no deseados. Ejemplos de tales sales son (a) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares; (b) sales formadas con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido alginico, ácido poliglutámico, ácido naftalensulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido naftalendisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico y similares; y (c) sales formadas a partir de aniones elementales, por ejemplo, cloro, bromo y yodo.

65 **[0100]** Se debe observar que todos los diastereómeros y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos dentro del alcance de la fórmula II están abarcadas por la presente invención. Todas las mezclas de tales diastereómeros están dentro del alcance de la presente invención.

[0101] Un Compuesto de fórmula II 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 conformeros de la misma molécula (polimorfismo conformacional). Como se usa en el presente documento, el pseudopolimorfismo cristalino significa 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 empaquetamiento entre diferentes conformeros de la misma molécula (pseudopolimorfismo conformacional). La presente invención comprende todos los polimorfos y pseudopolimorfos de los compuestos de fórmula II y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0102] Un Compuesto de fórmula II 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 comprende todas las formas amorfas de los compuestos de fórmula II y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0103] Los compuestos de fórmula II 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 II (en forma generalizada tal que las variables son como en la fórmula II) pueden existir en diversas formas tautómeras como se muestra a continuación:



[0104] Todas las formas tautoméricas posibles de las amidinas, amidas, guanidinas, ureas, tioureas, heterociclos y similares de todas las realizaciones de fórmula II están dentro del alcance de la presente invención.

[0105] Los "enantiómeros" se refieren a dos estereoisómeros de un Compuesto que son imágenes especulares no superponibles entre sí.

[0106] Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en la presente memoria siguen en general a S.P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de 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). Los prefijos d y l, D y L, o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación de la luz polarizada en el plano por el compuesto, con S, (-) o l que significa que el Compuesto es levorrotatorio mientras que un Compuesto prefijado con R, (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos, excepto que son imágenes especulares entre sí. 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, desprovistas de actividad óptica.

[0107] 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.

[0108] "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.

[0109] Sin estar limitado a ninguna teoría particular, se cree que los compuestos de fórmula II funcionan *in vivo* como bloqueadores de los canales de sodio. Al bloquear los canales de sodio epiteliales presentes en las superficies de la mucosa, los compuestos de fórmula II 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, reequilibra el sistema y, por lo tanto, trata la enfermedad.

[0110] La presente invención también proporciona compuestos para uso en métodos de tratamiento que aprovechan las propiedades de los compuestos descritos en este documento como se discutió anteriormente. La presente invención se puede usar para hidratar superficies mucosas que incluyen superficies o superficies oculares, superficies de las vías respiratorias, superficies gastrointestinales, superficies bucales, superficies genito-uretrales, el oído interno y el oído medio. Los compuestos activos descritos en este documento pueden administrarse en una cantidad eficaz a las superficies de la mucosa por cualquier medio adecuado, incluyendo tópicamente, oralmente, rectalmente, vaginalmente, ocularmente y dérmicamente, etc. Por ejemplo, para el tratamiento del estreñimiento, los compuestos activos pueden administrarse por vía oral o rectal a la superficie de la mucosa gastrointestinal. El Compuesto activo se puede combinar con un vehículo farmacéuticamente aceptable en cualquier forma adecuada, tal como solución salina fisiológica o diluida tópica o solución tópica, como una gota, tableta o similar para administración oral, como un supositorio para administración rectal o genitouretral, etc. Se pueden incluir excipientes en la formulación para potenciar la solubilidad de los compuestos activos, según se desee. Por lo tanto, los sujetos que pueden tratarse mediante los métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, pacientes con ojo seco crónico, enfermedad de Sjogren, boca seca (xerostomía), sequedad vaginal, fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, bronquiectasia, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias, pacientes ventilados artificialmente, pacientes con neumonía aguda, etc.

[0111] La presente invención se puede usar para obtener una muestra de esputo de un paciente administrando los compuestos activos a al menos un pulmón de un paciente, y luego induciendo o recogiendo una muestra de esputo de ese paciente. Típicamente, la invención se administrará a superficies de la mucosa respiratoria mediante aerosol (polvos líquidos o secos) o lavado.

[0112] Los sujetos que pueden tratarse mediante el método divulgado en la presente memoria también incluyen pacientes a los que se administra oxígeno suplementario por vía nasal (un régimen que tiende a secar las superficies de las vías respiratorias); pacientes aquejados de una enfermedad o respuesta alérgica (p. ej., una respuesta alérgica al polen, polvo, pelo de animal o partículas, insectos o partículas de insectos, etc.) que afecta las superficies de las vías respiratorias nasales; pacientes aquejados de una infección bacteriana, por ejemplo, infecciones por estafilococos tales como infecciones por *Staphylococcus aureus*, infecciones por influenza de *Hemophilus*, infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*, etc.) de las superficies de las vías respiratorias nasales; pacientes aquejados de una enfermedad inflamatoria que afecta las superficies de las vías respiratorias nasales; o pacientes que padecen sinusitis (en donde el agente o agentes activos se administran para promover el drenaje de secreciones mucosas congestionadas en los senos mediante la administración de una cantidad eficaz para promover el drenaje del fluido congestionado en los senos) o la rinosinusitis combinada. La invención se puede administrar a superficies rinoinsiales por administración tópica, que incluye aerosoles y gotas.

[0113] La presente invención se refiere principalmente a compuestos para uso con el tratamiento de sujetos humanos, pero también se puede emplear para el tratamiento de otros sujetos mamíferos, tales como perros y gatos, con fines veterinarios.

[0114] Como se discutió anteriormente, los compuestos usados para preparar las composiciones de la presente invención pueden estar en forma de una base libre farmacéuticamente aceptable. Debido a que la base libre del Compuesto es generalmente menos soluble en soluciones acuosas que la sal, las composiciones de base libre se emplean para proporcionar una liberación más sostenida del agente activo a los pulmones. Un agente activo presente en los pulmones en forma 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.

5 [0115] Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende un Compuesto de fórmula (II) en un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una solución de vehículo acuosa). En general, el Compuesto de fórmula (II) se incluye en la composición en una cantidad eficaz para inhibir la reabsorción de agua por las superficies de la mucosa.

10 [0116] Los vehículos farmacéuticamente aceptables para indicaciones oftálmicas incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones y formas de liberación sostenida que incluyen, pero no se limitan a, inserciones, tapones o lentes de contacto solubles. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, tampones (que incluyen fosfato, citrato, bicarbonato y borato); agentes de ajuste de la tonicidad (cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol, dextrosa); agentes potenciadores de la viscosidad (carboximetilcelulosa, glicerol). Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser estériles o conservarse con agentes que incluyen, pero sin limitación, cloruro de benzalconio.

15 [0117] Sin estar limitado a ninguna teoría particular, se cree que los bloqueadores de los canales de sodio de la presente invención bloquean los canales de sodio epiteliales presentes en las superficies de la mucosa. El bloqueador de canales de sodio descrito en la presente memoria reduce la absorción de sal y agua por las superficies de la mucosa. Este efecto aumenta el volumen de líquidos protectores en las superficies de la mucosa, reequilibra el sistema y, por lo tanto, trata la enfermedad.

20 USOS

25 [0118] 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.

30 [0119] Como consecuencia, los compuestos de la invención son útiles como medicamentos, particularmente para el tratamiento de afecciones clínicas para las que puede estar indicado un bloqueador de canales de sodio. 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 deshidratación nasal provocada por la administración de oxígeno seco, ojo seco, enfermedad de Sjogren, otitis media, discinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento y diverticulitis crónica. Los compuestos de la invención también se pueden usar para promover la hidratación ocular o corneal.

35 [0120] Otras afecciones que pueden beneficiarse del tratamiento con un bloqueador de canales de sodio incluyen afecciones pulmonares, tales como enfermedades asociadas con obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), que incluyen exacerbaciones agudas de EPOC, asma, bronquiectasias (incluyendo bronquiectasias debido a condiciones distintas a la fibrosis quística), bronquitis aguda, bronquitis crónica, tos postvirales, fibrosis quística, enfisema, neumonía, panbronquiolitis y bronquiolitis asociada a trasplantes, incluyendo bronconeitis asociada a trasplante de pulmón y médula ósea, en un humano que lo necesite. 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 un Compuesto de la invención para uso en métodos para tratar cada una de estas afecciones en un mamífero que lo necesite, preferiblemente en un ser 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 una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. También se proporciona un Compuesto de la invención para uso en (a) un método para reducir las exacerbaciones de EPOC en un mamífero que lo necesite; (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 necesite, (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 necesite.

40 [0121] También se proporciona un Compuesto de la invención para uso en un método para estimular, potenciar o mejorar el aclaramiento mucociliar en un mamífero, comprendiendo el método la administración a un mamífero que lo necesite de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un Compuesto de fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. 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 Compuesto de la invención para uso en un método para mejorar el aclaramiento de moco en las vías respiratorias de un mamífero que lo necesite.

45 [0122] 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.

[0123] De acuerdo con esto, 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 bloqueante de los canales de sodio.

5 **[0124]** 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.

10 **[0125]** 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.

15 **[0126]** 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 II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto (típicamente mamífero y preferiblemente humano) que necesita tratamiento.

20 **[0127]** En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en un método para el tratamiento del asma en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en un método para el tratamiento de bronquitis, que incluye bronquitis aguda y crónica en un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en un método para el tratamiento de enfisema en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en un método para el tratamiento de bronquiolitis asociada a trasplante, 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, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en un método para tratar la traqueobronquitis asociada al ventilador y/o prevenir la neumonía asociada a un ventilador en un ser humano con ventilación que lo necesite.

50 **[0128]** En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en un método para 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, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 necesite. En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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 Compuesto de la invención para uso en un método para el tratamiento de discinesia ciliar primaria, en un mamífero, particularmente un ser humano que lo necesite. En una realización, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en 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.

[0129] 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 que lo necesite. 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 necesite. 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 ventilado que lo necesite.

[0130] En una realización, se proporciona un Compuesto de la invención para uso en el tratamiento de una afección mejorada por una mayor hidratación de la mucosa en las superficies de la mucosa 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.

[0131] 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 que 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.

[0132] 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, sequedad vaginal, 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.

[0133] 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.

[0134] 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, edad y 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.

[0135] Una dosis farmacéuticamente eficaz administrada tópicamente a las superficies oculares de un sujeto (por ejemplo, aplicada como colirio tópico) de un Compuesto de la invención para el tratamiento de un humano de 70 kg puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1.000 mg.

[0136] 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 0,1 a aproximadamente 1.000 mg. Típicamente, la dosis diaria administrada tópicamente a las superficies de las vías respiratorias será una cantidad suficiente para alcanzar una 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 0,1 a aproximadamente 1.000 mg. 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 a aproximadamente 50 mg. En otra realización, la dosis farmacéuticamente efectiva será de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg. En otra realización, la dosis farmacéuticamente efectiva será de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 40 mg. En una realización adicional, la dosis farmacéuticamente efectiva será de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 30 mg. 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 la 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. Estas dosis y soluciones variarán de aproximadamente 0,00001% a 10% en base al peso por volumen (p/v).

[0137] 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 el mismo) se puede administrar 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).

[0138] Los compuestos de fórmula (II) 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 (II) de la presente invención también son útiles para tratar una infección por ántrax. La presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (II) de la presente invención para uso en el tratamiento profiláctico, preventivo o terapéutico posterior a la exposición contra enfermedades o afecciones causadas por patógenos. En una realización preferida, la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (II) para uso en el tratamiento profiláctico, preventivo o terapéutico posterior a la exposición contra enfermedades o afecciones causadas por patógenos que pueden usarse en bioterrorismo.

[0139] En los últimos años, una variedad de programas de investigación y medidas de biodefensa se han puesto en marcha 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 de biodefensa 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.

[0140] 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 las terapias 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.

[0141] 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.

[0142] La presente invención proporciona compuestos para uso en tales métodos de tratamiento profiláctico. En un aspecto, se proporciona un método de tratamiento profiláctico que comprende administrar una cantidad profilácticamente eficaz de los compuestos de fórmula (II) 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.

[0143] 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 administrar una cantidad eficaz de los compuestos de fórmula (II) 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 osmolito son suficientes para reducir el riesgo de infección en el humano. Un ejemplo particular de un patógeno en el aire es el ántrax.

[0144] 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 (II) 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 el tratamiento de la invención puede ser útil, incluye, pero no se limita a, patógenos prioritarios de categoría A, B y C según lo establecido 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. Otro patógeno contra el que se puede proteger es el coronavirus, que se cree que causa el síndrome respiratorio agudo severo (SARS).

[0145] La presente invención también se refiere a bloqueadores de canales de sodio de Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para uso en la prevención, mitigación y/o tratamiento de efectos deterministas sobre 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, se proporciona un Compuesto de la invención para su 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 receptor que lo necesite, que incluye un ser humano que lo necesite,

comprendiendo dicho método la administración a dicho ser humano de una cantidad eficaz de un Compuesto de Fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 **[0146]** Una preocupación importante asociada con la planificación de gestión de consecuencias para las exposiciones de 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 en 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.

10 **[0147]** 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 radionucleidos 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 radionucleido 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.

20 **[0148]** 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 anestesiarse 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.

25 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 radionucleidos recuperados. Actualmente no se comprenden las razones de la variabilidad.

30 **[0149]** 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 inhalaban partículas insolubles de ^{144}Ce -FAP. Dos grupos de perros recibieron contenidos pulmonares de ^{144}Ce 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 ^{144}Ce 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 ^{144}Ce 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 1.270 ± 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.

35 **[0150]** En base a estos resultados, se cree que la disminución de la dosis radiológica residual adicional por cualquier método o combinación de métodos para mejorar 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 ligado a ninguna teoría 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.

[0151] 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.

[0152] En un aspecto de la presente invención, los compuestos para uso en un método para prevenir, mitigar y/o tratar los efectos deterministas sobre la salud del tracto respiratorio y/u otros órganos corporales causados por aerosoles respirables que contienen radionucleidos comprenden administrar una cantidad efectiva de un bloqueador de canales de sodio de Fórmula II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para un individuo necesitado. 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 de iones puede seleccionarse del grupo que consiste en β -agonistas, potenciadores de RTFQ, agonistas de receptores purinérgicos, lubiprostones e inhibidores de proteasas. En otra característica de este aspecto, los radionucleidos se seleccionan del grupo que consiste en Cobalt-60, Cesio-137, Iridio-192, Radio-226, Fósforo-32, Estroncio-89 y 90, Yodo-125, Talio-201, Plomo-210, Torio-234, Uranio-238, Plutonio, Cobalt-58, Cromio-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

[0153] 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 Fórmula (II), independientemente o en combinación, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0154] También se proporciona un kit que comprende i) una cantidad farmacéuticamente eficaz de un Compuesto de Fórmula (II), 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 necesite; y; iv) un contenedor. Un sujeto que lo necesite incluye cualquier sujeto que necesite los métodos de tratamiento descritos en este documento.

[0155] En una realización, un kit comprende i) de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 40 μg de un Compuesto de Fórmula (II), 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 necesite; 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.

[0156] También se proporciona un kit que comprende i) una solución que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un Compuesto de Fórmula (II), 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 necesite; y iii) un contenedor.

[0157] También se proporciona un kit que comprende i) una solución que comprende de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 40 μg de un Compuesto de Fórmula (II), 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 necesite; 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.

5 **[0158]** Para cada uno de los kits descritos anteriormente hay una realización adicional en la que el diluyente es solución salina hipertónica.

10 **[0159]** 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 perjudicial para el receptor de la misma. 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 y "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, PHARMAGUTICAL 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.

20 **[0160]** Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con 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.

30 **[0161]** Las formulaciones se pueden presentar en forma de dosificación unitaria o a granel como, por ejemplo, en el caso de formulaciones para dosificación mediante un inhalador y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Generalmente, los métodos incluyen la etapa 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.

40 **[0162]** 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 tópica, crema o gotas para los ojos. 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.

45 **[0163]** Otras composiciones diseñadas para la administración tópica a los ojos u oídos incluyen gotas para los ojos y gotas para los oídos en que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, tal como, por ejemplo, un disolvente acuoso, que incluye solución salina.

50 **[0164]** Las formulaciones adecuadas para administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o tabletas, que contienen cada una 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.

55 **[0165]** Una tableta se puede hacer mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los 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 mezclado con un aglutinante, 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.

60 **[0166]** 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.

65

- 5 [0167] 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.
- 10 [0168] Los fluidos orales tales como soluciones, jarabes y elixires se pueden preparar en forma de unidad de dosificación de modo que una cantidad dada contiene 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.
- 15 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.
- 20 [0169] Los sistemas de administración de liposomas tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilamelares 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.
- 25 [0170] Las composiciones diseñadas para la 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.
- 30 [0171] 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.
- 35 [0172] Las composiciones para administración vaginal o rectal incluyen ungüentos, cremas, supositorios y enemas, todos los cuales se pueden formular usando técnicas convencionales.
- 40 [0173] 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.
- 45 [0174] 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 μm y preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 μm , y el GSD es menor que 3, y preferiblemente menor que aproximadamente 2. Los aerosoles tienen un MMAD superior a 10 μm 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 administran 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.
- 50 [0175] 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.
- 55 [0175] 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.
- 60 [0175] 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.
- 65 [0175] 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.

5 [0176] 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 de 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.

10 [0177] 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.

15 [0178] 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).

20 [0179] Generalmente, 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.

25 [0180] El inhalador desechable de dosis única Twincer™ parece funcionar con una cámara de dispersión ciclónica en forma de moneda denominada "clasificador de aire". Véase, Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 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.

30 [0181] En realizaciones preferidas, la formulación de 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 aproximadamente menos de 2.

35 [0182] Ejemplos de inhaladores de polvo seco adecuados y dispositivos de dispersión de polvo seco para 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 N° 2006/0237010.

40 [0183] 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.

5 **[0184]** En una realización, la formulación farmacéutica de acuerdo con la invención es un polvo seco para inhalación que se formula para administración usando un inhalador desechable de dosis única, 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 contenedor tiene en su interior una formulación inhalable que contiene una cantidad predeterminada de ingrediente(s) activo(s), ya sea solo o en mezcla con uno o más vehículos o exprimidores (por ejemplo, lactosa). La
10 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.

15 **[0185]** En otra realización, la formulación farmacéutica según la invención es un polvo seco para inhalación en donde el polvo seco se formula en micropartículas como se describe en la Publicación PCT N° WO2009/015286 o WO2007/114881, ambas para NexBio. Dichas 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
20 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.

25 **[0186]** En otra realización, una composición farmacéutica según la invención se administra 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
30 intervalo de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 5 µm y un GSD que es menor que aproximadamente 2 µm.

[0187] 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
35 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.

40 **[0188]** Las composiciones en aerosol para el suministro por inhaladores de dosis medida presurizados típicamente comprenden además un propelente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales propelentes incluyen fluorocarbono o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno o mezclas de los mismos, particularmente hidrofluoroalcanos, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, especialmente
45 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.
50

[0189] 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 N^{os} 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
55 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 .

[0190] 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 líquidas en aerosol para nebulización pueden generarse solubilizando o reconstituyendo una
60 formulación de partículas sólidas o pueden formularse con un vehículo acuoso con la adición de agentes tales como ácido o alcali, sales de 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.
65

[0191] 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 comúnmente utilizados incluyen tampones de citrato, tampones de acetato y tampones de fosfato. Las resistencias del tampón pueden variar de 2mM a 50mM.

[0192] 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 pueden emplearse para la administración en aerosol de una composición de la invención incluyen nebulizadores de chorro neumáticos, nebulizadores de chorro ventilados o mejorados en aliento, o nebulizadores ultrasónicos que incluyen nebulizadores de placas porosas estáticas o vibratorias.

[0193] Un nebulizador de chorro utiliza una corriente de aire a 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.

[0194] 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 malla que vibra. 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 de fluido gemelo 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.

[0195] 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.

[0196] En una realización preferida, la formulación para 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 μm . 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.

[0197] Los compuestos de la invención también se pueden administrar mediante lavado transbroncoscópico.

[0198] En otro aspecto, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en un método para promover la hidratación de las superficies de la mucosa o restablecer la defensa de la mucosa en un ser humano que lo necesite, que comprende administrar al ser humano una composición farmacéutica que comprende un Compuesto de la invención, en donde dicho Compuesto se administra en una cantidad 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.

[0199] En otro aspecto, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en un método para tratar cualquiera de: una enfermedad asociada con obstrucción reversible o irreversible de la vía aérea, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, bronquiectasia (incluyendo bronquiectasias) debido a condiciones distintas a 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 en necesidad de la misma, que comprende

5 administrar al ser humano una composición farmacéutica que comprende un Compuesto de la invención, en 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.

10 **[0200]** En otro aspecto, la invención proporciona un Compuesto de la invención para uso en un método para tratar cualquiera de boca seca (xerostomía), piel seca, sequedad vaginal, sinusitis, rinosinusitis o deshidratación nasal, incluida la deshidratación nasal provocada mediante la administración de oxígeno seco, ojo seco, ojo seco asociado a la enfermedad de Sjogren, promoción de la hidratación ocular o corneal, tratamiento del síndrome de obstrucción intestinal distal, tratamiento de la otitis media, diskinesia ciliar primaria, síndrome de obstrucción intestinal distal, esofagitis, estreñimiento o diverticulitis crónica en humanos que lo necesite, que comprende administrar al humano una composición farmacéutica que comprende un Compuesto de la invención, en donde dicho Compuesto se
15 administra en una cantidad efectiva.

[0201] Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas para los compuestos de la invención son aquellas que contienen una cantidad eficaz del ingrediente activo o una fracción apropiada de los mismos.

20 **[0202]** 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.

25 **[0203]** 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, las composiciones que comprenden una base libre de un Compuesto de Fórmula II pueden emplearse 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
30 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.

40 **[0204]** Los bloqueadores de ENaC descritos en esta invención se pueden administrar mediante administración tópica a los ojos de un paciente que necesita dicho tratamiento. Los bloqueadores ENaC de Fórmula II se administran a la superficie ocular de un sujeto, en una cantidad eficaz para reducir los síntomas del ojo seco y para mejorar la hidratación de la película lagrimal. Preferiblemente, los bloqueantes ENaC se administran como una suspensión líquida o de gel en forma de gotas, pulverización o gel. Alternativamente, los bloqueadores ENaC se pueden aplicar al ojo a través de liposomas. Los bloqueadores de ENaC también pueden estar contenidos, transportados o unidos a lentes de contacto, tapones puntuales u otros materiales compatibles de liberación controlada, que se colocan en el ojo. Los bloqueadores ENaC también pueden estar contenidos dentro de un hisopo o esponja que se puede aplicar a la superficie ocular. Los bloqueadores ENaC también pueden estar contenidos dentro de un aerosol líquido que se puede aplicar a la superficie ocular. Otra realización de la presente invención implica una inyección de bloqueadores de ENaC directamente en los tejidos lagrimales o sobre la superficie del ojo.
50

[0205] La solución tópica que contiene bloqueadores de ENaC puede contener un vehículo fisiológicamente compatible, como los expertos en la técnica oftálmica pueden seleccionar usando criterios convencionales. Los vehículos oftálmicos incluyen, entre otros, solución salina, poliéteres de agua tales como polietilenglicol, polivinilos tales como alcohol polivinílico y povidona, derivados de celulosa tales como metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, policarbofilo, derivados del petróleo tales como aceite mineral y petrolato blanco, grasas animales tales como lanolina, polímeros de ácido acrílico tales como gel de carboxipolimetileno, grasas vegetales tales como aceite de cacahuete y polisacáridos tales como dextranos y glicosaminoglicanos tales como hialuronato de sodio y sales tales como cloruro de sodio y cloruro de potasio.

60 **[0206]** La formulación tópica incluye opcionalmente un conservante, tal como cloruro de benzalconio y otros ingredientes inactivos tales como EDTA. El pH de la formulación se ajusta agregando cualquier pH fisiológica y oftalmológicamente aceptable, ajuste de ácidos, bases o tampones dentro del intervalo de aproximadamente 4,5 a 7,5; preferiblemente de 5 a 7. Los ejemplos de ácidos incluyen ácido acético, bórico, cítrico, láctico, fosfórico, clorhídrico y similares, y ejemplos de bases incluyen hidróxido de sodio, fosfato de sodio, borato de sodio, citrato de sodio, acetato de sodio, lactato de sodio, trometamina, THAM (trihidroximetilamino-metano) y similares. Las sales y tampones incluyen citrato/dextrosa, bicarbonato de sodio, cloruro de amonio y mezclas de los ácidos y bases
65

mencionadas anteriormente.

[0207] La presión osmótica de la formulación tópica de bloqueantes ENaC generalmente es de aproximadamente 200 a aproximadamente 400 miliosmolar (mOsM), más preferiblemente de 260 a 340 mOsM. La presión osmótica se puede ajustar usando cantidades apropiadas de agentes iónicos o no iónicos fisiológicos y oftalmológicamente aceptables. El cloruro sódico es un agente iónico preferido, y la cantidad de cloruro sódico varía de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 1% (p/v), y preferiblemente de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 0,85% (p/v). Cantidades equivalentes de una o más sales formadas por cationes tales como potasio, amonio y similares y aniones tales como cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, sulfato, tiosulfato, bisulfato, bisulfato de sodio, sulfato de amonio y similares puede usarse además o en lugar de cloruro sódico para lograr la osmolalidad dentro del rango indicado anteriormente. Además, los agentes no iónicos tales como manitol, dextrosa, sorbitol, glucosa y similares también pueden usarse para ajustar la osmolalidad.

[0208] La concentración de bloqueadores ENaC incluidos en la formulación tópica es una cantidad suficiente para reducir los síntomas del ojo seco y/o mejorar la hidratación de la película lagrimal. Esta formulación es preferiblemente una solución acuosa de bloqueadores ENaC y está en el intervalo de 0,0001 a 3%, preferiblemente de 0,001 a 0,1%, más preferiblemente de 0,003 a 0,05%, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,03% (p/v). "Acerca de" tal como se usa en la presente memoria, se refiere a \pm 15% del valor indicado. La formulación incluye opcionalmente un conservante, tal como cloruro de benzalconio (0,003% p/v) e ingredientes inactivos: edetato sódico, agua purificada, cloruro sódico, fosfato sódico monobásico, hidróxido sódico y/o ácido clorhídrico para ajustar el pH a aproximadamente 4-8.

[0209] La dosis tópica diaria para reducir los síntomas del ojo seco y mejorar la composición de la película lagrimal se puede dividir entre una o varias administraciones de dosis unitarias. La dosis diaria total para los bloqueadores de ENaC, por ejemplo, puede variar desde una gota (aproximadamente 50 μ l), una a cuatro veces al día, dependiendo de la edad y el estado del sujeto. Un régimen preferido para los bloqueadores de ENaC es una gota de solución al 0,03% (p/v), aproximadamente de una a dos veces al día.

[0210] Las composiciones farmacéuticas líquidas de bloqueadores ENaC para producir gotas para los ojos se pueden preparar combinando bloqueadores ENaC con un vehículo adecuado, tal como agua estéril libre de pirógenos o solución salina estéril mediante técnicas conocidas por los expertos en la técnica.

COMBINACIONES

[0211] 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 (RTFQ), 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.

[0212] La presente invención proporciona de este modo, como otro aspecto, una composición que comprende una cantidad eficaz de un Compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticamente activos seleccionados de osmolitos, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas (incluyendo β_2 -agonistas selectivos), agonistas del receptor P2Y₂, antagonistas delta del PPAR, bloqueadores del receptor ENaC, moduladores del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (RTFQ), 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. 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 indeseables atribuibles al bloqueo sistémico de los canales de sodio como, por ejemplo, en los riñones.

[0213] Los "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.

[0214] 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 están 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.

[0215] Los ejemplos específicos de aniones osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, 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, hidrocloreuro, hidroxinafonato, yoduro, isetonato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrito, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, nitrito, pamoato (embonato), pantotenato, fosfato o difosfato, poliglacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teocato (8-cloroteofilinato), triyoduro, bicarbonato, etc. Aniones preferidos incluyen cloruro, sulfato, nitrato, gluconato, yoduro, bicarbonato, bromuro y fosfato.

[0216] Los ejemplos específicos de cationes osmóticamente activos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes orgánicos tales como benzatrina (*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.

[0217] Los ejemplos específicos de osmolitos iónicos que pueden usarse en combinación con un Compuesto de la invención incluyen, pero no se limitan a, cloruro de sodio (particularmente solución salina hipertónica), cloruro de potasio, cloruro de colina, yoduro de colina, cloruro de litio, cloruro de meglumina, L-cloruro de 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.

[0218] 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 eritrolosa); 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 alftosa, alosa, glucosa, manosa, gulosa, idosa, galactosa y talosa, y las formas D y L de aloheptulosa, alohepulososa, glucoheptulosa, mano-heptulosa, gulo-heptulosa, ido-heptulosa, galacto-heptulosa, taloheptulosa). 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.

[0219] "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.

[0220] 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 como la transaminación. Por ejemplo, un precursor del aminoácido glutamina es poli-L-glutamina, y un precursor del glutamato es ácido poli-L-glutámico.

[0221] 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 N^{os} 4.479.932 y 4.540.564; Shek, E. y col., J. Med. Chem. 19: 113-117 (1976); Bodor, N. y col., J. Pharm. Sci. 67: 1045 - 1050 (1978); Bodor, N. y col., J. Med. Chem. 26: 313 - 318 (1983); Bodor, N. y col., J. Pharm. Sci. 75: 29-35 (1986).

[0222] Los osmolitos preferidos para uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen cloruro de sodio, solución salina hipertónica particular y manitol.

[0223] 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 (RTFQ) como FQ o EPOC. Hallazgos recientes indican que, aunque la relación relativa de conductancia de conductancia $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ está entre 0,1 y ,2 para canales de RTFQ individuales activados con AMPc y ATP, la proporción en el conducto de sudor puede variar de prácticamente 0 a casi 1,0, dependiendo de condiciones de la estimulación. Es decir, la combinación de AMPc + GMPC + α -cetoglutaratato puede producir una conductancia de HCO_3^- de RTFQ casi igual a la de la conductancia de Cl^- (Quiton y col., Physiology, Vol. 22, No. 3, 212-225, junio de 2007). Además, las formulaciones de aniones de bicarbonato que contienen salina hipertónica al 7% y >7% 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 RTFQ 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.

[0224] 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.

[0225] Se entiende que la solución salina hipertónica tiene una concentración de sal mayor que la de la solución salina normal, 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 de la solución salina normal. Las soluciones salinas hipotónicas 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 de a) de aproximadamente 0,5 g/L (0,05% p/v) a aproximadamente 70 g/L (7% p/v); b) de aproximadamente 1 g/L (0,1% p/v) a aproximadamente 60 g/L (6% p/v); c) de aproximadamente 1 g/L (0,1% p/v) a aproximadamente 50 g/L (5% p/v); d) de aproximadamente 1 g/L (0,1% p/v) a aproximadamente 40 g/L (4% p/v); e) de aproximadamente 1 g/L (0,1% p/v) a aproximadamente 30 g/L (3% p/v); y f) desde aproximadamente 1 g/L (0,1% p/v) hasta aproximadamente 20 g/L (2% p/v).

[0226] Las concentraciones específicas de soluciones salinas útiles en las formulaciones y métodos de tratamiento de la presente 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), y 150 g/L (15% p/v). Las concentraciones de solución salina entre cada una de estas concentraciones/porcentajes listados también se pueden usar, como la solución salina de 1,7 g/L (0,17% p/v), 28 g/L (2,8% p/v), 35 g/L (3,5% p/v) y 45 g/L (4,5% p/v). Cada uno de los intervalos y concentraciones específicas de solución salina se puede usar con las formulaciones, los métodos de tratamiento, los regímenes y los kits descritos en este documento.

[0227] También se describen en la presente memoria osmolitos modificados químicamente o 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. y col., J. Med. Chem. 19:113-117 (1976); Bodor, N. y col., J. Pharm. Sci. 67:1045 - 1050 (1978); Bodor, N. y col., J. Med. Chem. 26:313 - 318 (1983); Bodor, N. y col., J. Pharm. Sci. 75:29-35 (1986).

[0228] 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 (p. ej., furoato de mometasona), propionato de fluticasona, furoato de fluticasona, beclometasona, prednisolona de metilo, prednisolona, dexametasona, S-fluorometiléster de ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonilo)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metilo-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, éster S-(2-oxo-tetrahydro-furano-3S-ilo) de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metilo-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoico, ésteres de beclometasona (p.ej, el éster de 17-propionato o el éster de 17,21-dipropionato, fluorometiléster, 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 entre ciclesonida, desisobutirilo-ciclesonida, budesonida, mometasona, propionato de fluticasona y furoato de fluticasona, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0229] Los AINE para uso en la presente invención incluyen, pero sin limitación, inhibidores de cromoglicato sódico, 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, inhibidores 5 LO y FLAP), inhibidores de sintasa de óxido nítrico (iNOS), inhibidores de la proteasa (p. ej., inhibidores de triptasa, inhibidores de elastasa de neutrófilos e inhibidores de metaloproteasas) antagonistas de integrina β 2 y agonistas o antagonistas del receptor de adenosina (por ejemplo, agonistas de adenosina 2a), antagonistas de citoquinas (por ejemplo, antagonistas de quimioquinas) o inhibidores de la síntesis de citoquinas (por ejemplo, antagonistas de receptores de prostaglandina D2 (CRTh2)). Los ejemplos de modificadores de leucotrienos adecuados para la administración mediante el método de esta invención incluyen monteleukast, zileuton y zafirlukast.

[0230] 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, tofomilast, 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), hidrocioruro 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)etino)-pirimidina-2-amina, cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxi-fenilo)ciclohexano-1-ol] y 4-[6,7-dietoxi-2,3-bis(hidroximetilo)-1-naftalenilo]-1-(2-metoxietilo)-2 (1H)-piridinona (T-440) y cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0231] Los antagonistas de leucotrienos e inhibidores de la síntesis de leucotrienos incluyen zafirlukast, montelukast sódico, zileuton y pranlukast.

[0232] 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 M₃. 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, sulfato de atropina atropina anhidra, óxido de atropina o HCl, nitrato de metilatropina, hidrobromuro de homatropina, bromuro de metilo de homatropina, hidrogenosato de hiosciamina, sulfato de hiosciamina, hidrobromuro de escopolamina, metilbromuro de escopolamina) o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0233] Anticolinérgicos adicionales para la formulación y el 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 HCl, tropicamida, trihexifenidilo CCl, pirenzepina, telenzepina y metocramina, o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0234] Los anticolinérgicos preferidos para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen ipratropio (bromuro), oxitropio (bromuro) y tiotropio (bromuro), o cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0235] 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 o R-albuterol (base libre o sulfato), levalbuterol, salbutamol, formoterol (fumarato), fenoterol, procaterol, pirbuterol, metapriterenol, terbutalina y sus sales, y cualquier combinación o subconjunto de los mismos.

[0236] Los agonistas del receptor P2Y₂ para formulación y uso en combinación con los compuestos de la invención se pueden emplear en una cantidad eficaz para estimular la secreción de cloruro y agua por 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 EE.UU. N° 6.264.975, y también en las Patentes de Estados Unidos N° 5.656.256 y 5.292.498.

[0237] Los agonistas P2Y₂ que se pueden administrar mediante los métodos de esta invención incluyen agonistas del receptor P2Y₂ tales como ATP, UTP, UTP-gamma-S y agonistas del receptor dinucleótido P2Y₂ (por ejemplo, denufosol o diquafosol) o una sal farmacéuticamente aceptable. 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. Se describen agonistas del receptor P2Y₂ adecuados, pero no se limitan a la Patente de EE.UU. N° 6.264.975, Patente de EE.UU. N° 5.656.256, Patente de EE.UU. 5.292.498, Patente de EE.UU. 6.348.589, Patente de EE.UU. 6.818.629, Patente de EE.UU. 6.977.246, Patente de EE.UU. 7.223.744, la Patente de EE.UU. N° 7.531.525 y la Patente de EE.UU. N° 2009/0306009.

[0238] Las terapias de combinación y las formulaciones en este documento pueden incluir agonistas de adenosina 2b (A2b), también, que incluyen 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 y col., Journal of Medicinal Chemistry 45 (15): 3271-9 (2002); Volpini y col., Current Pharmaceutical Design 8 (26): 2285 - 98 (2002); Baraldi y col., 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, y col., 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).

[0239] 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 EE.UU. N° 6858615 y las Publicaciones PCT N°s WO2003/070182, WO2004/073629, WO2005/018644, WO2006/022935, WO2007/018640, y WO2007/146869, todos de Parion Sciences, Inc.

[0240] Los bloqueantes 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. N° 6.858.614, la Patente de EE.UU. N° 6.858.615, la Patente de EE.UU. N° 6.903.105, la Patente de EE.UU. N° 6.995.160, la Patente de EE.UU. N° 7.026.325, la Patente de EE.UU. N° 7.030.117, la Patente de EE.UU. N° 7.064.129, la Patente de EE.UU. N° 7.186.833, la Patente de EE.UU. N° 7.189.719, la Patente de EE.UU. N° 7.192.958, la Patente de EE.UU. N° 7.192.959, la Patente de EE.UU. N° 7.241.766, la Patente de EE.UU. N° 7.247.636, la Patente de EE.UU. N° 7.247.637, la Patente de EE.UU. N° 7.317.013, la Patente de EE.UU. N° 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. N° 7.375.107, la Patente de EE.UU. N° 7.399.766, la Patente de EE.UU. N° 7.410.968, Patente de EE.UU. N° 7.820.678, la Patente de EE.UU. N° 7.842.697, la Patente de EE.UU. N° 7.868.010, la Patente de EE.UU. N° 7.875.619.

[0241] La proteólisis ENaC está bien descrita 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.

- 5 **[0242]** Las combinaciones de la presente invención pueden incluir uno o más ácidos nucleicos (o ácido polinucleico) adecuados, que incluyen, pero no se limitan a, oligonucleótidos antisentido, ARNip, ARNmi imitador, antagomir, ribozima, aptámero y ácidos nucleicos oligonucleótido señuelo. Véase, por ejemplo, la Publicación de la Solicitud de Patente de EE.UU. N° 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 EE.UU. N° 7.517.865 y en las Solicitudes de Patente de EE.UU. N° 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.
- 10 **[0243]** Los compuestos moduladores de la actividad de RTFQ que se pueden administrar en las combinaciones de esta invención incluyen, pero no se limitan a, compuestos descritos en los documentos US 2009/0246137 A1, US 2009/0253736 A1, US 2010/0227888 A1, patente número 7,645,789, US 2009/0246820 A1, US 2009/0221597 A1, US 2010/0184739 A1, US 2010/0130547 A1, US 2010/0168094 A1 y patente publicada: 7.553.855; US 7.772.259 B2, US 7.405.233 B2, US 2009/0203752, US 7.499.570.
- 15 **[0244]** Los agentes modificadores de moco o mucina útiles en las combinaciones y métodos de la presente incluyen agentes reductores, tensioactivos y detergentes, expectorantes y agentes de desoxirribonucleasa.
- 20 **[0245]** 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*. Es bien sabido que los agentes reductores disminuyen la viscosidad del moco *in vitro* y se usan comúnmente como ayuda para procesar muestras de esputo⁸. Los ejemplos de agentes reductores incluyen moléculas que contienen sulfuro o fosfinas capaces de reducir enlaces de disulfuros proteicos que incluyen, pero no se limitan a, cisteína *N*-acetilo, *N*-acistelina, carbocisteína, glutatión, ditio-treitolo, proteínas que contienen tioredoxina y tris (2-carboxietilo) fosfina.
- 25 **[0246]** 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 {12}. Los estudios clínicos que evalúan los efectos del NAC oral o inhalado en la FQ y la EPOC han reportado mejorías en las propiedades reológicas del moco y tendencias hacia mejoras en la función pulmonar y disminuciones en las exacerbaciones pulmonares⁹. Sin embargo, la preponderancia de los datos clínicos sugiere que el 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 CF¹⁰. El beneficio clínico marginal de NAC refleja:
- 30 **[0247]** 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 Muc5B, una mucina de las vías respiratorias principales formadoras 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)¹¹, 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.
- 35 **[0248]** En estudios no clínicos, el NAC marcado con ¹⁴C, administrado por inhalación, muestra una eliminación rápida de los pulmones con una vida media que oscila entre 6 y 36 minutos¹².
- 40 **[0249]** El NAC se administra como una solución de inhalación hipertónica altamente concentrada (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.
- 45 **[0250]** 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).
- 50 **[0251]** Los agentes tensioactivos y detergentes son agentes dispersantes que se ha demostrado que disminuyen la viscoelasticidad del moco, mejorando la capacidad de limpieza del moco. Ejemplos de surfactantes incluyen DPPC, PF, ácido palmítico, palmitoilo-oleoilfosfatidilglicerol, proteínas tensioactivas (por ejemplo, SP-A, B o C), o pueden ser de origen animal (p. ej., de un lavado de pulmón de vaca o de ternero o extraídos de pulmón de cerdo picado) o combinaciones de los mismos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 7.897.577; 5.876.970; 5.614.216; 5.100.806; y 4.312.860. Los ejemplos de productos tensioactivos incluyen Exosurf, Pumactant, KL-4, Venticute, Alveofact, Curosurf, Infasurf y Survanta. Los ejemplos de detergentes incluyen, pero no se limitan a, Tween-N-80 y triton-X 100.
- 55 **[0251]** Los agentes tensioactivos y detergentes son agentes dispersantes que se ha demostrado que disminuyen la viscoelasticidad del moco, mejorando la capacidad de limpieza del moco. Ejemplos de surfactantes incluyen DPPC, PF, ácido palmítico, palmitoilo-oleoilfosfatidilglicerol, proteínas tensioactivas (por ejemplo, SP-A, B o C), o pueden ser de origen animal (p. ej., de un lavado de pulmón de vaca o de ternero o extraídos de pulmón de cerdo picado) o combinaciones de los mismos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 7.897.577; 5.876.970; 5.614.216; 5.100.806; y 4.312.860. Los ejemplos de productos tensioactivos incluyen Exosurf, Pumactant, KL-4, Venticute, Alveofact, Curosurf, Infasurf y Survanta. Los ejemplos de detergentes incluyen, pero no se limitan a, Tween-N-80 y triton-X 100.
- 60 **[0251]** Los agentes tensioactivos y detergentes son agentes dispersantes que se ha demostrado que disminuyen la viscoelasticidad del moco, mejorando la capacidad de limpieza del moco. Ejemplos de surfactantes incluyen DPPC, PF, ácido palmítico, palmitoilo-oleoilfosfatidilglicerol, proteínas tensioactivas (por ejemplo, SP-A, B o C), o pueden ser de origen animal (p. ej., de un lavado de pulmón de vaca o de ternero o extraídos de pulmón de cerdo picado) o combinaciones de los mismos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 7.897.577; 5.876.970; 5.614.216; 5.100.806; y 4.312.860. Los ejemplos de productos tensioactivos incluyen Exosurf, Pumactant, KL-4, Venticute, Alveofact, Curosurf, Infasurf y Survanta. Los ejemplos de detergentes incluyen, pero no se limitan a, Tween-N-80 y triton-X 100.
- 65 **[0251]** Los agentes tensioactivos y detergentes son agentes dispersantes que se ha demostrado que disminuyen la viscoelasticidad del moco, mejorando la capacidad de limpieza del moco. Ejemplos de surfactantes incluyen DPPC, PF, ácido palmítico, palmitoilo-oleoilfosfatidilglicerol, proteínas tensioactivas (por ejemplo, SP-A, B o C), o pueden ser de origen animal (p. ej., de un lavado de pulmón de vaca o de ternero o extraídos de pulmón de cerdo picado) o combinaciones de los mismos. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos N° 7.897.577; 5.876.970; 5.614.216; 5.100.806; y 4.312.860. Los ejemplos de productos tensioactivos incluyen Exosurf, Pumactant, KL-4, Venticute, Alveofact, Curosurf, Infasurf y Survanta. Los ejemplos de detergentes incluyen, pero no se limitan a, Tween-N-80 y triton-X 100.

[0252] Se puede usar cualquier expectorante adecuado, que incluye pero no se limita a guaifenesina (véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU N° 7.345.051). Se puede usar cualquier desoxirribonucleasa adecuada, que incluye pero no se limita a Dornasa Alfa. (véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU N° 7.482.024).

Los ejemplos de inhibidores de quinasas incluyen inhibidores de NFκB, PI3K (fosfatidilinositol 3-quinasa), p38-MAP quinasa y Rho quinasa.

[0253] 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® y Relenza®. 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, Dactomicina, Fluoroquinolonas, Ketólidos, Carbapenémicos, Cefalosporinas, Eritromicina, Linezolid, Penicilinas, Azitromicina, Clindamicina, Oxazolidinonas, Tetraciclinas y Vancomicina.

[0254] Ejemplos de antibióticos de carbapenam útiles son impenam, panipenam, meropenam, biapenam, MK-826, 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 CXA-101.

[0255] 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, carbinoxamina maleato, doxilamina, clemastina fumarato, difenilhidramina HCl y dimenhidrinato; etilendiaminas tales como maleato de pirlamina (metpiramina), tripelenamina HCl, citrato de tripelenamina y antazolina; alquilaminas tales como feniramina, clorofeniramina, bromofeniramina, dexclorfeniramina, triprolidina y acrivastina; piridinas tales como metacrilén, piperazinas tales como hidroxizina HCl, pamoato de hidroxizina, ciclizina HCl, ciclizina lactato, meclizina HCl y cetirizina HCl; piperidinas tales como astemisol, levocabastina HCl, loratadina, descarboetoxi loratadina, 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.

[0256] Los ejemplos de otras clases de agentes terapéuticos adecuados para su 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, agentes inmunomoduladores que incluyen esteroides tales como dexametasona, agentes antiinflamatorios que incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la ciclooxigenasa, inhibidores de citocina, inhibidores de JAK e inhibidores de la función de las células T, broncodilatadores que incluyen pero no se limitan a agentes anticolinérgicos tales como atrovent, ARNpi, vectores de terapia genética, aptámeros, antagonistas del receptor de endotelina, alfa-1-antitripsina y prostacilinas.

[0257] Los ejemplos de otras clases de agentes adecuados para su uso en las combinaciones y métodos incluyen agentes potenciadores de la viscosidad o retención de agua tales como ácido hialurónico o carboximetilcelulosa, hormonas que incluyen estrógeno o testosterona y otros agentes usados para tratar la enfermedad del ojo seco incluyendo suero autólogo y sustitutos de lágrimas.

[0258] 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.

[0259] En una realización preferida, los compuestos de la invención se usan en combinación con uno o más osmolitos, particularmente solución salina hipertónica o manitol.

[0260] En otro aspecto, la invención proporciona compuestos para uso en métodos para el tratamiento y usos como se describió anteriormente, que comprenden administrar 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 de otros agentes terapéuticamente activos puede ser por administración de forma 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 de los ingredientes activos componentes. 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.

[0261] 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

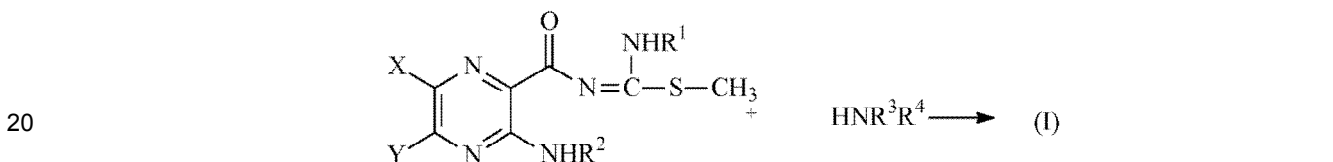
composición unitaria o composiciones separadas. En una realización, el Compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran de forma concomitante mediante lavado transbroscópico. En otra realización, el Compuesto de la invención y uno o más osmolitos se administran de forma concomitante por inhalación.

5 **[0262]** 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

10 médico asistente, clínico o veterinario.

[0263] Los compuestos de fórmula II pueden sintetizarse de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. Un procedimiento sintético representativo se muestra en el siguiente esquema utilizando la fórmula I en la que las variables son como en la fórmula II):

15



25 Estos procedimientos se describen, por ejemplo, en E.J. Cragoe, "The Synthesis of Amilorida and its Analogs" (Capítulo 3) en Amilorida and Its Analogs, págs. 25-36, incorporado aquí como referencia. Otros métodos de preparación de los compuestos se describen, por ejemplo, en el documento US 3.313.813, incorporado aquí como referencia. Véase en particular los Métodos A, B, C y D descritos en el documento US 3.313.813. Métodos adicionales de preparación de intermedios usados en la preparación de compuestos de la presente invención se describen en los documentos US 7.064.129, US 6.858.615, US 6.903.105, WO 2004/073629, WO 2007/146869 y

30 WO 2007/018640.

[0264] Se pueden usar varios ensayos para caracterizar los compuestos de la presente invención. Los ensayos representativos se discuten a continuación.

35 Modelos animales de la enfermedad ocular seca

(1) Medición *in vitro* de la actividad de bloqueo del canal de sodio

40 **[0265]** 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) usando monocapas epiteliales de las vías respiratorias montadas en cámaras Ussing. Este ensayo se describe en detalle en Hirsh, A.J., Zhang, J., Zamurs, A., et al. Pharmacological properties of N-(3,5-diamino-6-chloropyrazine-2-carbonyl)-N'-4-[4-(2,3-dihydroxypropoxy)phenyl]butyl-guanidine methanesulfonate (552-02), a novel epithelial sodium channel block- er with potential clinical efficacy for CF lung disease. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2008; 325(1): 77 - 88.

50 **[0266]** Las células obtenidas de vías respiratorias humanas, de perro, de oveja o de roedor recién cortadas se siembran en inserciones Snapwell™ de 0,4 micras porosas (CoStar), se cultivan en condiciones de interfaz aire-líquido (ALI) en medios definidos hormonalmente y se ensayan para actividad de transporte de sodio (ISC) mientras que está 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 -20°C. Ocho preparaciones se realizan típicamente en paralelo; dos preparaciones por ejecución 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 I_{SC} 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.

60 **[0267]** Las relaciones dosis-efecto para todos los compuestos se consideran y se analizan mediante el programa Prism 3.0. Los valores de CI₅₀, 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.

65

Tabla 1: Potencia de la actividad bloqueante de los canales de sodio de los compuestos de Fórmula II.

Compuesto	Potencia de bloqueo de canal sódico en células caninas (CI ₅₀)
Amilorida	781,0
30	33,1
35	13,8
45	2,1
15	4,6
42	24,6
9	3,2
51	6,6
59	41,3
145	7,3
82	4,6

(2) Efectos farmacológicos de los compuestos sobre el volumen lagrimal en un modelo animal de la enfermedad del ojo seco *in vivo*.

[0268] Los efectos de los compuestos sobre el volumen de lágrimas se evaluaron en un modelo de rata de enfermedad de ojo seco en donde ratas Sprague Dawley se someten a escisión de glándula lagrimal quirúrgica (Modelo ExLac) para reducir el volumen de lágrima normal. La escisión lagrimal reduce el volumen de lágrima normal en ~ 50% (Tabla 2).

[0269] Se dosificaron los ojos ipsilaterales y contralaterales con 5 µl de solución de artículo de ensayo. La producción de lágrimas se midió usando el hilo de algodón ZoneQuick con colorante rojo de fenol impregnado. El extremo doblado del hilo se sostuvo en el fondo de saco conjuntival lateral-ventral durante 10 segundos. La longitud del desgarro en el hilo se determinó midiendo la longitud del hilo que cambia de amarillo a rojo. El uso de un estereomicroscopio fue útil para la medición precisa (registrada en milímetros) del cambio de mecha/color. El volumen de lágrimas se evaluó antes de la dosis, y 15, 30, 60, 120 y 360 minutos después de la dosis. El cambio en la hidratación ocular producido por compuestos representativos en ratas ExLac con relación a la amilorida se muestra en la Tabla 2 y en las Figuras 1-16. Como referencia, se muestra el efecto de un vehículo salino para ratas ExLac y ratas normales (sin cirugía de escisión lagrimal).

Tabla 2: Actividad hidratante ocular de compuestos de Fórmula II.

Compuesto	Modelo de rata	6h Hidratación Ocular (AUC ₀₋₆)
Vehículo	ExLac	24,2
Amilorida	ExLac	30,4
51	ExLac	38,0
75	ExLac	38,2
59	ExLac	39,7
46	ExLac	39,9
116	ExLac	40,9
45	ExLac	42,3
102	ExLac	43,2
145	ExLac	44,7
133	ExLac	45,7
90	ExLac	49,0
82	ExLac	49,8
15	ExLac	50,2
9	ExLac	50,2
42	ExLac	52,3
Vehículo	Normal	58,1

(3) Ensayo de microscopia confocal de transporte de congéneres de amilorida

[0270] Prácticamente todas las moléculas de tipo amilorida fluorescen en el rango ultravioleta. Esta propiedad de estas moléculas se puede usar para medir directamente la actualización celular usando microscopía confocal. Las

células corneales se marcaron usando colorante de calceína AM incubando con córneas durante 45 minutos a 37°C en medio DMEM. Se colocaron concentraciones equimolares de 2 microlitros de Compuesto 9 o amilorida en la superficie apical (epitelial) de las córneas de ratón durante una hora a 37°C. Se obtuvieron imágenes x-y en serie una hora después de la adición del fármaco mediante microscopía confocal. Los datos que se muestran en la Figura 16 muestran una imagen x-z de las córneas formadas a partir del Compuesto de la pila de imágenes x-y. La Figura 16 muestra que la amilorida puede penetrar completamente en la córnea una hora después de la administración, pero el Compuesto 9 permanece asociado con la superficie apical (epitelial).

(4) Metabolismo del medicamento *in vitro*

[0271] La estabilidad metabólica de **9** y **15** se evaluó en plasma (rata, conejo, perro y ser humano) y hepatocitos (rata y perro). Los compuestos se añadieron directamente al plasma o a suspensiones de hepatocitos a una concentración final de 2,5 o 10 µM, respectivamente, y se incubaron a 37°C durante hasta seis horas. Se extrajeron alícuotas en diversos momentos y se apagaron. La cantidad de Compuesto original se cuantificó mediante análisis de fluorescencia UPLC. La cantidad de Compuesto original restante se calculó en función del área de pico total en el momento del muestreo dividido por el área de pico total al inicio. Los resultados presentados en las Tablas 3 y 4 muestran que 9 fue estable hacia la hidrólisis metabólica en plasma y hepatocitos entre las especies evaluadas, mientras que 15 se metabolizó rápidamente tanto en plasma como en hepatocitos. Estos resultados confirman que el 15 con enlaces amida en la configuración S que ocurre naturalmente es susceptible a la hidrólisis enzimática, mientras que los enlaces amida en la configuración R son estables frente a la hidrólisis.

Tabla 3. Estabilidad del plasma de los compuestos

Matriz	Compuesto 9	Compuesto 15
Rata	87%	10%
Conejo	89%	8,7%
Perro	103%	18%
Humano	101%	7,6%

Tabla 4. Estabilidad de los hepatocitos de los compuestos

Matriz	Compuesto 9	Compuesto 15	Compuesto 45
Rata	100%	14%	83%
Perro	94%	19%	75%

(5) Ensayos *in vitro* de metabolismo de compuestos

[0272] Las células epiteliales de las vías respiratorias tienen la capacidad de metabolizar fármacos durante el proceso de absorción transepitelial. Además, aunque es menos probable, es posible que las drogas se puedan metabolizar en las superficies epiteliales de las vías aéreas mediante actividades específicas de las enzimas enzimáticas. Tal vez más probable como un evento ecto-superficie, los compuestos pueden ser metabolizados por las secreciones infectadas que ocupan los lúmenes de las vías respiratorias de los pacientes con enfermedad pulmonar, por ejemplo, la fibrosis quística. Por lo tanto, se realiza una serie de ensayos para caracterizar el metabolismo del Compuesto que resulta de la interacción de compuestos de prueba con epitelios de las vías respiratorias humanas y/o productos lumenales del epitelio de las vías respiratorias humanas.

[0273] En la primera serie de ensayos, la interacción de los compuestos de prueba en KBR como un estimulante de "ASL" se aplica a la superficie apical de las células epiteliales de las vías respiratorias humanas cultivadas en el sistema de inserción de T-Col. Para la mayoría de los compuestos, el metabolismo (generación de nuevas especies) se prueba usando cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) para resolver especies químicas y las propiedades de fluorescencia endógena de estos compuestos para estimar las cantidades relativas del Compuesto de prueba y nuevos metabolitos. Para un ensayo típico, se coloca una solución de ensayo (25 µl de KBR, que contiene un Compuesto de prueba 10 µM) sobre la superficie luminal epitelial. Se obtienen muestras secuenciales de 5 a 10 µl de los compartimientos luminal y seroso para el análisis por CLAR de (1) la masa del Compuesto de prueba que penetra desde el baño luminal a seroso y (2) la formación potencial de metabolitos del Compuesto original. En los casos en que las propiedades de fluorescencia de la molécula de prueba no son adecuadas para tales caracterizaciones, se usan compuestos radiomarcados para estos ensayos. A partir de los datos de CLAR, se cuantifica la velocidad de desaparición y/o formación de nuevos compuestos de metabolitos en la superficie luminal y la aparición del Compuesto de prueba y/o del nuevo metabolito en la solución basolateral. Los datos que relacionan la movilidad cromatográfica de metabolitos nuevos potenciales con referencia al Compuesto original también se cuantifican.

[0274] Para analizar el metabolismo potencial de los compuestos de ensayo por el esputo FQ, se ha recogido una mezcla "representativa" de esputo FQ expectorado obtenido de 10 pacientes con FQ (bajo la aprobación del IRB). El esputo se solubilizó en una mezcla 1:5 de solución de KBR con agitación vorticial vigorosa, después de lo cual la mezcla se dividió en una alícuota de esputo "limpia" y se sometió a una alícuota a ultracentrifugación para obtener una alícuota "sobrenadante" (puro = celular; sobrenadante = fase líquida). Los estudios típicos del metabolismo Compuesto por esputo FQ implican la adición de masas conocidas de Compuesto de prueba al esputo FQ "puro" y alícuotas de "sobrenadante" de esputo FQ incubadas a 37°C, seguido de muestreo secuencial de alícuotas de cada tipo de esputo para la caracterización de estabilidad/metabolismo del Compuesto por análisis de CLAR como se describió anteriormente. Como anteriormente, se realizan análisis de la desaparición del compuesto, tasas de formación de nuevos metabolitos y moviidades de CLAR de nuevos metabolitos.

(6) Efectos farmacológicos y mecanismo de acción del medicamento en animales

[0275] El efecto de los compuestos para potenciar el aclaramiento mucociliar (MCC) se puede medir usando un modelo *in vivo* descrito por Sabater y col., Journal of Applied Physiology, 1999, págs. 2191-2196.

Métodos

[0276] *Preparación de los animales*: las ovejas adultas (que varían en peso de 25 a 35 kg) se inmovilizaron en una posición vertical en un arnés corporal especializado adaptado a un carrito de compras modificado. Los animales = cabezas se inmovilizaron y se indujo anestesia local del conducto nasal con lidocaína al 2%. Los animales fueron entubados nasalmente con un tubo endotraqueal (TET) de 7,5 mm de diámetro interno. El manguito del TET se colocó justo debajo de las cuerdas vocales y su posición se verificó con un broncoscopio flexible. Después de la intubación, se permitió que los animales se equilibraran durante aproximadamente 20 minutos antes de iniciar las medidas de aclaramiento mucociliar.

[0277] *Administración de Radio-aerosol*: se generaron aerosoles de ^{99m}Tc-seroalbúmina humana (3,1 mg/ml, que contenían aproximadamente 20 mCi) usando un Nebulizador Raindrop que produce una gota con un diámetro aerodinámico medio de 3,6 µm. El nebulizador se conectó a un sistema de dosimetría que consiste en una válvula de solenoide y una fuente de aire comprimido (20 psi). La salida del nebulizador se dirigió a un conector T de plástico; un extremo del cual estaba conectado al tubo endotraqueal, el otro estaba conectado a un respirador de pistón. El sistema se activó durante un segundo al inicio del ciclo inspiratorio del respirador. El respirador se ajustó a un volumen corriente de 500 mL, una relación inspiratoria a espiratoria de 1:1, y a una velocidad de 20 respiraciones por minuto para maximizar la deposición de la vía aérea central. La oveja respiró el aerosol radiomarcado por 5 minutos. Se usó una cámara gamma para medir la eliminación de ^{99m}Tc-albúmina sérica humana de las vías respiratorias. La cámara se colocó sobre la parte posterior del animal con la oveja en posición vertical natural apoyada en un carro para que el campo de la imagen fuera perpendicular a la médula espinal del animal. Se colocaron marcadores externos radiomarcados en las ovejas para garantizar una alineación adecuada debajo de la cámara gamma. Todas las imágenes fueron almacenadas en una computadora integrada con la cámara gamma. Se trazó una región de interés sobre la imagen correspondiente al pulmón derecho de la oveja y se registraron los recuentos. Los recuentos se corrigieron por la descomposición y se expresaron como el porcentaje de radioactividad presente en la imagen de referencia inicial. El pulmón izquierdo se excluyó del análisis porque sus contornos se superponen sobre el estómago y los recuentos pueden tragarse y entrar en el estómago como moco radiomarcado.

[0278] *Protocolo de tratamiento (Evaluación de la actividad en t-cero)*: se obtuvo una imagen de deposición de línea de base inmediatamente después de la administración de radio-aerosol. En el tiempo cero, después de la adquisición de la imagen de referencia, se aerosolizó el control del vehículo (agua destilada), el control positivo (amilorida) o los compuestos experimentales en un volumen de 4 ml usando un nebulizador Pari LC JetPlus para liberar a los animales. El nebulizador fue impulsado por aire comprimido con un flujo de 8 litros por minuto. El tiempo para administrar la solución fue de 10 a 12 minutos. Los animales se extubaron inmediatamente después del suministro de la dosis total a fin de evitar elevaciones falsas en los recuentos causados por la aspiración de exceso de radiomarcadores del TET. Se obtuvieron imágenes seriales del pulmón a intervalos de 15 minutos durante las primeras 2 horas después de la dosificación y cada hora durante las siguientes 6 horas después de la dosificación durante un período total de observación de 8 horas. Un período de lavado de al menos 7 días separó las sesiones de dosificación con diferentes agentes experimentales.

[0279] *Protocolo de tratamiento (Evaluación de la actividad en t-4 horas)*: se utilizó la siguiente variación del protocolo estándar para evaluar la durabilidad de la respuesta después de una única exposición al control del vehículo (agua destilada), compuestos de control positivo (amilorida o benzamilo) o agentes de investigación. En el tiempo cero, el control del vehículo (agua destilada), el control positivo (amilorida) o los compuestos en investigación se formaron en aerosol a partir de un volumen de 4 ml utilizando un nebulizador Pari LC JetPlus para liberar a los animales. El nebulizador fue impulsado por aire comprimido con un flujo de 8 litros por minuto. El tiempo para administrar la solución fue de 10 a 12 minutos. Los animales se contuvieron en posición vertical en un arnés corporal especializado durante 4 horas. Al final del período de 4 horas, los animales recibieron una dosis única de albúmina de suero ^{99m}Tc en aerosol (3,1 mg/ml, que contenía aproximadamente 20 mCi) de un nebulizador Raindrop. Los animales fueron extubados inmediatamente después del suministro de la dosis total de radiomarcador. Se obtuvo

una imagen de deposición de línea de base inmediatamente después de la administración de radioaerosol. Se obtuvieron imágenes seriales del pulmón a intervalos de 15 minutos durante las primeras 2 horas después de la administración del radiomarcador (que representa las horas 4 a 6 después de la administración del fármaco) y cada hora durante las siguientes 2 horas después de la dosificación durante un período total de observación de 4 horas. Un período de lavado de al menos 7 días separó las sesiones de dosificación con diferentes agentes experimentales.

[0280] Estadísticas: Los datos se analizaron usando SYSTAT para Windows, versión 5. Los datos se analizaron usando un ANOVA de dos vías repetido (para evaluar los efectos globales), seguido de una prueba t parentada para identificar diferencias entre pares específicos. Se aceptó la significación cuando P era menor o igual a 0,05. Los valores de pendiente (calculados a partir de los datos recopilados durante los 45 minutos iniciales después de la dosificación en la evaluación t-cero) para las curvas medias de MCC se calcularon usando regresión lineal de mínimos cuadrados para evaluar las diferencias en las tasas iniciales durante la fase de aclaramiento rápido.

EJEMPLOS

[0281] Habiendo descrito en general esta invención, se puede obtener una comprensión adicional por referencia a ciertos ejemplos específicos que se proporcionan en la presente memoria con fines de ilustración solamente y no se pretende que sean limitativos a menos que se especifique lo contrario.

Preparación de bloqueadores de los canales de sodio

[0282] Materiales y métodos. La presente invención también proporciona procedimientos para preparar los compuestos de la invención y los productos intermedios sintéticos útiles en tales procesos, como se describe en detalle a continuación.

[0283] 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	Significación
AcOH	Ácido acético
AIBN	Azobisisobutironitrilo
DIAD	Azidocarboxilato de diisopropilo
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DCE	dicloroetano
DCM	diclorometano
DMF	dimetilformamida
Et	Etilo
EtOAc o EA	acetato de etilo
EtOH	Etanol
ESI	ionización por electrospray
HATU	hexafluorofosfato de uronio de 2-(1H-7-Azabenzotriazol-1-ilo)-1,1,3,3-tetrametilo
CLAR	Cromatografía líquida de alta resolución
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
ta o t.a.	temperatura ambiente
R _f	factor de retraso
t-Bu	terc-butilo
THF	tetrahidrofurano
TLC o tlc	cromatografía de capa fina
δ	partes por millón campo abajo de tetrametilsilano
Cbz	Benciloxycarbonilo, es decir -(CO)O-bencilo
AUC	Área debajo de la curva o pico
MTBE	Éter de butilo de metilo terciario
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
5	Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
	DIAD	Azodicarboxilato de diisopropilo
	AcOH	Ácido acético
	DIPEA	N,N-diisopropiletilamina o base de Hünig
10	PH ₃ P	Trifenilfosina

[0284] Los compuestos de Fórmula II pueden sintetizarse usando técnicas conocidas en la técnica. Un procedimiento sintético representativo se ilustra en el Esquema 1 a continuación.

Esquema 1. Preparación de la sal de hidrocloreto de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediiilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidinohexanamida) (9).

20

25

30

35

40

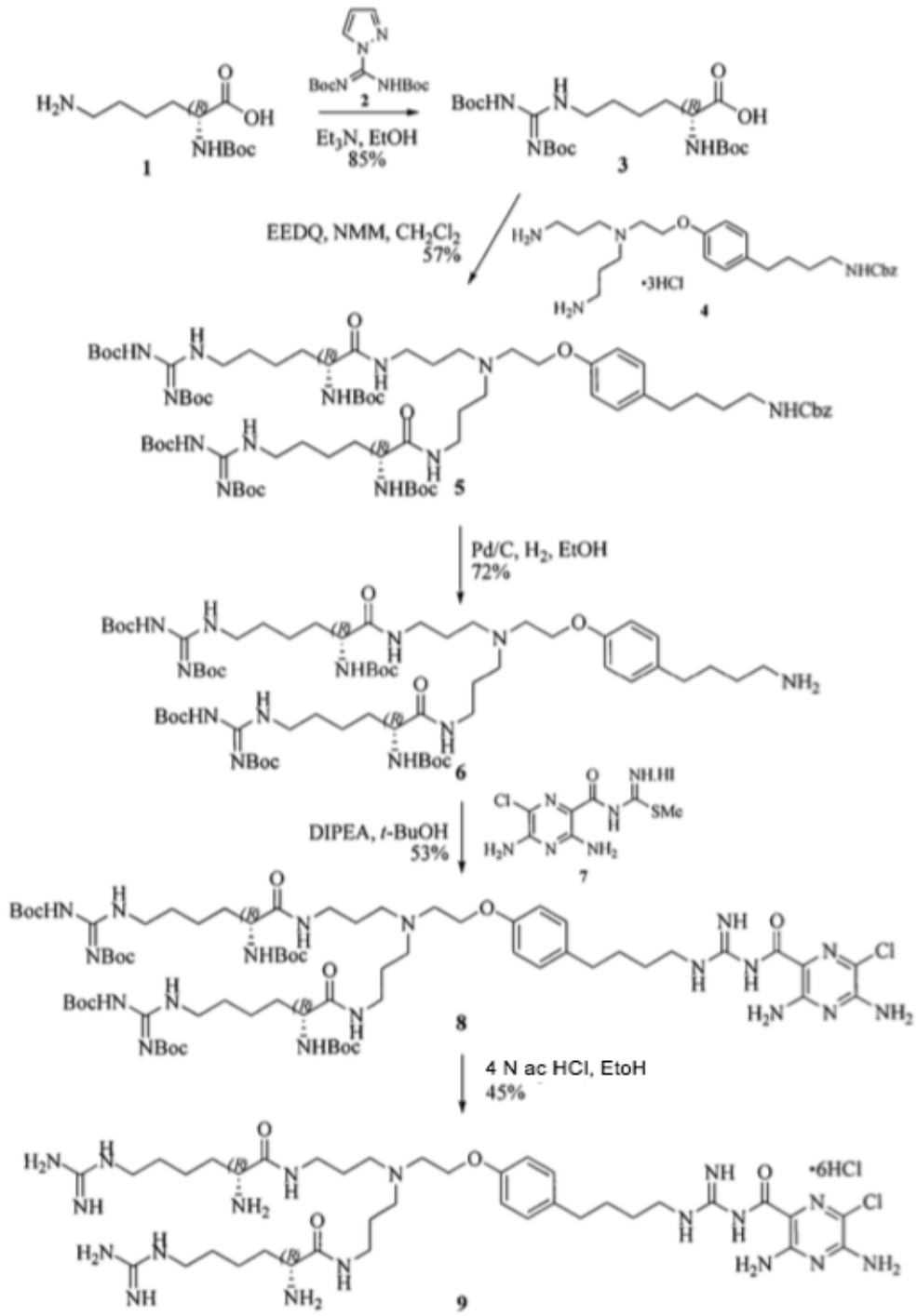
45

50

55

60

65



Preparación de ácido (*R*)-6-(2,3-bis(terc-butoxicarbonilo)guanidino)-2-((terc-butoxicarbonilo) amino) hexanoico (3)

[0285] A una solución de *N*- α -Boc-D-lisina (13,0 g, 52,7 mmol) en EtOH (290 mL) se añadió *N,N'*-bis-Boc-1-guanilpirazol (16,3 g, 52,7 mmol) y trietilamina (10,6 g, 105 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar una sal de pirazol (25,0 g) como un aceite incoloro. La sal se disolvió en 1 N NaOH (300 mL) y se neutralizó con 1 N HCl (305 mL). El precipitado resultante se filtró y se secó para proporcionar el Compuesto 3 (22,0 g, 85%) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 11,48 (br s, 1H), 8,35 (br s, 1H), 5,23 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 4,23 (br s, 1 H), 3,48-3,25 (m, 2H), 1,96-1,50 (m, 6 H), 1,51 (s, 9 H), 1,49 (s, 9 H), 1,43 (s, 9 H).

Preparación del Compuesto 5

[0286] Se añadió EEDQ (3,17 g, 12,8 mmol) y NMM (4,90 g, 49,1 mmol) a una solución del aminoácido **3** (3,00 g, 6,14 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se añadió bis-amina **4** (1,73 g, 3,07 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió el aminoácido **3** (900 mg, 1,84 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h adicionales. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/EtOAc 10:1, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar la amida **5** (2,30 g, 57%) como un sólido incoloro: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,38-7,24 (m, 5 H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,09- 3,92 (m, 4H), 3,68 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 3,58 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 3,28-3,21 (m, 4H), 3,14-3,07 (m, 2H), 2,89-2,83 (m, 2H), 2,64-2,50 (m, 6H), 2,43 (s, 4H), 2,27 (s, 3H), 1,77-1,65 (m, 6H), 1,64-1,54 (m, 6H), 1,52 (s, 18H), 1,46 (s, 18 H), 1,42 (s, 18 H).

Preparación del Compuesto 6

[0287] Una suspensión del Compuesto **5** (2,30 g, 1,64 mmol) y 10% Pd/C (1,50 g) en EtOH (10 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró para proporcionar una amina (2,10 g) en forma de un aceite incoloro. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna c (gel de sílice, 8: 1 de CH₂Cl₂/MeOH) para proporcionar la amina **6** (1,50 g, 72%) como un aceite incoloro: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,08 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 4,15-3,88 (m, 4H), 3,28-3,21 (m, 8H), 2,84 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 2,78 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,58 (t, J = 7,2 Hz, 6 H), 1,84- 1,52 (m, 20 H), 1,52 (s, 18 H), 1,46 (s, 18 H), 1,43 (s, 18 H) .

Preparación del Compuesto 8

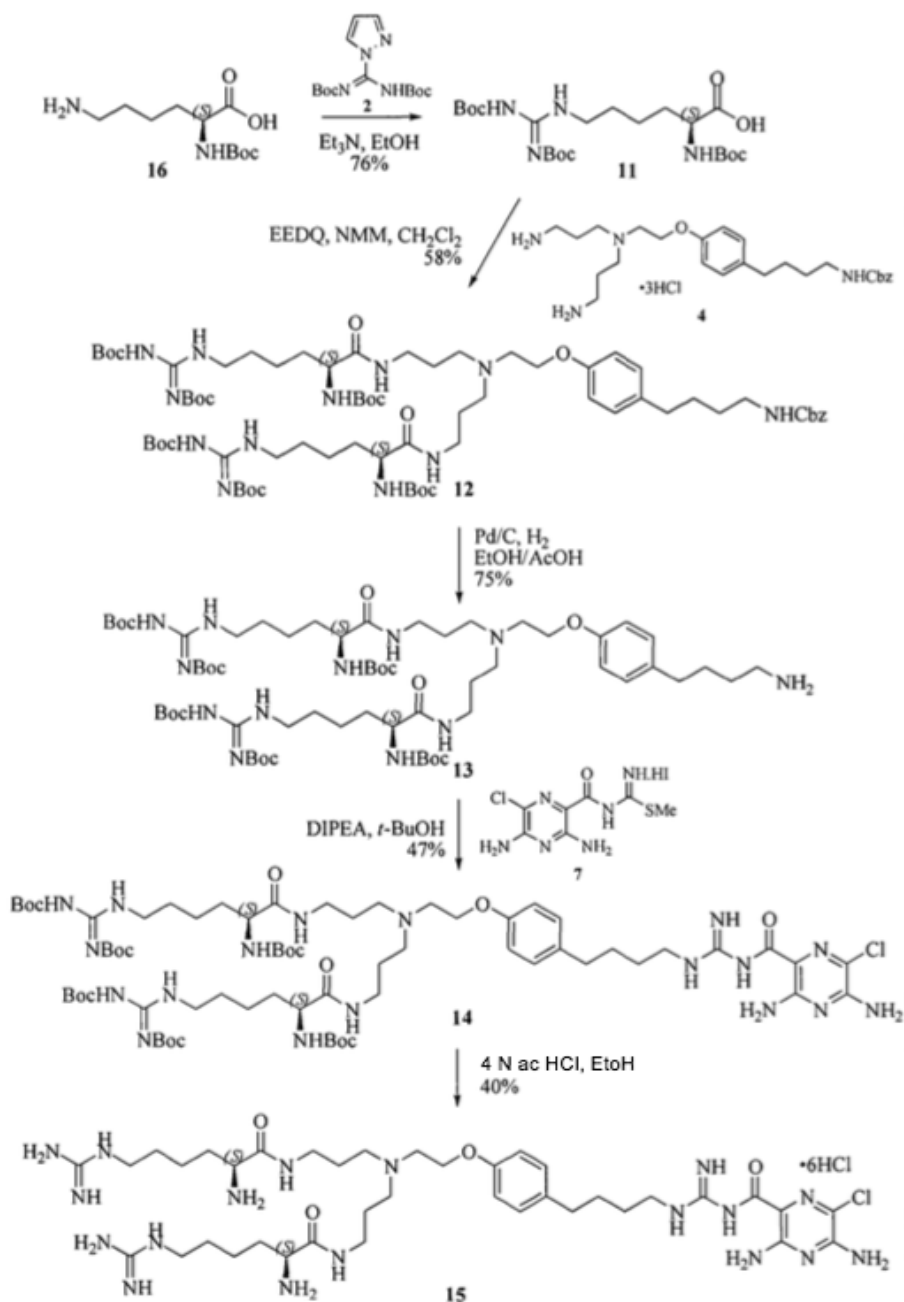
[0288] A una solución de amina **6** (9,00 g, 7,12 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidoditoato de metilo (7,43 g, 11,3 mmol) en t-BuOH (90 mL) se añadió DIPEA (7,36 g, 56,9 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un tubo sellado durante 2 h, luego se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se precipitó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH₂Cl₂/MeOH, 5:1:0,1 CHCl₃/MeOH/NH₄OH) para proporcionar el Compuesto **8** (5,60 g, 53%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.10 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 4,06-3,94 (m, 4H), 3,29-3,20 (m, 6 H), 2,87-2,80 (m, 2H), 2,64-2,53 (m, 6H), 1,78-1,64 (m, 12H), 1,65-1,51 (m, 12H), 1,52 (s, 18H), 1,47 (s, 18H), 1,41 (s, 18H).

Preparación de la sal de hidrocloreuro de (2*R*,2'*R*)-*N,N'*-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidino)hexanamida) Compuesto 9

[0289] A una solución del Compuesto **8** (5,60 g, 0,81 mmol) en EtOH (20 mL) se añadió 4 N ac HCl (120 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **9** (1,5 g, 45%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,22 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,28 (br s, 2H), 3,89 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,60 (br s, 2H), 3,37 - 3,23 (m, 10H), 3,08 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,59 (br s, 2H), 2,05 - 1,93 (m, 4H), 1,86 - 1,75 (m, 4H), 1,66 (s, 4H), 1,58 - 1,47 (m, 4H), 1,39 - 1,27 (m, 4H).

Esquema 2. Preparación de la sal de hidrocloreuro de (2*S*,2'*S*)-*N,N'*-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidino)hexanamida) (15).

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50



Preparación de ácido (S)-6-(2,3-bis(terc-butoxicarbonilo)guanidino)-2-((tertbutoxicarbonilo) amino) hexanoico (11)

55 **[0290]** A una solución de *N*- α -Boc-L-lisina (1,00 g, 4,06 mmol) 16 en EtOH (30 mL) se añadió *N,N*-bis-Boc-1-guanilpirazol (1,36 g, 4,38 mmol) 2 y trietilamina (810 mg, 8,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para proporcionar una sal de pirazol (1,98 g) como un aceite incoloro. La sal se disolvió en 1 N NaOH (100 mL) y se neutralizó con 1 N HCl (105 mL). El precipitado resultante se separó por filtración y se secó para proporcionar el Compuesto 11 (1,50 g, 76%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 11,47 (br s, 1H), 8,37 (br s, 1H), 5,22 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,26 (br s, 1H), 3,49-3,29 (m, 2H), 1,98-1,51 (m, 6H), 1,50 (s, 9H), 1,49 (s, 9H), 1,44 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 12

65 **[0291]** A una solución del aminoácido 11 (6,00 g, 12,0 mmol) en CH_2Cl_2 (150 mL) se añadió EEDQ (5,00 g, 20,2 mmol) y NMM (10,0 g, 99,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y

luego se añadió bis-amina **4** (3,40 g, 6,00 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/EtOAc 10:1, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar la amida **12** (4,98 g, 58%) como un sólido incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,33-7,31 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,10-4,01 (m, 4H), 3,35-3,23 (m, 8H), 3,11 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,85 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 2,44-2,41 (m, 6H), 1,72-1,51 (m, 20H), 1,51 (s, 18H), 1,46 (s, 18H), 1,43 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 13

[0292] Una suspensión del Compuesto **12** (4,95 g, 3,54 mmol) y Pd/C al 10% (2,50 g) en EtOH/AcOH (150 ml/5,0 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 para proporcionar una sal de ácido (4,80 g) en forma de un aceite incoloro. La sal se neutralizó con Na₂CO₃ saturado y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 8:1) para proporcionar la base libre **13** (3,35 g, 75%) en forma de un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,05-4,01 (m, 4H), 3,31-3,23 (m, 8H), 2,84 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 2,73 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,61 - 2,55 (m, 6H), 1,72- 1,52 (m, 20H), 1,51 (s, 18H), 1,46 (s, 18H), 1,43(s), 18H).

Preparación del Compuesto 14

[0293] A una solución de amina **13** (3,30 g, 2,61 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamiato de metilo (**7**, 1,62 g, 4,18 mmol) en t-BuOH (80 mL) se añadió DIPEA (2,70 g, 20,8 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, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CH₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para dar el Compuesto **14** (1,78 g, 47%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,05-3,99 (m, 4H), 3,31-3,23 (m, 10H), 2,86 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 2,62- 2,58 (m, 6H), 1,70 - 1,52 (m, 20H), 1,51 (s, 18H), 1,48 (s, 18H), 1,46 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 15

[0294] A una solución del Compuesto **14** (1,20 g, 0,813 mmol) en EtOH (5 mL) se añadió 4 N ac HCl (25 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **15** (356 mg, 40%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (300 MHz, D₂O) δ 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,18 (br s, 2H), 3,79 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,50 (br s, 2H), 3,24-3,20 (m, 10H), 2,98 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,50 (br s, 2H), 1,92-1,87 (m, 4H), 1,74-1,67 (m, 4H), 1,45 (s, 4H), 1,28-1,21 (m, 4H).

Descripción general para la preparación de la sal hidrocloreto de 4-(4-(2-(bis(3-aminopropilo)amino)etoxi)fenilo)butilcarbamato de bencilo (**4**)

[0295] Todas las reacciones no acuosas se llevaron a cabo bajo una atmósfera de nitrógeno o argón. Los reactivos y solventes se usaron tal como se recibieron de los proveedores. Se utilizó agua desionizada (agua desionizada) para los ensayos y para preparar soluciones diluidas. La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó usando placas de gel de sílice de Merck y se visualizó mediante luz UV (254 nm) o tinción apropiada. Los espectros de ¹H RMN y ¹³C RMN se obtuvieron en un espectrómetro Bruker AVANCE-400 Ultra Shield a 400 MHz para protón y 100 MHz para carbono, usando CDCl₃, D₂O o DMSO-*d*₆ como disolventes. Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro Agilent usando electronebulización o ionización química a presión atmosférica (AP-Cl).

Paso 1. Preparación de 5

[0296] Una solución agitada de [4-(4-hidroxifenilo)butilo]carbamato de bencilo (**17**, 500 g, 1670 mmol, 1,0 equiv), carbamato de (2-hidroxietilo) de *tert*-butilo (**18**, 350,0 g, 2.170 mmol, 1,3 equiv), y PPH₃ (568,0 g, 2.170 mmol, 1,3 equiv, AVRA) en THF (7.500 mL, 15 vol, lote Finar) se cargó con DIAD (438,0 g, 2.170 mmol, 1,3 equiv, AVRA) gota a gota en 0°C durante 30 min, y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la reacción se controló por análisis de TLC (7:3 de hexanos: EtOAc), que confirmó la presencia de ≈10% de Compuesto **17**. **18** (81 g, 503 mmol, 0,3 equiv), PPH₃ (132 g, 503 mmol, 0,3 equiv), y DIAD (102 g, 503 mmol, 0,3 equivalentes) a <10°C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Habiendo confirmado el consumo completo del Compuesto **17**, el disolvente se evaporó al vacío para proporcionar **19** en bruto (2,50 kg, bruto), que se usó tal como se produjo en la siguiente etapa.

Paso 2. Preparación de 20

[0297] Una solución agitada de **19** (2.500 g) y HCl en dioxano (10.000 mL, Durga) se agitó a temperatura ambiente durante 3-4 h. El progreso de la reacción se controló mediante TLC (30% de EtOAc: hexanos). Una vez completada la reacción, el disolvente se evaporó a vacío a 1/3 de volumen. El sólido resultante se trituró con MTBE (5.000 mL,

Savla Chemicals) y el precipitado se filtró y se secó al vacío para proporcionar 20 (370,0 g, 58%) como un sólido blanco.

Paso 3. Preparación de 22

5

Preparación de 20 Base libre

10 **[0298]** Se disolvió el Compuesto **20** (140,0 g) en agua desionizada (1500 mL) y se ajustó el pH a ≈ 9 utilizando Na_2CO_3 sólido (Finar Reagents). La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 500 mL, lote MSN). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporaron al vacío para proporcionar la base libre de **20** [75 g, 60%].

Aminación reductiva

15 **[0299]** Se cargó una solución agitada de **20** base libre [75 g, 219 mmol, 1,0 equiv] y **21** (95,0 g, 549 mmol, 2,5 equiv) en CH_2Cl_2 (1.500 mL, MSN) con CH_3COOH (13,0 g, 219 mmol), 1,0 equiv, SD Fine-Chem) y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, luego se enfrió a 0-5°C. Se añadió Na (OAc) 3BH (140,0 g, 660 mmol, lote Aldrich) en porciones durante 30 minutos, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la
 20 reacción se controló por TLC (9,5: 0,5 CH_2Cl_2 : MeOH, 2 ciclos). Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa de 1 N NaOH, ajustando el pH a ≈ 9 . Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 500 mL, MSN). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (13 x 300 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporaron al vacío para proporcionar crudo **22** (160,0 g) en forma de un líquido de color verde claro. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, malla 100-200, 4,9: 0,1, CH_2Cl_2 : MeOH como eluyente, 2 purificaciones) para dar **22** puro [61 g, 42%] como un líquido amarillo
 25 pálido.

Paso 4. Preparación de 4

30 **[0300]** Se agitó una mezcla de **22** [130,0 g, 198 mmol] y HCl en IPA ($\approx 20\%$, 650 mL, Durga Industries) durante 3 h. El progreso de la reacción se controló mediante TLC (9,5: 0,5, CH_2Cl_2 : MeOH). Después de completar la reacción, el disolvente se evaporó a 1/3 de volumen y se añadió MTBE (650 mL, Savla Chemicals). Se precipitó un sólido espeso; el solvente fue decantado La mezcla se intercambió en disolvente con tolueno (2 x 500 mL) y MTBE (2 x 1.000 mL, Savla Chemicals) y se secó al vacío. El sólido pegajoso resultante se agitó en MTBE (1.000 mL) durante 1 h, el disolvente se decantó y el producto se secó al vacío para proporcionar **4** (94,0 g, 84%, AMRI) como un sólido
 35 blanquecino altamente higroscópico.

Paso 5. Preparación de 18

40 **[0301]** Una solución agitada de 2-aminoetanol (200,0 g, 3.274,3 mmol, 1,0 equiv) y TEA (497,0 g, 4.911,4 mmol, 1,5 equiv) en CH_2Cl_2 (2.400 mL, 12 vol, MSN) fue cargada con $(\text{Boc})_2\text{O}$ (856,0 g, 3.926,1 mmol, 1,2 equiv., Globe Chemie) a 0 - 5°C, y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, controlando el progreso de la reacción mediante TLC (9:1, CH_2Cl_2 : MeOH). Después del consumo completo de 2-aminoetanol, se añadió agua DI (2.500 mL) y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Las dos capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 0,2 N HCl (3.000 mL) y agua DI (1.000 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, y se evaporó al vacío para proporcionar **18** (482 g, 91%)
 45 como un líquido verde pálido.

Paso 6. Preparación de 23

50 **[0302]** Una solución agitada de 3-aminopropanol (250 g, 3.334 mmol, 1,0 equiv, Alfa Aesar) y TEA (505 g, 5.000 mmol, 1,5 equiv, AVRA) en CH_2Cl_2 (3.000 mL, 12 vol, MSN 1) se cargó con $(\text{Boc})_2\text{O}$ (872 g, 4.000 mmol, 1,2 equiv, lote Globe Chemie) a 0-5°C, y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, controlando el progreso de la reacción por TLC (9:1, CH_2Cl_2 : MeOH). Después de completar la reacción, se añadió agua (3.000 mL) y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con 0,2 N HCl (3.000 mL) y agua DI (1.000 mL), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a vacío para proporcionar Boc-aminopropanol **23** (588 g, 100%)
 55 como un líquido verde pálido.

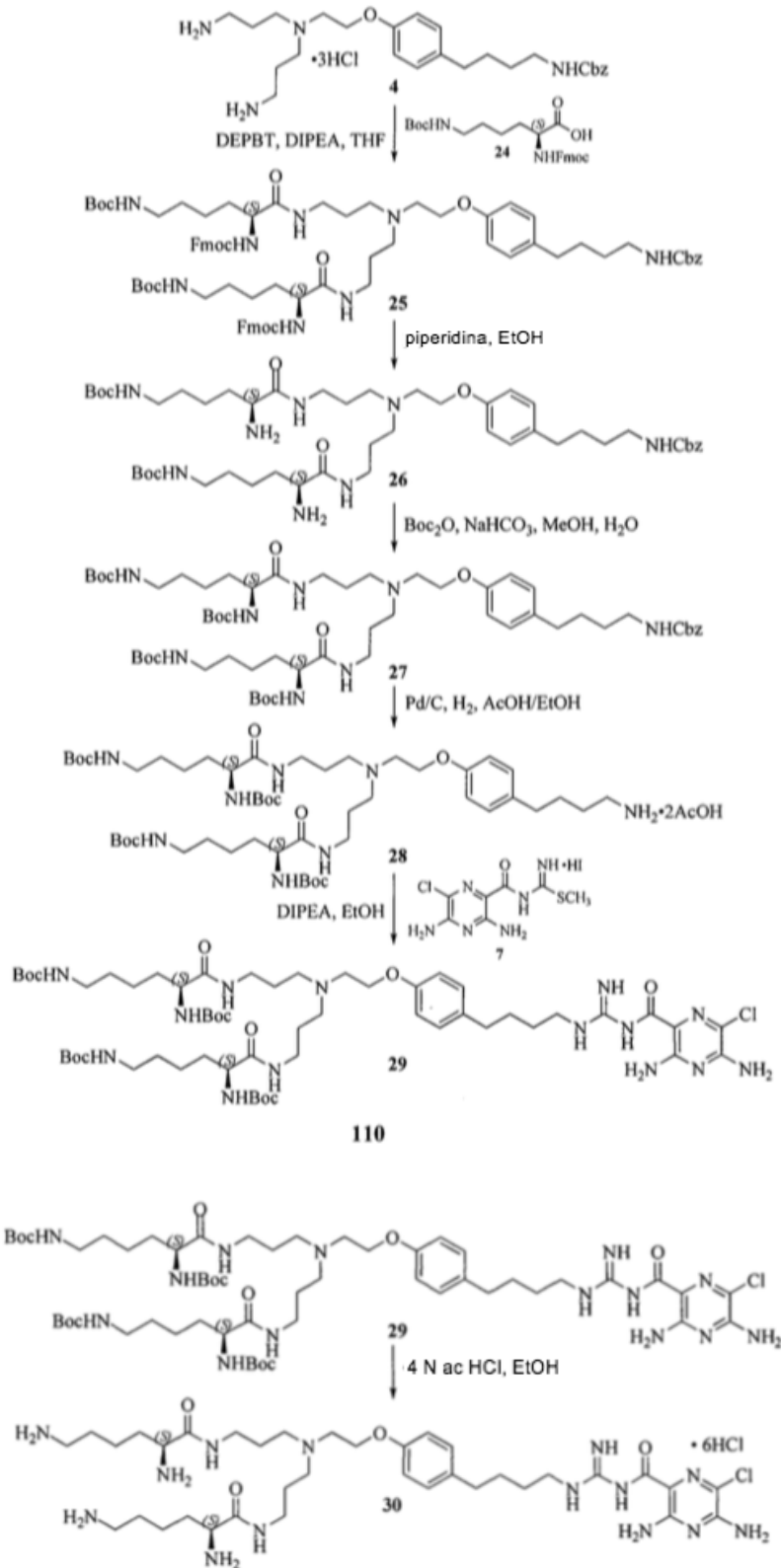
Paso 7. Preparación de 21

60 **[0303]** Una solución agitada de **23** (100,0 g, 571 mmol, 1,0 equiv) en DMSO (600 mL, 6 vol, Finar) se cargó con IBX (243 g, 868 mmol, 1,5 equiv, Quiver Technologies) en porciones durante 30 min. a temperatura ambiente, y se agitó durante 5 h. El progreso de la reacción se controló por TLC (9:1 CH_2Cl_2 : MeOH). Después de completar la reacción, la mezcla se diluyó con agua DI (4.000 mL). El sólido se filtró y se lavó con agua DI (1.000 mL). El filtrado se extrajo con acetato de etilo (2 x 1.000 mL, MSN). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO_3 saturado (1.300 mL) y agua DI (1.000 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporaron a vacío para proporcionar **21** (71 g,
 65 70%) como un líquido amarillo.

Esquema 4.

Preparación de la sal de hidrocloreto de (2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etil)zanediilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(2,6-diaminohexanamida)- Compuesto 30.

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



Preparación del Compuesto 25

5 **[0304]** Se cargó una solución del aminoácido **24** (1,80 g, 3,94 mmol) en THF (50 mL) con DEPBT (1,23 g, 4,14 mmol) y DIPEA (1,27 g, 9,85 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y se añadió bis-amina **4** (900 mg, 1,97 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h y 40°C durante 8 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/EtOAc 5:1) para proporcionar la amida **3** (1,63 g, mezcla con el Compuesto **25** como un sólido amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

10 Preparación del Compuesto 26

15 **[0305]** Una solución del Compuesto **25** (100 mg, mezcla) en EtOH (3,0 mL) se cargó con piperidina (1,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se precipitó en hexanos, se lavó con 1 N NaOH y formó un azeótropo con MeOH para proporcionar el Compuesto **26** (40,0 mg, 36% en 2 etapas) como un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,32-7,27 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,04 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,34-3,19 (m, 5H), 3,11 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 3,04-2,98 (m, 5H), 2,85 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 2,62-2,52 (m, 6H), 1,75-1,28 (m, 20H), 1,42 (s, 18H).

20 Preparación del Compuesto 27

25 **[0306]** Se cargó una solución del Compuesto **26** (300 mg, 0,329 mmol) en MeOH (10 mL) y agua (5,0 mL) con NaHCO₃ (56,0 mg, 0,666 mmol) y BoC₂O (56,0 mg, 0,394 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Después de eliminar el disolvente, el residuo se lavó con agua y se destiló azeotrópicamente con MeOH para proporcionar el Compuesto **27** (303 mg, 83%) en forma de un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,33-7,29 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,04 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 3,94-3,93 (br s, 2H), 3,37-3,22 (m, 4H), 3,14-3,11 (m, 2H), 3,09-2,98 (m, 4H), 2,90-2,86 (m, 2H), 2,61-2,52 (m, 6H), 1,69-1,29 (m, 20H), 1,42 (s, 36 H).

30 Preparación del Compuesto 28

35 **[0307]** Una suspensión del Compuesto **27** (300 mg, 0,269 mmol) y 10% Pd/C (150 mg) en EtOH (4,0 mL) y AcOH (0,5 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró y se lavó con MTBE para proporcionar el Compuesto **28** (285 mg, 96%) en forma de un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,87 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,12 (br s, 2H), 3,93 (br s, 2H), 3,40-3,30 (m, 4H), 3,07-2,91 (m, 8H), 2,78-2,61 (m, 6H), 1,93 (s, 6H), 1,77-1,42 (m, 20H), 1,42 (s, 36H).

Preparación del Compuesto 29

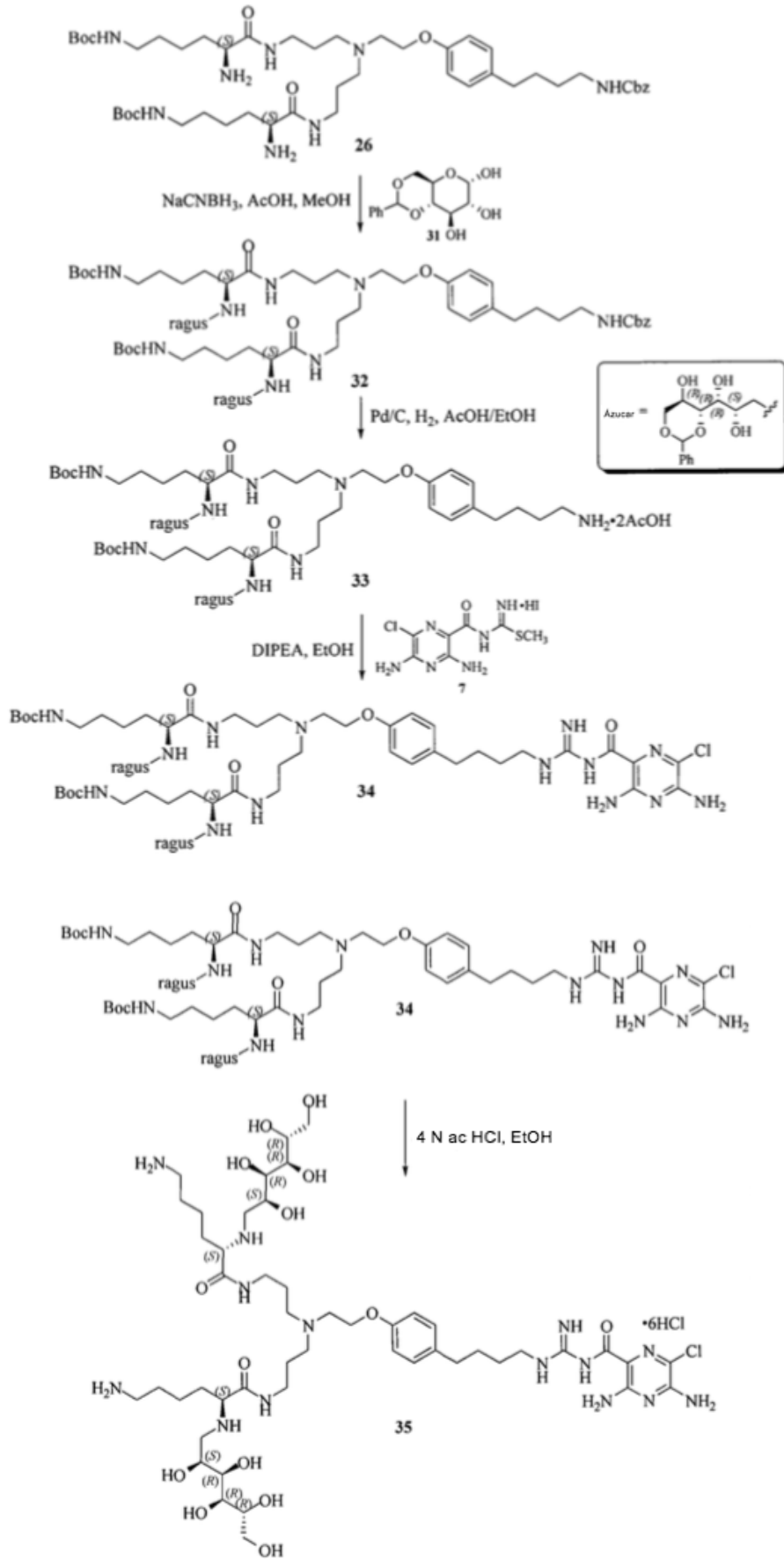
40 **[0308]** Una solución del Compuesto **28** (280 mg, 0,213 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidato de metilo (**7**, 132 mg, 0,339 mmol) en EtOH (5,0 mL) se cargó con DIPEA (220 mg, 1,70 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para dar el Compuesto **29** (189 mg, 63%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,03 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,95 (br s, 2H), 3,34-3,29 (m, 6H), 3,00 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,84 (br s, 2H), 2,61 - 2,56 (m, 6H), 1,70 - 1,42 (m, 20H), 1,42 (s, 36H).

50 Preparación de la sal de hidrocloreto de (2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanodiilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2,6-diaminohexanamida) (Compuesto 30)

55 **[0309]** Se cargó una solución del Compuesto **29** (188 mg, 0,157 mmol) en EtOH (2,0 mL) con 4 N ac HCl (6,0 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se recristalizó en EtOH/H₂O y se liofilizó para proporcionar sal de ácido hidroclorehídrico **30** (140 mg, 87%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,28 (br s, 2H), 3,90 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,61 (br s, 2H), 3,36 -3,23 (m, 10H), 2,94 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,59 (br s, 2H), 1,98-1,87 (m, 4H), 1,85-1,82 (m, 4H), 1,66-1,62 (m, 8H), 1,40 - 1,38 (m, 4H).

60 Esquema 5. Preparación de (S,R,R,R,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(6-amino-2-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)hexanamida)-35

65



Preparación del Compuesto 32

[0310] Se cargó una solución del Compuesto **26** (180 mg, 0,197 mmol) en MeOH (5,0 mL) con el Compuesto **31** (132 mg, 0,493 mmol) y AcOH (60 mg, 0,985 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y se añadió NaCNBH₃ (57,3 mg, 0,788 mmol). Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, el disolvente se eliminó al vacío. El residuo se lavó con Na₂CO₃ saturado, se destiló azeotrópicamente con MeOH y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para proporcionar el Compuesto **32** (183 mg, mezcla) como un aceite incoloro, que se usó directamente en el siguiente paso.

Preparación del Compuesto 33

[0311] Una suspensión del Compuesto **32** (180 mg, 0,127 mmol) y Pd/C al 10% (100 mg) en EtOH (5,0 mL) y AcOH (1,0 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 vertió con EtOH. El filtrado se concentró y se lavó con MTBE para proporcionar el Compuesto **33** (129 mg, 46% en 2 etapas) en forma de un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,47-7,45 (m, 4H), 7,33-7,31 (m, 6H), 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,86 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,53 (s, 2H), 4,24-4,21 (m, 2H), 4,07-3,86 (m, 6H), 3,74-3,53 (m, 4H), 3,34-2,53 (m, 16H), 1,90-1,30 (m, 20H), 1,42 (s, 36 H).

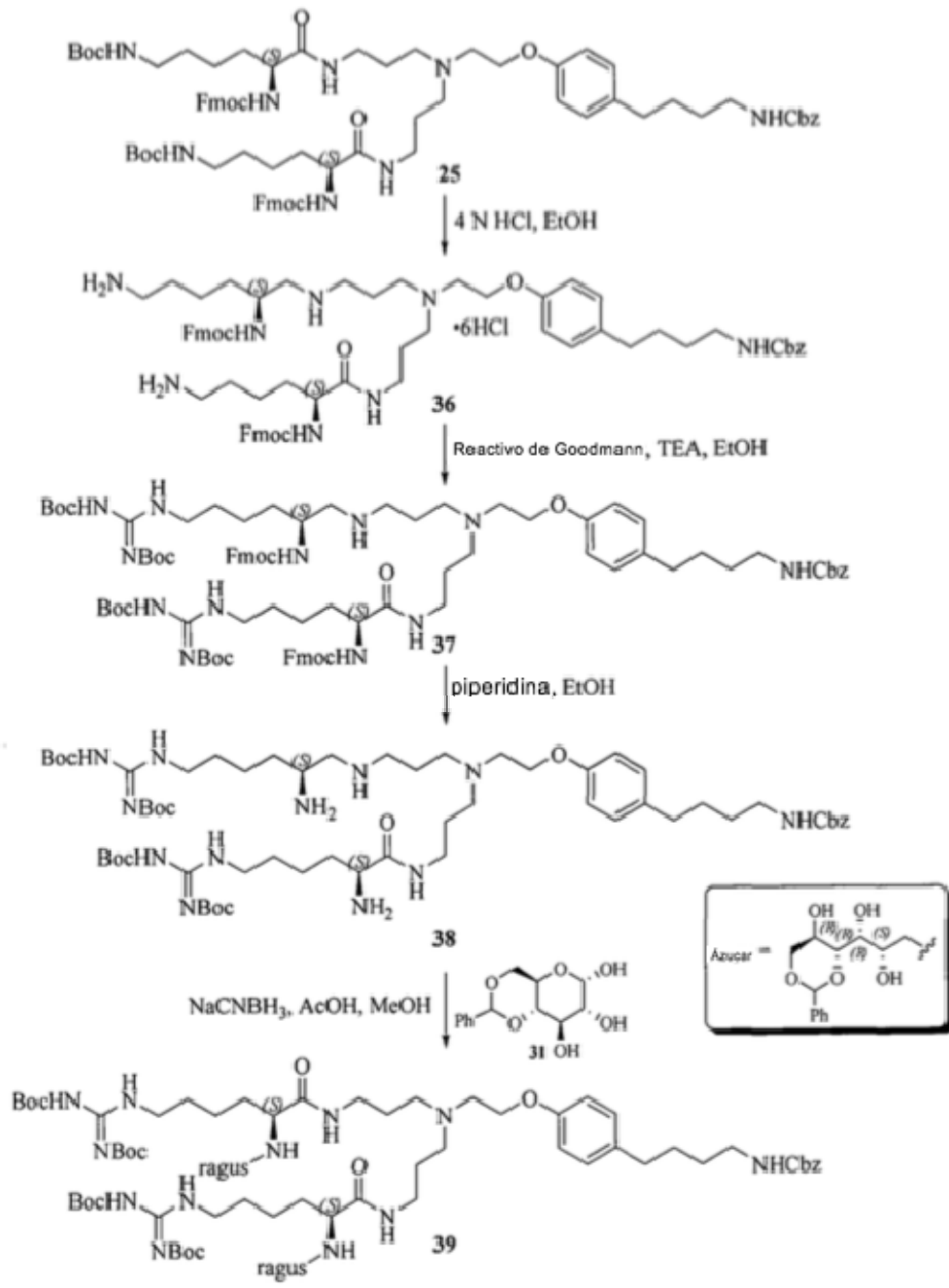
Preparación del Compuesto 34

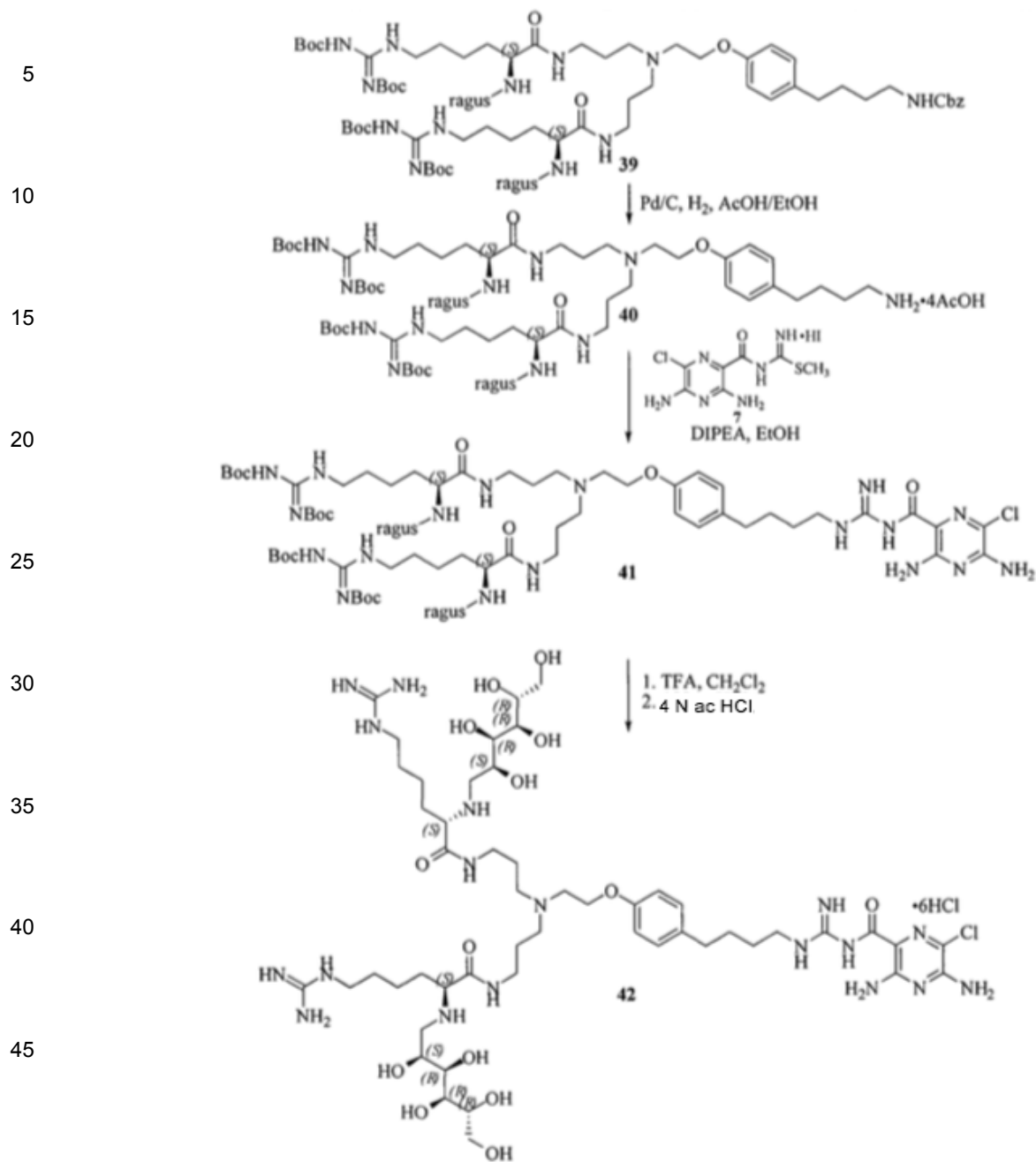
[0312] Una solución del Compuesto **33** (127 mg, 0,0834 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidato de metilo (7,59 mg, 0,150 mmol) en EtOH (5,0 mL) se cargó con DIPEA (108 mg, 0,839 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, 8:2:0,2 CHCl₃/MeOH/NH₄OH) para proporcionar el Compuesto **34** (81 mg, 65%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,43-7,40 (m, 4H), 7,31-7,30 (m, 6H), 7,10 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,23-4,20 (m, 2H), 3,99-3,87 (m, 8H), 3,68-3,53 (m, 4H), 3,34-3,35 (m, 4H), 3,05-2,95 (m, 10H), 2,81-2,51 (m, 10H), 1,66-1,32 (m, 20H), 1,42 (s, 36 H).

Preparación de la sal de hidrocloreto de (S,R,R,R,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(6-amino-2-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)hexanamida)-(Compuesto 35)

[0313] Se cargó una solución del Compuesto **34** (80,0 mg, 0,0535 mmol) en EtOH (1,0 mL) con 4 N ac HCl (3,0 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **35** (39,0 mg, 55%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,23 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,29 (br s, 2H), 4,08-4,03 (m, 2H), 3,90 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,76-3,59 (m, 12H), 3,38-3,18 (m, 12H), 3,10-2,93 (m, 6H), 2,60 (br s, 2H), 2,10-1,91 (m, 8H), 1,67-1,64 (m, 8H), 1,40-1,36 (m, 4H). El HRMS se precipitó para C₄₈H₈₈ClN₁₄O₁₄ [M + H]⁺, 1119,6287; encontrado 1119,6316. Análisis elemental: % calculado C 43,07, H 7,00, N 14,65; encontrado C 38,78, H 7,09, N 13,03.

Esquema 6. Preparación de sal de hidrocloreto de (S,R,R,R,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(6-guanidino-2-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)hexanamida)-Compuesto 42





Preparación del Compuesto 36

55 **[0314]** Una solución del Compuesto **25** (2,19 g, 1,61 mmol) en EtOH (50 mL) se cargó con 4 N HCl en dioxano (10 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **36** (1,88 g, 92%) como un aceite bajo en aceite: $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7,78-7,75 (m, 4H), 7,62-7,60 (m, 4H), 7,39-7,25 (m, 13H), 6,96 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,37-4,15 (m, 12H), 3,73-3,06 (m, 8H), 2,99-2,81 (m, 6H), 2,50-2,46 (m, 2H), 1,94-1,17 (m, 20H).

Preparación del Compuesto 37

65 **[0315]** Se cargó una solución del Compuesto **36** (1,86 g, 1,46 mmol) en EtOH (80 mL) con reactivo de Goodman (1,26 g, 3,23 mmol) y TEA (1,18 g, 11,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 2 h y a temperatura ambiente durante 3 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1) para dar el Compuesto **37** (1,54 g, 64%) como semisólido blanco: $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7,78 -7,75 (m, 4H), 7,59-7,57 (m, 4H), 7,37-7,23 (m, 13H), 6,97 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,73 (d, $J = 8,1$ Hz,

2H), 5,04 (s, 2H), 4,36 - 3,95 (m, 12H), 3,30 - 3,06 (m, 10H), 2,58 - 2,46 (m, 6H), 1,66 - 1,28 (m, 20H), 1,43 (s, 36 H).

Preparación del Compuesto 38

5 **[0316]** Se cargó una solución del Compuesto **37** (1,63 g, 0,99 mmol) en EtOH (24 mL) con piperidina (8,0 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se precipitó en MTBE/hexanos para proporcionar el Compuesto **38** (1,01 g, 85%) como un sólido blanquecino: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,33-7,32 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,02 (br s, 2H), 3,59-2,99 (m, 12H), 2,85 (br s, 2H), 2,62-2,54 (m, 6H), 1,71-1,28 (m, 20H), 1,43 (s, 36 H).

10

Preparación del Compuesto 39

15 **[0317]** Una solución del Compuesto **38** (120 mg, 0,100 mmol) en MeOH (5,0 mL) se cargó con el Compuesto **31** (67 mg, 0,250 mmol), AcOH (30 mg, 0,500 mmol) y NaCNBH₃ (29 mg, 0,400 mmol). Después de que la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, el disolvente se eliminó al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 20:1, 10:1:0,1 CHCl₃/MeOH/NH₄OH) para proporcionar el Compuesto **39** (101 mg, 61%) como semisólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,47-7,44 (m, 4H), 7,32-7,30 (m, 11H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,48 (d. s, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,23-4,20 (m, 2H), 4,01-3,85 (m, 8H), 3,71-3,58 (m, 6H), 3,29-3,07 (m, 10H), 2,85-2,53 (m, 12H), 1,71-1,50 (m, 20H), 1,47 (s, 18H), 1,4 g (s, 18H).

20

Preparación del Compuesto 40

25 **[0318]** Una suspensión del Compuesto **39** (518 mg, 0,304 mmol) y 10% Pd/C (250 mg) en EtOH (15 mL) y AcOH (3,0 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 36 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró, se neutralizó con 1 N Na₂CO₃ y se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para proporcionar el Compuesto **40** (283 mg, 54%) como un lido incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,47-7,45 (m, 4H), 7,31-7,29 (m, 6H), 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,85 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,49 (s, 2H), 4,25-4,20 (m, 2H), 4,03-3,89 (m, 8H), 3,71-3,58 (m, 6H), 3,29-3,07 (m, 10H), 2,85 -2,53 (m, 12H), 1,95 (s, 12H), 1,64-1,19 (m, 56H).

30

Preparación del Compuesto 41

35 **[0319]** Una solución del Compuesto **40** (283 mg, 0,156 mmol) y 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidato de metilo sal del ácido yodhídrico (7,98 mg, 0,250 mmol) en t-BuOH (10 mL) se cargó con DIPEA (161 mg, 1,25 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C 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 CH₂Cl₂/MeOH, 8:1:0,1 de CHCl₃/MeOH/NH₄OH) para dar el Compuesto **41** (130 mg, 41 MHz, CD₃OD) δ 7,45-7,44 (m, 4H), 7,32-7,30 (m, 6H), 7,09 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,47 (s, 2H), 4,23-4,20 (m, 2H), 4,00-3,85 (m, 8H), 3,68-3,58 (m, 6H), 3,29-3,07 (m, 10H), 2,81-2,53 (m, 12H), 1,69-1,13 (m, 20H), 1,50 (s, 18H), 1,45 (s, 18H).

40

Preparación de la sal de hidrocloreto de ((S, R, R, R, 2S, 2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino)-6-cloropirazina-2-carbonilguanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(6-guanidino-2-((2S,3R,4R,5R)-2, 3,4,5,6-pentahidroxihexilamino)hexanamida)-Compuesto 42

45

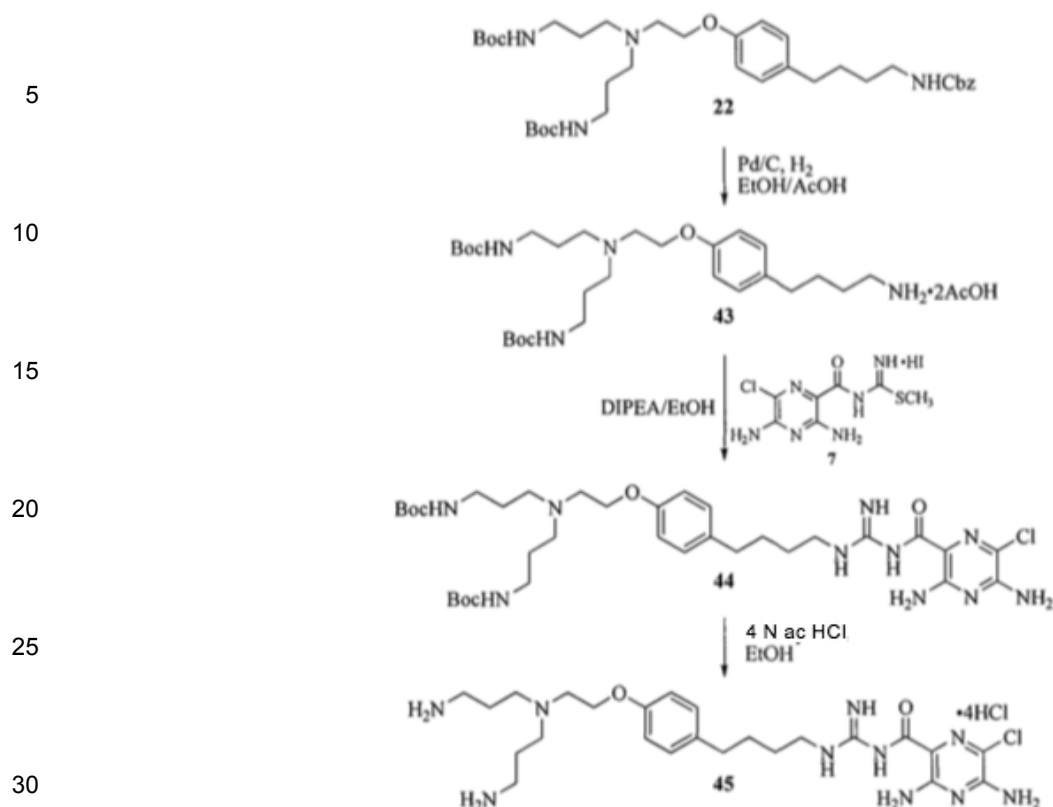
50 **[0320]** Una solución del Compuesto **41** (152 mg, 0,0853 mmol) en CH₂Cl₂ (6,0 mL) se cargó con TFA (2,0 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Después de eliminar el disolvente, se cargó 4 N HCl (5,0 mL) en el residuo y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por CLAR preparativa y se liofilizó para proporcionar una sal de ácido clorhídrico **42** (39 mg, 38%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,21 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,28 (br s, 2H), 4,08-4,04 (m, 2H), 3,90 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,77-3,59 (m, 12H), 3,30-3,06 (m, 18H), 2,59 (br s, 2H), 2,03-2,01 (m, 4H), 1,87-1,85 (m, 4H), 1,66 (br s, 4H), 1,54-1,51 (m, 4H), 1,35-1,31 (m, 4H). HRMS calculado para C₅₀H₉₂ClN₁₈O₁₄ [M + H]⁺, 1203,6723; encontrado 1203,6818.

55

Esquema 7. Preparación de la sal de hidrocloreto de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-(bis(3-aminopropilo)amino)etoxi)fenilo)butilo)carbamidilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 45

60

65



Preparación del Compuesto 43

[0321] Una suspensión del Compuesto **22** (7,00 g, 10,7 mmol) y 10% Pd/C (3,00 g) en EtOH/AcOH (70 ml/2,0 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 EtOH. El filtrado se concentró a vacío para proporcionar la sal acética **43** (7,00 g, bruto) como un sólido blanquecino. El producto bruto se usó directamente en el siguiente paso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,09 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,16 - 3,10 (m, 4H), 3,01 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,73 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,56 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,75 - 1,63 (m, 8H), 1,67 - 1,65 (m, 6H), 1,42 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 44

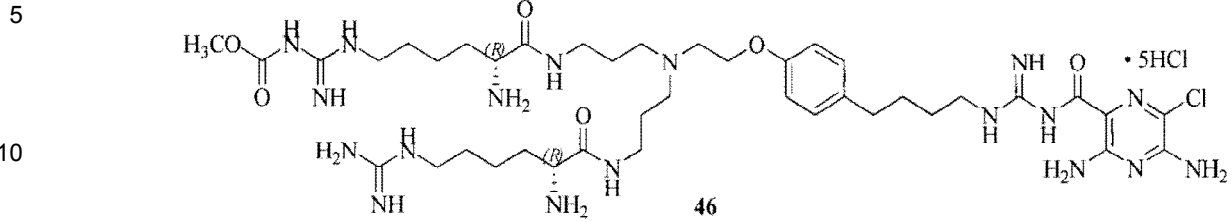
[0322] Una solución de sal de amina **43** (7,00 g, en bruto) y sal de ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamimidatoato de metilo (7, 5,41 g, 14,4 mmol) en EtOH (70 mL) se cargó con DIPEA (14,0 g, 108 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C en un 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, CHCl₃/CH₃OH/NH₄OH 80:18:2) para proporcionar guanidina **44** (3,00 g, 38% en 2 etapas) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,85 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,02 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,08 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,83 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,61 - 2,55 (m, 6H), 1,68 - 1,63 (m, 8 H), 1,40 (s, 18H).

Preparación de la sal de hidrocloreuro de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-(bis(3-aminopropilo)amino)etoxi)fenilo)butilo)carbamidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 45

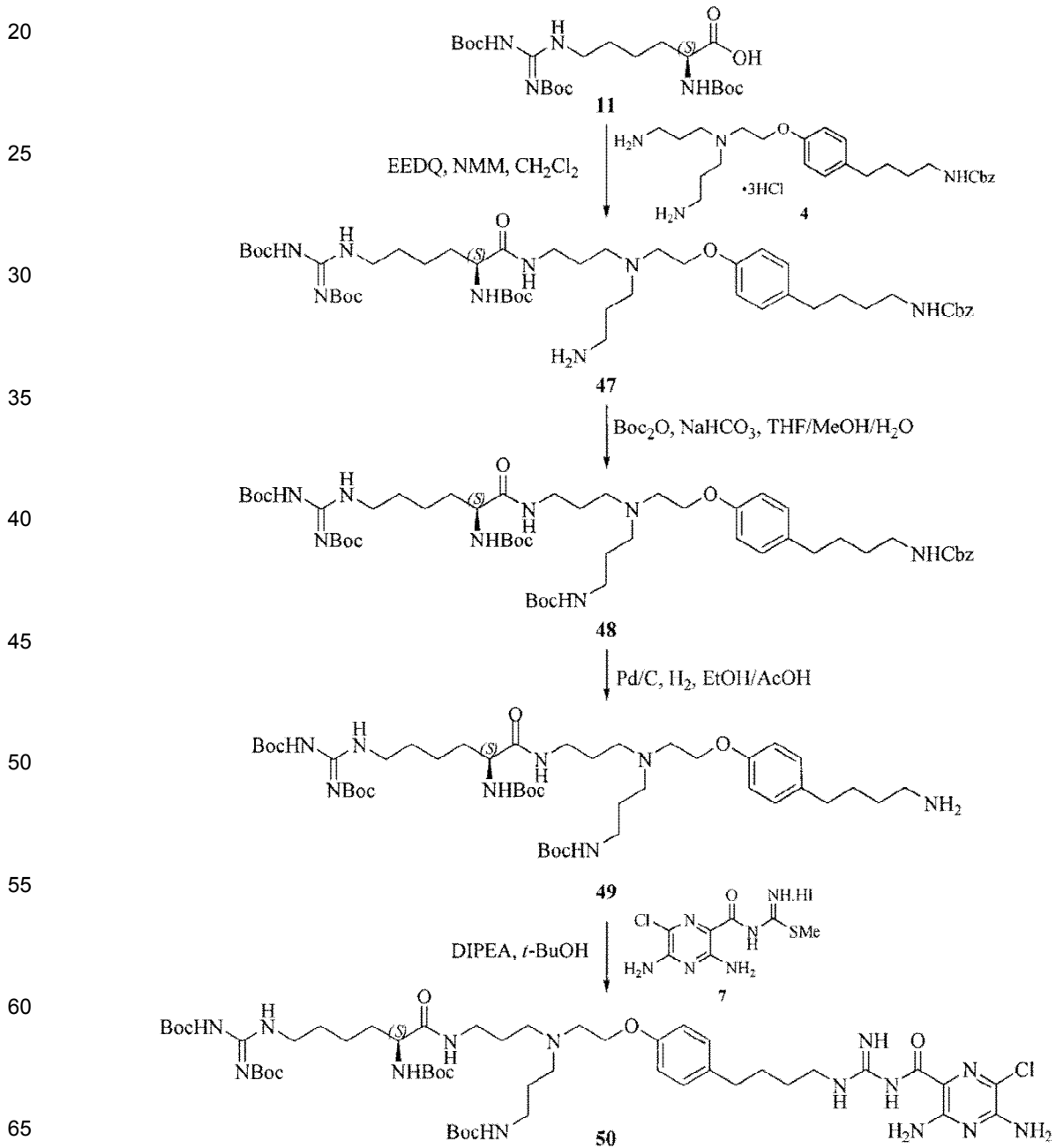
[0323] Se cargó 4 N HCl en agua (20,0 mL) y etanol (10,0 mL) con el Compuesto **44** (1,80 g, 2,45 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. El disolvente se eliminó y la mezcla se purificó por columna de fase inversa para dar el Compuesto **45** (1,30 g, 78%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) 7,20 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,30 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 3,66 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 3,37 (t, J = 8,0 Hz, 4H), 3,25 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,05 (t, J = 8,0 Hz, 4H), 2,57 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 2,19-2,11 (m, 4H), 1,63 (br s, 4H).

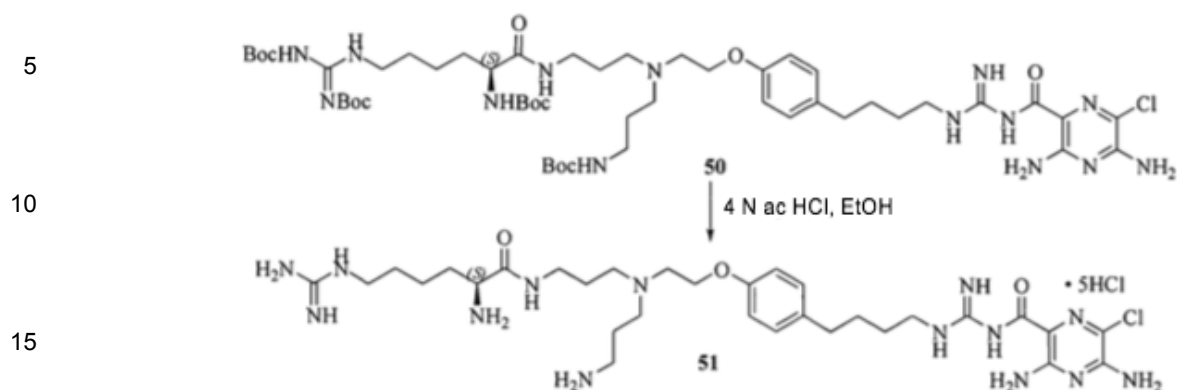
[0324] Preparación de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-((R)-11-amino-17-(3-((R)-2-amino-6-guanidinohexanamido)propilo)-5-imino-3,12-dioxo-2-oxa-4,6,13,17-tetraazanonadecano-19-iloxi)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 46 se aisló como un subproducto de la preparación del Compuesto 9. ¹H RMN (300 MHz, D₂O) δ 7,26 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,40 (br s, 2H), 3,88-3,85 (m, 2H), 3,79 (br s, 2H), 3,34-3,33

(m, 10H), 3,15 (s, 3H), 3,12 (t, J = 6,6 Hz, 4H), 2,63 (br s, 2H), 2,06 - 2,04 (m, 4H), 1,83-1,78 (m, 4H), 1,69 (br s, 4H), 1,57 - 1,50 (m, 4H), 1,38 - 1,33 (m, 4 H).



15 Esquema 8. La preparación de la sal de hidrocloreto de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-((3-(2-amino-6-guanidino)hexanamido)propilo)(3-aminopropilo)amino)etoxi)fenilo)butilo)carbamimidato)lo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 51





Preparación del Compuesto 47

20 **[0325]** Se cargó una solución de aminoácido **11** (750 mg, 1,53 mmol) en CH₂Cl₂ (30 mL) con EEDQ (890 mg, 2,97 mmol), bis-amina **4** (1,73 g, 3,06 mmol) y NMM (2,40 g), 23,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 6 h y a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron el aminoácido adicional **11** (750 mg, 1,53 mmol) y EEDQ (890 mg, 2,97 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar el Compuesto **47** (620 mg, mezcla con el Compuesto **11**) como un sólido amarillo, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 48

30 **[0326]** Se cargó una solución del Compuesto **47** (850 mg, mezcla con el Compuesto **11**) en THF (6,0 mL), MeOH (6,0 mL) y agua (2,0 mL) con NaHCO₃ (462 mg, 5,52 mmol) y BoC₂O (250 mg, 1,14 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. Después de eliminar el disolvente, el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (20 mL) y agua (20 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y purificaron por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar el Compuesto **48** (460 mg, 11% en 2 etapas) como solución blanca: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,33-7,32 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,06 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 3,95 (br s, 1H), 3,34-3,23 (m, 4H), 3,14-3,07 (m, 4H), 2,92 (br s, 2H), 2,66-2,52 (m, 6H), 1,86 - 1,54 (m, 14H), 1,51 (s, 9 H), 1,46 (s, 9 H), 1,42 (s, 9 H), 1,40 (s, 9 H).

Preparación del Compuesto 49

40 **[0327]** Una suspensión del Compuesto **48** (460 mg, 0,448 mmol) y Pd/C al 10% (230 mg) en EtOH (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 EtOH. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para dar el Compuesto **49** (342 mg, 86%) como un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 6,85 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 4,03 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,95 (br s, 1H), 3,34-3,24 (m, 4H), 3,08 (d, J = 6,6 Hz, 2H), 2,88-2,84 (m, 4H), 2,59-2,52 (m, 6H), 1,64-1,57 (m, 14H), 1,52 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 1,43 (s, 9 H), 1,41 (s, 9 H).

Preparación del Compuesto 50

50 **[0328]** Una solución de amina **49** (342 mg, 0,383 mmol) y sal del ácido yodhídrico 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamiato de metilo (**7**, 238 mg, 0,611 mmol) en t-BuOH (15 mL) se cargó con DIPEA (392 mg, 3,04 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C 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 CH₂Cl₂/MeOH, 5:1:0,1 CHCl₃/Me-OH/NH₄OH) para dar el Compuesto **50** (236 mg, 56%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 6,85 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 4,03 (d, J = 5,1 Hz, 2H), 3,95 (br s, 1H), 3,31-3,25 (m, 6H), 3,08 (t, J = 6,3 Hz, 2H), 2,84 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 2,60-2,56 (m, 6H), 1,67-1,54 (m, 14H), 1,51 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 1,42 (s, 9H), 1,40 (s, 9H).

60 Preparación de la sal de ácido clorhídrico de (S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-((3-(2-amino-6-guanidinohexanamido)propilo)(3-aminopropilo)amino)etoxi)fenilo)butilo)carbamiidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 51:

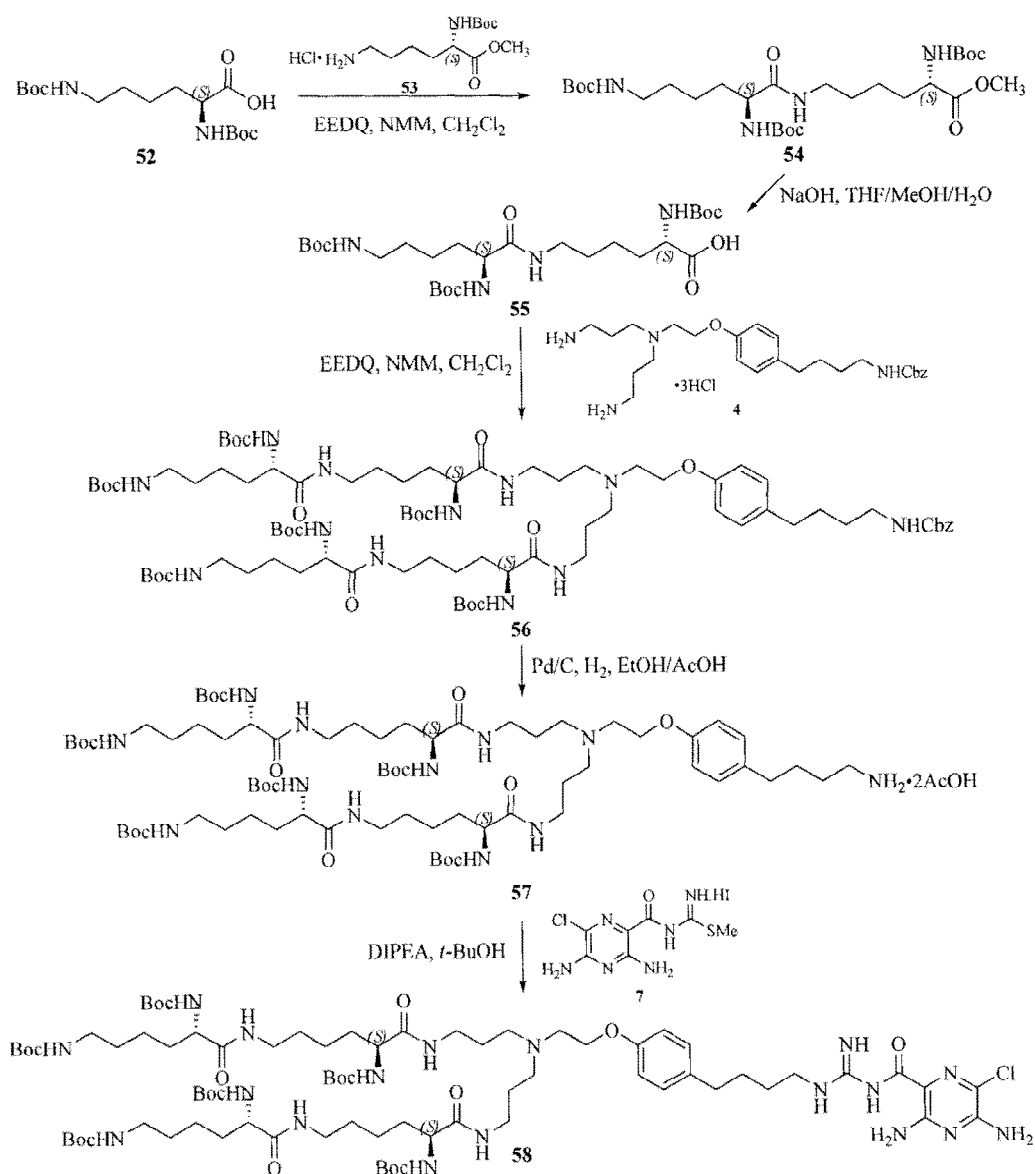
65 **[0329]** Se cargó una solución del Compuesto **50** (235 mg, 0,212 mmol) en EtOH (1,5 mL) con 4 N ac HCl (5,0 mL) a

temperatura ambiente, y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **51** (145 mg, 76%) como un sólido higroscópico amarillo: $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, D_2O) δ 7,22 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,91 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,29 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H), 3,88 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,63 (t, $J = 4,4$ Hz, 2H), 3,35-3,28 (m, 8H), 3,09-3,03 (m, 2H), 2,59 (br s, 2H), 2,17-2,12 (m, 2H), 2,03-1,97 (m, 2H), 1,83-1,79 (m, 2H), 1,66 (br s, 4H), 1,53-1,49 (m, 2H), 1,34-1,32 (m, 2H). HRMS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{ClN}_{14}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 705,4186; encontrado 705,4216.

Preparación de la sal de hidrocloreto de (S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-((S)-2,6-diaminohexanamido)hexanamida)

[0330]

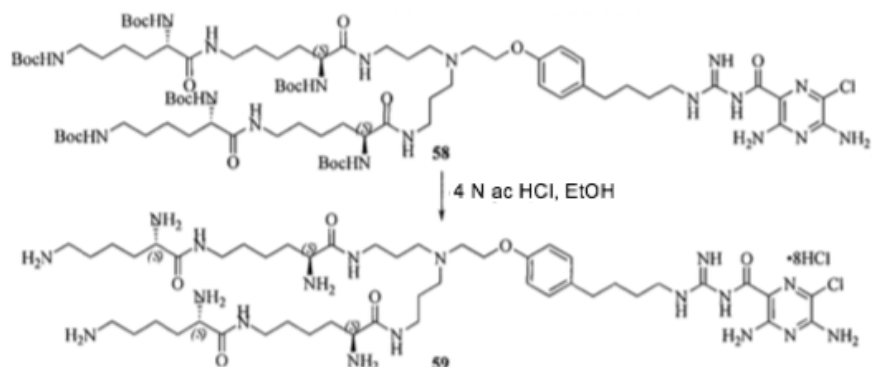
Esquema 9



5

10

15



20

Preparación del Compuesto 54

25

[0331] Una solución de aminoácido **52** (2,00 g, 5,77 mmol) en CH_2Cl_2 (40 mL) se cargó con EEDQ (2,07 g, 6,92 mmol), Compuesto **53** (1,71 g, 5,77 mmol) y NMM (1,74 g, 17,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 10:1 de $\text{H}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) para dar el Compuesto **54** (2,80 g, 82%) como un aceite incoloro: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 4,08-4,04 (m, 1H), 3,96-3,94 (m, 1H), 3,70 (s, 3 H), 3,21-3,15 (m, 2H), 3,02 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,73-1,47 (m, 12H), 1,46 (s, 27H).

30

Preparación del Compuesto 55

35

[0332] Se cargó una solución del Compuesto **54** (24,8 g, 42,0 mmol) en THF (200 mL), MeOH (200 mL) y H_2O (60 mL) con NaOH (16,8 g, 420 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente se eliminó y se cargó agua (300 mL) en el residuo. Después de ajustar el pH a 5 con 1 N HCl, el sólido resultante se separó por filtración y se secó para proporcionar el Compuesto **55** (22,5 g, 93%) como un sólido naranja: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 4,06-4,02 (m, 1H), 3,96-3,94 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,21-3,18 (m, 1H), 3,02 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,80-1,53 (m, 12H), 1,43 (s, 27H).

40

Preparación del Compuesto 56:

45

[0332] Una solución de aminoácido **55** (2,54 g, 4,41 mmol) en CH_2Cl_2 (80 mL) se cargó con EEDQ (1,58 g, 5,28 mmol), Compuesto 4 (1,25 g, 2,20 mmol) y NMM (3,55 g, 35,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para proporcionar el Compuesto **56** (2,40 g, 75% MHz, CD_3OD) δ 7,32-7,28 (m, 5H), 7,06 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,04- 3,95 (m, 6H), 3,24-2,99 (m, 14H), 2,87 (br s, 2H), 2,63-2,52 (m, 6H), 1,72-1,42 (m, 32H), 1,47 (s, 54H).

50

Preparación del Compuesto 57

[0334] Una suspensión del Compuesto **56** (2,40 g, 1,52 mmol) y 10% Pd/C (1,20 g) en EtOH (50 mL) y AcOH (2,0 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 EtOH. El filtrado se concentró y se lavó con MTBE para proporcionar el Compuesto **57** (2,13 g, 90%) como un aceite incoloro: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,12 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,90 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,19 (s, 2H), 3,94-3,85 (m, 4H), 3,34-2,92 (m, 20H), 2,62 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,95 (s, 6H), 1,90-1,50 (m, 32H), 1,47 (s, 54 H).

55

Preparación del Compuesto 58

60

[0335] Una solución de amina **37** (2,12 g, 1,36 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidoditoato de metilo (7, 638 mg, 1,63 mmol) en EtOH (80 mL) se cargó con DIPEA (1,41 g, 10,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{CH}_4\text{OH}$ 5:1:0,1) para dar el Compuesto **58** (1,21 g, 54%) como un sólido amarillo: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,10 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,13 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H), 3,94-3,85 (m, 4H), 3,34-3,10 (m, 10H), 3,01 (t, $J = 6,8$ Hz, 4H), 2,89 (br s, 2H), 2,62 (t, $J = 6,4$ Hz, 6H), 1,92-1,47 (m, 32H), 1,43 (s, 54H).

65

Preparación del Compuesto 59-La sal de hidrocloreto de (S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilo)azanedio)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-(S)-2,6-

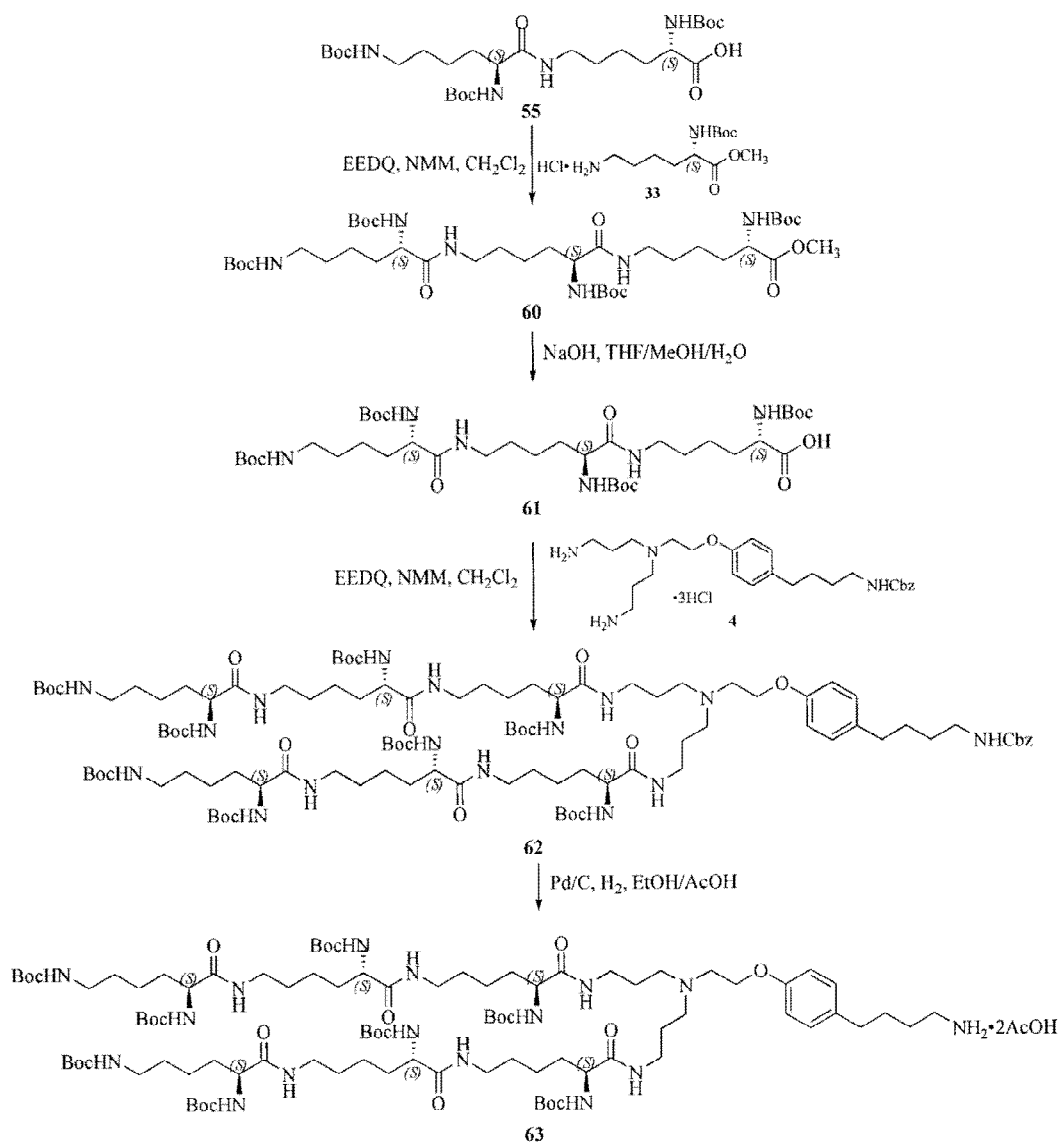
diaminohexanamido)hexanamida)

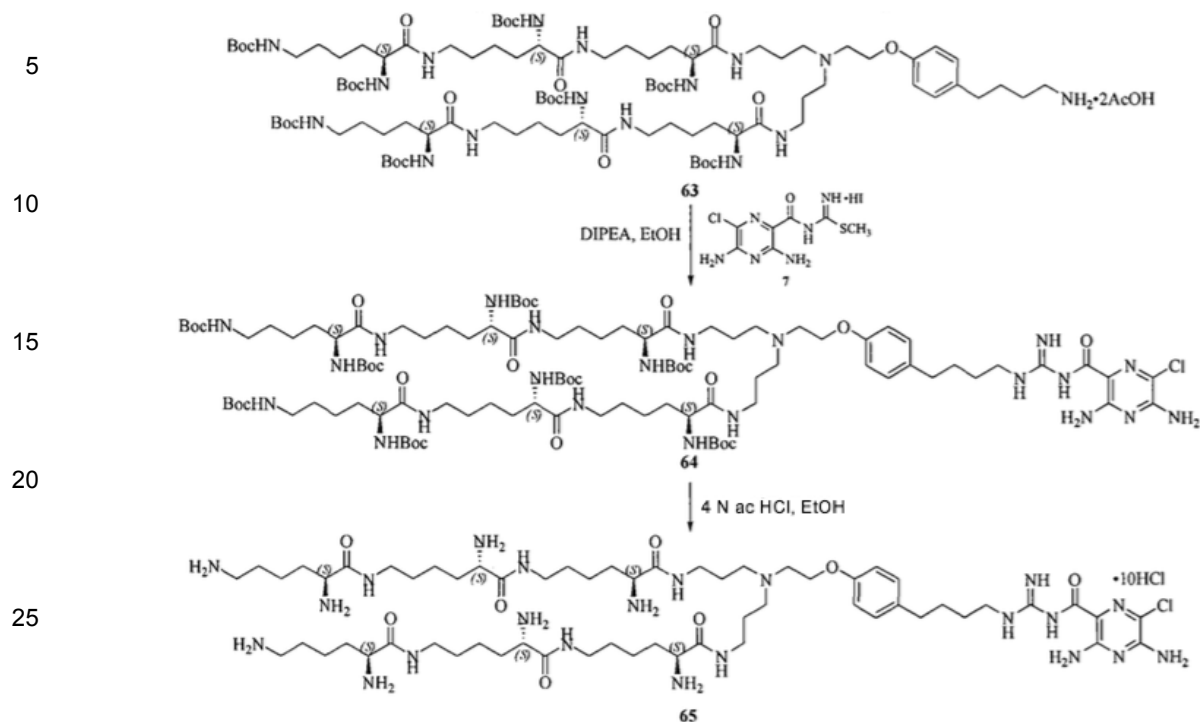
[0336] Se cargó una solución del Compuesto **58** (360 mg, 0,218 mmol) en EtOH (2,0 mL) con 4 N ac HCl (6,0 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **59** (117 mg, 41%) como un sólido higroscópico amarillo: ^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,28 (br s, 2H), 3,90-3,86 (m, 4H), 3,60 (br s, 2H), 3,37-3,15 (m, 14H), 2,60 (br s, 2H), 2,00 - 1,96 (m, 4H), 1,85 - 1,79 (m, 8H), 1,68 - 1,64 (m, 8H), 1,49 - 1,32 (m, 12H). HRMS calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{88}\text{ClN}_{18}\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 1047,6817; encontrado 1047,6831.

Preparación de la sal de hidrocloreto de (S,S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediiolo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-((S)-2-amino-6-((S)-2,6-diaminohexano-amido)hexanamido)hexanamida)

[0337]

Esquema 10





30 Preparación del Compuesto 60

35 **[0338]** Se cargó una solución del aminoácido **55** (12,0 g, 20,8 mmol) en CH_2Cl_2 (300 mL) con EEDQ (7,40 g, 25,0 mmol), Compuesto **33** (6,20 g, 20,8 mmol) y NMM (6,30 g, 62,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 10:1, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para dar el Compuesto **40** (13,1 g, 77%) como un aceite amarillo: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 4,08 (br s, 1H), 3,94 (br s, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,21-3,15 (m, 4H), 3,02 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 1,70-1,47 (m, 18H), 1,43 (s, 36 H).

40 Preparación del Compuesto 61

45 **[0339]** Se cargó una solución del Compuesto **60** (13,0 g, 15,9 mmol) en THF (100 mL), MeOH (100 mL) y H_2O (35 mL) con NaOH (3,20 g, 80,0 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El disolvente se eliminó y se cargó agua (300 mL) en el residuo. Después de ajustar el pH a 5 con 1 N HCl, el sólido resultante se separó por filtración y se secó para proporcionar el Compuesto **61** (12,1 g, 95%) como un sólido naranja: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 4,03 (br s, 1H), 3,94 (br s, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,29-3,14 (m, 4H), 3,02 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 1,70-1,47 (m, 18H), 1,43 (s, 36 H).

Preparación del Compuesto 62

50 **[0340]** Una solución de aminoácido **61** (500 mg, 0,622 mmol) en CH_2Cl_2 (15 mL) se cargó con EEDQ (223 mg, 0,746 mmol), Compuesto **4** (176 mg, 0,311 mmol) y NMM (502 mg, 4,97 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 10:1, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para dar el Compuesto **62** (290 mg, 46%) como un aceite incoloro: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 7,33-7,29 (m, 5H), 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,32 (br s, 2H), 3,94-3,84 (m, 6H), 3,57 (br s, 2H), 3,32-3,00 (m, 22H), 2,57 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,70-1,47 (m, 44H), 1,47 (s, 72 H).

Preparación del Compuesto 63

60 **[0341]** Una suspensión del Compuesto **62** (2,20 g, 1,08 mmol) y 10% Pd/C (1,10 g) en EtOH (50 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 EtOH. El filtrado se concentró para proporcionar el Compuesto **63** (1,87 g, 91%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,16 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,93 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,30 (s, 2H), 3,91-3,83 (m, 6H), 3,52 (s, 2H), 3,17 - 2,94 (m, 22H), 2,62 (s, 2H), 1,98 - 1,47 (m, 44H), 1,47 (s, 72H).

65

Preparación del Compuesto 64

[0342] Una solución de amina **43** (1,86 g, 0,980 mmol) y una sal de ácido dhidroico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidoditoato de metilo (7,455 mg, 1,17 mmol) en EtOH (20 mL) se cargó con DIPEA (1,01 g, 7,78 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C 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 CH₂Cl₂/MeOH, 5:1:0,1 CHCl₃/Me-OH/NH₄OH) para dar el Compuesto **64** (1,26 g, 61%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,11 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,05-3,95 (br s, 8H), 3,34-3,07 (m, 14H), 3,02 (t, J = 6,6 Hz, 4H), 2,85 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 2,62-2,57 (m, 6H), 1,69-1,47 (m, 44 H), 1,43 (s, 72 H).

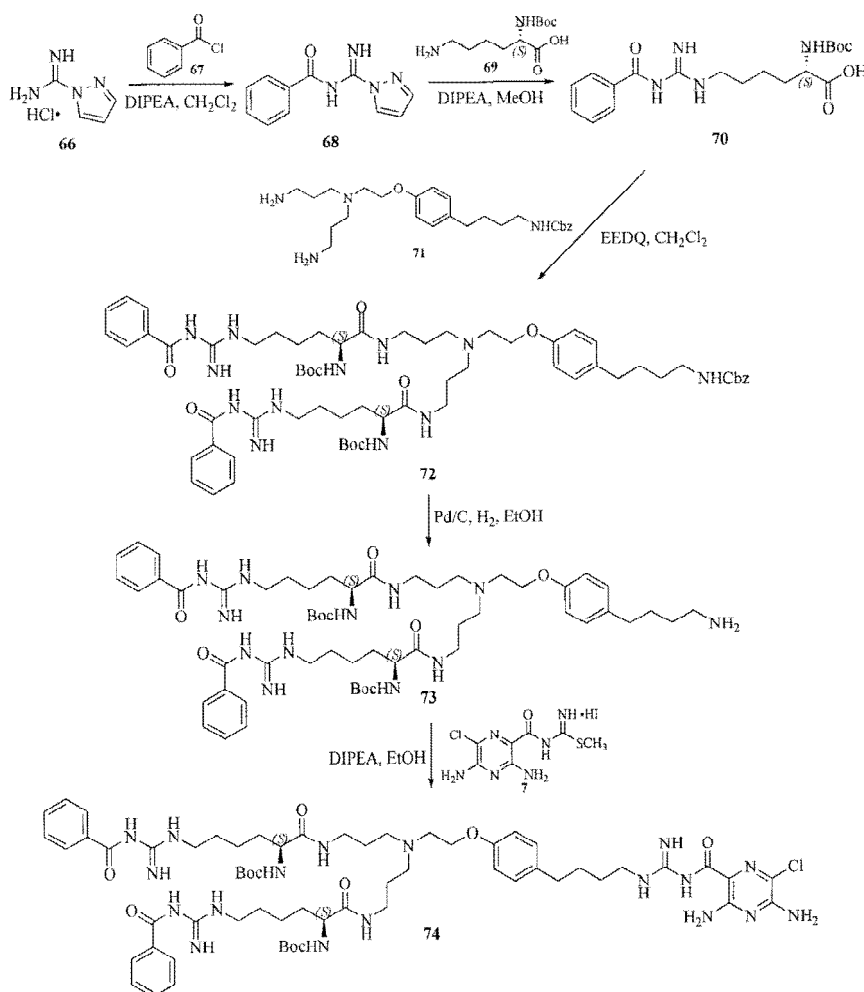
Preparación de la sal de hidrocloreto de (S,S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediiolo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-((S)-2-amino-6-((S)-2,6-diaminohexanamido)hexanamido)hexanamida)-Compuesto 65

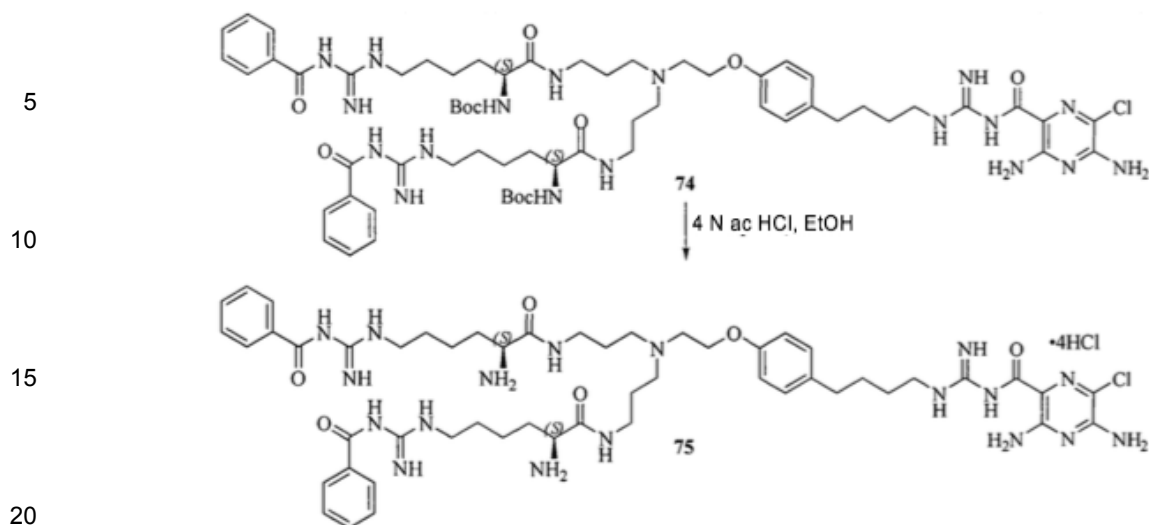
[0343] Se cargó una solución del Compuesto **64** (1,25 g, 0,661 mmol) en EtOH (5,0 mL) con 4 N ac HCl (15 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío, y el residuo se purificó por cromatografía en columna inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **65** (681 mg, 62%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,22 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,28 (br s, 2H), 3,91-3,87 (m, 6H), 3,60 (br s, 2H), 3,37-3,17 (m, 18H), 2,97 - 2,93 (m, 4H), 2,59 (br s, 2H), 2,01 - 1,96 (m, 4H), 1,84 - 1,79 (m, 12H), 1,68 - 1,64 (m, 8H), 1,52 - 1,32 (m, 20H). HRMS calculado para C₆₀H₁₁₂ClN₂₂O₈ [M + H]⁺, 1303,8717; encontrado 1303,8708.

10. Preparación de la sal de hidrocloreto de N,N'-((7S,19S)-7,19-diamino-13-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilo)-1,25-diimino-8,18-dioxo-2,9,13,17,24-pentaazapentacosano-1,25-diilo)dibenzamida

[0344]

Esquema 11





Preparación del Compuesto 68

25

30

[0345] Se cargó una solución del Compuesto **66** (300 mg, 2,05 mmol) y DIPEA (2,10 g, 16,4 mmol) en CH_2Cl_2 (6,0 mL) con el Compuesto **67** (316 mg, 2,25 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió agua (20 mL) y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para proporcionar el Compuesto **68** (340 mg, 78%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 10,0 (br s, 1H), 8,64 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,30 (dd, $J = 0,9, 8,1$ Hz, 2H), 7,74 (d, $J = 0,9$ Hz, 1H), 7,53-7,45 (m, 3 H), 6,48 (dd, $J = 1,8, 2,7$ Hz, 1 H).

Preparación del Compuesto 70

35

40

[0346] Se cargó una solución del Compuesto **69** (200 mg, 0,813 mmol) en MeOH (8,0 mL) con el Compuesto **68** (174 mg, 0,813 mmol) y DIPEA (419 mg, 3,25 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se cargó adicional **68** (35 mg, 0,162 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) para dar el Compuesto **70** (246 mg, 78%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 8,00 - 7,98 (m, 2H), 7,65-7,53 (m, 3H), 4,03 (br s, 1H), 3,34-3,29 (m, 2H), 1,85-1,49 (m, 6H), 1,42 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 72

45

50

[0347] Se cargó una solución de aminoácido **70** (200 mg, 0,509 mmol) en CH_2Cl_2 (5,0 mL) con EEDQ (305 mg, 1,02 mmol) y el Compuesto **71** (116 mg, 0,255 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 h. Se cargaron adicional **70** (40 mg, 0,118 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) para dar el Compuesto **72** (197 mg, 64%) como un aceite incoloro: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,04 (br s, 4H), 7,45 - 7,28 (m, 11H), 7,05 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,04 - 3,98 (m, 4H), 3,24-3,23 (m, 8H), 3,09 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,92 (br s, 2H), 2,65 (br s, 4H), 2,52 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,72-1,46 (m, 20H), 1,41 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 73

55

60

[0348] Se sometió una suspensión del Compuesto **72** (195 mg, 0,162 mmol) y Pd/C al 10% (100 mg) en EtOH (5,0 mL) a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se precipitó en MTBE/hexanos. El filtrado se concentró para proporcionar el Compuesto **73** (149 mg, 86%) como un sólido blanco: ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,05 (br s, 4H), 7,45-7,34 (m, 6H), 7,08 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,00-3,98 (m, 4H), 3,34-3,23 (m, 8H), 2,81-2,79 (m, 4H), 2,55 (br s, 6H), 1,64-1,42 (m, 20H), 1,41 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 74

65

[0349] Una solución de amina **73** (145 mg, 0,135 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidotioato de metilo (7,64 mg, 0,162 mmol) en EtOH (3,0 ml) se cargó con DIPEA (88 mg, 0,675 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$

10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para dar el Compuesto **74** (104 mg, 60%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,05 (br s, 4H), 7,42-7,33 (m, 6H), 7,08 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,00-3,98 (m, 4H), 3,34-3,23 (m, 10H), 2,80-2,79 (m, 2H), 2,58-2,53 (m, 6H), 1,68-1,61 (m, 20H), 1,41 (s, 18H).

5 La preparación de la sal de hidrocloreto de N,N'-((7S, 19S)-7,19-diamino-13-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilo)-1,25-diimino-8,18-dioxo-2,9,13,17,24-pentaazapentacosano-1,25-diilo)dibenzamida-Compuesto **75**

10 **[0350]** Se cargó una solución del Compuesto **74** (1,02 g, 0,794 mmol) en EtOH (20 mL) con 4 N ac HCl (20 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **75** (511 mg, 52%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (300 MHz, D₂O) δ 7,73 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,55 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,55 (t, J = 7,5 Hz, 4H), 7,13 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,13 (br s, 2H), 3,85 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,47 (br s, 2H), 3,23-3,19 (m, 14H), 2,49 (br s, 2H), 1,91 - 1,75 (m, 8 H), 1,58 - 1,52 (m, 8 H), 1,37 - 1,32 (m, 4H). HRMS calculado para C₅₂H₇₆ClN₁₈O₆ [M + H]⁺, 1083,5878; encontrado 1083,5884.

20 Preparación de la sal de hidrocloreto de (2S,2'S,2''S,2'''S)-N,N',N'',N'''-(3,3',3'',3''')-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(azanetriilo)tetrakis(propano-3,1-diilo)tetrakis(2-amino-6-guanidinohexanamida)-Compuesto **82**

[0351]

Esquema 12

25

30

35

40

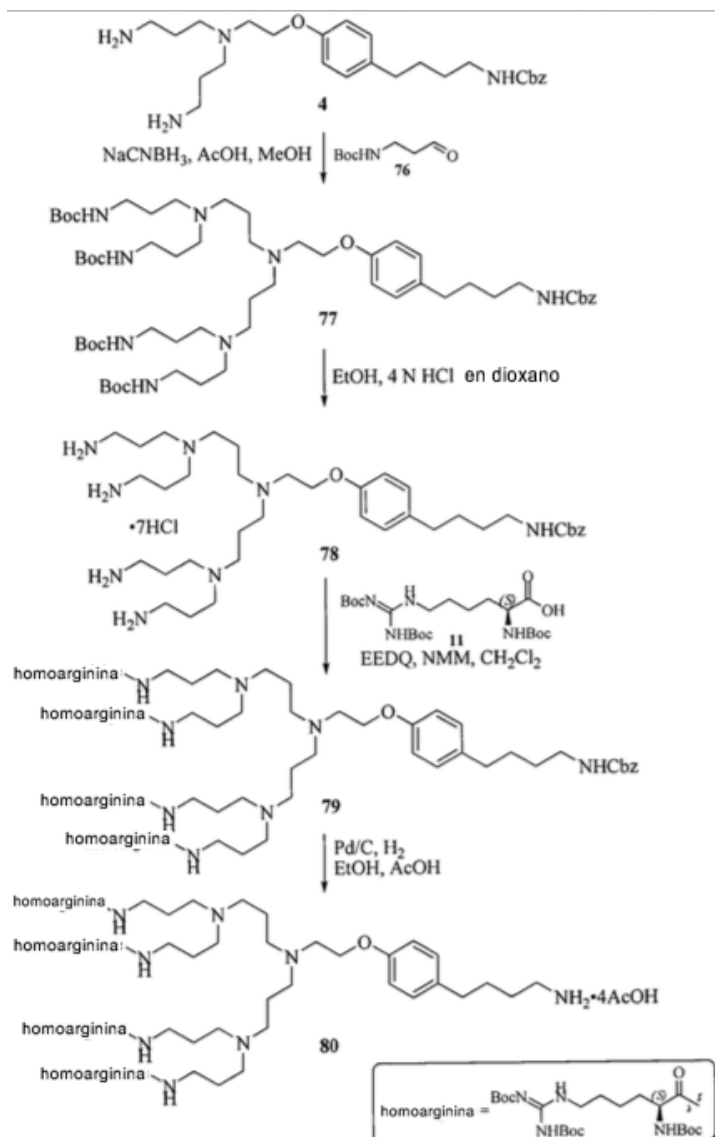
45

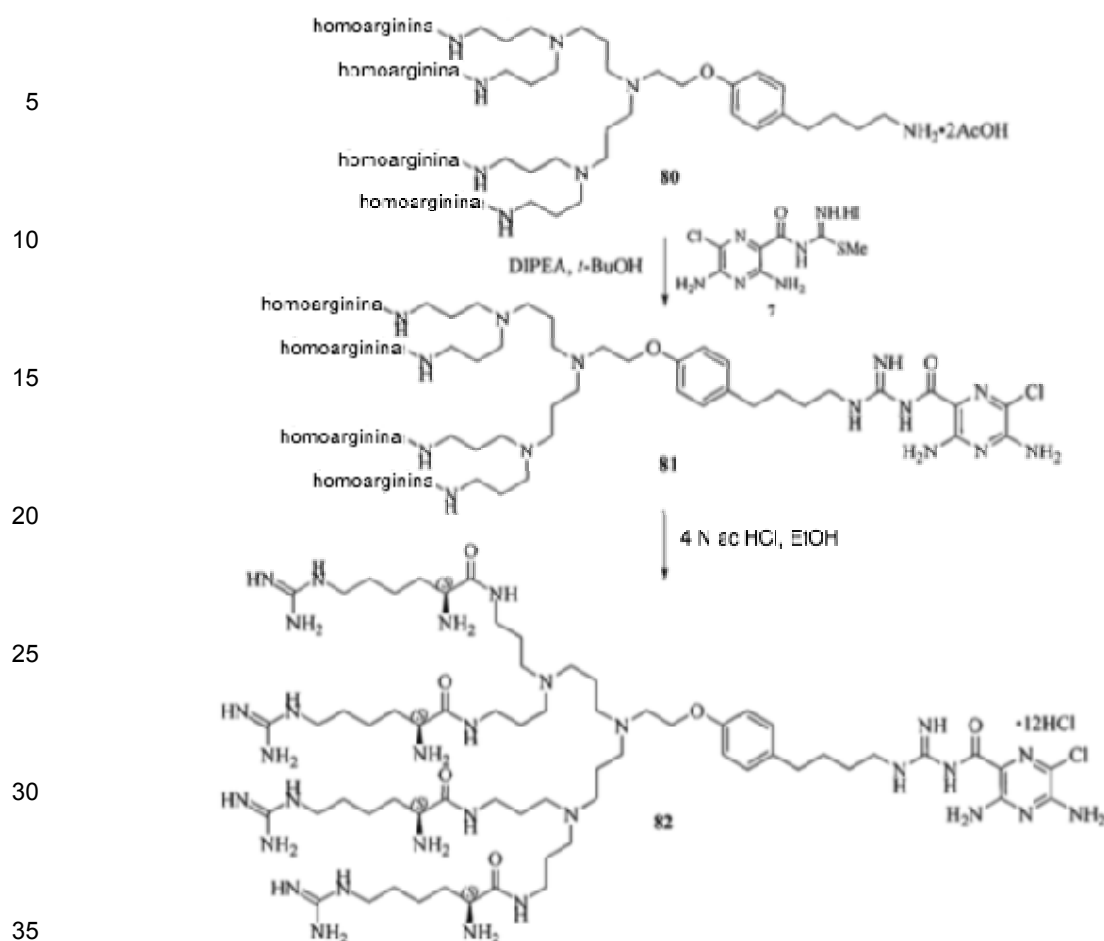
50

55

60

65





Preparación del Compuesto 77

40 **[0352]** Se cargó una solución del Compuesto **4** (100 mg, 0,219 mmol) en MeOH (4,0 mL) con el Compuesto **76** (227 mg, 1,37 mmol), NaCNBH₃ (128 mg, 1,76 mmol) y AcOH (132 mg, 2,20 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron 0 mg de Compuesto **76** adicional (151 mg, 0,876 mmol), NaCNBH₃ (79,8 mg, 1,10 mmol) y AcOH (79 mg, 1,31 mmol), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente se retiró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 20:1) para proporcionar el Compuesto **77** (63 mg, 27%) como un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,32-7,31 (m, 5H), 7,12 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,86 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,10 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 3,34-3,11 (m, 22H), 2,95 (br s, 2H), 2,78-2,75 (m, 4H), 2,57 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 1,98-1,83 (m, 10H), 1,60-1,49 (m, 6H), 1,43 (s, 36 H).

Preparación del Compuesto 78

50 **[0353]** Se cargó una solución del Compuesto **77** (502 mg, 0,463 mmol) en EtOH (5,0 mL) con 4 N ac HCl (5,0 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se precipitó en MTBE para proporcionar el Compuesto **78** (374 mg, 86%) como un aceite incoloro: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,34-7,29 (m, 5H), 7,13 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,00 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,45 (br s, 2H), 3,81-3,48 (m, 20H), 3,13-3,10 (m, 10H), 2,59-2,43 (m, 5H), 2,26 (br s, 7H), 1,64-1,44 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 79

60 **[0354]** Se cargó una solución del aminoácido **11** (104 mg, 0,213 mmol) en CH₂Cl₂ (5,0 mL) con EEDQ (127 mg, 0,426 mmol), Compuesto **78** (50,0 mg, 0,0530 mmol) y NMM (108 mg, 1,06 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para dar el Compuesto **79** (52 mg, 38%) como un aceite incoloro. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,32-7,29 (m, 5H), 7,11 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 6,86 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 5,06 (s, 2H), 4,14-3,96 (m, 6H), 3,30 - 2,80 (m, 22H), 2,67 - 2,45 (m, 16 H), 1,90 - 1,20 (m, 148 H).

Preparación del Compuesto 80

[0355] Una suspensión del Compuesto **79** (320 mg, 0,124 mmol) y 10% Pd/C (160 mg) en EtOH (10 mL) y AcOH (1,0 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 y precipitó en MTBE/hexanos para proporcionar el Compuesto **80** (285 mg, 87%) como un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,14 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,89 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,11 - 3,79 (m, 6H), 3,35 - 2,66 (m, 38H), 1,90 - 1,20 (m, 148H).

Preparación del Compuesto 81

[0356] Una solución de amina **80** (280 mg, 0,104 mmol) y sal de ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamiato de metilo (**7**, 49,0 mg, 0,125 mmol) en t-BuOH (10 mL) se cargó con DIPEA (103 mg, 0,795 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para producir el Compuesto **81** (112 mg, 40%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,11 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,03 (br s, 6H), 3,30-3,07 (m, 20H), 2,88 (br s, 2H), 2,60-2,48 (m, 16H), 1,65-1,23 (m, 148H).

Preparación de la sal de hidrocloreto de (2S,2'S,2''S,2'''S)-N,N',N'',N'''-(3,3',3'',3''')-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediiilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(azanetriilo)tetrakis(propano-3,1-diilo))tetrakis(2-amino-6-guanidinohexanamida)-Compuesto **82**

[0357] Se cargó una solución del Compuesto **81** (15,0 mg, 0,00567 mmol) en EtOH (2,0 mL) con 4 N ac HCl (2,0 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **82** (3,95 mg, 37%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,24 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,96 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,34 (br s, 2H), 3,93 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 3,64 (br s, 2H), 3,38-3,11 (m, 34 H), 2,60 (br s, 2H), 2,21-2,17 (m, 4H), 2,02-1,79 (m, 16H), 1,66-1,54 (m, 12H), 1,41-1,28 (m, 8H). HRMS calculado para C₆₄H₁₂₄ClN₃₀O₆ [M + H]⁺, 1444,0003; encontrado 1444,0054.

Preparación de la sal de hidrocloreto de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-(((R)-2-amino-6-guanidinohexanamido)propanol)(3-((S)-2-amino-6-guanidinohexanamido)propilo)amino)etoxi)fenilo)butilo)carbamiidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto **90**

[0358]

Esquema 13

5

10

15

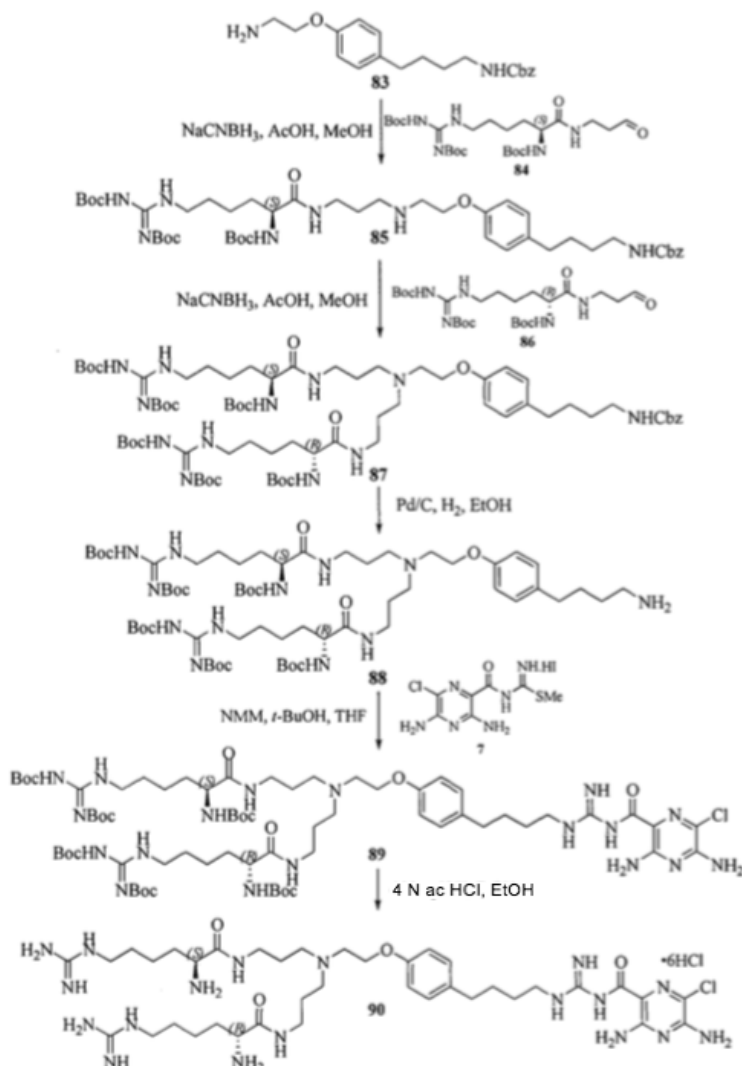
20

25

30

35

40



Preparación del Compuesto 85

45 **[0359]** Una solución de amina **83** (1,19 g, 3,47 mmol) y Compuesto **84** (1,90 g, 3,49 mmol) en MeOH (60 mL) se cargó con NaCNBH₃ (510 mg, 7,00 mmol) y AcOH (630 mg, 10,5 mmol) La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se lavó con 1 N Na₂CO₃ (100 mL), se disolvió en CH₂Cl₂ (200 mL) y se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL). La capa orgánica se evaporó a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 20:1) para proporcionar el Compuesto **85** (1,58 g, 52%) como un aceite incoloro: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,27 (br s, 1H), 7,83 (br s, 1H), 7,38-7,26 (m, 5H), 7,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,77 (br s, 1H), 5,76 (br s, 3H), 4,99 (s, 2H), 3,94 (br s, 2H), 3,83 (br s, 1H), 3,27-3,22 (m, 2H), 3,16-2,98 (m, 4H), 2,83 (br s, 2H), 1,55-1,48 (m, 5H), 1,46 (s, 11H), 1,38 (s, 10H), 1,36 (s, 10H).

Preparación del Compuesto 87

55 **[0360]** Una solución del Compuesto **85** (1,18 g, 1,36 mmol) y Compuesto **86** (1,10 g, 2,03 mmol) en MeOH (20 mL) se cargó con NaCNBH₃ (297 mg, 4,08 mmol) y AcOH (326 mg, 5,44 mmol) La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron el Compuesto **86** adicional (1,10 g, 2,03 mmol), NaCNBH₃ (297 mg, 4,08 mmol) y AcOH (326 mg, 5,44 mmol). La mezcla de reacción continuó agitando a temperatura ambiente durante 16 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se lavó con 1 N Na₂CO₃ (100 mL), se disolvió en CH₂Cl₂ (200 mL) y se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL). La capa orgánica se evaporó a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 20:1) para proporcionar el Compuesto **87** (2,12 g, mezcla) como un aceite incoloro, que se usó directamente en la siguiente etapa.

65

Preparación del Compuesto 88

[0361] Una suspensión del Compuesto **87** (2,12 g, mezcla) y 10% Pd/C (1,00 g) en EtOH (30 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 20:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 8:1:0,1) para dar el Compuesto **88** (732 mg, 43% en 2 etapas) en forma de un aceite incoloro. ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,05-3,95 (m, 4H), 3,27-3,21 (m, 4H), 2,88 - 2,83 (m, 4H), 2,62- 2,56 (m, 6H), 1,77 - 1,55 (m, 15H), 1,51 (s, 18H), 1,46 (s, 18H), 1,43 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 89

[0362] Una solución de amina **88** (7 10 mg, 0,562 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamidato de metilo (7, 261 mg, 0,675 mmol) en t-BuOH (15 mL) se cargó con DIPEA (359 mg, 2,81 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C 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 CH₂Cl₂/MeOH, 10:1:0,1 CHCl₃/MeOH/NH₄OH) para dar el Compuesto **89** (350 mg, 43%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,10 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 4,08-3,98 (m, 4H), 3,76-3,67 (m, 1H), 2,86 (br s, 3H), 2,63-2,58 (m, 6H), 1,73-1,64 (m, 10H), 1,62-1,56 (m, 4H), 1,51 (s, 19 H), 1,46 (s, 18H), 1,42(s), 18H).

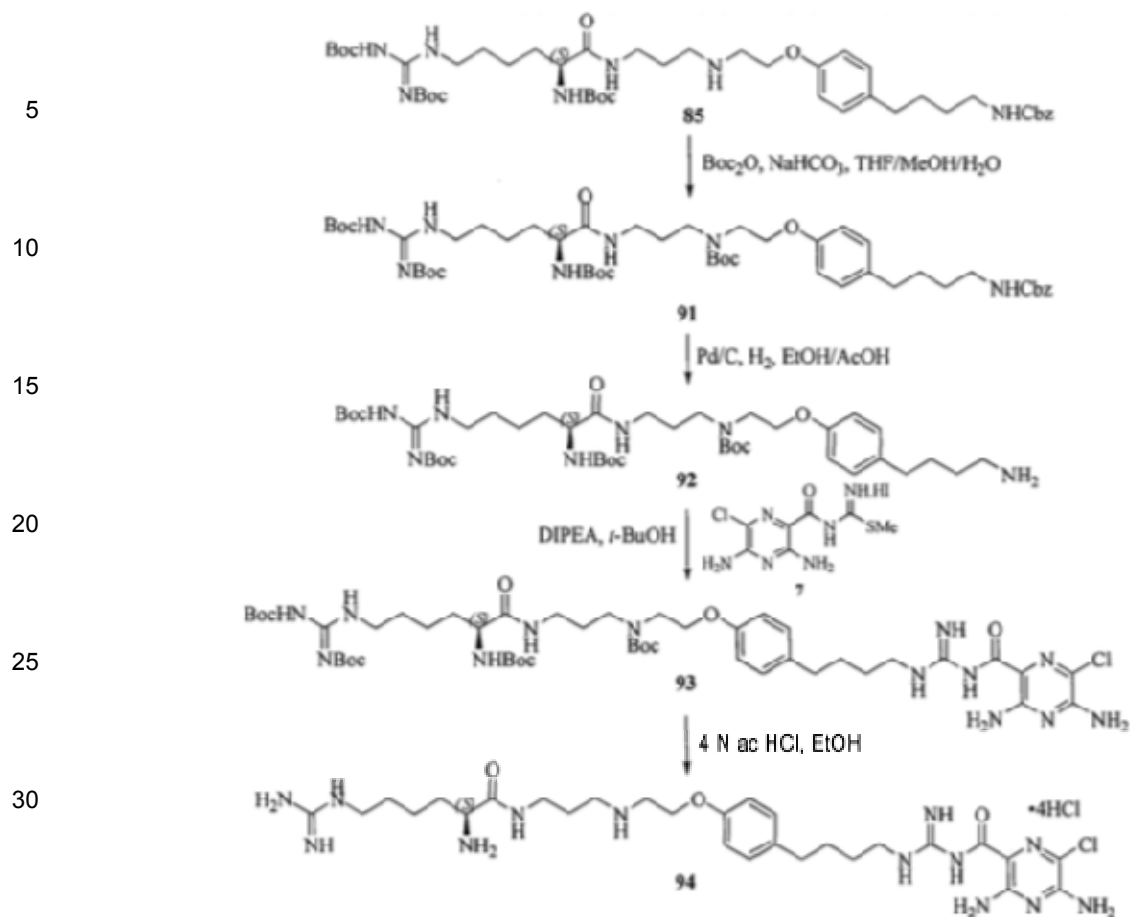
Preparación de la sal de hidrocloreto de 3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-((3-((R)-2-amino-6-guanidinohexanamido)propanol)(3-((S)-2-amino-6-guanidinohexanamido)propilo)amino)etoxi)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 90

[0363] Se cargó una solución del Compuesto **89** (230 mg, 0,156 mmol) en EtOH (1,0 mL) con 4 N ac HCl (10 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **90** (59 mg, 35%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,21 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,19 (br s, 2H), 3,77 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,46 (br s, 2H), 3,25-3,21 (m, 8H), 3,13 (br s, 4H), 3,02 (t, J = 7,0 Hz, 4H), 2,53 (br s, 2H), 1,93-1,86 (m, 4H), 1,75-1,70 (m, 4H), 1,60 (br s, 4H), 1,49-1,42 (m, 4H), 1,30 - 1,22 (m, 4H). HRMS calculado para C₃₈H₆₈ClN₁₈O₄ [M + H]⁺, 875,5354; encontrado 875,5372. Análisis elemental: % calculado C 41,71, H 6,72, N 23,04; encontrado C 38,03, H 5,80, N 20,40.

Preparación La sal de hidrocloreto de(S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-(3-(2-amino-6-guanidinohexanamido)propilamino)etoxi)fenilo)butilo)carbamimidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 94

[0364]

Esquema 14



Preparación del Compuesto 91

40

45

[0365] Se cargó una solución del Compuesto **85** (400 mg, 0,460 mmol) en THF (6,0 mL), MeOH (6,0 mL) y agua (2,0 mL) con NaHCO_3 (116 mg, 1,38 mmol) y BoC_2O (120 mg), 0,550 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Después de eliminar el disolvente, el residuo se repartió entre CH_2Cl_2 (20 mL) y agua (10 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH_2Cl_2 (20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1), produciendo el Compuesto **91** (379 mg, 85%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,32-7,28 (m, 5H), 7,05 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,80 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,10-4,04 (m, 2H), 3,95 (br s, 1H), 3,57 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,23-3,09 (m, 4H), 2,54 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,77 (br s, 2H), 1,62-1,52 (m, 4H), 1,51 (s, 11H), 1,45-1,42 (m, 28H).

Preparación del Compuesto 92

50

55

[0366] Una suspensión del Compuesto **91** (375 mg, 0,387 mmol) y 10% Pd/C (200 mg) en EtOH (15 mL) se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. El filtrado se concentró para dar el Compuesto **92** (297 mg, 92%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,09 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,05 (br s, 2H), 3,99-3,94 (m, 1H), 3,57 (t, $J = 5,2$ Hz, 2H), 3,25-3,19 (m, 2H), 2,71 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,57 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,76 (br s, 3H), 1,65-1,54 (m, 5H), 1,51 (s, 10H), 1,47-1,45 (m, 18H), 1,42 (s, 10H).

Preparación del Compuesto 93

60

65

[0367] Una solución de amina **92** (295 mg, 0,353 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamiato de metilo (**7**, 165 mg, 0,424 mmol) en *t*-BuOH (20 mL) se cargó con DIPEA (227 mg, 1,76 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C 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 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 10:1:0,1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$) para dar el Compuesto **93** (244 mg, 66%) como un sólido amarillo: ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ 7,10 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,07-4,04 (m, 2H), 3,98-3,93 (m, 1H), 3,57 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,25-3,17 (m, 3H), 2,62 (br s, 2H), 1,77-1,56 (m, 8H), 1,51 (s, 9H), 1,46 (s, 18H), 1,42 (s, 10H).

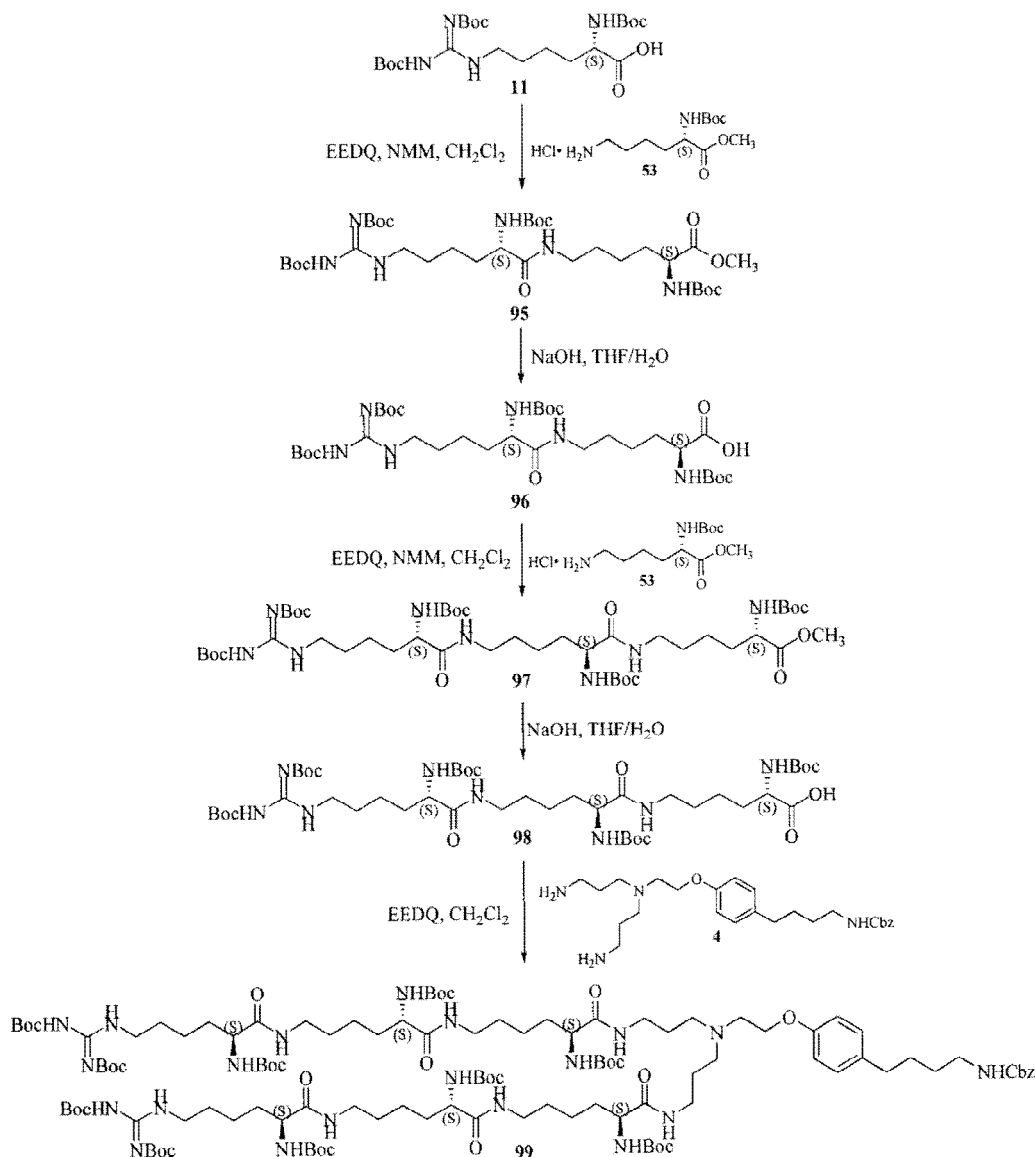
Preparación La sal de hidrocloreuro de(S)-3,5-diamino-N-(N-(4-(4-(2-(3-(2-amino-6-guanidinohexanamido)propilamino)etoxi)fenilo)butilo)carbamidomidoilo)-6-cloropirazina-2-carboxamida-Compuesto 94

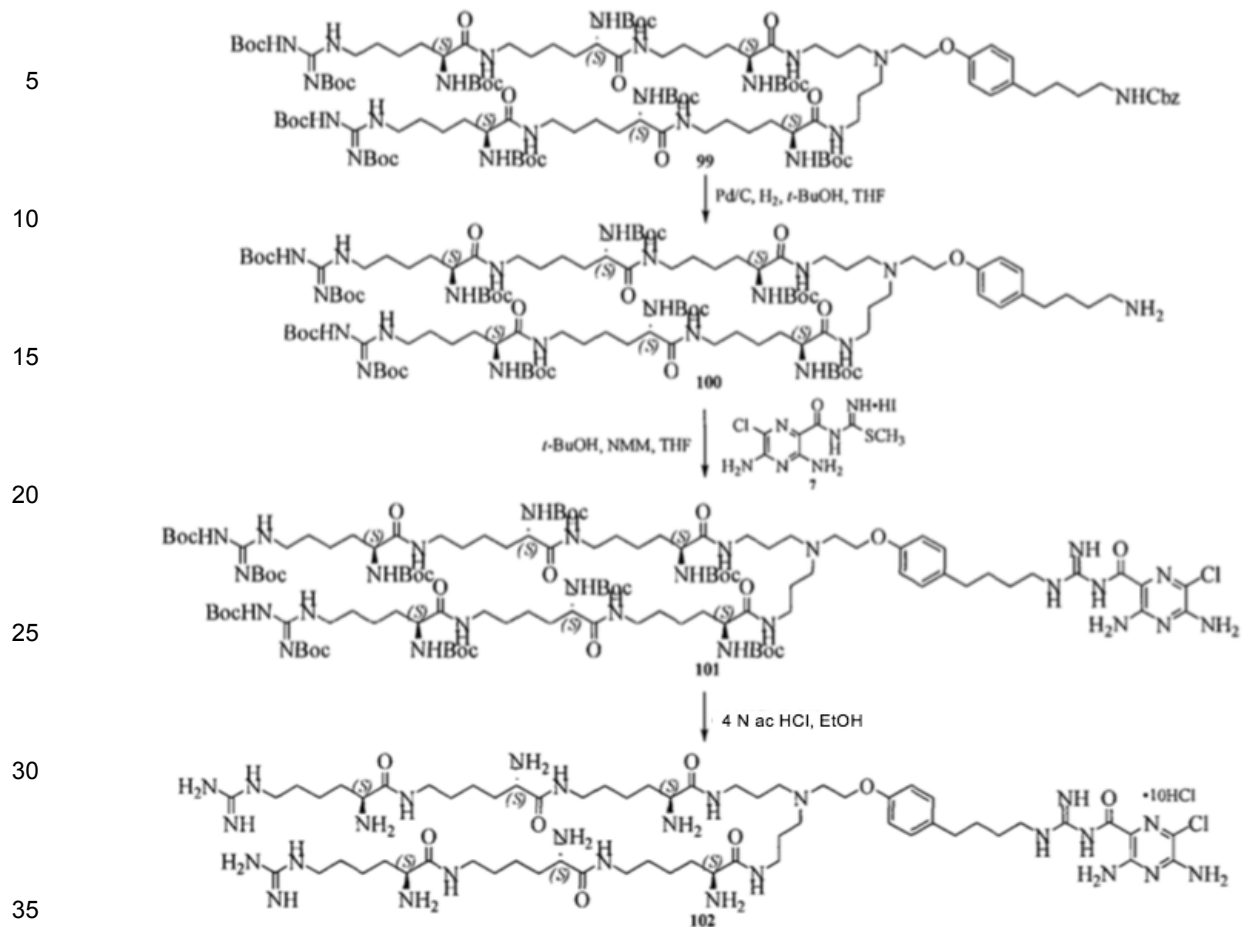
[0368] Se cargó una solución del Compuesto **73** (238 mg, 0, 227 mmol) en EtOH (3,0 mL) con 4 N ac HCl (10 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **74** (96 mg, 53%) como un sólido higroscópico amarillo: $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, D_2O) δ 7,20 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,91 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,21 (br s, 2H), 3,82 (br s, 1H), 3,42 (t, $J = 4,8$ Hz, 2H), 3,34-3,28 (m, 4H), 3,13-3,08 (m, 4H), 2,59 (br s, 2H), 1,92 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,78 (br s, 2H), 1,66 (br s, 4H), 1,56 - 1,50 (m, 2H), 1,37 - 1,31 (m, 2 H). HRMS calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{ClN}_{13}\text{O}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 648,3608; encontrado 648,3619. Análisis elemental: % calculado C 42,35, H 6,35, N 22,32; encontrado C 37,84, H 6,57, N 20,29.

Preparación de la sal de hidrocloreuro de (S,S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(2-amino-6-((S)-2-amino-6-((S)-2-amino-6-guanidino)hexanamido)hexanamido)hexanamida)

[0369]

Esquema 15





Preparación del Compuesto 95

40 **[0370]** Se cargó una solución agitada de aminoácido **11** (4,00 g, 8,19 mmol) en CH_2Cl_2 (100 mL) con EEDQ (2,42 g, 9,83 mmol) y NMM (2,50 g, 24,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añadió la amina **53** (2,12 g, 8,19 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 10:1, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para proporcionar la amida **75** (3,80 g, 74%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 11,48 (s, 1H), 8,32 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 6,36 (br s, 1H), 5,23-5,14 (m, 2H), 4,28-4,19 (m, 1H), 4,06 - 3,97 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,42- 3,15 (m, 4H), 1,90 - 1,69 (m, 6H), 1,67 - 1,55 (m, 4H), 1,49 (s, 18H), 1,47 (s, 9 H), 1,43 (s, 9 H), 1,41 - 1,36 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 96

50 **[0371]** Una solución de éster metílico **95** (3,80 g, 5,20 mmol) en $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (50 ml/10 mL) se cargó con NaOH (416 mg, 10,41 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró a presión reducida y el pH se ajustó a 9 con 1 N NaOH. La solución acuosa se lavó con EtOAc (2 x 150 mL) y el pH se ajustó a 5. 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 **96** (crudo, 3,30 g, 89%) como un sólido blanco, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 97

60 **[0372]** Se cargó una solución agitada de aminoácido **96** (crudo, 3,30 g, 4,60 mmol) en CH_2Cl_2 (100 mL) con EEDQ (1,36 g, 5,53 mmol) y NMM (1,40 g, 13,8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añadió amina **53** (1,20 g, 4,60 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1) para proporcionar el Compuesto **77** (3,51 g, 80%) como un sólido blanco: ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 11,47 (s, 1H), 8,30 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,40 (br s, 2H), 5,41-5,32 (m, 1H), 5,25-5,12 (m,

2H), 4,23 (br s, 1H), 4,11-3,96 (m, 3H), 3,42-3,36 (m, 2H), 3,25-3,15 (m, 4H), 1,87-1,74 (m, 4H), 1,54-1,46 (m, 23H), 1,46-1,40 (m, 3H), 1,39-1,31 (m, 6H).

Preparación del Compuesto 98

[0373] Una solución de éster metílico **97** (3,51 g, 3,66 mmol) en THF/H₂O (50 ml/10 mL) se cargó con NaOH (293 mg, 7,32 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró a presión reducida y el pH se ajustó a 9 con 1 N NaOH. La solución acuosa se lavó con EtOAc (2 x 150 mL) y el pH se ajustó a 5. La suspensión se repartió entre CH₂Cl₂ (200 mL) y agua (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 200 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para proporcionar el Compuesto **98** (3,00 g, 88%) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,34 (br s, 1H), 6,93 (br s, 1H), 6,61 (br s, 1H), 5,51-5,40 (m, 3H), 4,28 (br s, 1H), 4,14-4,04 (m, 3H), 3,76-3,16 (m, 6H), 1,87-1,75 (m, 7H), 1,65-1,51 (m, 5H), 1,49 (s, 9H), 1,48 (s, 9H), 1,44 (s, 9H), 1,42 (s, 18H), 1,39-1,26 (m, 6H).

Preparación del Compuesto 99

[0374] Se cargó una solución agitada del Compuesto **4** (base libre, 500 mg, 1,09 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL) con EEDQ (1,21 g, 4,93 mmol) y aminoácido **98** (2,57 g, 2,72 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadieron el aminoácido adicional **98** (515 mg, 0,545 mmol) y EEDQ (270 mg, 1,09 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/EtOAc 10:1, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar la amida **99** (1,42 g, 70%) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,33-7,27 (m, 4H), 7,06 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 6,82 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,05 - 3,96 (m, 10H), 3,68 (t, J = 4,2 Hz, 1H), 3,34 (t, J = 7,0 Hz, 4H), 3,24-3,10 (m, 16 H), 2,88 - 2,83 (m, 2H), 2,61 - 2,52 (m, 6H), 2,43 (br s, 1H), 1,74- 1,66 (m, 12H), 1, 63- 1,54 (m, 14 H), 1,51 (s, 25H), 1,46 (s, 25H), 1,44(s), 20H), 1,43 (s, 20H), 1,42 (s, 20 H).

Preparación del Compuesto 100

[0375] Una solución agitada del Compuesto **99** (300 mg, 0,129 mmol) en t-BuOH (10 mL) y THF (2,0 mL) se cargó con Pd/C al 10% (150 mg) y la mezcla se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 16 h a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, la mezcla se filtró a través de celite y se lavó con THF. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar **100** (260 mg, 92%) como un sólido marrón: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7,09 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,03 - 3,96 (m, 8H), 3,35 - 3,12 (m, 14H), 2,90 - 2,83 (m, 4H), 2,60 - 2,57 (m, 6H), 1,70 - 1,31 (m, 154H).

Preparación del Compuesto 101

[0376] Se cargó una solución agitada del Compuesto **100** (1,43 g, 0,650 mmol) con hidroyoduro de (3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)carbamidato de metilo **7** (253 mg, 0,650 mmol) y NMM (332 mg, 3,28 mmol) en t-BuOH (60 mL) y THF (12 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a 60°C y a 70°C durante 1 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH₂Cl₂/MeOH, 5:1:0,1 CHCl₃/MeOH/NH₄OH) para producir el Compuesto **101** (1,24 g, 79 %) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): δ 7,14 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 6,90 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 4,20 (br s, 2H), 3,98 - 3,89 (m, 6H), 3,79-3,74 (m, 2H), 3,34-3,07 (m, 12H), 2,84-2,77 (m, 4H), 2,66-2,56 (m, 6H), 1,70-1,31 (m, 154H).

Preparación de la sal de hidrocloreto de (S,S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediiolo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-((S)-2-amino-6-guanidino)hexanamido)hexanamida)-Compuesto 102

[0377] Se cargó una solución del Compuesto **81** (1,40 g, 0,50 mmol) en EtOH (30 mL) con 4 N ac HCl (100 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró y se añadió 4 N ac HCl nuevo. Después de agitarse durante 4 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **82** (450 mg, 62%) como un sólido higroscópico amarillo. (400 MHz, D₂O) δ 7,22 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,92 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,29 (br s, 2H), 3,91-3,88 (m, 6H), 3,60 (br s, 2H), 3,39- 3,11 (m, 23 H), 2,60 (br s, 2H), 2,01 - 1,97 (m, 4H), 1,86-1,78 (m, 13H), 1,67-1,46 (m, 17H), 1,40-1,32 (m, 12H).

Preparación de la sal de hidrocloreto de (S,2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina)-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanediiolo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-((S)-2-amino-6-guanidino)hexanamida)hexanamida)-Compuesto 106

[0378]

5

10

15

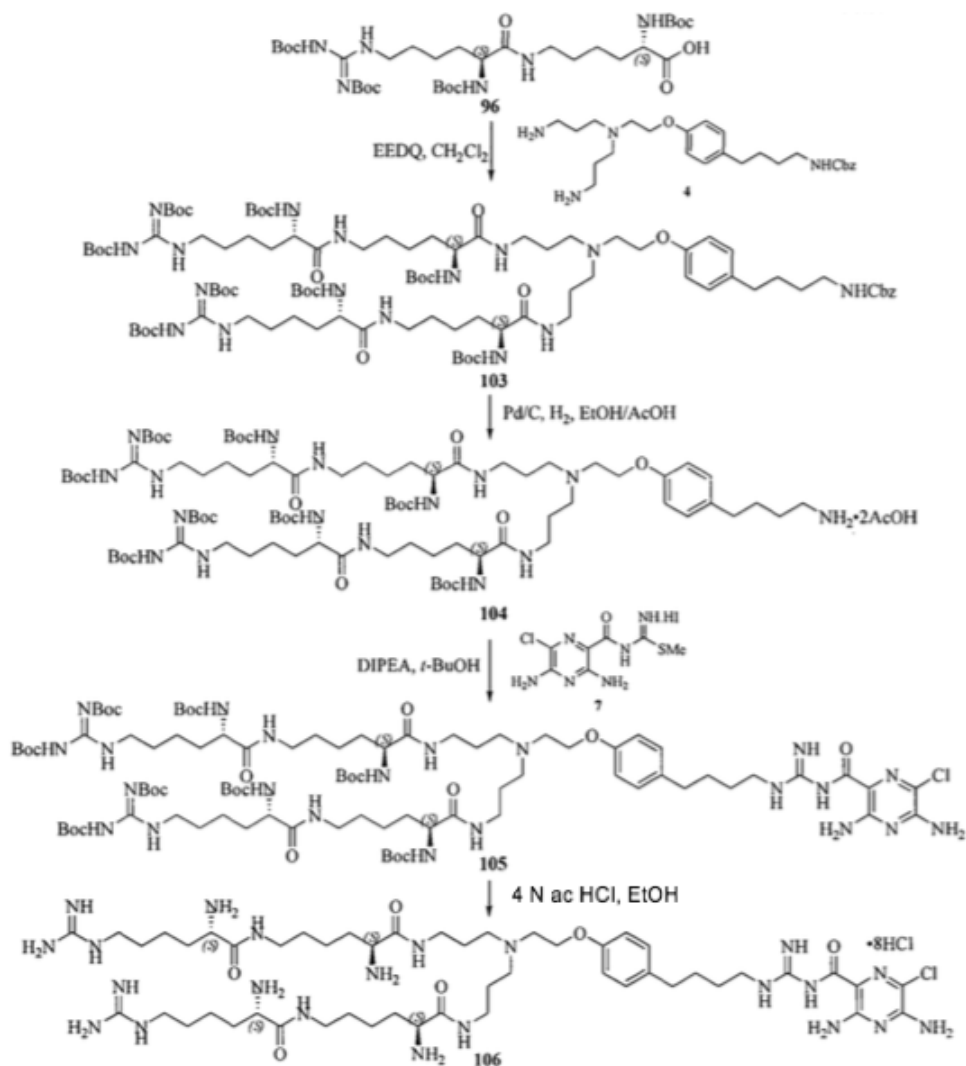
20

25

30

35

40



Preparación del Compuesto 103

[0379] Una solución de aminoácido **96** (100 mg, 0,139 mmol) en CH₂Cl₂ (5,0 mL) fue cargada con EEDQ (84 mg, 0,280 mmol) y Compuesto **4** (base libre, 32,0 mg, 0,0701 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para dar el Compuesto **103** (78,0 mg, 61%) como un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,33- 7,28 (m, 5H), 7,07 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,08 - 3,95 (m, 6H), 3,29-3,21 (m, 4H), 3,19-3,06 (m, 7H), 2,95 (br s, 2H), 2,68 (br s, 3H), 2,54 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,77-1,55 (m, 17H), 1,51 (s, 21H), 1,46 (s, 18H), 1,43 (s, 18H), 1,42 (s, 18H).

50

Preparación del Compuesto 104

[0380] Se sometió una suspensión del Compuesto **103** (736 mg, 0,397 mmol) y 10% Pd/C (380 mg) en EtOH (15 mL) 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 EtOH. El filtrado se concentró y precipitó en MTBE/hexanos para proporcionar el Compuesto **104** (627 mg, 92%) como un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,84 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 4,05 - 3,93 (m, 6H), 3,27 - 3,06 (m, 6H), 2,85 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,58 (br s, 6H), 1,73- 1,54 (m, 20H), 1,51 (s, 21H), 1,46 (s, 19 H), 1,43 (s, 22H), 1,42 (s, 18H).

60

Preparación del Compuesto 105

[0381] Una solución de amina **104** (624 mg, 0,363 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamiato de metilo (**7**, 169 mg, 0,436 mmol) en t-BuOH (15 mL) se cargó con DIPEA (235 mg, 1,81 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH

65

20:1) para proporcionar el Compuesto **105** (350 mg, 50%) como un sólido amarillo: $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7,10 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 6,84 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 4,02- 3,95 (m, 6H), 3,23-3,06 (m, 5H), 2,84 (br s, 2H), 2,58 (br s, 6H), 1,71 - 1,54 (m, 20H), 1,51 (s, 21H), 1,46 (s, 20H), 1,43 (s, 22H), 1,42 (s, 18H).

- 5 Preparación de la sal de hidrocloreto de (S, 2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenoxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-((S)-2-amino-6-guanidinohexanamida)hexanamida)-Compuesto 106

10 **[0382]** Se cargó una solución del Compuesto **105** (347 mg, 0,179 mmol) en CH_2Cl_2 (10 mL) con TFA (5,0 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se azeotropó dos veces con HCl acuoso 1N. El residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal 106 de ácido clorhídrico (155 mg, 61%) como un sólido higroscópico amarillo: $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, D_2O) δ 7,22 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,91 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,28 (br s, 2H), 3,90-3,86 (m, 4H), 3,60 (br s, 2H), 3,35-3,11 (m, 18H), 2,60 (br s, 2H), 2,00-1,95 (m, 4H), 1,84-1,79 (m, 8H), 1,67 (br s, 4H), 1,57-1,47 (m, 8H), 1,37-1,32 (m, 8H). HRMS calculado para $\text{C}_{50}\text{H}_{92}\text{ClN}_{22}\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 1131,7253; encontrado 1131,7297.

20 Preparación de la sal de hidrocloreto de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(6-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)naftaleno-2-iloxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidinohexanamida)-Compuesto 116

[0383]

Esquema 17

25

30

35

40

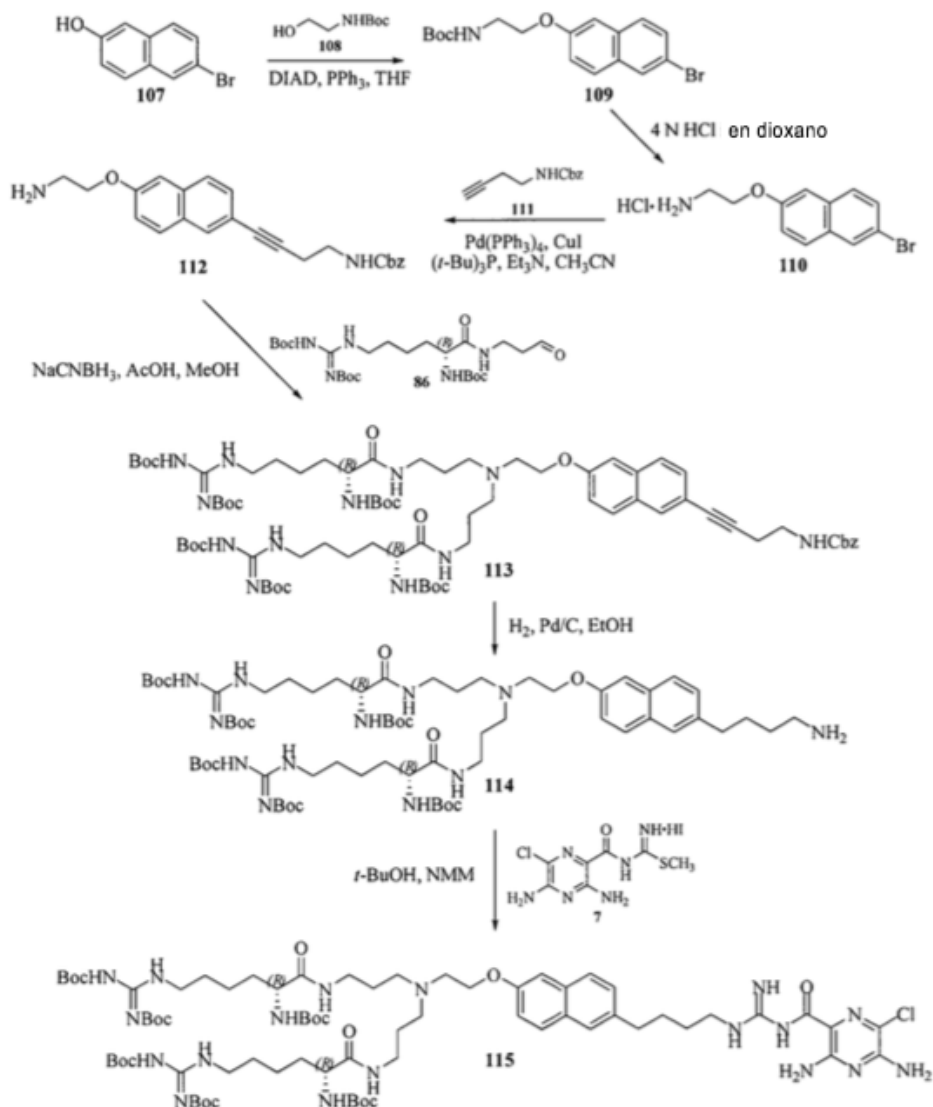
45

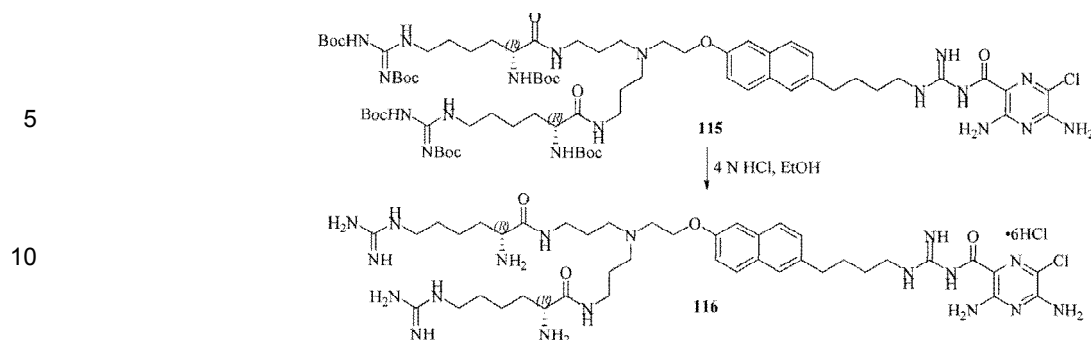
50

55

60

65





15 Preparación del Compuesto 109 Se cargó una solución agitada del Compuesto **107** (5,00 g, 22,5 mmol) en CH₂Cl₂ seco (100 mL) con el Compuesto **108** (4,30 g, 27,1 mmol), PH₃P (7,10 g, 27,1 mmol) y DIAD (5,40 g, 27,1 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con 1 N NaHCO₃, agua y salmuera. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, 80:20 hexanos/EtOAc) para proporcionar el Compuesto **109** (5,50 g, 67%) como un sólido blanquecino: ESI-MS m/z 366 [C₁₇H₂₀BrNO₃ + H]⁺.

20

Preparación del Compuesto 110

25 **[0384]** Se disolvió el Compuesto **109** (5,50 g, 15,1 mmol) en 4 N HCl en dioxano (50 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 3 h. Después de la concentración, el residuo se suspendió en MTBE (50 mL) y se agitó durante 0,5 h. El sólido se separó por filtración para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **110** (3,20 g, 82%) como un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,99 (br s, 1H), 7,77-7,70 (m, 2H), 7,55 -7,51 (m, 1H), 7,33-7,26 (m, 2H), 4,36 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 3,43 (t, J = 4,8 Hz, 2H).

30

Preparación del Compuesto 112

35 **[0385]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **110** (3,20 g, 12,1) en CH₃CN anhidro (150 mL) con TEA (4,8 g, 48,3 mmol), 10% (t-Bu) 3P en hexanos (0,48 g, 2,42) mmol), Compuesto **111** (3,68 g, 18,1 mmol) y CuI (114 mg, 0,6 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 minutos y se añadió Pd(PPh₃)₄ (1,40 g, 1,21 mmol) rápidamente en una porción. Después de desgasificar con argón durante 5 min, la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 80:20 de hexanos/EtOAc) para proporcionar el Compuesto **112** (2,80 g, 61%) como un sólido marrón: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,80 (br s, 1H), 7,67 (t, J = 8,2 Hz, 2H), 7,37 - 7,16 (m, 8H), 5,09 (s, 2H), 4,14 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,37 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,09 (br s, 2H), 2,60 (t, J = 6,8 Hz, 2H).

40

Preparación del Compuesto 113

45 **[0386]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **112** (1,00 g, 2,57 mmol) en MeOH (80 mL) con NaCNBH₃ (480 mg, 7,71 mmol), ácido acético (0,6 g, 10,28 mmol) y aldehído **86** (3,50 g), 6,44 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se repartió entre EtOAc (300 mL) y NaHCO₃ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con EtOAc (2 x 300 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron y se purificaron por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/CH₃OH 10:1) para proporcionar el Compuesto **113** (2,50 g, 68%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,49 (s, 2H), 8,31-8,22 (m, 3H), 7,79-7,73 (m, 4H), 7,52 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 7,38-7,28 (m, 7H), 7,17-7,14 (m, 1H), 6,73 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 5,04 (s, 2H), 4,11 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 3,83 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 3,41-3,36 (m, 1H), 3,27-3,21 (m, 7H), 3,12-3,06 (m, 5H), 2,82 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,58 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,54-1,50 (m, 8H), 1,47-1,43 (m, 30H), 1,39-1,33 (m, 48H), 1,29-1,23 (m, 6H).

50

Preparación del Compuesto 114

55 **[0387]** Una solución agitada del Compuesto **113** (2,50 g, 1,73 mmol) en EtOH (50 mL) se cargó con Pd/C al 10% (250 mg) y 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 EtOH. El filtrado se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 CH₂Cl₂/CH₃OH) para proporcionar el Compuesto **114** (1,20 g, 55%) como un sólido marrón: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,69- 7,66 (m, 2H), 7,55 (br s, 1H), 7,30 - 7,26 (m, 1H), 7,21 (br s, 1H), 7,12- 7,09 (m, 1H), 4,17 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,98 (br s, 2H), 3,37-3,32 (m, 2H), 2,93 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,79-2,71 (m, 4H), 2,62 (t, J = 6,6 Hz, 4H), 1,76-1,65 (m, 9H), 1,63-1,55 (m, 6H), 1,52-1,50 (m, 25H), 1,46-1,45 (m, 23H), 1,43-1,42 (m, 25H).

60

65

Preparación del Compuesto 115

5 **[0388]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **114** (240 mg, 0,18 mmol) en t-BuOH (5 mL) y THF (1 mL) con hidroyoduro de (3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)carbamimidatoato de metilo **7** (71 mg, 0,18 mmol) y NMM (0,9 g, 0,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a 60°C. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para proporcionar el Compuesto **115** (140 mg, 46%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,69-7,62 (m, 2H), 7,56 (br s, 1H), 7,36-7,29 (m, 1H), 7,20 (br s, 1H), 7,11-7,08 (m, 1H), 4,17 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,97 (s, 2H), 3,69-3,63 (m, 1H), 2,93 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 2,81 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,62 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 1,86-1,79 (m, 2H), 1,74-1,69 (m, 8H), 1,60-1,29 (m, 66H).

10 Preparación de la sal de hidrocloreto de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(6-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)naftaleno-2-iloxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidino)hexanamida)-Compuesto 116

15 **[0389]** Se cargó una solución del Compuesto **115** (140 mg, 0,091 mmol) en EtOH (1,0 mL) con 4 N ac HCl (5,0 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **116** (40 mg, 47%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,72-7,65 (m, 3H), 7,39 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7,12 (br s, 1H), 6,99-6,96 (m, 1H), 4,31 (br s, 2H), 3,79-3,74 (m, 2H), 3,61-3,57 (m, 2H), 3,33-3,20 (m, 10H), 2,90 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,74 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,10-1,94 (m, 4H), 1,85-1,65 (m, 9H), 1,38-1,31 (m, 4H), 1,25-1,19 (m, 4H).

20 Preparación de sal de hidrocloreto de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)naftaleno-1-iloxi)etilazanedilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidino)hexanamida)-Compuesto 124

25 **[0390]**

30

35

40

45

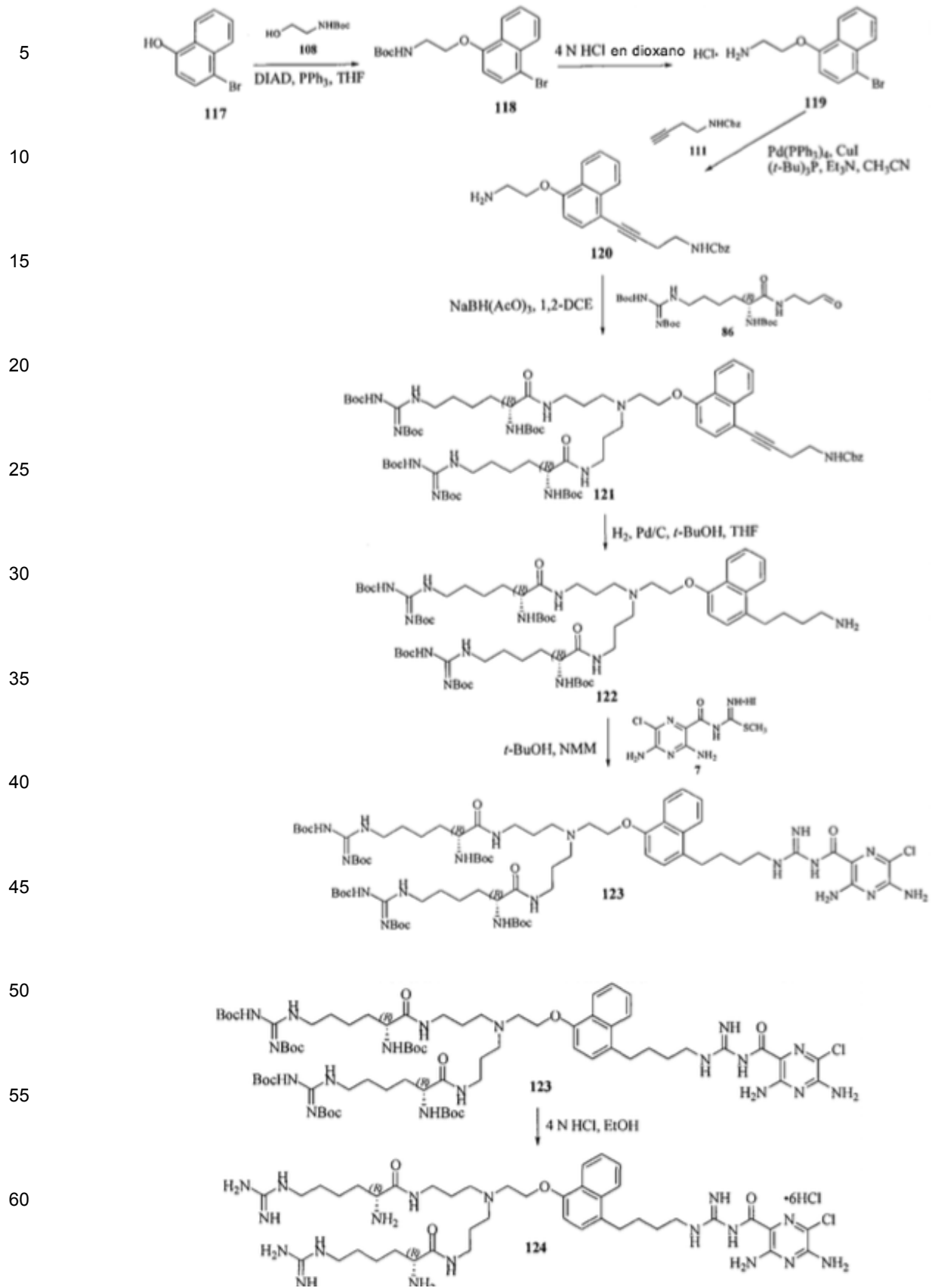
50

55

60

65

Esquema 18



Preparación del Compuesto 118

5 **[0391]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **117** (5,00 g, 22,5 mmol) en CH₂Cl₂ seco (100 mL) con el Compuesto **108** (4,30 g, 27,1 mmol), PH₃P (7,10 g, 27,1 mmol) y DIAD (5,40 g), 27,1 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con 1 N NaHCO₃, agua y salmuera. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 80:20 hexanos/EtOAc) para proporcionar el Compuesto **118** (5,40 g, 66%) como un sólido blanquecino: ESI-MS m/z 366 [C₁₇H₂₀BrNO₃ + H]⁺.

10 Preparación del Compuesto 119

15 **[0392]** Se disolvió el Compuesto **118** (5,40 g, 14,8 mmol) en 4 N HCl en dioxano (50 mL) a temperatura ambiente y la solución se agitó durante 3 h. Después de la concentración, el residuo se suspendió en MTBE (50 mL) y se agitó durante 0,5 h. El sólido se filtró para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **119** (3,40 g, 87%) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,46-8,44 (m, 1H), 8,17-8,14 (m, 1H), 7,73-7,56 (m, 3H), 6,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,42 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,53 (t, J = 5,2 Hz, 2 H).

Preparación del Compuesto 120

20 **[0393]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **119** (3,40 g, 12,8) en CH₃CN anhidro (150 mL) con TEA (5,1 g, 51,3 mmol), 10% (t-Bu)₃P en hexanos (0,51 g, 2,56 mmol), Compuesto **111** (3,90 g, 19,2 mmol) y CuI (121 mg, 0,64 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 minutos y se añadió Pd(PPh₃)₄ (1,48 g, 1,28 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 cromatografía en columna (gel de sílice, 80:20 de hexanos/EtOAc) para proporcionar el Compuesto **120** (3,20 g, 65%) como un sólido marrón: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,41-8,39 (m, 1H), 8,26 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,57-7,50 (m, 3H), 7,34-7,24 (m, 5H), 6,92 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,43 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,53 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,43 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 6,8 Hz, 2H).

30 Preparación del Compuesto 121

35 **[0394]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **120** (500 mg, 1,29 mmol) en 1,2-DCE con NaBH (AcO)₃ (815 mg, 3,86 mmol) y aldehído **86** (1,40 g, 2,58 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se añadieron NaBH (AcO)₃ adicional (270 mg, 1,29 mmol) y aldehído **86** (140 mg, 0,258 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (300 mL) y NaHCO₃ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para proporcionar el Compuesto **121** (crudo, 1,20 g) como un sólido blanco, que se usó directamente en la siguiente etapa.

40 Preparación del Compuesto 122

45 **[0395]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **121** (en bruto, 1,20 g) en t-BuOH (60 mL) y THF (12 mL) con Pd/C al 10% (600 mg). La suspensión se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 26 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con THF. Se añadió Pd/C al 10% (600 mg) al filtrado y la suspensión se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 24 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con THF. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el Compuesto **122** (crudo, 900 mg) como un sólido marrón, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 123

50 **[0396]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **122** (crudo, 900 mg) en t-BuOH (50 mL) con hidroyoduro de (3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)carbamidoditoato de metilo **7** (316 mg, 0,82) mmol) y NMM (1,70 g, 3,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a 60°C, 2 h a 65°C y 1 h a 70°C. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 5:1:0,1) para dar el Compuesto **123** (310 mg, 17% en 3 etapas) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 8,24 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,99 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,53-7,40 (m, 2H), 7,24 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 4,23 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,96 (br s, 2H), 3,10-3,01 (m, 4H), 2,67 (t, J = 6,4 Hz, 4H), 1,82- 1,68 (m, 11H), 1,51 (s, 26 H), 1,45 (s, 26 H), 1,41 (s, 22 H).

60 Preparación de sal de hidrocloreuro de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo))guanidino)butilo)naftaleno-1-iloxi)etilazanediiolo)bis(propano-3,1-diilo)bis(2-amino-6-guanidino)hexanamida)-Compuesto **124**

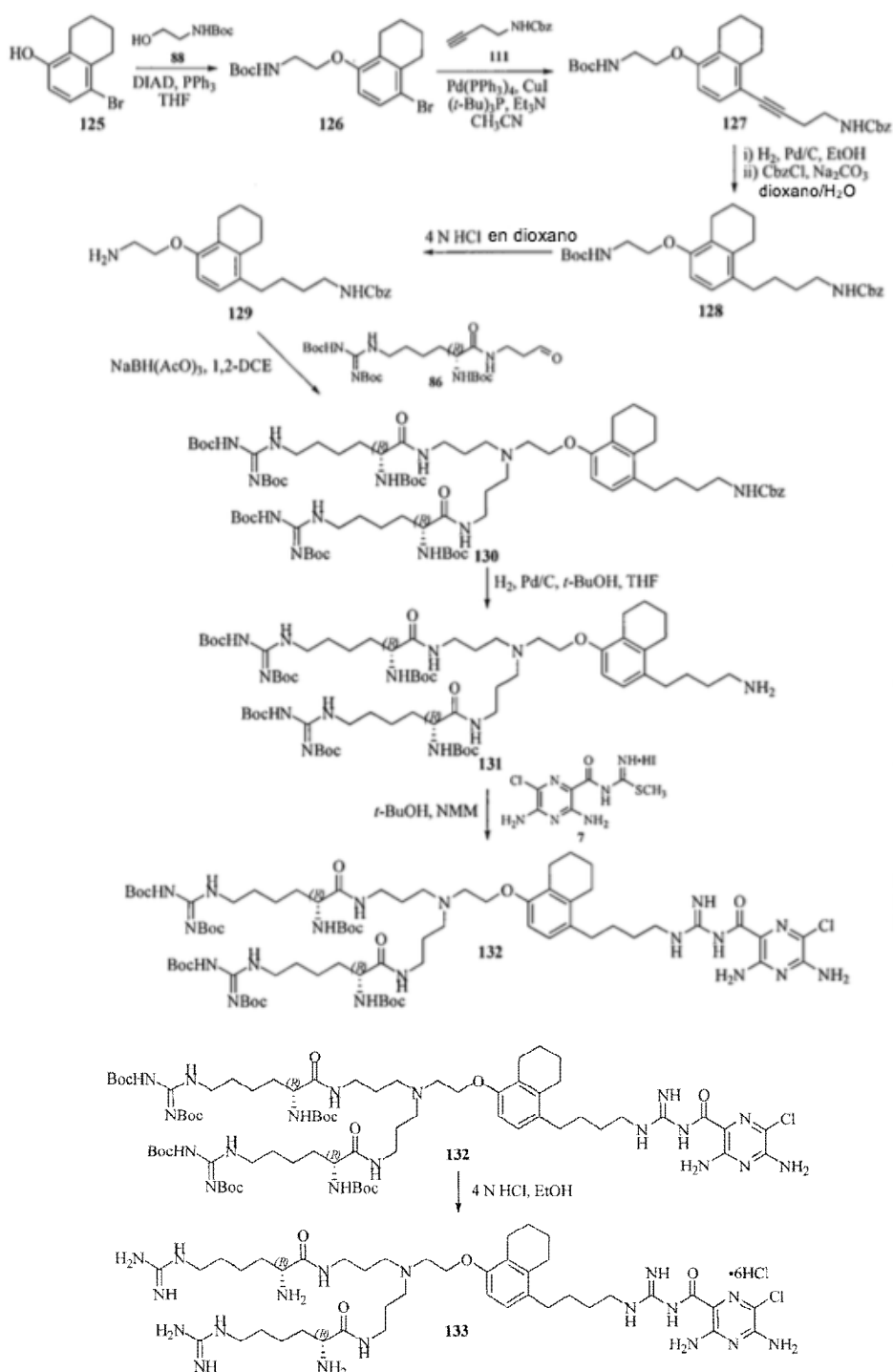
65 **[0397]** Se cargó una solución del Compuesto **103** (310 mg, 0,203 mmol) en EtOH (2,0 mL) con 4 N ac HCl (15,0 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 5 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de

ácido clorhídrico **104** (95 mg, 41%) como un sólido higroscópico amarillo: $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, D_2O) δ 8,07 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,97 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,58 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,42 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 6,91 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 4,50 (br s, 2H), 3,79 (t, $J = 6,6$ Hz, 4H), 3,37-3,29 (m, 8H), 3,22 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,03 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,92 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H), 2,08 - 2,01 (m, 4H), 1,88 - 1,64 (m, 8H), 1,38-1,31 (m, 4H), 1,24-1,18 (m, 4H).

Preparación de sal de hidrocloreto de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo))guanidin)butilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-iloxi)etilazanodiilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(2-amino-6-guanidinohexanamida) Compuesto **133**

[0398]

Esquema 19



Preparación del Compuesto 126

5 **[0399]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **125** (6,00 g, 26,4 mmol) en CH₂Cl₂ seco (150 mL) con el Compuesto **108** (4,68 g, 29,0 mmol), PH₃P (8,30 g, 31,6 mmol) y DIAD (6,38 g), 31,6 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con 1 N NaHCO₃, agua y salmuera. La capa orgánica se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, hexanos/EtOAc 80:20) para proporcionar el Compuesto **126** (6,10 g, 63%) en forma de un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,32 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,93 (t, J = 5,4 Hz, 1H), 6,72 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 3,91 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 3,30 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,62-2,56 (m, 4H), 1,72-1,63 (m, 4H), 1,37 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 127

15 **[0400]** Una solución agitada del Compuesto **126** (4,00 g, 10,8) en CH₃CN anhidro (150 mL) se cargó con TEA (4,36 g, 43,2 mmol), 10% (*t*-Bu)₃P en hexanos (0,43 g, 2,16 mmol)), Compuesto **111** (3,28 g, 16,2 mmol) y CuI (102 mg, 0,54 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se desgasificó con argón durante 10 minutos y se añadió Pd(PPh₃)₄ (1,24 g, 1,08 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 cromatografía en columna (gel de sílice, 80:20 de hexanos/EtOAc) para proporcionar el Compuesto **127** (2,90 g, 54%) como un sólido marrón: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,36-7,30 (m, 6H), 7,23-7,16 (m, 1H), 6,55 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,11 (s, 2H), 3,98 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 3,56-3,50 (m, 2H), 3,48-3,39 (m, 2H), 2,79 (br s, 2H), 2,67-2,61 (m, 4H), 1,76-1,72 (m, 4H), 1,45 (s, 9H).

Preparación del Compuesto 128

25 **[0401]** Una solución roja agitada del Compuesto **127** (4,10 g, 8,33 mmol) en EtOH (200 mL) se cargó con Pd/C al 10% (410 mg) y la mezcla resultante se sometió a condiciones de hidrogenación (1 atm) durante 24 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se lavó con EtOH. Después de la concentración, el residuo se disolvió en dioxano (50 mL) y H₂O (50 mL). Se añadió gota a gota CbzCl (2,11 g, 12,4 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h. Después de la concentración, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ y se lavó con 1 N NaHCO₃, agua y salmuera. La capa orgánica se concentró para proporcionar el Compuesto **128** (crudo, 2,50 g) como un sólido marrón, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 129

35 **[0402]** Se disolvió el Compuesto **128** (en bruto, 2,50 g) en 4 N HCl en dioxano (50 mL) a temperatura ambiente y se agitó la solución durante 3 h. Después de la concentración, el residuo se neutralizó con 1 N Na₂CO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se concentró y purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 10:1 de CH₂Cl₂/MeOH) para dar el Compuesto **129** (1,10 g, 34% en 3 etapas) como un aceite marrón: ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 7,36-7,26 (m, 5H), 6,89 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,60 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,11 (s, 2H), 3,94 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 3,28 - 3,21 (m, 2H), 3,07 (t, J = 5,2 Hz, 2H), 2,68-2,64 (m, 4H), 2,54-2,51 (m, 2H), 1,78-1,73 (m, 4H), 1,58-1,54 (m, 4H).

Preparación del Compuesto 130

45 **[0403]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **129** (1,00 g, 2,52 mmol) en 1,2-DCE (80 mL) con NaBH (AcO)₃ (1,59 g, 7,57 mmol) y aldehído **86** (2,73 g, 5,04 mmol)) La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se añadieron NaBH (AcO)₃ adicional (530 mg, 2,52 mmol) y aldehído **86** (820 mg, 1,51 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se repartió entre CH₂Cl₂ (300 mL) y NaHCO₃ saturado (200 mL). La capa acuosa se separó y se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para proporcionar el Compuesto **130** (en bruto, 1,90 g), que se usó directamente en la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 131

55 **[0404]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **130** (bruto, 2,10 g) en *t*-BuOH (60 mL) y THF (20 mL) con Pd/C al 10% (1,10 g). La suspensión 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 THF. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar el Compuesto **131** (1,20 g en bruto) como un sólido marrón, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Preparación del Compuesto 132

65 **[0405]** Se cargó una solución agitada del Compuesto **131** (400 mg, 0,303 mmol) en *t*-BuOH (20 mL) y THF (4,0 mL) con hidroyoduro de (3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)carbamimidatoato de metilo **7** (117 mg, 0,303 mmol) y NMM (152 mg, 1,51 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a 60°C, 2 h a 65°C y 1 h a 70°C. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1,

CHCl₃/MeOH/CH₄OH 5:1:0,1) para dar el Compuesto **132** (800 mg, 17% en 3 etapas) como sólido amarillo: ESI-MS m/z 765 [C₇₂H₁₂₁ClN₁₈O₁₆ + 2H]²⁺.

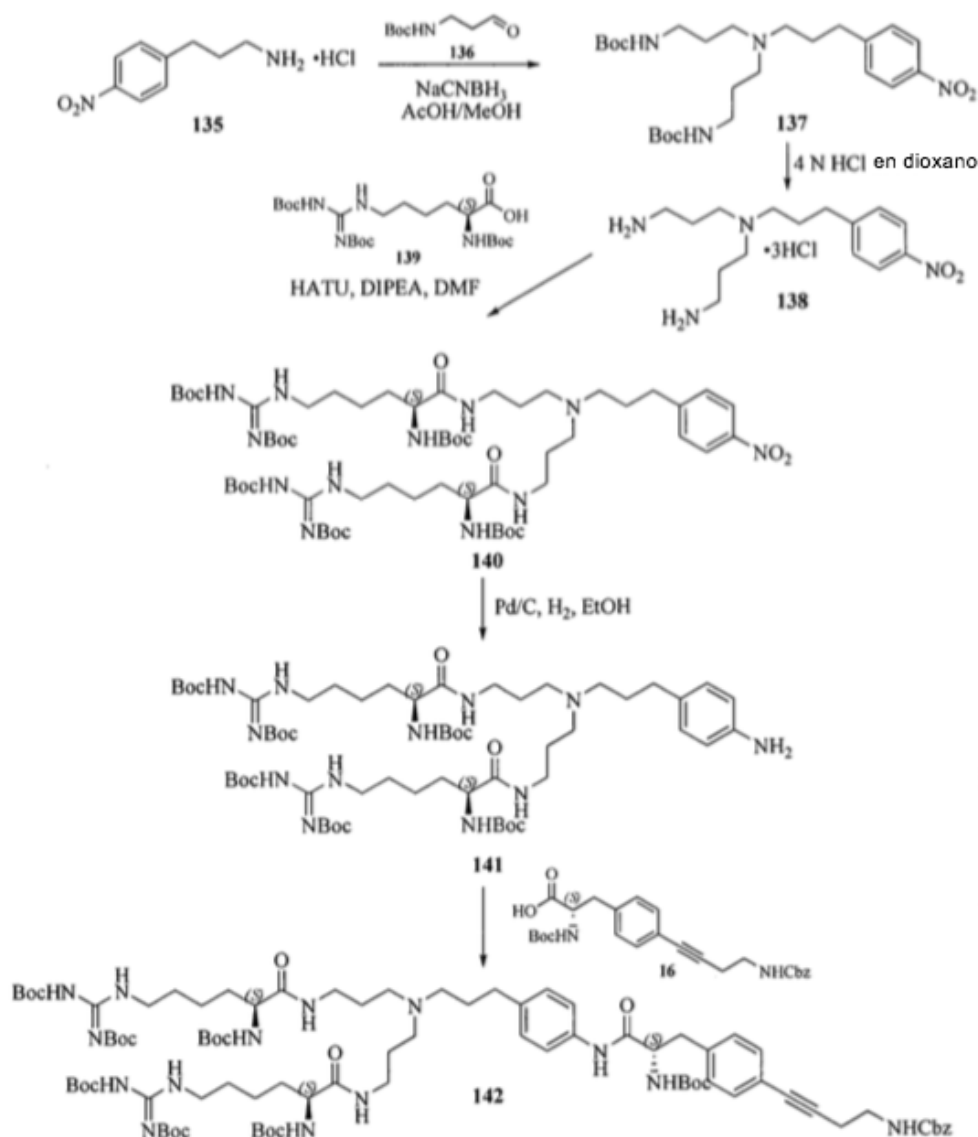
Preparación de sal de hidrocloreto de (2R,2'R)-N,N'-(3,3'-(2-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo))guanidin)butilo)-5,6,7,8-tetrahidronaftaleno-1-iloxi)etilazanodiilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(2-amino-6-guanidinohexanamida) Compuesto 133

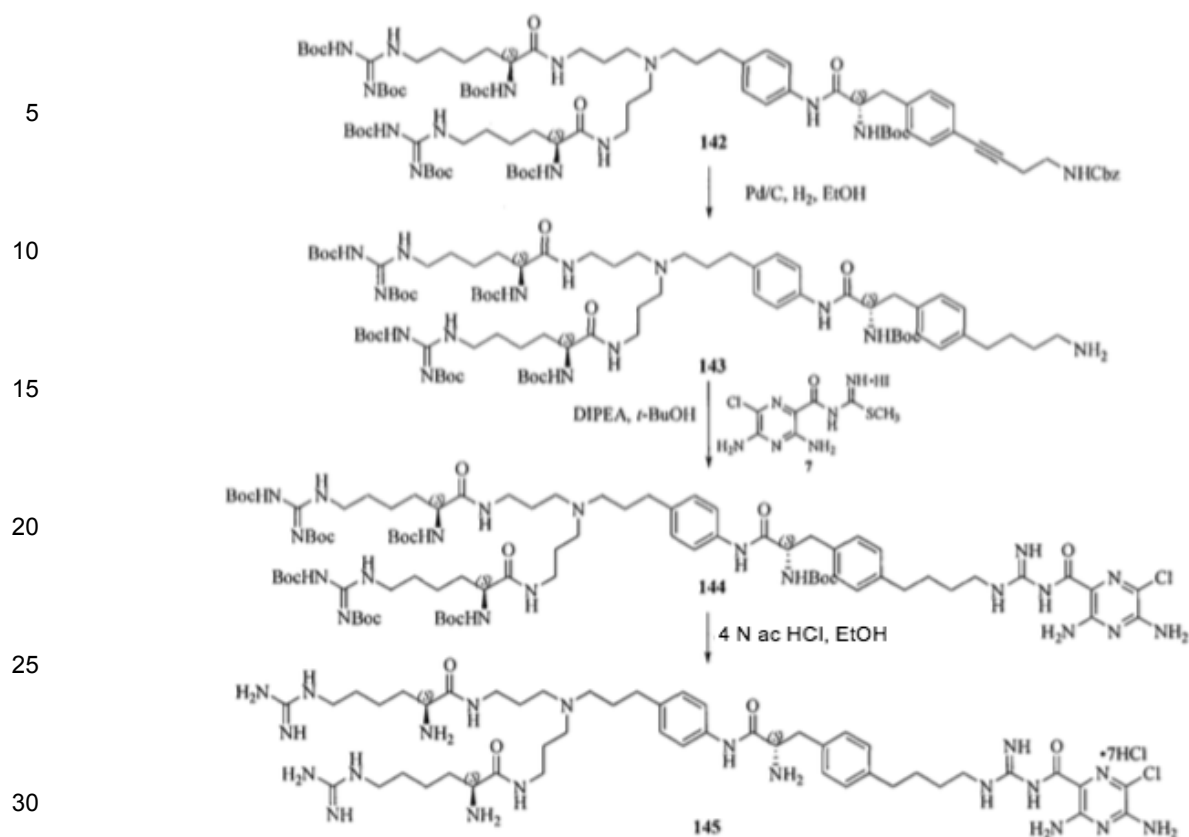
[0406] Se cargó una solución del Compuesto **132** (800 mg, 0,52 mmol) en EtOH (1,0 mL) con 4 N HCl (5,0 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se redisolvió en 4 N HCl nuevo (5,0 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar la sal de ácido clorhídrico **133** (180 mg, 42%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,04 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,74 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,26 (br s, 2H), 3,88 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,63 (br s, 2H), 3,32-3,27 (m, 10H), 3,06 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 2,65 - 2,50 (m, 6H), 2,02- 1,95 (m, 4H), 1,82- 1,59 (m, 10H), 1,54- 1,47 (m, 4H), 1,36-1,30 (m, 4H).

Preparación de la sal de hidrocloreto de (2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(3-(4-((S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenilo)propanamido)fenilo)propilazodinilo)bis(propano-3,1-diilo)bis(2-amino-6-guanidinhexanamida)-Compuesto 145

[0407]

Esquema 20





Preparación del Compuesto 137

35

40

45

[0408] Una solución del Compuesto **135** (2,00 g, 9,26 mmol) en MeOH (10 mL) se cargó con NaCNBH₃ (2,00 g, 27,7 mmol) seguido de AcOH (1,60 g, 27,7 mmol) y el Compuesto **136** (4,79 g, 27,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadieron NaCNBH₃ adicional (2,00 g, 27,7 mmol), AcOH (1,60 g, 27,7 mmol) y el Compuesto **136** (3,20 g, 18,5 mmol). Después de agitarse a temperatura ambiente durante 16 h, se eliminó el disolvente. El residuo se lavó con 1 N Na₂CO₃ (30 mL) y se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para dar el Compuesto **137** (2,00 g, 44%) como un aceite amarillo: ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,17 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 5,10 (br s, 2H), 3,22-3,18 (m, 4H), 2,93 (br s, 5H), 2,81 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,03 (br s, 2H), 1,85 (br s, 5H), 1,42 (s, 18H).

Preparación del Compuesto 138

50

[0409] Se disolvió el Compuesto **137** (2,00 g, 4,04 mmol) en 4 N HCl en dioxano (100 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de eliminar el disolvente, el residuo se lavó con hexanos para proporcionar el Compuesto **138** (1,20 g, 76%) en forma de un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,19 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,57 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 3,69-3,62 (m, 1H), 3,36-3,32 (m, 4H), 3,08 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 2,90 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,23- 2,15 (m, 6H).

Preparación del Compuesto 140

55

60

[0410] Se cargó una solución del Compuesto **138** (100 mg, 0,248 mmol) en DMF (5,0 mL) con HATU (208 mg, 0,546 mmol) seguido del Compuesto **139** (242 mg, 0,496 mmol) y DIPEA (128 mg, 0,992 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitarse a temperatura ambiente durante 6 h, el disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, 15:1 de CH₂Cl₂/MeOH) para dar el Compuesto **140** (90,0 mg, 29%) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 8,17 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,49 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 3,95-3,92 (m, 2H), 3,75-3,69 (m, 1H), 3,35-3,32 (m, 4H), 3,26-3,19 (m, 4H), 2,81 (br s, 4H), 1,98 (br s, 2H), 1,79 - 1,70 (m, 6H), 1,64 - 1,54 (m, 8H), 1,51 (br s, 24 H), 1,46 - 1,42 (m, 48 H), 1,38 - 1,34 (m, 11H).

Preparación del Compuesto 141; SG-DVR-A-105

65

[0411] Una suspensión del Compuesto **140** (100 mg, 0,081 mmol) y Pd/C al 10% (50 mg) en EtOH (10 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 EtOH. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) para proporcionar el Compuesto **141** (70 mg, 72%) como un sólido blanco: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 6,97 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 6,67 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 3,94-3,90 (m, 2H), 3,74-3,68 (m, 1H), 3,28-3,19 (m, 4H), 3,07 (br s, 6H), 2,58 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 1,98-1,94 (m, 2H), 1,87-1,78 (m, 4H), 1,74-1,56 (m, 8H), 1,52 (s, 24H), 1,46 (s, 22H), 1,44 (s, 24H), 1,38-1,35 (m, 9H).

Preparación del Compuesto 142

[0412] Una solución del Compuesto **141** (150 mg, 0,124 mmol) en DMF (4,0 mL) se cargó con HATU (52 mg, 0,137 mmol) seguido del Compuesto **16** (58 mg, 0,124 mmol) y DIPEA (63 mg, 0,496 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitarse a temperatura ambiente durante 8 h, se eliminó el disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 15:1) para dar el Compuesto **142** (130 mg, 63%) como un sólido blanco: ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,40 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,34-7,25 (m, 7H), 7,17 (t, J = 8,4 Hz, 4H), 5,08 (s, 2H), 4,39 (br s, 1H), 3,96-3,33 (m, 2H), 3,35-3,31 (m, 8H), 3,24-3,19 (m, 5H), 3,12-3,07 (m, 1H), 2,94-2,89 (m, 1H), 2,80-2,73 (m, 3H), 2,62-2,52 (m, 5H), 1,94-1,86 (m, 2H), 1,73 (br s, 6H), 1,61-1,54 (m, 7H), 1,51 (br s, 21H), 1,45 (br s, 44 H), 1,38-1,34 (m, 15 H).

Preparación del Compuesto 143

[0413] Una suspensión del Compuesto **142** (1,18 g, 0,713 mmol) y Pd/C al 10% (120 mg) en EtOH (10 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 EtOH. El filtrado se concentró para proporcionar el Compuesto **143** (680 mg, 62%) como un sólido marrón: ESI MS m/z 762 [C₇₇H₁₃₀N₁₄O₁₇ + 2H]²⁺.

Preparación del Compuesto 144

[0414] Una solución del Compuesto **143** (100 mg, 0,065 mmol) y sal del ácido yodhídrico de 3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilcarbamamidoato de metilo (**7**, 30 mg, 0,078 mmol) en t-BuOH (10 mL) se cargó con DIPEA (66 mg, 0,520 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó a 70°C durante 3 h y 80°C durante 2 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, CH₂Cl₂/MeOH 10:1, CHCl₃/MeOH/NH₄OH 4:1:0,1) para dar el Compuesto **144** (40 mg, 35%) como un sólido amarillo: ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 7,38 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,18-7,09 (m, 6H), 4,38 (br s, 1H), 3,99 (br s, 2H), 3,63-3,53 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 3,22 (br s, 4H), 3,11-3,07 (m, 1H), 2,92-2,85 (m, 1H), 2,74 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,63-2,58 (m, 4H), 2,46 (br s, 6H), 1,79- 1,70 (m, 4H), 1,62- 1,55 (m, 13H), 1,51 (s, 19 H), 1,46 (s, 9 H), 1,43 (s, 20H), 1,38 (s, 9 H).

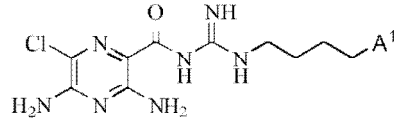
Preparación de la sal de hidrocloreuro de (2S,2'S)-N,N'-(3,3'-(3-(4-((S)-2-amino-3-(4-(4-(3-(3,5-diamino-6-cloropirazina-2-carbonilo)guanidino)butilo)fenilo)propanamido)fenilo)propilazodinilo)bis(propano-3,1-diilo))bis(2-amino-6-guanidinhexanamida)-Compuesto 145

[0415] Se cargó una solución del Compuesto **144** (250 mg, 0,144 mmol) en EtOH (3,0 mL) con 4 N ac HCl (25 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 6 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró a vacío, y el residuo se purificó por cromatografía en columna de fase inversa y se liofilizó para proporcionar sal de ácido clorhídrico **145** (70 mg, 38%) como un sólido higroscópico amarillo: ¹H RMN (400 MHz, D₂O) δ 7,23 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,17 (d, J = 8,4 Hz, 4H), 7,11 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 4,26-4,23 (m, 1H), 3,92 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,35-3,28 (m, 2H), 3,27-3,18 (m, 5H), 3,16-3,09 (m, 11H), 2,65-2,57 (m, 4H), 1,97-1,78 (m, 10H), 1,70-1,63 (m, 2H), 1,60-1,51 (m, 6H), 1,39-1,33 (m, 4H). HRMS calculado para C₄₈H₈₀ClN₂₀O₄ [M + H]⁺, 1035,6354; encontrado 1035,6375

Reivindicaciones

1. Un Compuesto representado por la fórmula (II):

5



10

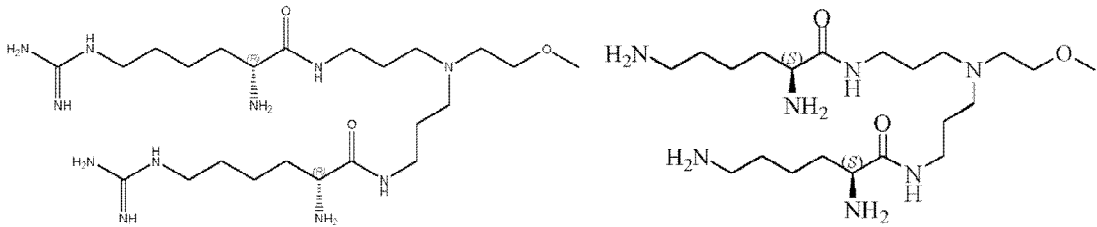
formula II

y racematos, diastereómeros, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, donde:

15

A¹ es un carbociclo aromático de C₆-C₁₅ miembros sustituido con al menos un R⁵ que está representado por una de las siguientes fórmulas:

20



25

30

35

40

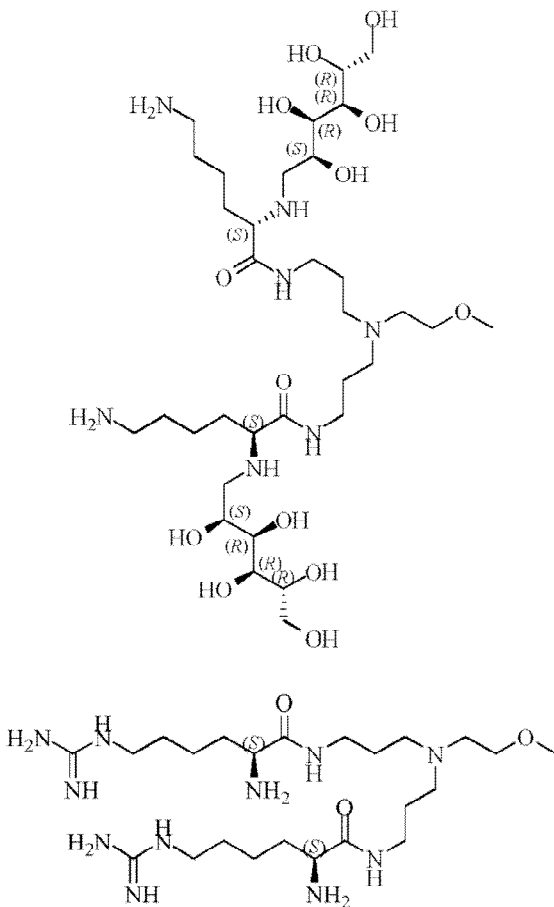
45

50

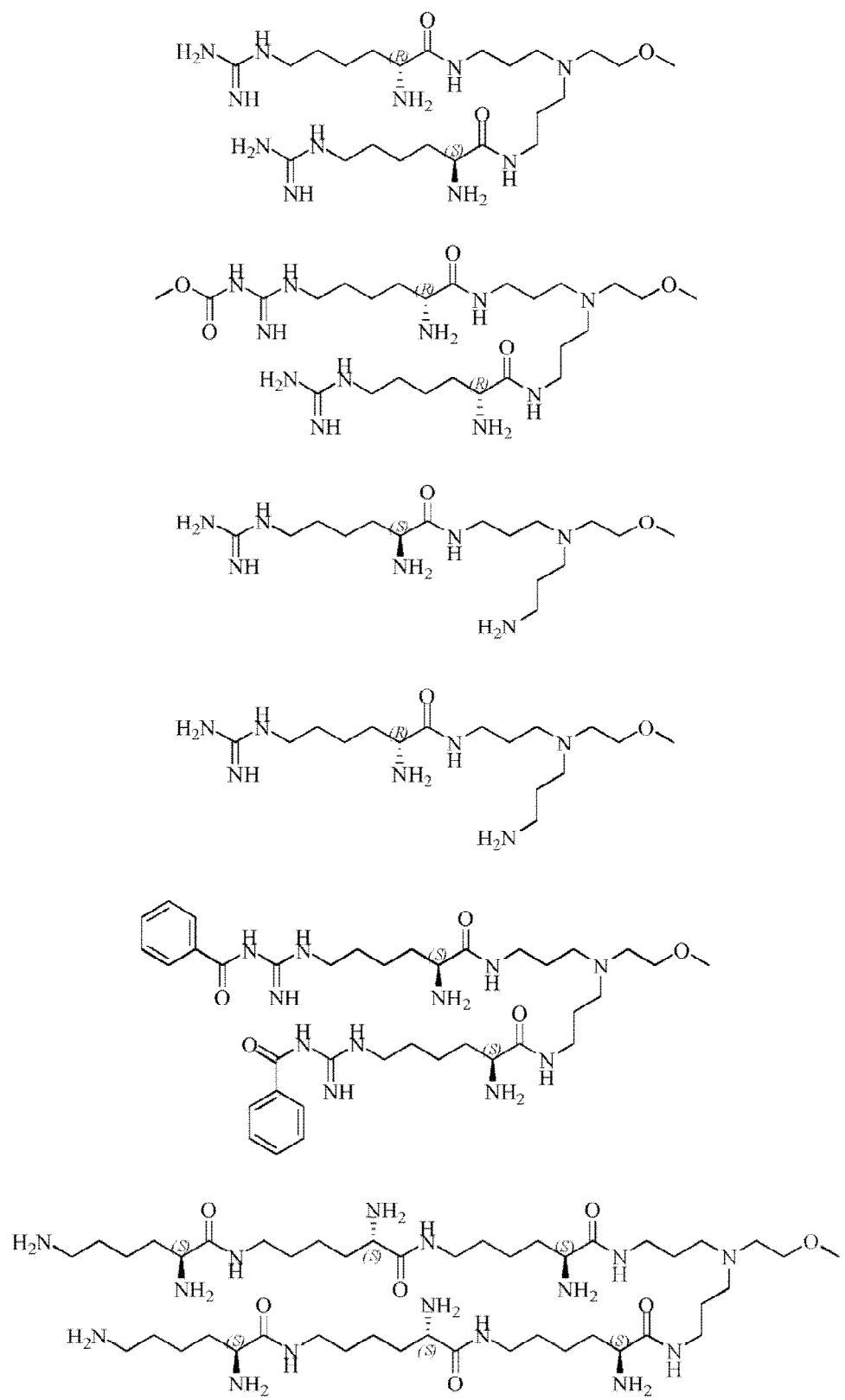
55

60

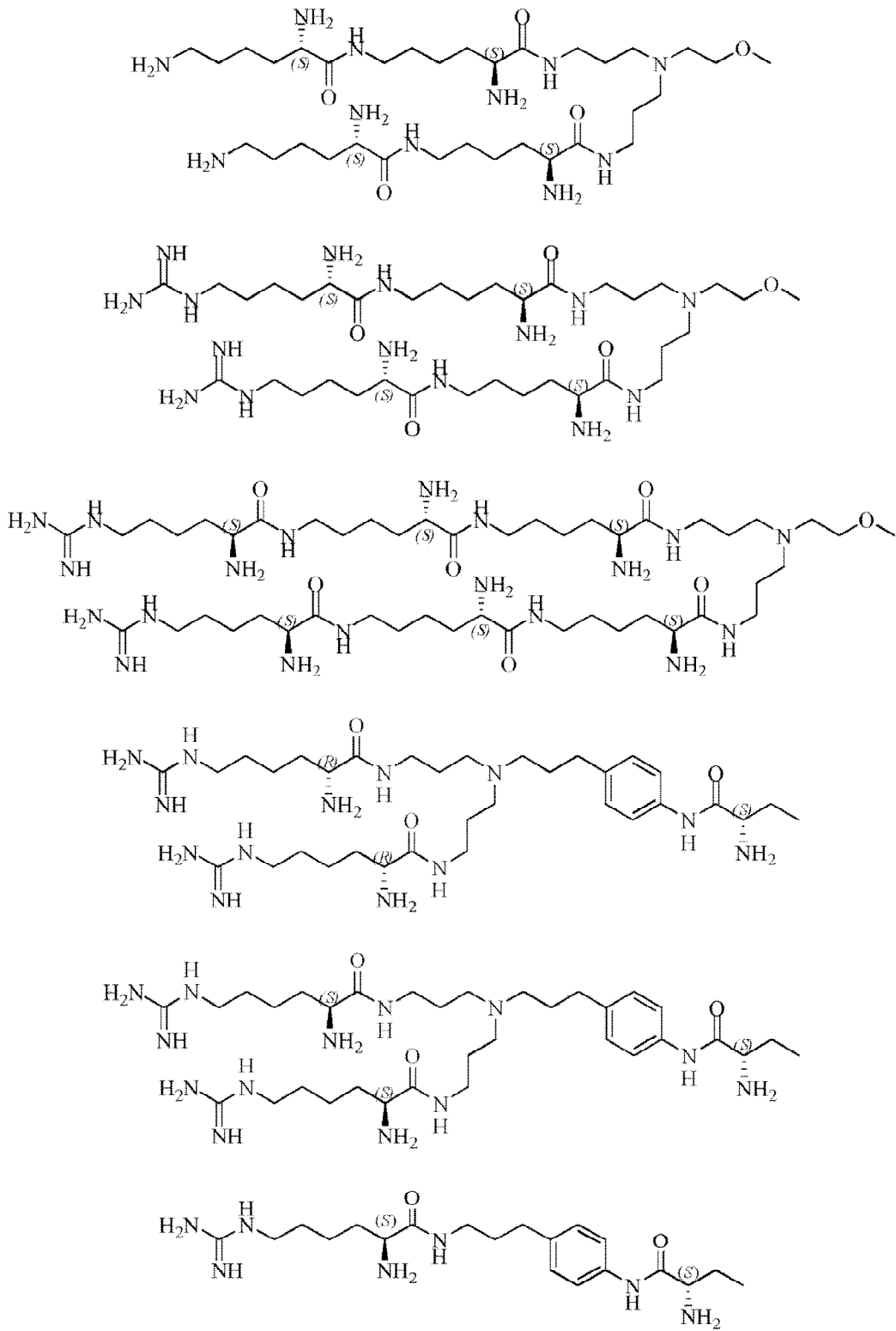
65



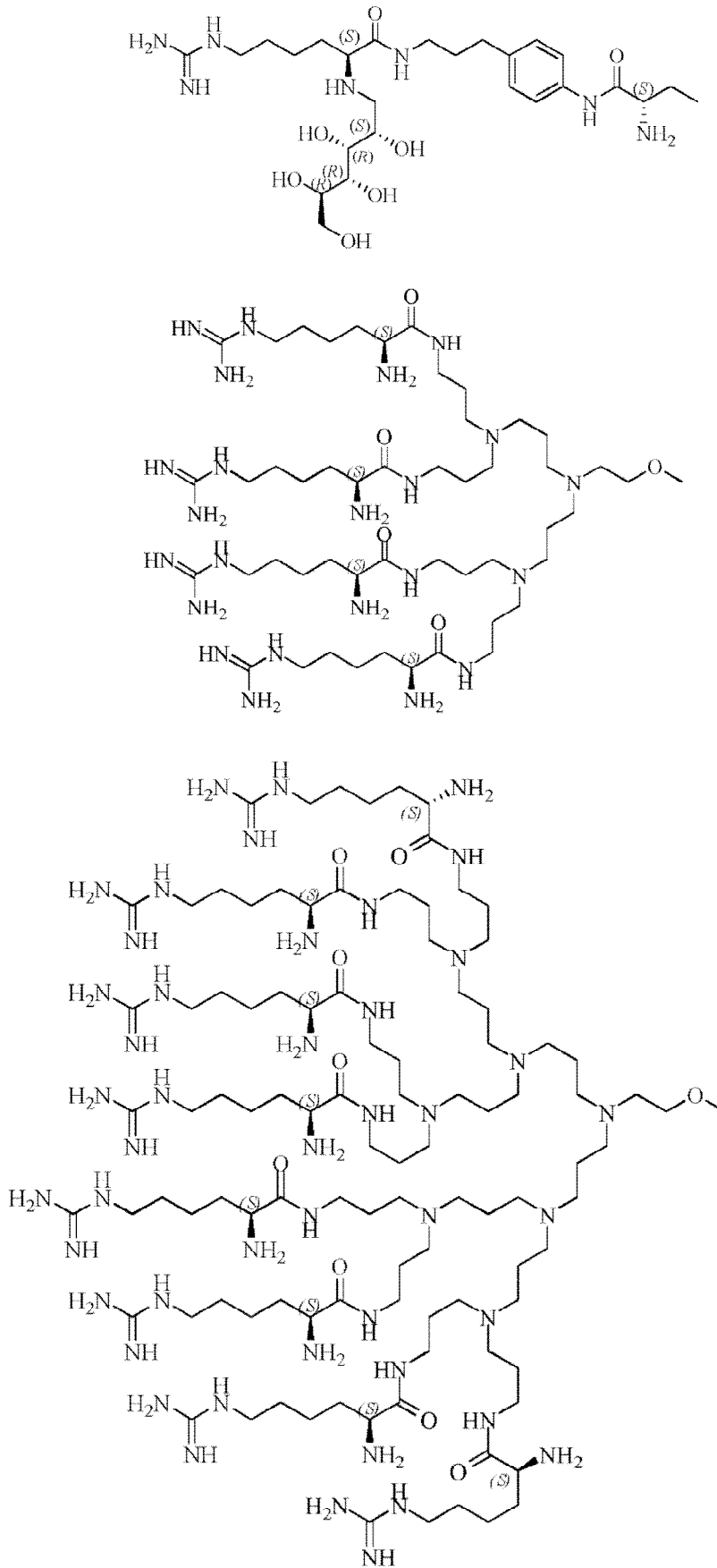
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



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



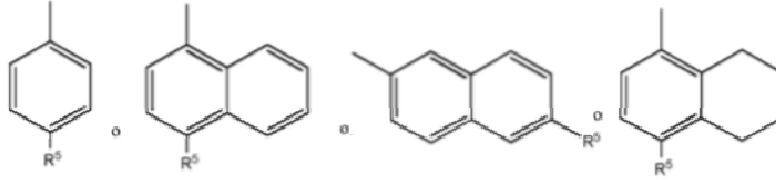
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



2. El Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el carbociclo aromático de C₆-C₁₅ de A¹ se selecciona de -fenilo, naftalenilo, 1,2-dihidronaftalenilo y 1,2,3,4-tetrahidronaftalenilo.

3. El Compuesto según la reivindicación 1, en el que A¹ es

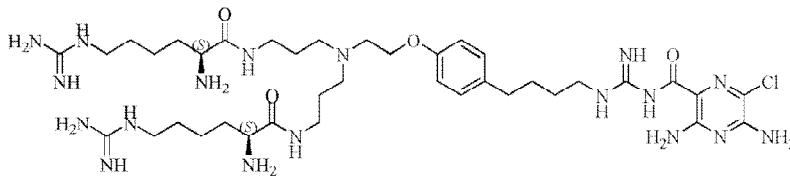
5



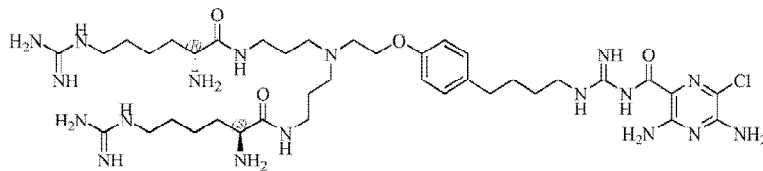
10

4. Un Compuesto de la reivindicación 1 representado por una de las siguientes fórmulas:

15

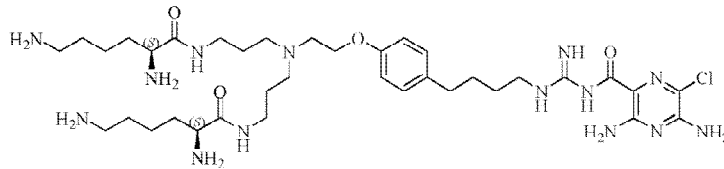


20



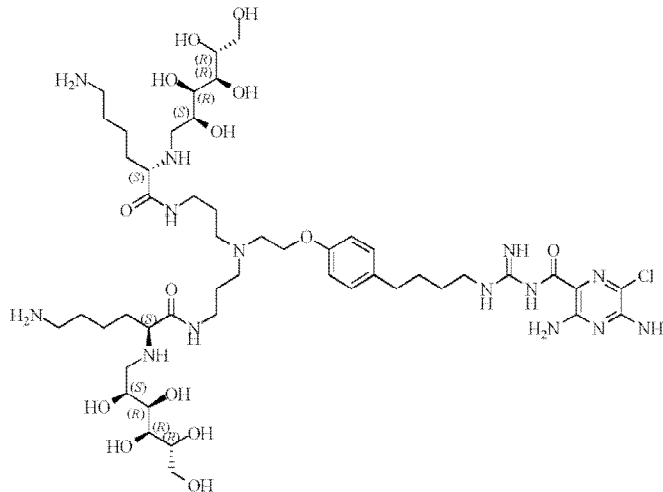
25

30



35

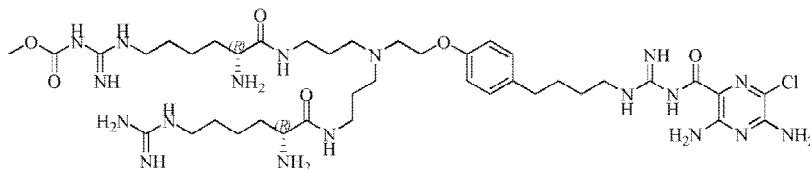
40



45

50

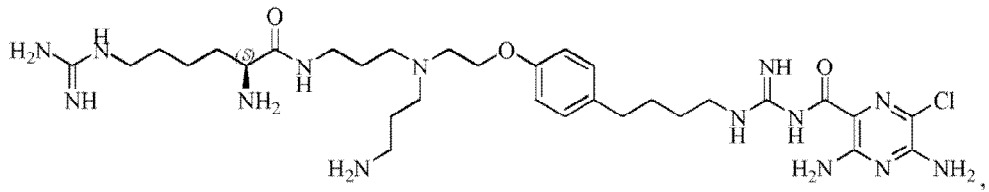
55



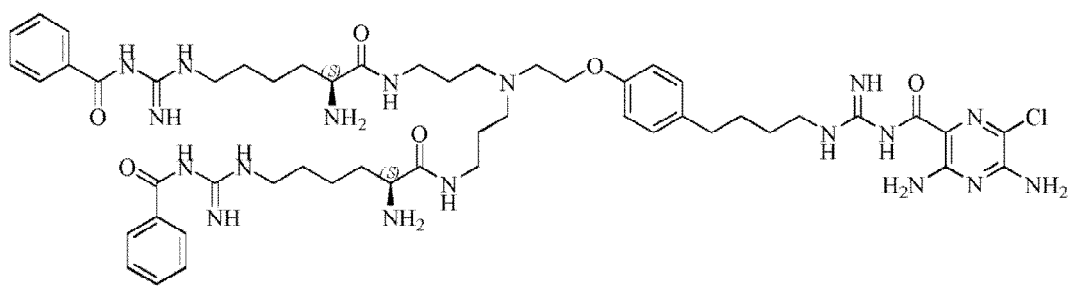
60

65

5



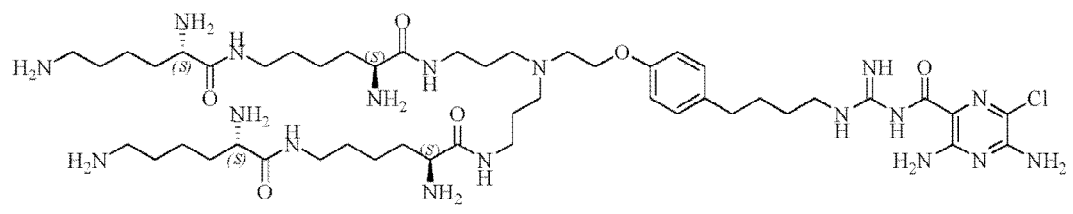
10



15

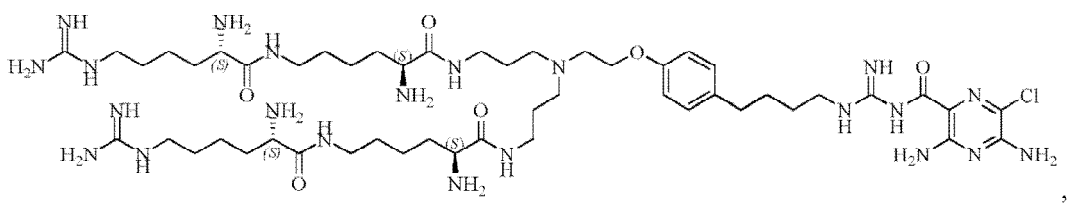
20

25



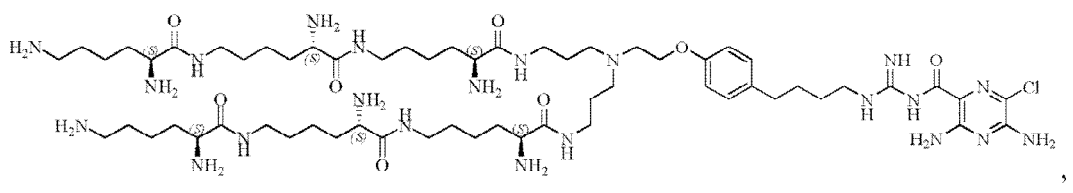
30

35



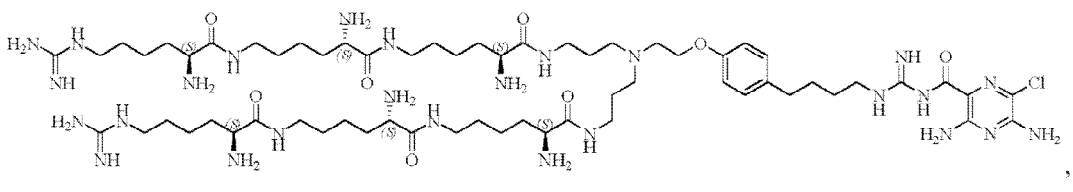
40

45



50

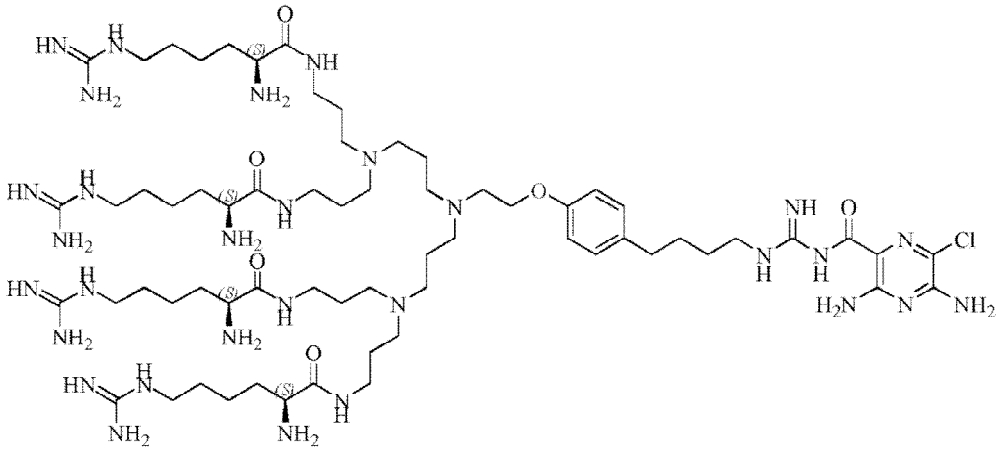
55



60

65

5



10

15

20

25

30

35

40

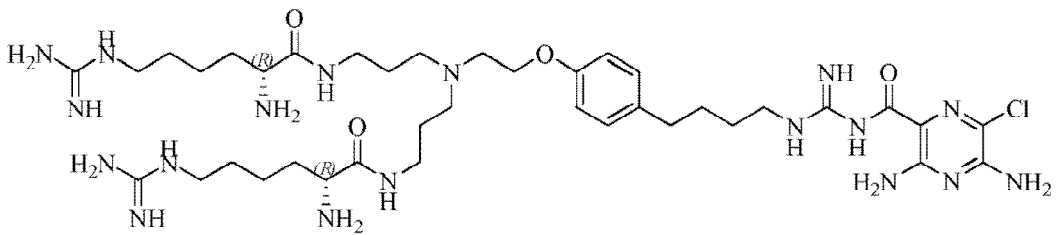
45

o una sal farmacéuticamente activa de los mismos.

50

5. El Compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula

55



60

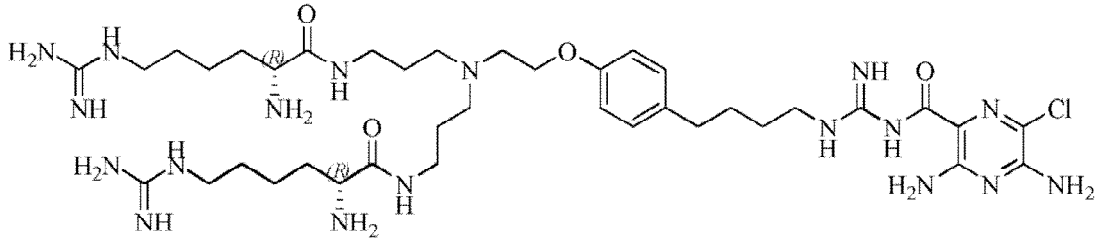
o la sal de hidrocioruro del mismo.

65

6. El Compuesto de la reivindicación 1 representado por la siguiente fórmula:

5

10



o racematos, diastereómeros, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15

7. El Compuesto representado por la siguiente fórmula:

20

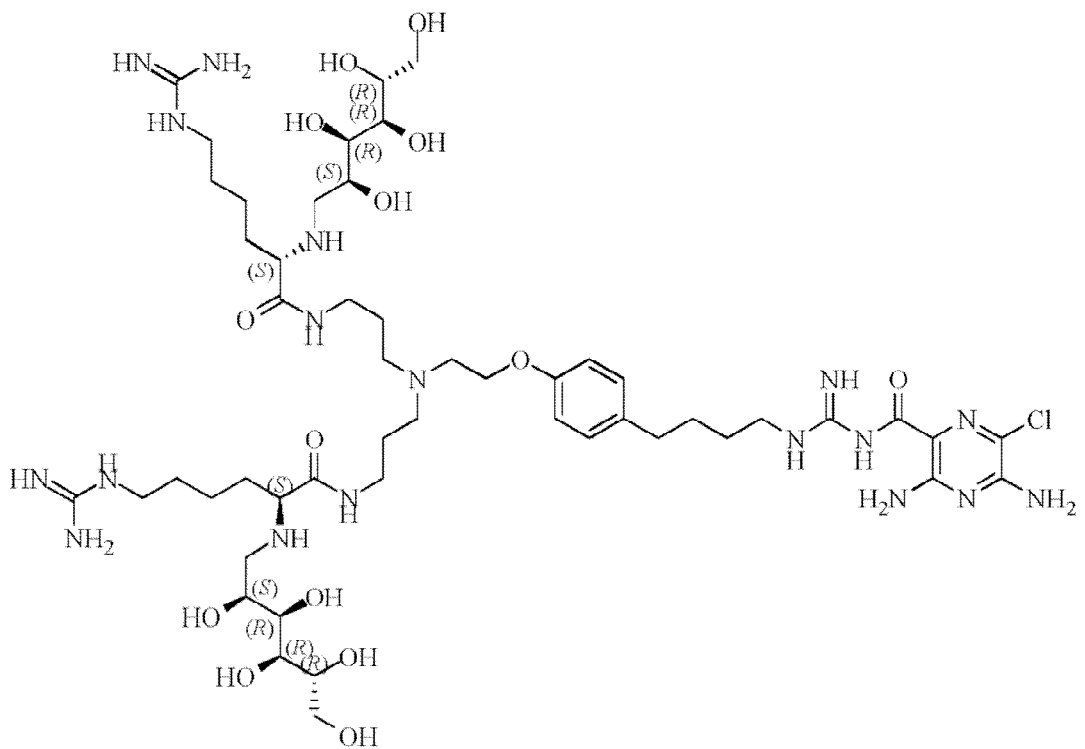
25

30

35

40

45



o racematos, diastereómeros, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

50

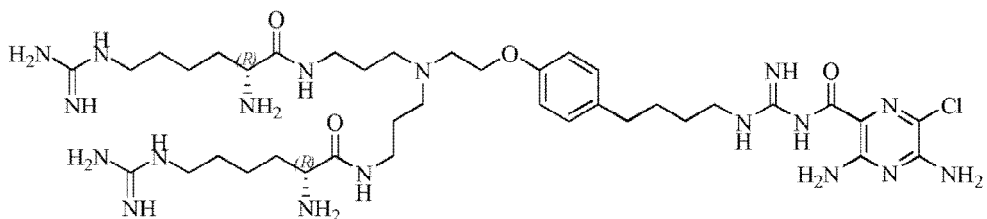
8. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

55

9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, en la que el Compuesto está representado por la siguiente fórmula:

60

65



10. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha composición es una solución para la administración mediante gotas oculares.

5 11. Un Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 para uso en un método para bloquear canales de sodio en un ser humano.

10 12. Un Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 para uso en un método para promover la hidratación de superficies mucosas o restaurar la defensa de la mucosa en un humano.

15 13. Un Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición según la reivindicación 8 o 10 para su uso en un método para tratar el ojo seco, tratar el ojo seco asociado a la enfermedad de Sjogren, tratar la inflamación ocular causada por ojo seco, promover la hidratación ocular, promover la hidratación corneal, tratar la bronquitis crónica, tratar bronquiectasias (incluyendo bronquiectasias debidas a condiciones distintas de la fibrosis quística), tratar la fibrosis quística, tratar la sinusitis, tratar la resequedad vaginal, promover el aclaramiento de moco en las superficies mucosas, tratar la enfermedad de Sjogren, tratar la obstrucción intestinal distal, tratar la piel seca, tratar la esofagitis, tratar la sequedad bucal, tratar la deshidratación nasal (incluida la deshidratación nasal mediante la administración de oxígeno seco al sujeto), tratar la neumonía inducida por ventilador, tratar el asma, tratamiento de discinesia ciliar primaria, tratar la otitis media, inducir el esputo con fines de diagnóstico, tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, tratar el enfisema, tratar la neumonía, tratar el estreñimiento, tratar la diverticulitis crónica, tratar la rinosinusitis.

20 25 14. Un Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 para uso en un método para tratar una enfermedad mejorada por aclaramiento mucociliar incrementado e hidratación de la mucosa.

30 35 15. Según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o 7, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o composición según la reivindicación 8 o 10, para uso en un método para tratar una enfermedad mejorada por aclaramiento mucociliar aumentado e hidratación de la mucosa, donde la enfermedad es una o más condiciones seleccionadas del grupo que consiste en ojo seco, bronquitis crónica, bronquiectasia, fibrosis quística, sinusitis, sequedad vaginal, enfermedad de Sjogren, síndrome de obstrucción intestinal distal, piel seca, esofagitis, boca seca (xerostomía), deshidratación nasal, asma, discinesia ciliar primaria, otitis media, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, neumonía, diverticulitis, rinosinusitis e infecciones en el aire.

16. Una composición, que comprende:

40 (a) un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y (b) un compuesto osmolóticamente activo.

45 17. La composición de acuerdo con la reivindicación 8, que aumenta además una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente terapéuticamente activo seleccionado entre agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos, β -agonistas, agonistas del receptor P2Y2, agonistas del receptor activados por proliferadores de peroxisoma, inhibidores de cinasas, agentes antiinfluentes. y antihistamínicos.

18. Un compuesto en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o 7, o una sal farmacéuticamente aceptable, o una composición de acuerdo con la reivindicación 8 o 10 para el uso como medicamento.

50 55 19. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 para uso en un método para prevenir, mitigar y/o tratar efectos deterministas para la salud el tracto y/u otros órganos corporales causados por aerosoles respirables que contienen radionucleidos en un ser humano que lo necesite.

60

65

AMILORIDA

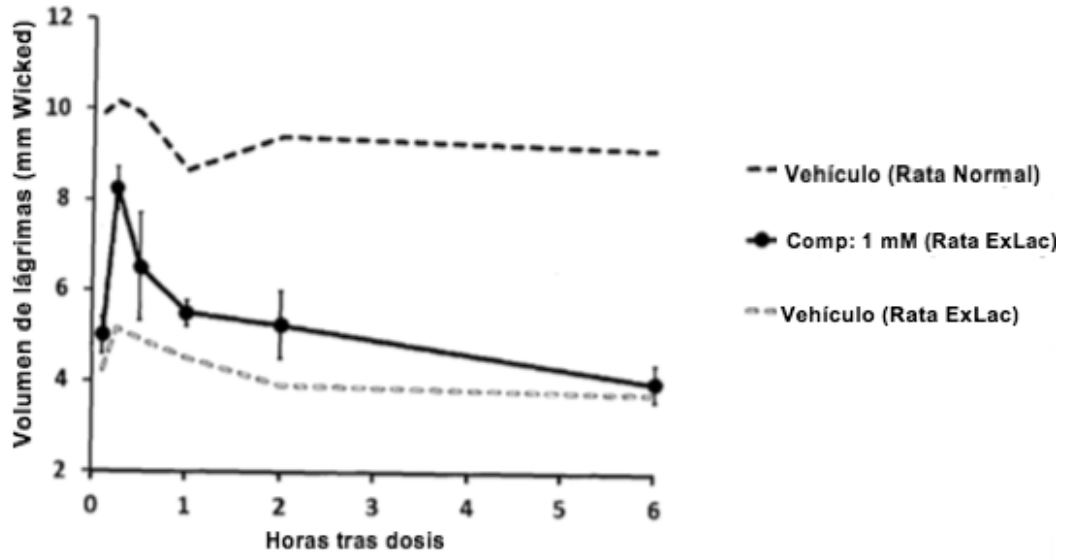


Figura 1

COMPUESTO 51

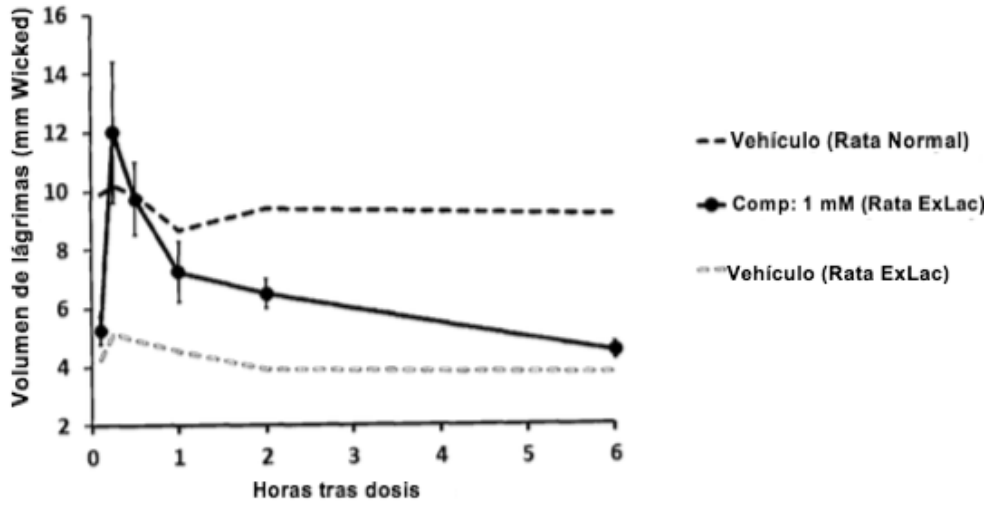


Figura 2

COMPUESTO
75

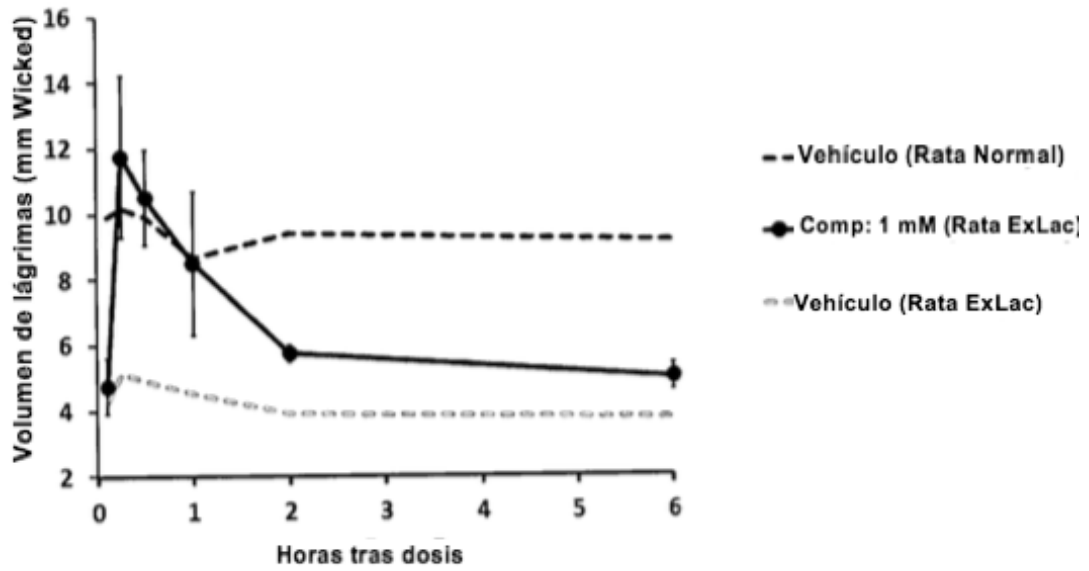


Figura 3

COMPUESTO 59

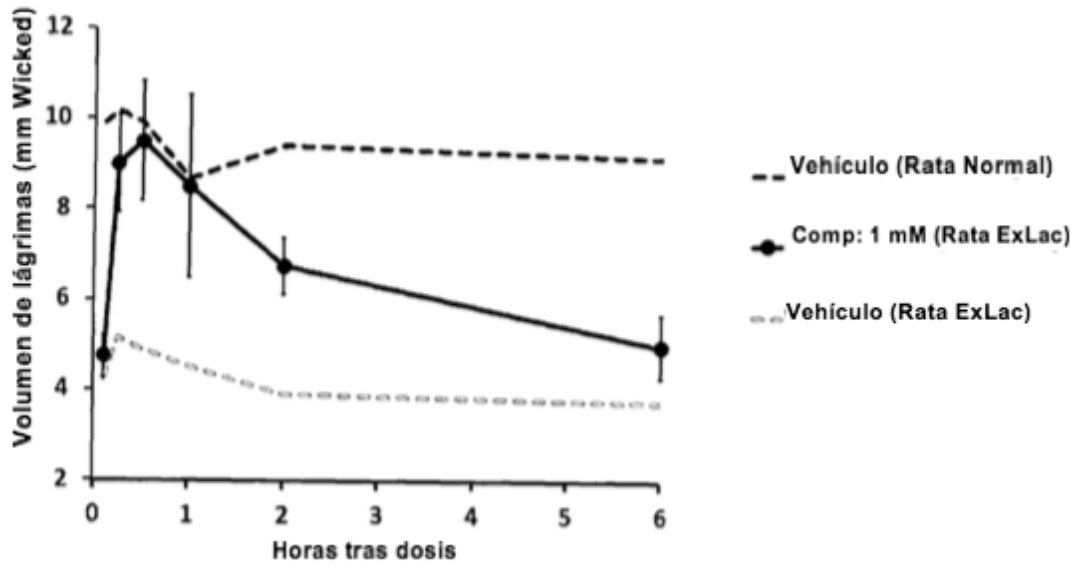


Figura 4

COMPUESTO 46

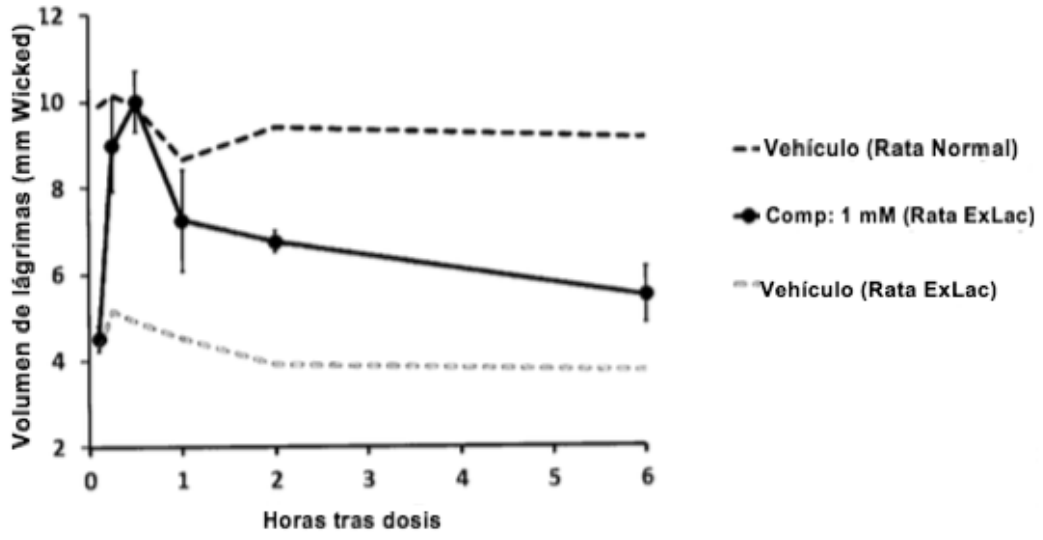


Figura 5

COMPUESTO 45

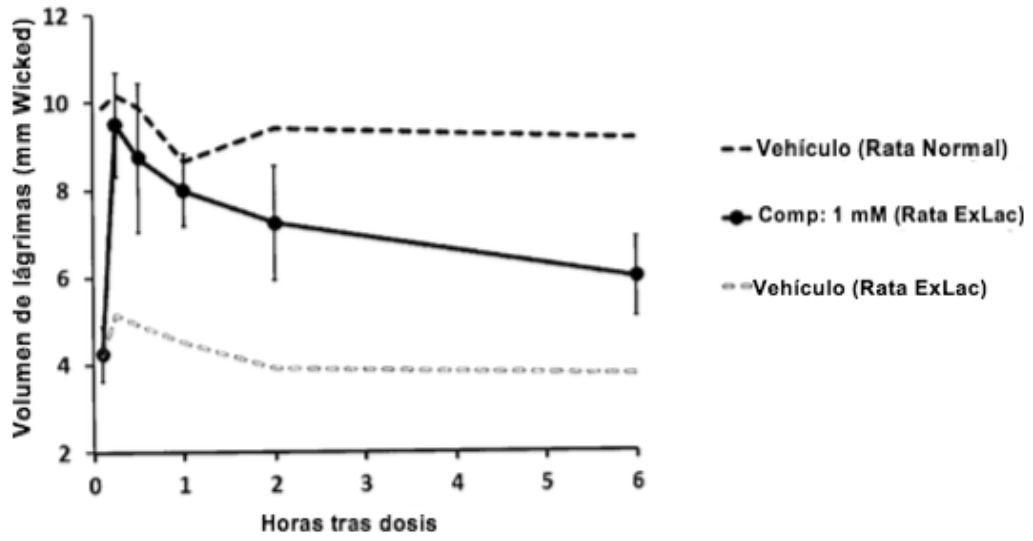


Figura 6

COMPUESTO145

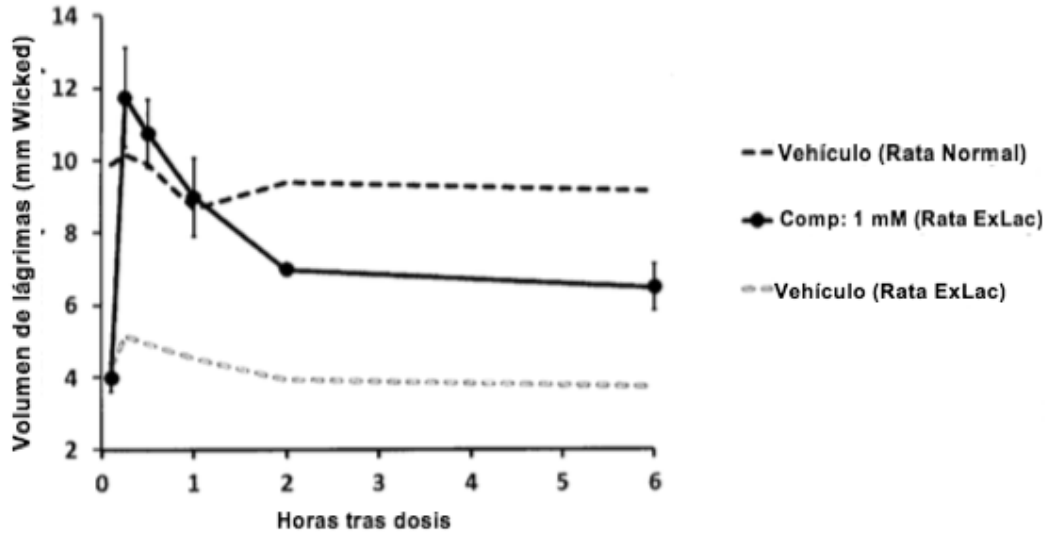


Figura 7

COMPUESTO 82

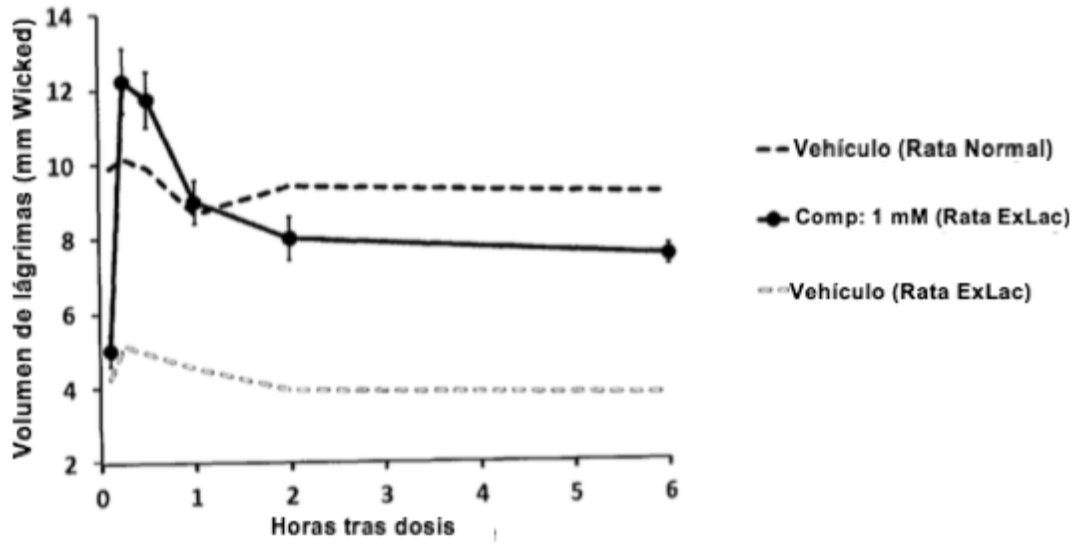


Figura 8

COMPUESTO 15

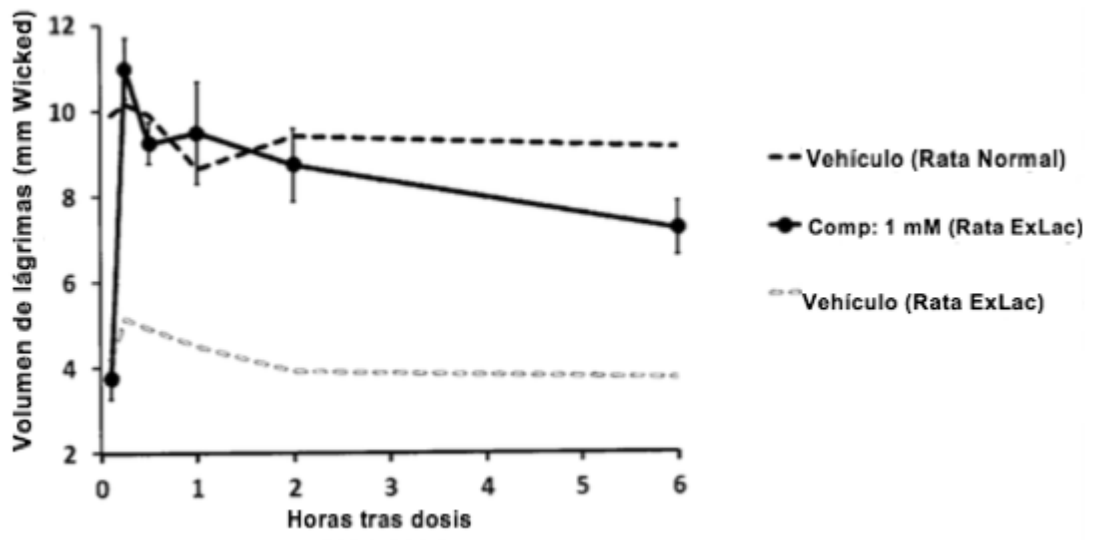


Figura 9

COMPUESTO 9

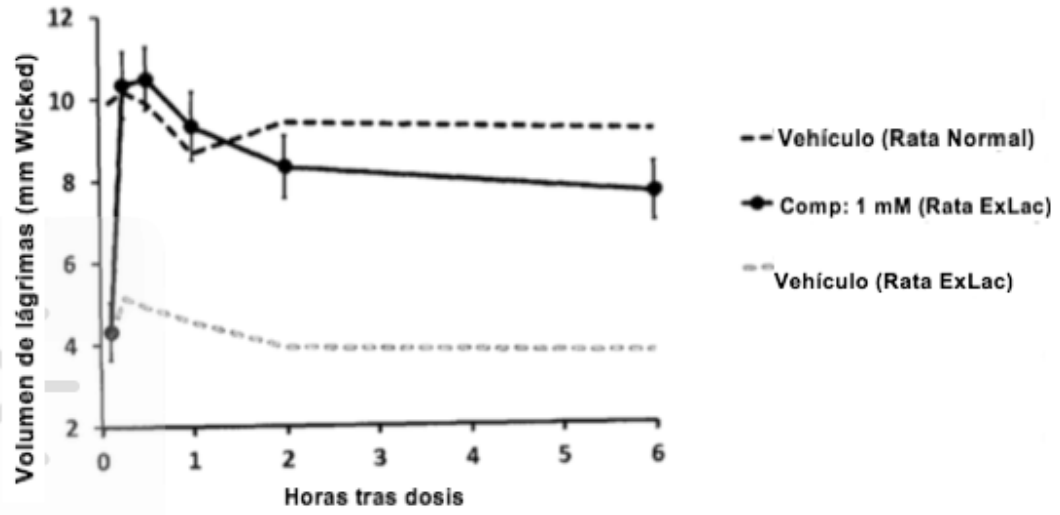


Figura 10

COMPUESTO 42

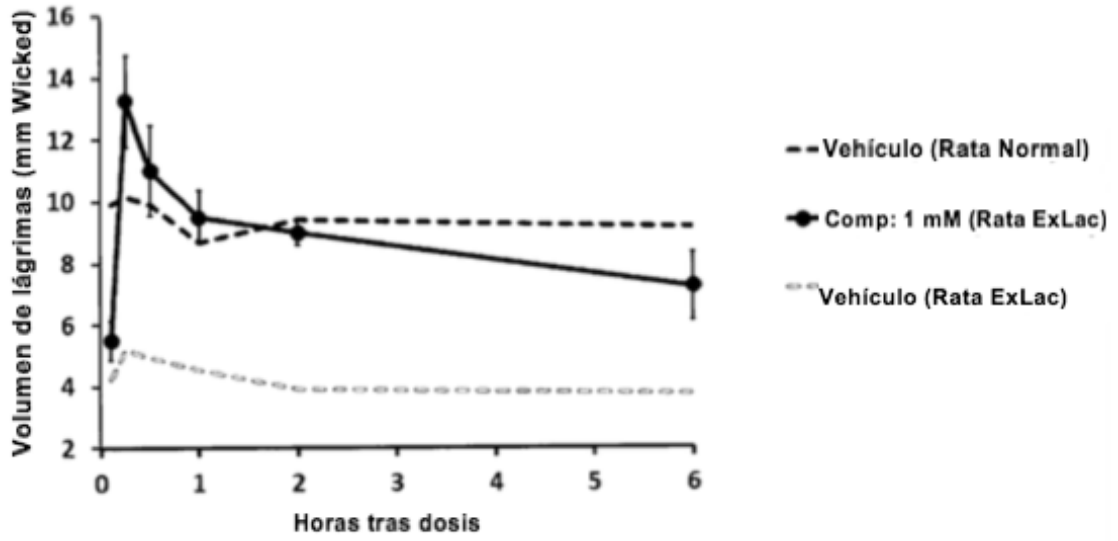


Figura 11

COMPUESTO 116

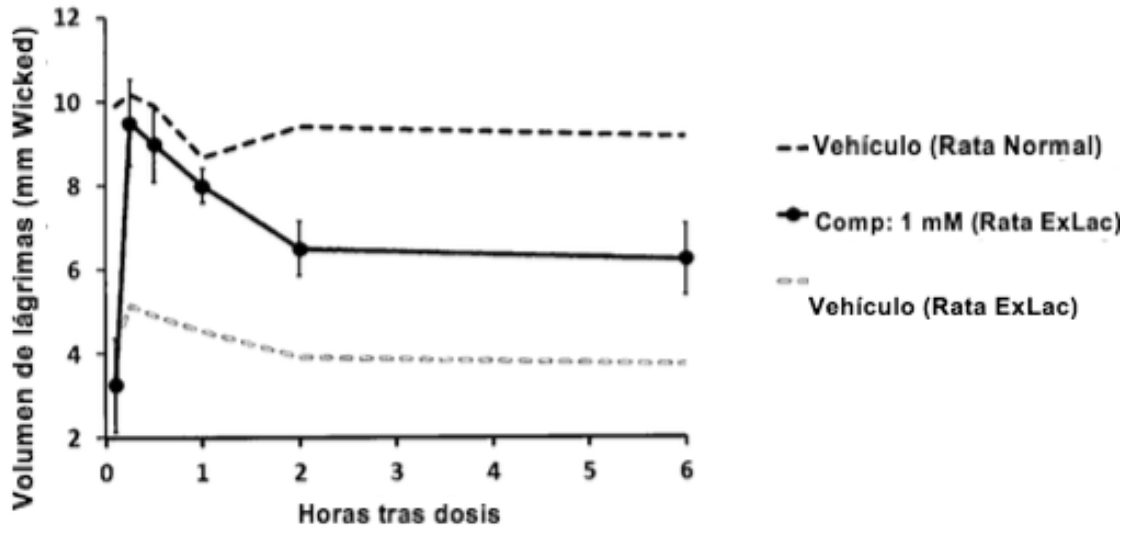


Figura 12

COMPUESTO 102

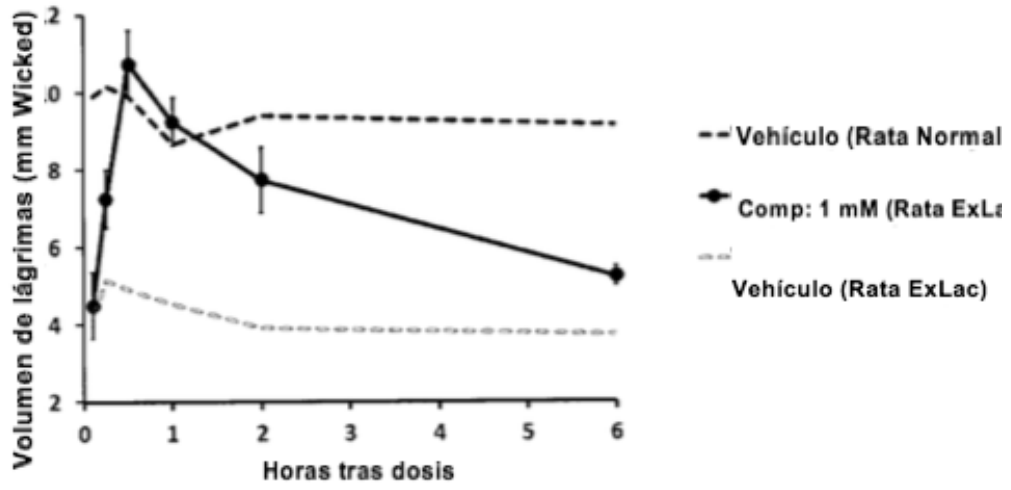


Figura 13

COMPUESTO 133

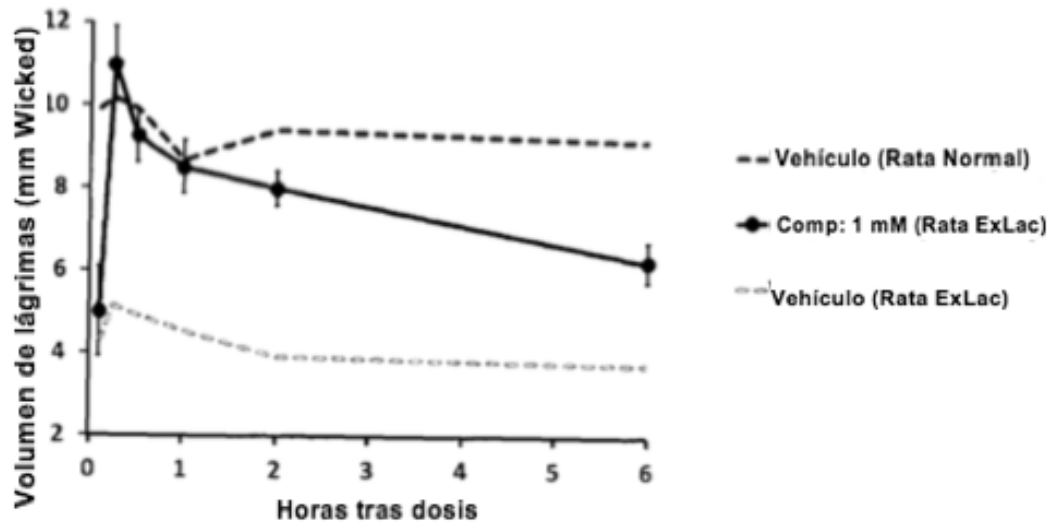


Figura 14

COMPUESTO 90

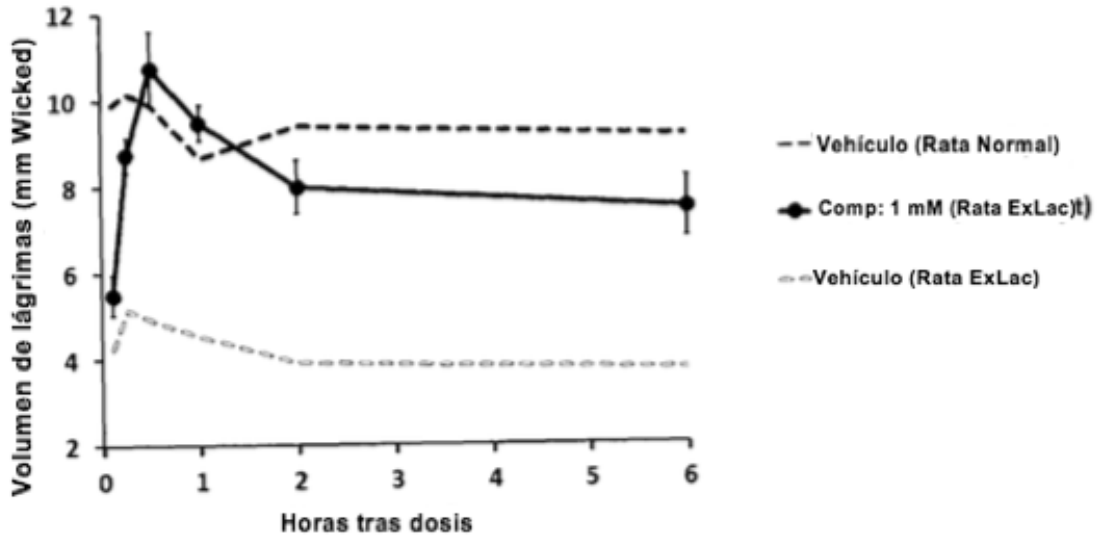


Figura 15

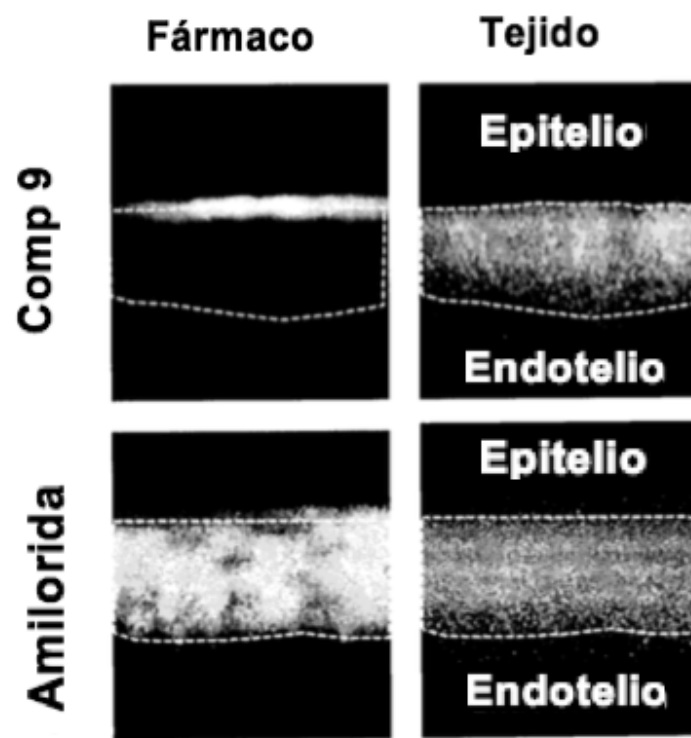


Figura 16