República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112013014890-0 B1

(22) Data do Depósito: 14/12/2011

(45) Data de Concessão: 24/10/2023

(54) Título: COMPOSTO ANÁLOGO DE MOLÉCULAS PERTENCENTES À FAMÍLIA CICLOSPORINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO, USO TERAPÊUTICO OU PROFILÁTICO DO REFERIDO COMPOSTO E PROCESSOS PARA A PREPARAÇÃO DOS MESMOS

(51) Int.Cl.: C07K 7/64; A61K 38/12; A61K 38/13; C07K 1/113.

(30) Prioridade Unionista: 15/12/2010 US 61/423,576.

(73) Titular(es): CONTRAVIR PHARMACEUTICALS, INC..

(72) Inventor(es): BRUCE W. FENSKE; DAN J. TREPANIER; MARK D. ABEL; SHIN SUGIYAMA; DAREN R. URE; ALEXANDER HEGMANS.

(86) Pedido PCT: PCT CA2011050773 de 14/12/2011

(87) Publicação PCT: WO 2012/079172 de 21/06/2012

(85) Data do Início da Fase Nacional: 14/06/2013

(57) Resumo: COMPOSTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MÉTODO PARA O TRATAMENTO OU PARA A PREVENÇÃO DE DOENÇAS MEDIADAS POR CICLOFILINA, PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE UM COMPOSTO, USO DO COMPOSTO Análogos de ciclosporina-A são revelados os quais compreendem modificações dos substituintes como as posições de amino ácidos 1 e 3, de acordo com a seguinte fórmula. Os compostos revelados incluem compostos tendo um afinidade para com ciclofilina incluindo ciclofilina-A e uma imuno supressão reduzida quando da comparação com ciclosporina-A e com os análogos da mesma somente modificadas na posição 1.

“COMPOSTO ANÁLOGO DE MOLÉCULAS PERTENCENTES À FAMÍLIA CICLOSPORINA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO, USO TERAPÊUTICO OU PROFILÁTICO DO REFERIDO COMPOSTO E PROCESSOS PARA A PREPARAÇÃO DOS MESMOS”

Campo da Invenção

[001] A presente invenção refere-se a novos análogos de moléculas pertencentes à família ciclosporina, incluindo os análogos de Ciclosporina A (Ciclosporine A = CsA) e incluindo os análogos que reduziram ou não a atividade imunosupressora e a ligação de ciclofilina (Ciyclophilin = CyP).

Antecedentes da Invenção

[002] As ciclosporinas são membros de uma classe de polipeptídeos cíciclos tendo uma potente atividade imunosupressora. Pelo menos alguns destes compostos, tais como Ciclosporina A (CsA) são produzidos pela espécie Tolypocladium inflatum como metabólitos secundários. CsA é um agente imunosupressor potente que tem demonstrado suprimir a imunidade humoral e as reações imunes mediadas por células, tais como rejeição a implantação de enxertos/transplantes, hipersensibilidade atrasada, encefalomielite alérgica experimental, artrite adjuvante de Freund e doença de implantação de enxerto versus hóspede. É usado na profilaxia de rejeição de órgão quando dos transplantes de órgãos; para o tratamento de artrite reumatoide; e para pós-tratamento de psoríase.

[003] Embora um número de compostos na família ciclosporina seja conhecido, CsA é talvez o mais amplamente usado medicamente. Os efeitos imunosupressores do CsA são relacionados a inibição dos eventos de ativação mediados por célula T. A imunosupressão é alcançada por intermédio da ligação de ciclosporina a uma proteína intracelular ubíqua conhecida como ciclofilina (CyP). Por sua vez, este complexo inibe a atividade de fosfatase serina treonina dependente de

cálcio e de calmodulino da enzima calcineurino. A inibição de calcineurino previne a ativação de fatores de transcrição, tais como NFATp/c e NF-κB, os quais são necessários para induzir os agentes cito quinos (IL-2, IFN-γ, IL-4, e GM-CSF) durante a ativação da célula T.

[004] Desde a descoberta original de ciclosporina, uma ampla variedade de ciclosporinas naturalmente ocorrentes foi isolada e identificada. Adicionalmente, vários ciclosporinas que não ocorrem naturalmente foram preparados por intermédio de meios parcialmente ou totalmente sintéticos, e por intermédio da aplicação de técnicas de cultura de células modificadas. Assim sendo, a classe compreendendo os ciclosporinas é algo substancial e inclui, por exemplo, os ciclosporinas naturalmente ocorrentes de A a Z; vários derivativos de ciclosporinas naturalmente não ocorrentes; ciclosporinas artificiais ou sintéticos incluindo os ciclosporinas dihidro- e iso-ciclosporinas; os derivativos de ciclosporina (por exemplo, tanto o 3'-0-átomos do resíduo MeBmt pode ser acilado, ou um substituinte adicional pode ser introduzido no resíduo de sarcosila na posição 3); os ciclosporinas nos quais o resíduo MeBmt está presente na forma isomérica (por exemplo, nos quais a configuração por todas as posições 6' e 7' do resíduo MeBmt é cis ao invés de trans); e os ciclosporinas nos quais os amino ácidos variantes são incorporados em posições específicas no interior da sequência peptídica.

[005] Os análogos de ciclosporina contendo os amino ácidos modificados na posição 1 são revelados nos pedidos de patente internacional publicados sob os Nos. WO 99/18120 e no WO 03/033527, os quais são aqui incorporados por referência em sua totalidade. Estes pedidos de patente descrevem um derivativo de ciclosporina conhecido como "ISATX247" ou "ISA247" ou "ISA." Este análogo é estruturalmente idêntico ao CsA exceto pelo fator que a modificação no resíduo de amino ácido 1. Os solicitantes da patente descobriram previamente que certas misturas de isômeros cis e trans do ISA247 exibiam uma combinação de potência

imunosupressora intensificada e reduziam a toxicidade sobre os conhecidos ciclosporinas presentemente e naturalmente ocorrentes.

[006] Ciclosporina tem três alvos celulares bastante estabelecidos; calcineurino, as isoformas CyP (as quais incluem mas não são limitadas a CyP-A, CyP-B e CyP-D), e cicloproteínas P (P-glycoprotein = PgP). A ligação de ciclosporina a calcineurinos resulta em uma imunosupressão significativa e é responsável pela sua associação tradicional com indicações de transplantes e autoimune.

A família Ciclofilina

[007] As CyPs (Enzyme Commission (EC) número 5.1.2.8) pertencente a um grupo de proteínas que têm atividade de isomerase peptídica-propila cis-trans; tais proteínas são coletivamente conhecidas como imuno-filinas e também incluem a proteínas de ligação FK-506 e os parvulinos. As CyPs são encontradas em todas as células de todos os organismos estudados, em ambos os procarióticos e eucarióticos e são estruturalmente conservadas por toda a evolução. Há 7 CyPs principais nos seres humanos, nominalmente CyP-A, CyP-B, CyP-C, CyP-D, CyP-E, CyP-40, e CyP-NK (primeiramente identificadas a partir de células assassinas naturais de seres humanos) e um total de a6 proteínas únicas (Galat A. Peptidylprolila cis/trans isomerases (immunophilins) biological diversity - targets - functions. Curr Top Med Chem 2003, 3:1315-1347; Waldmeier PC et al. Ciclophilin D as a drug target. Curr Med Chem 2003, 10:1485-1506).

[008] O primeiro membro das CyPs a ser identificado em mamíferos foi a CyP-A. A CyP-A é uma proteína citológica 18-kDa e é a proteína mais abundante para a ligação de CsA. Estima-se que CyP-A totaliza 0.6% da proteína total citológica (Mikol V et al. X-ray structure de monmeric ciclophilin A-cicloporin A crystal complex at 2.1 A resolution. J. Mol.Biol. 1993, 234:1119–1130; Galat A, Metcalfe SM. Peptidylproline cis/trans isomerases. Prog. Biophys. Mol. Biol. 1995, 63:67–118).

Localização Celular de Ciclofilinas

[009] CyPs podem ser encontradas na maioria dos compartimentos celulares da maioria dos tecidos e podem codificar funções únicas. Nos mamíferos, CyPs e CyP-40 são citológicas, ao passo que CyP-B e CyP-C tem sequencias de sinal amino terminais que as direcionam para a trajetória secretória da proteína endo plásmica reticular (revisado por Galat, 2003; Dornan J et al. Structures de immunophilins e air ligand complexes. Curr Top Med Chem 2003, 3:1392-1409).

[0010] CyP-D tem uma sequência de sinais que o direciona para a mitocôndria (Andreeva L et al. Ciclophilins e air possible role in the stress response. Int J Exp Pathol 1999, 80:305-315; Hamilton GS et al. Immunophilins: beyond immunosuppression. J Med Chem 1998, 41:5119-5143); CyP-E tem um domínio amino terminal de ligação RNA e é localizado no núcleo (Mi H et al. A nuclear RNA-binding ciclophilin in human T cells. FEBS Lett 1996, 398:201-205) e CyP-40 tem TPRs localizados no cito sol (Kieffer LJ et al. Ciclophilin-40, a protein with homology to the P59 component de the steroid receptor complex. Cloning de the cDNA e further characterization. J Biol Chem 1993, 268:12303-12310). CyP-NK de seres humanos é o CyP maior de todos, com um grande terminal carboxílico hidrofílico e carregado positivamente e está localizado no cito sol (Anderson SK et al. A ciclophilin-related protein involved in the function de natural killer cells. Proc Natl Acad Sci USA 1993, 90:542-546; Rinfret A et al. The N-terminal ciclophilin-homologous domain de a 150-kilodalton tumor recognition molecule exhibits both peptidylprolila cis-transisomerase e chaperone activities. Biochemistry 1994, 33:1668-1673).

Funções e Atividade dos Ciclofilinas

[0011] CyPs são proteínas multifuncionais que estão envolvidas em vários processos celulares. Porque CyPs foram altamente conservados por toda a evolução, isto sugere uma função essencial para os CyPs. Inicialmente foi

descoberto que CyPs t~em uma propriedade enzimática específica que catalisa a isomerização cis-trans das ligações peptídeos – propila (Galat, 1995; Fisher GA et al. A phase I study de paclitaxel (taxol) (T) in combination with SDZ valspodar, a potent modulator de multidrug resistance (MDR). Anticancer Drugs. 1994; 5(Suppl 1): 43).

[0012] Assim sendo, CyPs são chamadas isomerase de peptídeos-propila-cis-trans (peptidyl-prolila-cis-trans isomerase = PPIase), a qual pode atuar como um fator de aceleração na dobragem apropriada de proteínas recentemente sintetizadas; PPIases também são envolvidas nos reparos de proteínas danificadas devido a estresses ambientais incluindo estresse térmico, irradiação ultravioleta, mudanças no pH do ambiente da célula e no tratamento com antioxidantes. Esta função é conhecida como atividade de acompanhamento molecular (Yao Q et al. Roles de Ciclophilins in Cancers e Other Organs Systems. World J. Surg. 2005, 29: 276–280).

[0013] Adicionalmente, foi recentemente demonstrado que a atividade de PPIase das CyPs estão envolvidas em diversos processos celulares, incluindo o tráfico de proteína intracelular (Andreeva, 1999; Caroni P et al. New member de the ciclophilin family associated with the secretory pathway. J Biol Chem 1991, 266:10739–42), função mitochondrial (Halestrap AP et al. CsA binding to mitochondrial ciclophilin inhibits the permeability transition pore e protects hearts from ischaemia/reperfusion injury. Mol Cell Biochem 1997, 174:167–72; Connern CP, Halestrap AP. Recruitment de mitochondrial ciclophilin to the mitochondrial inner membrane under condições de oxidative stress that enhance a opening de a calcium-sensitive non-specific channel. Biochem J 1994, 302:321–4), processamento pré-mRNA (Bourquin JP et al. A serine/arginineriche nuclear matrix ciclophilin interacts with the Cterminal domain de RNA polimerase II. Nucleic Acids Res 1997, 25:2055–61), e na manutenção da estabilidade complexa de multiproteínas

(Andreeva, 1999).

[0014] Ciclosporina é ligada com afinidade nano molar com CyP-A via contatos no interior do bolso hidrofóbico (Colgan J et al. Ciclophilin A-Deficient Mice Are Resistant to Immunosuppression by Ciclosporina. The Journal de Immunology 2005, 174: 6030–6038, Mikol, 1993) e inibe a atividade PPlase. Todavia, é pensado que este efeito seja irrelevante para a imunosupressão. Ao invés, o complexo entre CsA e CyP-A cria uma superfície composta que se liga a e previne calcineurino a partir de regular a transcrição do gene cito quino (Friedman J et al. Two cytoplasmic candidates por immunophilin action are revealed by affinity por a new ciclophilin: one in the presence e one in the absence de CsA. Cell 1991, 66: 799–806; Liu J et al. Calcineurin é uma common target de ciclophilin-CsA e FKBP-FK506 complexes. Cell 1991, 66: 807–815).

Homologia dos Ciclofilinas

[0015] CyP-A, o membro prototípico da família é uma proteína altamente conservada em células de mamíferos (Handschumacher RE et al. Ciclophilin: a specific cytosolic binding protein por CsA. Science 1984, 226: 544–7). A análise de sequência de homologia de CyP-A de seres humanos mostra que a mesma é altamente homologa a CyP-B, CyP-C, e CyP-D de seres humanos (Harding MW, Handschumacher RE, Speicher DW. Isolation e amino acid sequence de ciclophilin. J Biol Chem 1986, 261:8547–55). O bolso de ligação de ciclosporina de todas as CyPs é formado por uma região altamente conservada de aproximadamente 109 amino ácidos. Das conhecidas CyPs, a CyP-D te a mais alta homologia a CyP-A. Na verdade, nesta região a identidade de sequência é de 100% entre CyP-A e CyP-D (Waldmeier 2003; Kristal BS et al. The Mitochondrial Permeability Transition as a Target por Neuroprotection. Journal de Bioenergetics e Biomembranes 2004, 36(4); 309-312). Portanto, a afinidade de CyP-A é um previsor muito bom da afinidade de CyP-D e, vice-versa (Hansson MJ et al. The Nonimmunosuppressive Ciclosporina

analogues NIM811 e UNIL025 Display Nanomolar Potencies on Permeability Transition in Brain-Derived Mitochondria. Journal de Bioenergetics e Biomembranes, 2004, 36(4): 407-413). Esta relação foi repetidamente e empiricamente demonstrada com os análogos de Ciclosporina (Hansson, 2004; Ptak Rg et al. Inhibition de Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication in Human Cells by Debio-025, a Novel Ciclophilin Binding Agent. Antimicrobial Agents e Chemotherapy 2008: 1302–1317; Millay DP et al. Genetic e pharmacologic inhibition de mitochondrial dependent necrosis attenuates muscular dystrophy. Nature Medicine 2008, 14(4): 442-447; Harris R et al. The Discovery de Novel Non-Immunosuppressive Ciclosporina Ethers e Tioethers With Potent HCV Activity. Poster # 1915, 59th Annual Meeting de the American Association por the Study de Liver Diseases (AASLD), 2008). A sequência de homologia por todas as CyPs sugere que todas as CyPs são alvos potenciais para os análogos de Ciclosporina. Por causa dos múltiplos processos celulares nos quais as CyPs estão envolvidas, isto sugere, adicionalmente, que CsA análogos que retêm uma ligação significativa a CyP pode ser útil no tratamento de várias indicações de doenças.

Doenças mediadas por Ciclofilina

Vírus Humano da Imuno Deficiência (HIV):

[0016] O HIV é um lentivirus da família dos retrovírus e serve como um exemplo do envolvimento da CyP no processo de infecção e replicação de certos vírus. Foi estabelecido mais de uma década atrás que a CyP-A é um alvo válido na quimioterapia anti HIV (Rosenwirth BA et al. Ciclophilin A as a novel target in anti-HIV-1 chemotherapy. Int. Antivir. News 1995, 3:62–63). CyP-A preenche uma função essencial muito cedo quando da replicação do ciclo do HIV. Foi descoberto que a mesma liga especificamente a poliproteína HIV-1 Gag (Luban JKL et al. Human immunodeficiency virus type 1 Gag protein binds to ciclophilins A e B. Cell 1993, 73: 1067–1078). Uma sequência definida de amino ácido acerca de G89 e P90 da

proteína cápside p24 (CA) foi identificada como o local de ligação para CyP-A (Bukovsky AAA et al. Transfer de the HIV-1 ciclophilin-binding site to simian immunodeficiency virus from Macaca mulatta can confer both ciclosporina sensitivity e ciclosporina dependence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997, 94: 10943–10948; Gamble TRF et al. Crystal structure de human ciclophilin A bound to the amino-terminal domain de HIV-1 capsid. Cell 1996, 87: 1285–1294). A afinidade de CyP-A para CA promove a incorporação de CyP-A nas partículas de vírus durante a montagem (Thali MA et al. Functional association de ciclophilin A with HIV-1 virions. Nature 1994, 372: 363–365). Evidências experimentais indicam que a interação de CyP-A-CA é algo essencial para a replicação do HIV-1; a inibição desta interação prejudica a replicação do HIV-1 em células de seres humanos (Hatziioannou TD et al. Ciclophilin interactions with incoming human immunodeficiency virus type 1 capsids with opposing effects on infectivity in human cells. J. Virol. 2005, 79: 176–183; Steinkasserer AR et al. Mode de action de SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive CsA analog with activity against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1): interference with early e late events in HIV-1 replication. J. Virol 1995, 69: 814–824). A etapa no ciclo de replicação viral onde CyP-A está envolvida foi demonstrada como sendo um evento depois da penetração da partícula de vírus e antes da integração do DNA viral com duplamente torcido no genoma celular (Braaten DEK et al. Ciclophilin A is required por an early etapa in the life cycle de human immunodeficiency virus type 1 before a initiation de reverse transcription. J. Virol 1996 70: 3551–3560; Mlynar ED et al. The non-immunosuppressive CsA analogue SDZ NIM 811 inhibits ciclophilin A incorporation into virions e virus replication in human immunodeficiency virus type 1-infected primary e growth-arrested T cells. J. Gen. Virol 1996, 78: 825–835; Steinkasserer, 1995). A atividade anti HIV-1 da CsA foi primeiramente relatada em 1988 (Wainberg MA et al. The effect de CsA on infection de susceptible cells by human immunodeficiency virus

type 1. Blood 1998, 72: 1904–1910). A avaliação de CsA e de vários derivativos para a inibição da replicação do HIV-1 revelou que os análogos de CsA imunosupressores tinham atividades anti HIV-1 igual ou até mesmo superior aquelas dos análogos imunosupressores (Bartz SRE et al. Inhibition de human immunodeficiency virus replication by nonimmunosuppressive analogs de CsA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1995, 92: 5381–5385; Billich AF et al. Mode de action de SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive CsA analog with activity against human immunodeficiency virus (HIV) type 1: interference with HIV protein-ciclophilin A interactions. J. Virol 1995, 69: 2451–2461; Ptak, 2008).

Inflamação

[0017] A inflamação em doenças envolve o fluxo de entrada de leucócitos (células brancas de sangue) na área da infecção. Os leucócitos são atraídos para a área por intermédio de quimo quinos uma família de agente quimo atrativo. Estudos in vitro mostraram que CyP-A extra celular é um quimo atraente potente para leucócitos humanos e células T (Kamalpreet A et al. Extracellular ciclophilins contribute to the regulation de inflammatory responses Journal de Immunology 2005; 175: 517–522; Yurchenko VG et al. Active-site residues de ciclophilin A are crucial por its signaling activity via CD147. J. Biol. Chem. 2002; 277: 22959–22965; Xu QMC et al. Leukocyte chemotactic activity de ciclophilin. J. Biol. Chem. 1992; 267: 11968–11971; Allain FC et al. Interaction with glycosaminoglycans is required por ciclophilin B to trigger integrin-mediated adhesion de peripheral blood T lymphocytes to extracellular matrix. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99: 2714–2719). Adicionalmente, CyP-A pode induzir uma rápida Resposta inflamatória caracterizada pelo fluxo de entrada leucócito quando injetado in vivo (Sherry BN et al. Identification de ciclophilin as a proinflammatory secretory product de lipopolisaccharide-activated macrophages. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1992; 89: 3511–3515). CyP-A é ubiquamente e intracelularmente distribuído, todavia durante o curso das respostas

inflamatórias, CyP-A é liberada nos espaços dos tecidos extracelulares por ambas as células vivas e que estão morrendo (Sherry 1992). Na verdade, os níveis elevados de CyP-A foram relatados em várias doenças inflamatórias diferentes, incluindo sepse, artrite reumatoide e doença vascular da célula do músculo macio (Jin ZG et al. Ciclophilin A é uma secreted growth factor induced by oxidative stress. Circ. Res. 2000; 87: 789–796; Teger, 1997; Billich, 1997). No caso de artrite reumatóide, uma correlação direta entre os níveis de CyP-A e o número de neutrofils no fluido sinovial dos pacientes de artrite reumatoide foi relatado (Billich, 1997).

Câncer

[0018] CyP-A foi recentemente mostrada como sendo sobre expressa em vários tecidos cancerígenos e linhas de células, incluindo mas não limitada a pequenas e não pequenas células pulmonares, bexiga, hepato celular, e câncer pancreático e de mama (Li, 2006; Yang H et al. Ciclophilin A is upregulated in small cell lung cancer e activates ERK1/2 signal. Biochemical e Biophysical Research Communications 2007; 361: 763–767; Campa, 2003). Nos casos onde a CyP-A exógena foi alimentada, isto demonstrou que estimula o crescimento de células cancerígenas (Li, 2006; Yang, 2007) enquanto o CsA deteve o crescimento (Campa, 2003). Mais recentemente foi demonstrado que CyP (A e B) está intrisicamente envolvida na trajetória bioquímica permitindo o crescimento de células de câncer de mama de seres humanos e que CyP experimentos de detonação reduziram o crescimento, a proliferação e a mobilidade de células cancerígenas (Fang F et al. The expression de Ciclophilin B is Associated with Malignant Progression e Regulation de Genes Implicated in the Pathogenesis de Breast Cancer. The American Journal de Pathology 2009; 174(1): 297-308; Zheng J et al. Prolila Isomerase Ciclophilin A Regulation de Janus-Activated Kinase 2 e a Progression de Human Breast Cancer. Cancer Research 2008; 68 (19): 7769-7778). De uma maneira muito mais interessante, o tratamento de CsA de ratos enxertados com

células de câncer de mama induziu a necrose de tumores e completamente inibiu a metástase (Zheng, 2008). Os pesquisadores concluíram que “a ação da Ciclofilina B pode contribuir significativamente para a patogenia de câncer de mamam em seres humanos” e que “a inibição de ciclofilina pode ser uma estratégia inovadora terapêutica no tratamento de câncer de mama de seres humanos” (Fang, 2009; Zheng, 2008).

Hepatite C

[0019] O vírus dá Hepatite C (Hepatitis C Virus = HCV) é a mais prevalente doença do fígado no mundo e é considerada pela Organização Mundial da Saúde como algo epidêmico. Por causa do fator que o HCV pode infectar um paciente por décadas antes de ser descoberto, o mesmo é frequentemente chamado de um epidêmico “silencioso”.

[0020] Estudos sugerem que mais do que 200 milhões de indivíduos, ao redor do mundo, são infectados com o HCV, uma incidência geral de cerca de 3.3% da população do mundo. Só nos EUA, quase 4 milhões de indivíduos são ou já foram infectados com o HCV e destes, 2.7 milhões têm uma infecção crônica ocorrente. Todos os indivíduos infectados com HCV estão em risco de desenvolver doenças do fígado que podem ameaçar as suas próprias vidas. A terapia padrão atual para a hepatite crônico C consiste na combinação de interferon PEGuilado em combinação com ribavirin, ambos agentes anti virais generalizados (Craxi A et al. Clinical trial results de peginterferons in combination with ribavirin. Semin Liver Dis 2003; 23(Suppl 1): 35-46). A taxa de falha no tratamento é de aproximadamente 50% (Molino BF. Strategic Research Institute: 3rd annual viral hepatitis in drug discovery e development world summit 2007. AMRI Technical Reports; 12(1)).

[0021] Recentemente foi demonstrado que CyP-B é algo crítico para a replicação eficiente do genoma HCV (Watashi K et al. Ciclophilin B é uma Functional Regulator de Hepatitis C Virus RNA Polimerase. Molecular Cell 2005, 19: 111–122).

Os virus dependem de fatores derivados de hóspedes tais como CyP-B para a sua replicação eficiente de genoma. CyP-B interatua com o HCV RNA polimerase NS5B para estimular diretamente a sua atividade de ligação RNA. Ambas a redução da expressão endógena de CyP-B com interferência RNA mediada por (RNAi) e a perda induzida da ligação de NS5B a CyP-B reduzem os níveis de replicação de HCV. Assim sendo, CyP-B funciona como um regulador estimulante de NS5B no maquinário da replicação de HCV. Este mecanismo regulatório de replicação viral identifica CyP-B como um alvo para estratégias terapêuticas antivirais.

[0022] Diferente de outros tratamentos de HCV, a inibição de CyP não almeja diretamente o vírus HCV. Portanto, pensa-se que a resistência a drogas de ligação de CyP ocorrerá mais lentamente do que as drogas de tratamento de HCV atuais (Manns MP, et al. The way forward in HCV treatment-finding the right path. Nature Reviews Drug Discovery 2007; 6: 991-1000). Adicionalmente, pela interferência no nível de interação hóspede – viral, a inibição de CyP pode abrir o caminho para um approach inovador ao tratamento anti HCV que poderia ser complementar, não apenas ao tratamento com base em interferon, mas também nos tratamentos futuros que diretamente almejam as enzimas de replicação de HCV tais como os inibidores de protease e de polimerase (Flisiak R, Dumont JM, Crabbé R. Ciclophilin inhibitors in hepatitis C viral infection. Expert Opinion on Investigational Drugs 2007, 16(9): 1345-1354). O desenvolvimento de novas drogas anti HCV afetando a replicação viral de HCV tem sido significativamente impedida pela falta de modelos laboratoriais adequados de HCV. Este obstáculo só foi recentemente superado por intermédio do desenvolvimento de vários modelos adequados de cultura de células (Subgenomic HCV Replicon Systems) e um modelo de ratos contendo células de fígado de ser humano (Goto K, et al. Evaluation de the anti-hepatitis C virus effects de ciclophilin inhibitors, CsA, e NIM811. Biochem Biophys Res Comm 2006; 343: 879–884; Mercer DF, et al. Hepatitis C virus replication in

mice with chimeric human livers. Nat Med 2001; 7: 927-933). Ciclosporina recentemente demonstrou que a atividade anti HCV em modelos seletivos e em pequenos ensaios clínicos (Watashi K, et al. CsA suppresses replication de hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. Hepatology 2003; 38:1282-1288; Inoue K, Yoshiba M. Interferon combined with ciclosporina treatment as an effective countermeasure against hepatitis C virus recurrence in liver transplant patients with end-stage hepatitis C virus related disease. Transplant Proc 2005; 37:1233-1234).

Desordens Musculares Degenerativas

[0023] CyP-D é uma parte integral do Mitochondrial Permeability Transition Pore = MTP (Poro de Transição de Permeabilidade Mitocondrial) em todas as células. A função do poro MTP é a de proporcionar a homeostase no interior da célula. Em condições normais, a abertura e o fechamento do poro MTP é algo reversível. Em condições patológicas que envolvem um fluxo de entrada excessivo de cálcio na célula, isto sobrecarrega o mitocôndrio e induz uma abertura irreversível do poro MPT acarretando na morte da célula ou apoptose. Foi relatado que CsA corrige a função mitocondrial e a apoptose do músculo em pacientes que sofrem com distrofia muscular congênita de Ullrich e miopatia de Bethlam [(Merlini L et al. CsA corrects mitochondrial dysfunction e muscle apoptosis in patients with collagen VI myopathies. PNAS 2008; 105(13): 5225-5229]. Foi demonstrado in vitro que CsA dosa a abertura dependente de inibição de MTP no mitocôndrio cardíaco isolado, daí, portanto prevenindo a apoptose e fornecendo a célula um tempo precioso para a reparação (Gomez L et al. Inhibition de mitochondrial permeability transition improves functional recovery e reduces mortality following acute myocardial infarction in mice Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007, 293: H1654–H1661). Um estudo clinic em 58 pacientes que apresentaram infarto agudo do miocárdio demonstrou que a administração de CsA no tempo da reperfusão foi associado com um pequeno infarto ao invés daquele visto com placebo (Piot C et al. Effect de Ciclosporina on

Reperfusion Injury in Acute Myocardial Infarction. New England Journal de Medicine 2008; 395(5): 474-481)).

Doenças Crônicas Neurodegenerativas

[0024] CsA pode atuar como um agente neuroprotetor em casos de isquemia cerebral aguda e danos como um resultado de um trauma na cabeça (Keep M, et al. Intrathecal ciclosporina prolongs survival de late-stage ALS mice. Brain Research 2001; 894: 327–331). Animais tratados com CsA mostraram uma dramática taxa de sobrevivência de 80% em relação a apenas uma taxa de sobrevivência de 10% quando da ausência do tratamento. Foi posteriormente estabelecido que isto ocorre em grande parte devido ao resultado da ligação de CsA a CyP-D mitocondrial. Foi subsequentemente estabelecido que a utilidade de CsA estende a neurodegeneração crônica conforme foi subsequentemente demonstrado em um modelo de ratos da Doença de Lou Gerhig (Lou Gerhig's Disease = ALS) (Pedido de Patente Norte Americano No. 5,972,924), onde o tratamento de CsA mais do que dobrou o tempo de vida remanescente. Também foi recentemente mostrado que a inativação de CyP-D em ratos experimentais de laboratório protege axons na encefalomielite auto imune experimental, um modelo animal de esclerose múltipla (Forte M et al. Ciclophilin D inactivation protects axons in experimental autoimmune encephalomyelitis, an animal model de multiple sclerosis. PNAS 2007; 104(18): 7558–7563). Em um modelo de ratos com doença de Alzheimer a deficiência de CyP-D intensifica substancialmente o aprendizado, a memória e a função sináptica Du H et al. Ciclophilin D deficiency attenuates mitochondrial e neuronal perturbation e ameliorates learning e memory in Alzheimer's disease Nature Medicine 2008, 14(10): 1097-1105). Adicionalmente, CsA demonstrou ser eficiente em um modelo de ratos no que diz respeito à doença de Huntington (Leventhal L et al. CsA protects striatal neurons in vitro e in vivo from 3-nitropropionic acid toxicity. Journal de Comparative Neurology 2000, 425(4): 471-478), e parcialmente eficiente em um

modelo de ratos no que diz respeito à doença de Parkinson (Matsuura K et al. CsA attenuates degeneration de dopaminergic neurons induced by 6-hidroxidopamine in the mouse brain. Brain Research 1996, 733(1): 101-104). Assim sendo, a necrose mitocondrial dependente representa um mecanismo de doença promitente sugerindo que a inibição de CyP-D poderia proporcionar uma nova estratégia farmacológica para estas doenças (Du, 2008).

Lesões Celulares, de Tecido e de Órgãos devidas a Homeostase de Perda de Íon de Cálcio Celular (Ca2+)

[0025] Ca2+ está envolvido em um número de processos fisiológicos em um nível celular, incluindo na função saudável mitocondrial. Em certas condições patológicas, tais como no infarto mio cardial, derrame, hepato toxicidade, colestase e lesões de armazenamento/reperfusão de órgãos de transplante, mitocôndrio perde a habilidade de regular o nível de cálcio e o acúmulo excessivo de cálcio na matriz mitocondrial resulta na abertura de grandes poros na membrana mitocondrial interna (Rasola A. et al. The mitochondrial permeability transition pore e its involvement in cell death e in disease pathogenesis. Apoptosis 2007, 12: 815-833.) A condução não seletiva de íons e moléculas até 1.5 kilodaltons através do poro, um processo chamado transição de permeabilidade mitocondrial, acarreta no inchaço do mitocôndrio e outros eventos os quais culminam na morte de células, incluindo na indução de apoptose. Um dos componentes do MTP é CyP-D. CyP-D é uma molécula imuno filina a qual a atividade de isomerase regula a abertura do MPTP e a inibição da atividade de isomerase por CsA ou análogos de CsA inibe a criação do MPTP, e assim sendo previne a morte das células.

Inibidores de Ciclofilina Análogos a Ciclosporina Não Imunosupressores

[0026] Independente dos efeitos vantajosos de CsA nas indicações acima mencionadas, os efeitos concomitantes de imunosupressão limitam a utilidade de CsA como um inibidor de CyP na prática clínica. No presente, há apenas alguns

análogos de CsA que foram comprovados como tendo uma atividade imunosupressora pequena ou reduzida (por exemplo, < 10 % da potência imunosupressora de CsA) e que ainda retém a sua habilidade de ligar CyP (por exemplo, > 10 % da capacidade de ligação de CyP quando comparado a CsA).

NIM 811 (Melle4-ciclosporina)

[0027] NIM 811 é um produto da fermentação do fungo Tolypocladium niveum, o qual é modificado no amino ácido 4 e não exibe atividade imunosupressora alguma (devido a ausência de ligação de calcineurino), ainda assim retém a afinidade de ligação para com CyP-D (Rosenwirth BA et al. Inhibition de human immunodeficiency virus type 1 replication by SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive Ciclosporina Analogue. Antimicrob Agents Chemother 1994, 38: 1763–1772).

DEBIO 025 (MeAla3EtVal4-Ciclosporin)

[0028] DEBIO 025 é uma modificação química dupla de CsA nos amino ácidos 3 e 4. DEBIO 025 também não exibe atividade imunosupressora alguma, mas ainda assim retém a afinidade de ligação para com a atividade CyP-A PPlase (Kristal, 2004).

SCY-635 (DimetilaminoetilatioSar3-hidroxiLeu4-Ciclosporin)

[0029] SCY-635 é uma modificação química dupla de CsA nos amino ácidos 3 e 4. SCY-635 também não exibe atividade imunosupressora alguma, mas ainda assim retém a afinidade de ligação para com a atividade CyP-A PPlase (Publicação de PCT No. WO2006/039668).

[0030] Geralmente estes compostos têm modificações sobre a face de CsA que é responsável para ligação de calcineurino e geralmente requerem a modificação dos amino ácidos 3 e 4. A modificação dos amino ácidos 3 e 4 é algo trabalhoso e complexo uma vez que, tipicamente, este approach envolve a abertura do anel ciclosporina, a substituição e/ou a modificação destes amino e então o

fechamento do anel para produzir o ciclosporina modificado.

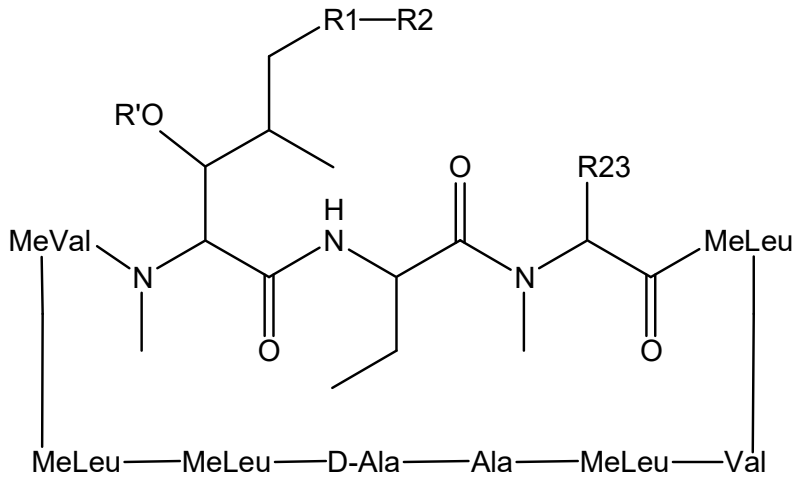
[0031] Em contraste, a modificação da cadeia lateral do amino ácido 1 não requer a abertura do anel ciclosporina. Contudo, o amino ácido 1 é associado com a ligação de CyP (em oposição a ligação de calcineurino) e foi modificado para aumentar a eficácia imunosupressora de CsA. Por exemplo, o pedido de patente Norte Americano No. US 6,605,593 revela uma simples modificação do amino ácido 1 que resulta em um análogo CsA com uma potência imunosupressora aumentada.

[0032] Portanto, seria desejável ter uma molécula análoga de ciclosporina (Ciclosporine Analog Molecule = CAM) “CAM” que seja prontamente sintetizada e que seja eficaz no tratamento de doenças mediadas por CyP. Também á algo desejável, proporcionar um análogo CsA que proporcione pelo menos algumas das funcionalidades do CsA nativo, mas que possua propriedades, efeitos ou funções adicionais ou melhoradas em relação ao CsA nativo.

Sumário da Invenção

[0033] De acordo com um aspecto, os compostos da presente invenção compreendem análogos de ciclosporina-A que não são imunosupressores de acordo com a definição aqui fornecida. De acordo com outro aspecto, os compostos têm afinidade para com ciclofilina, incluindo ciclofilina-A. De acordo com outros aspectos, os compostos da presente invenção compreendem análogos de ciclosporina-A que são úteis no que diz respeito a doenças ou condições mediadas por ciclofilina e a terapias em desenvolvimento no que diz respeito a tais doenças e condições.

De acordo com um aspecto, a invenção refere-se a um composto da Fórmula L:



Fórmula L

[0034] Na qual

a. R’ é H ou acetila;

b. R1 é uma cadeia de carbono alifática saturada ou insaturada com uma cadeia linear ou ramificada a partir de 2 a 15 átomos de carbono em comprimento;

c. R2 é selecionado a partir do grupo consistindo em:

i. H;

ii. Uma amida não substituída, N–substituída ou N,N-di substituída;

iii. Um amino N-substituído ou acila não substituído;

iv. um ácido carboxílico;

v. um amino N-substituído ou não substituído;

vi. uma nitrila;

vii. um éster;

viii. uma cetona;

ix. um hidroxi, dihidroxi, trihidroxi, ou alquila polihidroxi; e

x. um arila substituído ou não substituído;

xi. uma cadeia alifática saturada ou insaturada linear ou ramificada opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir de hidrogênio, cetonas, hidroxilas, nitrilas, ácidos carboxílicos, ésteres, 1,3-dioxolanos, halogênios, e oxo;

xii. um grupo aromático contendo um substituinte selecionado a partir do

grupo consistindo em haletos, ésteres e nitro; e

xiii. uma combinação da cadeia alifática saturada ou insaturada linear ou ramificada de (xi) e o grupo aromático de (xii); e

d. R23 é uma cadeia de carbono alifática opcionalmente substituída com uma cadeia saturada ou insaturada linear ou ramificada.

[0035] Em um aspecto, o substituinte R1 - R2 é selecionado a partir do grupo consistindo em:

i.  ;

ii.  ;

iii.  ;

iv.  ;

v.  ;

vi.  ;

vii.  ;

viii.  ;

ix.  ;

x.  ;

xi.  ;

xii.  ;

xiii.  ;

xiv.  ;

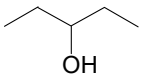
xv.  ;

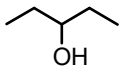
xvi.  ;

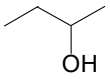
xvii.  ;

xviii.  ;

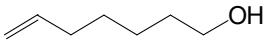
xix.  ;

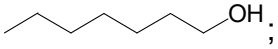
xx.  ;

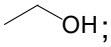
xxi.  ;

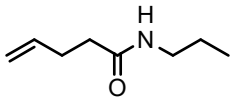
xxii.  ;

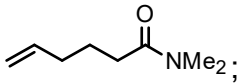
xxiii.  ;

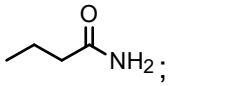
xxiv. 

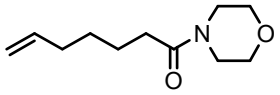
xxv.  ;

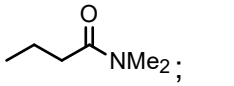
xxvi.  ;

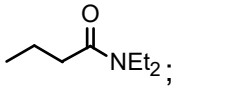
xxvii.  ;

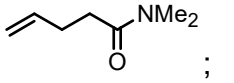
xxviii.  ;

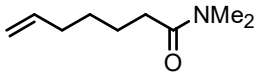
xxix.  ;

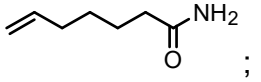
xxx.  ;

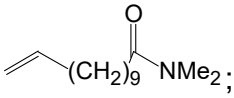
xxxi.  ;

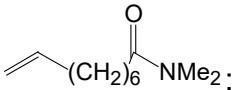
xxxii.  ;

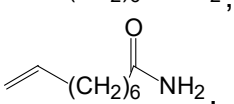
xxxiii.  ;

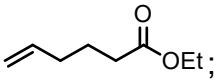
xxxiv.  ;

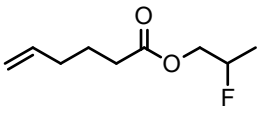
xxxv.  ;

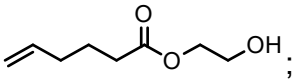
xxxvi.  ;

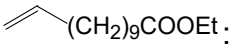
xxxvii.  ;

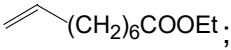
xxxviii.  .

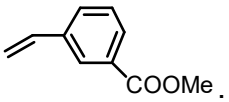
xxxix.  ;

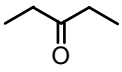
xl.  ;

xli.  ;

xlii.  ;

xliii.  ;

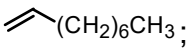
xliv.  .

xlv.  ;

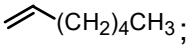
xlvi.  ;

xlvii.  ;

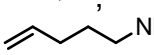
xlviii.  ;

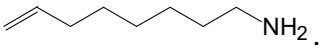
xlix.  ;

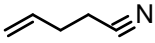
l.  ;

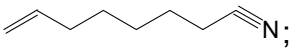
li.  ;

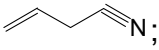
lii.  ;

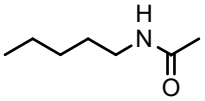
liii.  ;

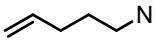
liv.  .

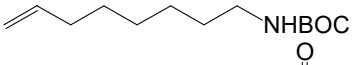
lv.  ;

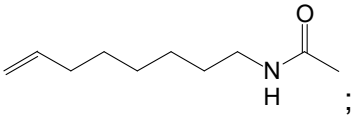
lvi.  ;

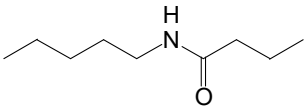
lvii.  ;

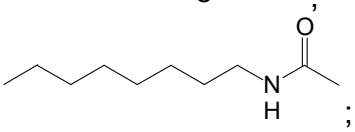
lviii.  ;

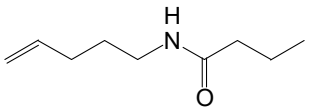
lix.  ;

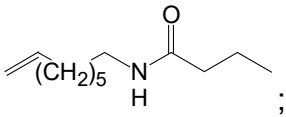
lx. 

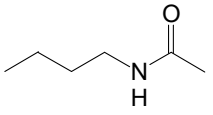
lxi.  ;

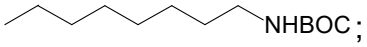
lxii.  ;

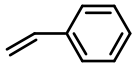
lxiii.  ;

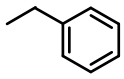
lxiv.  ;

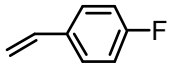
lxv.  ;

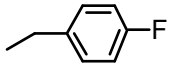
lxvi.  ;

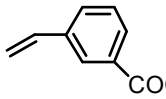
lxvii.  ;

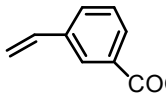
lxviii.  ;

lxix.  ;

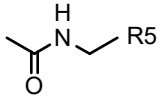
lxx.  ;

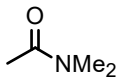
lxxi.  ;

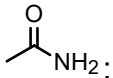
lxxii.  ; e

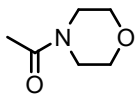
lxxiii.  .

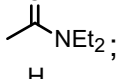
[0036] Em outro aspecto, R2 é selecionado a partir do grupo consistindo em:

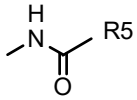
a. 

b.  ;

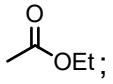
c.  ;

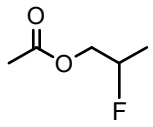
d.  ;

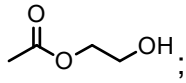
e.  ;

f. 

g.  ;

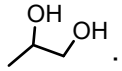
h.  ;

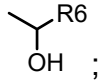
i.  ;

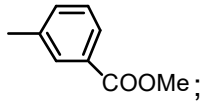
j.  ;

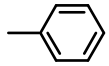
k.  ;

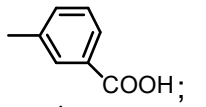
l.  ;

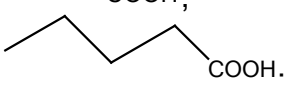
m.  ;

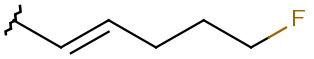
n.  ;

o.  ;

p.  ;

q.  ;

r.  ; e

s.  .

[0037] no qual

i. R5 é uma cadeia alifática de carbono com uma cadeia saturada ou insaturada linear ou ramificada com entre 1 e 10 carbonos de comprimento, e

ii. R6 uma cadeia alifática de carbono mono hidroxilada, di hidroxilada, tri hidroxilada ou poli hidroxilada com uma cadeia saturada ou insaturada, linear ou ramificada com entre 1 e 10 carbono s em comprimento.

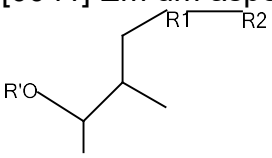
[0038] Em um aspecto, R1 – R2 compreende uma cadeia alifática de carbono com uma cadeia saturada ou insaturada, linear ou ramificada com entre 2 e 5 carbonos opcionalmente substituída com um substituinte selecionado a partir do grupo consistindo em hidrogênio, cetonas, hidroxilas, nitrilas, halogênios, oxo, ácido carboxílicos, ésteres e 1,3-dioxolanos;

[0039] Em um aspecto, R23 é selecionado a partir do grupo consistindo em:

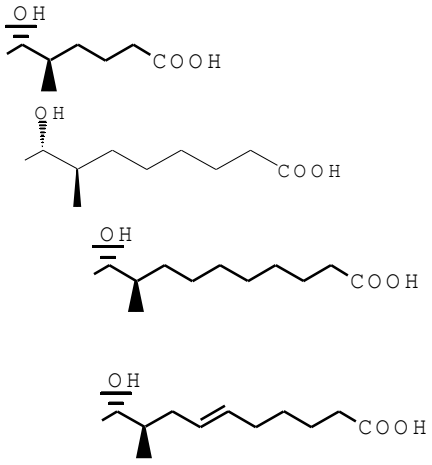
a.	—CH_3
b.	—CH_2CH_3
c.	—CH_2CHCH_2
d.	—$CH_2CH_2CH_2I$
e.	—$(CH_2)_3CH_2I$
f.	—$(CH_2)_3N^+(CH_3)_3$
g.	—CH_2CCH
h.	—CH_2CO_2(t-Bu)
i.	—CH_2Ph
i.	—CH_2OH
k.	—$CH(OH)CH_3$
l.	—CH(OH)(t-Bu)
m.	—CH(OH)Ph
n.	—COOH
o.	—SCH_3
p.	—S(p-Tol)

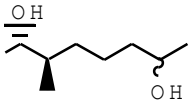
[0040] Em um aspecto, R23 compreende um alquila opcionalmente substituído, incluindo C1 – C3 alquila opcionalmente substituído. O referido alquila pode ser substituído com amino e pode compreender um Ala C1 – C3 no qual o referido composto compreender o epímero. Na referida realização, R23 pode ser MeAla.

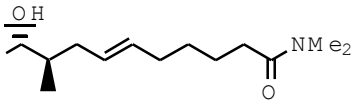
[0041] Em um aspecto, na acima mencionada Fórmula L,

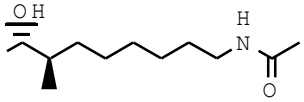


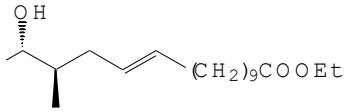
é selecionado a partir do grupo consistindo em:

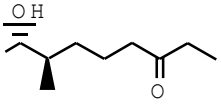


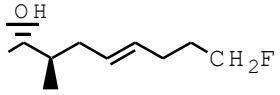




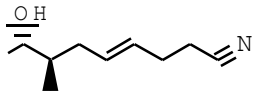








e



.

[0042] Em um aspecto, R23 é uma cadeia alifática de carbono linear ou ramificada com entre 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3 ou 2 carbonos em comprimento.

[0043] Em um aspecto, a invenção refere-se a um método para o tratamento ou para prevenir contra uma doença mediada por ciclosporina em um mamífero compreendendo a administração do composto, conforme aqui descrito, para o mamífero sob condições para tratar a doença ou lesão mediada por ciclosporina, ou

o uso do referido composto ou da referida composição para tratar a referida doença ou lesão, ou o uso do composto para a preparação de um medicamento para o referido uso ou tratamento. A referida doença ou lesão pode ser mediada pela sobre expressão de ciclofilina ou a doença é congênita sobre a expressão de ciclofilina. A referida doença ou lesão mediada por ciclofilina pode ser selecionada a partir do grupo consistindo em:

a Uma infecção viral;

b Doença inflamatória;

c Câncer;

d Distúrbio muscular;

e Distúrbio neurológico; e

f Uma lesão associada com isquemia, reperfusão, perda de homeostase celular de cálcio, perda de homeostase iônica, aumento na produção de radicais livres ou de toxinas que induzem a disfunção mitocondrial;

nas quais a infecção viral é opcionalmente causada por um vírus selecionado a partir do grupo consistindo no Vírus da imunodeficiência humana , hepatite A, hepatite B, Hepatite C, Hepatite D, Hepatite E, SARS-CoV, hCoV-NL63, hCoV-HKU-1, hCoV-OC43, hCOV-229E, vírus coronavirus, vírus de peritonite infecciosa de felino e vírus da gastroenterite transmissível ;

[0044] Nos quais a doença inflamatória é opcionalmente selecionada a partir do grupo consistindo em asma, doença autoimune, inflamação crônica, prostatite crônica, glomerulonefrite, doença de hipersensibilidade, doença inflamatória intestinal, sepse, doença de célula muscular lisa vascular, aneurisma, doença inflamatória pélvica, artrite reumatoide, rejeição a transplante e vasculite;

[0045] Nas quais o câncer é opcionalmente selecionado a partir do grupo consistindo em células pequenas e não pequenas do pulmão, bexiga, hepato celular, pancreático, câncer de mama, glioblastoma, câncer colo retal, carcinoma de célula

escamosa, melanoma e câncer de próstata.

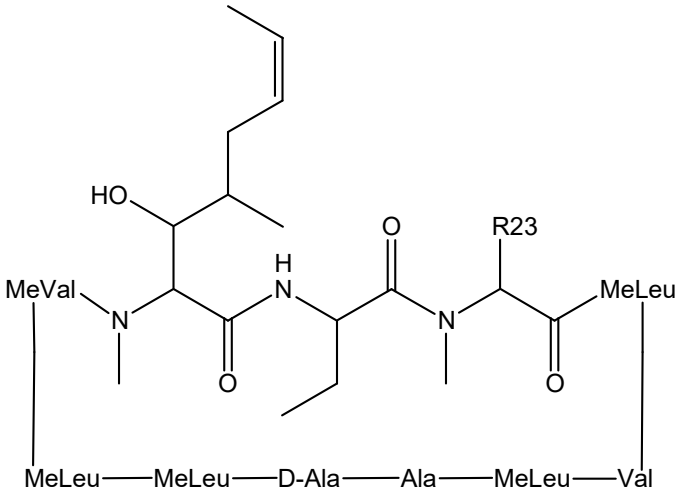
[0046] Nas quais o distúrbio muscular é opcionalmente selecionado a partir do grupo consistindo em lesão de reperfusão mio cardial, distrofia muscular, miopatias de colágeno VI, Síndrome de Parada Pós-Cardíaca (Post-Cardiac Arrest Syndrome = PCAS), falha do coração (falha cardíaca), aterosclerose e aneurisma abdominal aórtica;

[0047] Nas quais o distúrbio neurológico é opcionalmente selecionado a partir do grupo consistindo em doença de Alzheimer, doença de Parkinson, doença de Huntington, atrofia múltipla de sistemas, esclerose múltipla, paralisia cerebral, epilepsia, derrame, neuropatia diabética, esclerose lateral amiotrófica doença de Lou Gehrig), distúrbio bipolar, lesão excito tóxica, encefalopatia hepática, hipoglicemia, toxicidade por manganês, privação de alvo neuronal, ácidos graxos tóxicos tais como ácido araquidônico, lesão de nervos mecânicos, lesão de coluna espinal; e

[0048] Nas quais a lesão associada com a perda de homeostase celular de cálcio é opcionalmente selecionada a partir do grupo consistindo em infarto do miocárdio, derrame, hepato toxidade aguda, colestase e lesão de armazenamento/reperfusão de órgãos de transplante.

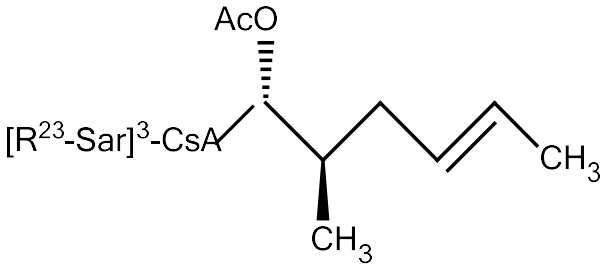
[0049] Em um aspecto, a invenção refere-se a um processo para a preparação de um composto da fórmula L, compreendendo as etapas de:

1) reagir ciclosporina-A (CsA) com uma alquilamida básica de lítio na presença de um solvente adequado, seguido pela reação com um eletrófilo adequado para gerar um composto da fórmula 1:



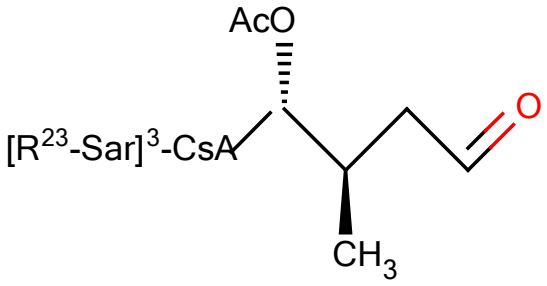
Fórmula 1

2) reagir o composto da Fórmula 1 com AC_2O na presença de um solvente adequado para formar um composto da Fórmula 2A:



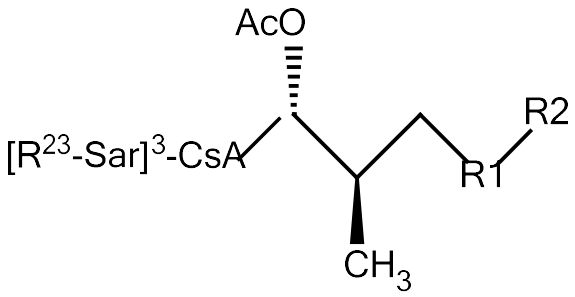
Fórmula 2A

3) Reagir o composto da Fórmula 2A com um oxidante para formar um composto da Fórmula 3A:



Fórmula 3A

4) Reagir o composto da Fórmula 3A com um eletrófilo para formar o composto da Fórmula 4A:



Fórmula 4A

5) opcionalmente, desacilar o composto da Fórmula 4A.

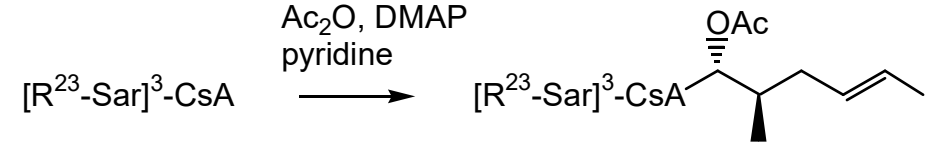
Em um aspecto, a preparação acima mencionada da fórmula L compreende a adição de um excesso de LiCl no referido solvente para formar, predominantemente, o L-epímero da fórmula L, ou a referida preparação da fórmula L é realizada na ausência de LiCl para formar, predominantemente, o D-epímero da fórmula L. A referida alquilamida básica de lítio pode compreender diisopropilamida de lítio.

[0050] Em um aspecto, o referido eletrófilo é selecionado a partir do grupo definido na seguinte tabela para gerar o R23 correspondente, estabelecido na referida tabela:

Eletrófilo	R23
iodeto de metila	$-CH_3$
iodeto de etila	$-CH_2CH_3$
Brometo de alila	$-CH_2CHCH_2$
1,3-diiodopropano	$-CH_2CH_2CH_2I$
1,4-diiodobutano	$-(CH_2)_3CH_2I$
trimetilammonium-3-iodopropano hexafluorofosfato	$-(CH_2)_3N^+(CH_3)_3$
brometo de propargila	$-CH_2CCH$
terc-butila bromoacetato	$-CH_2CO_2$(t-Bu)
brometo de benzila	$-CH_2Ph_2$
formaldeído	$-CH_2OH$
acetaldeído	$-CH(OH)CH_3$
pivalaldeído	$-CH(OH)$(t-Bu)$_3$
benzaldeído	$-CH(OH)Ph$
dióxido de carbono	$-COOH$
disulfeto de dimetila	$-SCH_3$
disulfeto de p-tolila	$-S$(p-Tol)$_4$

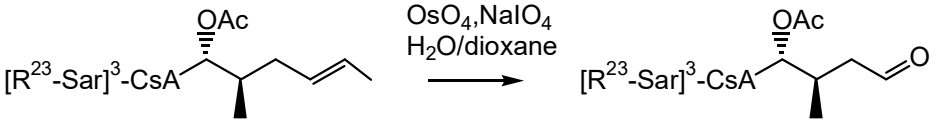
[0051] Em um aspecto, a invenção refere-se a um método para a preparação da fórmula L conforme aqui definido compreendendo as etapas de:

1) reagir um composto da fórmula 1A com dimetilaminopiridino na presença de um solvente adequado, para formar o composto da Fórmula 2:



. **1A** **2**

Opcionalmente seguido pela formação do aldeído de Fórmula 3:

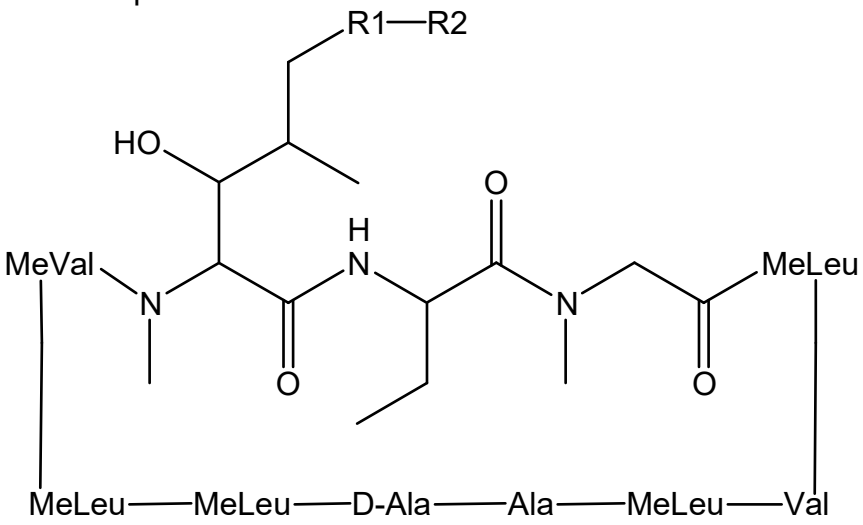


2 **3**

[0052] Opcionalmente seguido por uma reação de Wittig para gerar os compostos da Fórmula L, no qual R23 é selecionado a partir do grupo consistindo em

i.	$-CH_3$;
ii.	$-CH_2CH_3$;
iii.	$-CH_2CHCH_2$;
iv.	$-CH_2CH_2CH_2I$;
v.	$-(CH_2)_3CH_2I$;
vi.	$-(CH_2)_3N^+(CH_3)_3$;
vii.	$-CH_2CCH$;
viii.	$-CH_2CO_2$(t-Bu);
ix.	$-CH_2Ph_2$;
x.	$-CH_2OH$;
xi.	$-CH(OH)CH_3$;
xii.	$-CH(OH)$(t-Bu) $_3$;
xiii.	$-CH(OH)Ph$;
xiv.	$-COOH$;
xv.	$-SCH_3$; and
xvi.	$-S$(p-Tol).

[0053] Em um aspecto, a invenção refere-se a preparação da fórmula L conforme aqui definido compreendendo as etapas de: reagir o composto da fórmula 5 com uma alquilamida básica de lítio, opcionalmente compreendendo diisopropilamida de lítio, na presença de um eletrófilo adequado em um solvente apropriado para formar o composto da fórmula L, na qual R23 compreende um alquila C1 – C3 opcionalmente substituído.



Fórmula 5

[0054] Em geral, para todas as fórmulas químicas reveladas neste documento, “ácido carboxílico” inclui um grupo no qual a metade do ácido carboxílico é conectada a um dos seguintes substituintes:

1. Alquila, o qual pode ser substituído (por exemplo, alquila com 2 a 15 carbonos);

2. alquenila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquenila com 2 a 15 carbonos); e

3. alquinila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquinila com 2 a 15 carbonos).

[0055] Os substituintes do acima descrito pode incluir halogênio (por exemplo, flúor, cloro, bromo, iodo, etc.), nitro, ciano, hidroxi, tiol o qual pode ser substituído (por exemplo, tiol, alquilatio C1-4, etc.), amino o qual pode ser

substituído (por exemplo, amino, mono- alquilamino C1-4, di- alquilamino C1-4, cíclico amino com 5- a 6- membros tais como tetrahidropirrolo, piperazino, piperidino, morfolino, tiomorfolino, pirrolo, imidazolo, etc.), alcoxi C1-4 o qual pode ser halogenado (por exemplo, metoxi, etoxi, propóxi, butóxi, trifluormetóxi, trifluoroetoxi, etc.), alcoxi C1-4 o qual pode ser halogenado (por exemplo, metoximetoxi, metoxietoxi, etoxietoxi, trifluorometoxietoxi, trifluoroetoxietoxi, etc.), formila, alcanoila C2-4 (por exemplo, acetila, propionila, etc.), alquilasulfonila C1-4 (por exemplo, metanosulfonila, etanosulfonila, etc.), e os similares, e o número de substituintes é preferivelmente de 1 a 3 .

[0056] Adicionalmente, os substituintes do “amino o qual pode ser substituído” acima mencionado podem ligar, uns aos outros, para formar um grupo amino cíclico (por exemplo, um grupo o qual é formado pela subtração de um átomo de hidrogênio a partir do anel constituindo o átomo de nitrogênio com um anel de 5 a 6 membros tal como tetrahidropirrolo, piperazino, piperidino, morfolino, tiomorfolino, pirrolo, imidazolo, etc., de tal maneira que um substituinte pode ser fixado ao átomo de nitrogênio, ou aos similares. O grupo de amino cíclico pode ser substituído e os exemplos dos substituintes incluem halogênio (por exemplo, flúor, cloro, bromo, iodo, etc.), nitro, ciano, hidroxi, tiol o qual pode ser substituído (por exemplo, tiol, alquilatio C1-4, etc.), amino o qual pode ser substituído (por exemplo, amino, alquilamino mono-C.sub.1-4, alquilamino di-C1-4, amino com de 5- a 6- membros tais como tetrahidropirrolo, piperazino, piperidino, morfolino, tiomorfolino, pirrolo, imidazolo, etc.), carboxila o qual pode ser esterificado ou amidado (por exemplo, carboxila, alcoxi-carbonila C1-4, carbamoila, alquila-carbamoila mono-C1-4, alquila-carbamoila di-C1-4, etc.), alcoxi C1-4, o qual pode ser halogenado (por exemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butóxi, trifluorometoxi, trifluoroetoxi, etc.), alcoxi C1-4, alcoxi-C.sub.1-4, o qual pode ser halogenado (por exemplo, metoximetoxi, metoxietoxi, etoxietoxi, trifluorometoxietoxi, trifluoroetoxietoxi, etc.), formila, alcanoila C2-4 (por

exemplo, acetila, propionila, etc.), alquilasulfonila C1-4 (por exemplo, metanosulfonila, etanosulfonila), e os similares, e o número de substituintes é preferivelmente de 1 a 3 .

[0057] “Amino” inclui um grupo o qual pode não ser substituído ou no qual a metade de amino é N-substituída ou N,N disubstituído tendo um ou dois substituintes, os quais podem ser independentemente selecionados a partir de:

i. alquila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquila com 2 a 15 carbonos);

ii. alquenila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquenila com 2 a 15 carbonos);

iii. alquinila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquinila com 2 a 15 carbonos);

iv. formila ou acila o qual pode ser substituído (por exemplo, alcanoila de 2 to 4 carbonos (por exemplo, acetila, propionila, butirila, isobutirila, etc.), alquilasulfonila de 1 a 4 carbonos (por exemplo, metanosulfonila, etanosulfonila, etc.) e os similares);

v. arila o qual pode ser substituído (por exemplo, fenila, naftila, etc.); e os similares;

e conectado a um substituinte independentemente selecionado a partir dos substituintes conforme definidos para o “ácido carboxílico” acima mencionado.

[0058] “Amida” inclui um composto no qual o grupo carboxílico da metade do amida é conectado a um substituinte independentemente selecionado a partir dos substituintes conforme acima definido para o “ácido carboxílico”, conectado ao grupo amino da metade da amida que é um N-substituído ou N,N di substituído tendo um ou dois substituintes, respectivamente, o qual pode ser independentemente selecionado a partir de:

1. alquila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquila com 2 a

15 carbonos);

2. alquenila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquenila com 2 a 15 carbonos);

3. alquinila o qual pode ser substituído (por exemplo, alquinila com 2 to 15 carbonos);

4. formila ou acila o qual pode ser substituído (por exemplo, alcanoila com 2 a 4 carbonos (por exemplo, acetila, propionila, butirila, isobutirila, etc.), alquilasulfonila com 1 a 4 carbonos (por exemplo, metanosulfonila, etanosulfonila, etc.) e os similares);

5. arila o qual pode ser substituído (por exemplo, fenila, naftila, etc.); e os similares.

[0059] “Arila” pode ser exemplificado por intermédio de um grupo de hidrocarbonos aromáticos mono cíclico ou poli cíclico fundido e, por exemplo, um grupo arila C 6-14 tal como fenila, naftila, antrila, fenantrila ou acenaftilenila e os similares são os preferidos, com fenila sendo preferido. O referido arila pode ser substituído com um ou mais substituintes, tal como um alcoxi inferior (por exemplo, alcoxi C1-6 tal como metoxi, etoxi ou propoxi, etc.), um átomo de halogênio (por exemplo, flúor, cloro, bromo, iodo, etc.), alquila inferior (por exemplo, alquila C1-6 tal como metil, etil ou propila, etc.), alquenila inferior (por exemplo, alquenila C 2-6 tal como vinila ou alila, etc.), alquinila inferior (por exemplo, alquinila C. 2-6 tal como etinila ou propargila, etc.), amino o qual pode ser substituído, hidroxil o qual pode ser substituído, ciano, amidino o qual pode ser substituído, carboxila, alcoxicarbonila inferior (por exemplo, C1-6 alcoxicarbonila tal como metoxicarbonila ou etoxicarbonila, etc.), carbamoila o qual pode ser substituído (por exemplo, carbamoila o qual pode ser substituído com alquila ou acila C1-6 (por exemplo, formila, alcanoila C 2-6, benzoila, alcoxicarbonila C1-6 o qual pode ser halogenado, alquilasulfonila C1-6 o qual pode ser halogenado, benzenosulfonila, etc.) o qual pode

ser substituído com um grupo hetero cíclico aromático mono cíclico com 5- a 6-membros (por exemplo, piridinila, etc.), 1-azetidinilcarbonila, 1-pirrolidinilcarbonila, piperidinocarbonila, morfolinocarbonila, tiomorfolinocarbonila (o átomo de enxofre pode ser oxidado), 1-piperazinilacarbonila, etc.), ou o similar. Qualquer um destes substituintes pode ser independentemente substituído nas posições de substituição de 1 a 3.

[0060] “Cetona” inclui um composto no qual o grupo carbonila da metade de cetona é conectado a um ou dois substituintes independentemente selecionados a partir de substituintes conforme acima definidos para o “ácido carboxílico”.

[0061] “Éster” inclui tanto um éster carboxílico ou um éster de álcool nos quais o grupo de éster é composto de um ou dois substituintes independentemente selecionados a partir dos substituintes conforme definidos para o “ácido carboxílico” ou “arila”.

[0062] “Alquila”, a não ser que definido de outra maneira, é preferivelmente um alquila de 1 a 15 unidades de carbono em comprimento.

[0063] O “grupo aromático” pode ser exemplificado por arila conforme acima definido, ou um grupo hetero cíclico, mono cíclico aromático com de 5 a 6 membros tal como furila, tienila, pirrolila, oxazolila, isoxazolila, tiazolila, isotiazolila, imidazolila, pirazolila, 1,2,3-oxadiazolila, 1,2,4-oxadiazolila, 1,3,4-oxadiazolila, furazanila, 1,2,3-tiadiazolila, 1,2,4-tiadiazolila, 1,3,4-tiadiazolila, 1,2,3-triazolila, 1,2,4-triazolila, tetrazolila, piridila, piridazinila, pirimidinil, pirazinila, triazinila ou o similar; e com um grupo hetero cíclico aromático fundido com de 8- a 16- membros (preferivelmente 10- a 12- membros).

[0064] “Não imunosupressor(a)” refere-se à habilidade de um composto exibir um nível substancialmente reduzido de supressão do sistema imuno quando comparado com CsA, conforme é medido pela habilidade dos compostos de inibir a proliferação de linfócitos humanos na cultura de células e preferivelmente medido

pelo método estabelecido no Exemplo 19 aqui abaixo.

[0065] “Análogo” significa um análogo estrutural de CsA que difere a partir de CsA em um ou mais grupos funcionais. Preferivelmente, tais análogos preservam pelo menos uma porção substancial da habilidade de CsA para ligar CyP.

[0066] As espécies preferidas da fórmula I são aquelas nas quais R’ é H, R1 é um alquila saturado ou não saturado entre 2 e 15 carbonos em comprimento e R2 é selecionado a partir de:

1. ácido carboxílico compreendendo um grupo carboxílico;
2. Amida N-substituída de amida N,N-disubstituída no qual os substituintes são independentemente selecionados a partir de um H, um alquila com entre 1 e 7 carbonos de comprimento, ou os referidos substituintes formam um anel hetero cíclico do qual o hetero cíclico é selecionado a partir de O, N ou S;
3. um éster com entre 1 e 7 carbonos de comprimento;
4. um alquila mono hidroxilado ou di hidroxilado com entre 1 e 7 carbonos de comprimento;
5. Um amino protegido por acila N-substituído ou não substituído com entre 1 e 7 carbonos de comprimento;
6. uma nitrila;
7. uma cetona no qual o grupo carboxílico da cetona é conectado ao R1 e a cadeia de alquila saturada ou insaturada com entre 1 e 7 carbonos de comprimento;
8. fenila, opcionalmente substituído com um ou mais substituintes independentemente selecionados a partir de dióxido de nitrogênio, um flúor, um amino, um éster ou um grupo carboxila.

[0067] Os compostos da presente invenção podem existir na forma de compostos opticamente ativos. A presente invenção contempla todos os enantiômeros de compostos opticamente ativos dentro do escopo das fórmulas

acima mencionadas, ambos individualmente e nas misturas de racêmicos. Também, a presente invenção inclui as pró-drogas dos compostos aqui definidos.

[0068] De acordo com outro aspecto, os compostos da presente invenção podem ser úteis para o tratamento ou para a prevenção ou para o estudo de uma doença mediada por CyP em um mamífero, preferivelmente em um ser humano. Tais doenças são usualmente mediadas pela sobre expressão de CyP, tal como uma sobre expressão congênita de CyP.

[0069] As doenças mediadas por CyP as quais podem ser tratadas pelos compostos da presente invenção incluem:

a. Uma infecção viral;

b. Doença inflamatória;

c. Câncer;

d. Distúrbio muscular;

e. Distúrbio neurológico; e

f. Uma lesão associada com a perda de homeostase celular de cálcio.

[0070] A referida infecção viral pode ser causada por um vírus selecionado a partir do grupo consistindo no Vírus da Imuno Deficiência Humana, hepatite A, hepatite B, hepatite C, Hepatite D, e Hepatite E. A referida doença inflamatória é selecionada a partir do grupo consistindo em asma, doença autoimune, inflamação crônica, prostatite crônica, glomerulonefrite, doença de hipersensibilidade, doença inflamatória intestinal, sepse, doença de célula muscular lisa vascular , aneurisma, doença inflamatória pélvica, artrite reumatoide, rejeição a transplante e vasculite.

[0071] O referido câncer pode ser selecionado a partir do grupo consistindo em células pequenas e não pequenas do pulmão, bexiga, hepato celular, pancreático, câncer de mama. O referido distúrbio muscular degenerativo pode ser selecionado a partir de lesão de reperfusão mio cardial, distrofia muscular e

miopatias de colágeno VI. O referido distúrbio neurodegenerativo pode ser selecionado a partir do grupo consistindo em doença de Alzheimer, doença de Parkinson, doença de Huntington, Atrofia Múltipla dos Sistemas, Esclerose Múltipla, paralisia cerebral, derrame, neuropatia diabética, esclerose lateral amiotrófica doença de Lou Gehrig), lesão de coluna espinal e lesão cerebral. As referidas lesões associadas com a perda de homeostase celular de cálcio podem ser selecionadas a partir do grupo consistindo em infarto do miocárdio, derrame, hepato toxidade aguda, colestase e lesão de armazenamento/reperfusão de órgãos de transplante.

Descrição Detalhada da Invenção

[0072] De acordo com um aspecto, um composto desta invenção pode ser administrado puro ou com um transportador farmacêutico em um animal de sangue quente com necessidade do mesmo. O transportador farmacêutico pode ser sólido ou líquido. O composto pode ser administrado oralmente, topicamente, parenteralmente, por intermédio de uma inalação borrifada ou de forma retal em unidades de dosagem de formulações contendo transportadores, adjuvantes e veículos farmacêuticos aceitáveis convencionais e farmaceuticamente não tóxicos. O termo parenteral, conforme é aqui usado, inclui injeções subcutâneas, intravenosas, intramusculares, intraexternas ou técnicas de infusão.

[0073] As composições farmacêuticas contendo a mistura inventiva podem ser em uma forma adequada para o uso oral, por exemplo, como comprimidos, cápsulas, pastilhas, suspensões aquosas ou oleosas, pós ou grânulos dispersáveis, emulsões, cápsulas duras ou macias, xaropes ou elixires. As composições intencionadas para o uso oral podem ser preparadas de acordo com os métodos conhecidos na técnica de fabricação de composições farmacêuticas e tais composições podem conter um ou mais agentes selecionados a partir do grupo consistindo em agentes adoçantes, agentes de sabor, agentes de coloração e agentes preservativos com o objetivo de proporcionar uma preparação

farmaceuticamente elegante e palatável. Os comprimidos contendo o ingrediente ativo em uma mistura de adição com os excipientes farmaceuticamente aceitáveis também podem ser fabricados por meio de métodos conhecidos. Os excipientes usados podem ser, por exemplo, (1) diluentes inertes tais como carbonato de cálcio, lactose, fosfato de cálcio ou fosfato de sódio; (2) os agentes de granulação e de desintegração tais como amida de milho, ácido algínico; (3) agentes de ligação tais como amida, gelatina ou acácia e (4) agentes lubrificantes tais como estearato de magnésio, ácido esteárico ou talco. Os comprimidos podem ser não revestidos ou os mesmos podem ser revestidos por meio de técnicas conhecidas para atrasar a desintegração e a absorção no trato gastrintestinal e daí, portanto proporcionar uma ação sustentável por um período de tempo mais longo. Por exemplo, um material de atraso de tempo tal como mono estearato de glicerila ou di estearato de glicerila pode ser empregado. Os comprimidos também podem ser revestidos por meio das técnicas descritas nas patentes norte-americanas Nos. US 4,256,108; 4,160,452; e 4,265,874 para formar comprimidos terapêuticos osmóticos para uma liberação controlada.

[0074] Em alguns casos, as formulações para o uso oral podem ser na forma de cápsulas de gelatina dura nas quais o ingrediente ativo é misturado com um diluente inerte sólido, por exemplo, carbonato de cálcio, forfato de cálcio ou caolin. As mesmas também ser na forma de cápsulas de gelatina macia nas quais o ingrediente ativo é misturado com água ou com um meio oleoso, por exemplo, óleo de amendoim, parafina líquida ou óleo de oliva.

[0075] As suspensões aquosas normalmente contêm o material ativo em misturas adicionais com excipientes adequados para a fabricação das suspensões aquosas. Tais excipientes podem incluir: (1) agentes de suspensão tais como carboximetilacelulose de sódio, metilacelulose, hidroxipropilametilacelulose, alginato de sódio, polivinilapirrolidona, goma de tragacanto e goma de acácia; ou (2) agentes

de dispersão ou de umedecimento os quais podem ser fosfatetos naturalmente ocorrentes tais como lecitina, um produto de condensação de óxido de alquileno com um ácido graxo, por exemplo, estearato de polioxietileno, um produto de condensação de óxido de etileno com uma longa cadeia de alcool alifático, por exemplo, heptadecaetileneoxicetanol, um produto de condensação de óxido de etileno com um éster parcial derivado a partir de um ácido graxo e um hexitol tal como mono oleato de sorbitol polioxietileno, ou um produto de condensação de óxido de etileno com um éster parcial derivado a partir de um ácido graxo e um anidreto de hexitol, por exemplo, mono oleato de sorbitan polioxietileno.

[0076] As suspensões aquosas também podem conter um ou mais preservativos, por exemplo, etil ou n-propila p-hidroxibenzoato; um ou mais agentes de coloração; um ou mais agentes de sabor; e um ou mais agentes adoçantes tais como sucrose, aspartame ou sacarina.

[0077] A suspensão oleosa pode ser formulada por intermédio da suspensão do ingrediente ativo em um óleo vegetal, por exemplo, óleo de araquidina, óleo de oliva, óleo de sésame ou óleo de coco, um óleo de peixe contendo ácido graxo com Omega 3, ou em um óleo mineral tal como parafina líquida. As suspensões oleosas podem conter um agente espessante, por exemplo, cera de abelha, parafina dura ou álcool de cetila. Os agentes adoçantes e os agentes de sabor podem ser adicionados para proporcionar uma preparação oral palatável. Estas composições podem ser preservadas pela adição de um antioxidante tal como ácido ascórbico.

[0078] Os pós e grânulos dispersíveis são adequados para a preparação de uma suspensão aquosa. Os mesmos proporcionam o ingrediente ativo em uma mistura com um agente de dispersão ou de umedecimento, um agente de suspensão e um ou mais preservativos. Os agentes de dispersão ou os agentes de umedecimento são exemplificados por aqueles já acima mencionados. Os excipientes adicionais, por exemplo, aqueles agentes adoçantes, de sabor e de

coloração acima descritos também podem estar presentes.

[0079] As composições farmacêuticas contendo a mistura inventiva também podem ser na forma de emulsões óleo-em-água. A fase oleosa pode ser um óleo vegetal tal como óleo de oliva ou óleo de araquidina ou um óleo mineral tal como parafina líquida ou uma mistura dos mesmos. Os agentes de emulsão adequados podem ser (1) gomas naturalmente ocorrentes tal como goma de acácia e goma de tragacanto, (2) fosfatetos naturalmente ocorrentes tais como feijão de soja e lecitina (3) ésteres ou ésteres parciais 30 derivadas a partir de ácidos graxos e anidretos de hexitol, por exemplo, mono oleato de sorbitan, (4) produtos de condensação das referidas ésteres parciais com óxido de etileno, por exemplo, mono oleato de sorbitan polioxietileno. As emulsões também podem conter agentes adoçantes e de sabor.

[0080] Xaropes e elixires podem ser formulados com agentes adoçantes, por exemplo, glicerol, glicol propileno, sorbitol, aspartame ou sucrose. Tais formulações também podem conter um desemulsificante, um preservativo e, agentes de sabor e de coloração.

[0081] As composições farmacêuticas podem ser na forma de uma suspensão estéril injetável aquosa ou oleagenosa. Esta suspensão pode ser formulada de acordo com métodos conhecidos usando aqueles agentes de dispersão ou de umedecimento adequados ou os agentes de suspensão os quais foram acima mencionados. A preparação estéril injetável também pode ser uma solução ou uma suspensão estéril injetável em um diluente ou um solvente não tóxico pareteralmente aceitável, por exemplo, como uma solução em 1,3-butanodiol. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados se encontram: água, solução de Ringer e solução de cloreto de sódio isotônico. Adicionalmente, óleos estéreis e fixos são convencionalmente empregados como um solvente ou como um meio de suspensão. Para este propósito, qualquer óleo brando e fixo pode

ser empregado incluindo mono ou di glicerídeos sintéticos. Adicionalmente, os ácidos graxos tais como ácido oleico, são usados quando da preparação dos produtos injetáveis.

[0082] O composto inventivo também pode ser administrado na forma de supositórios para uma administração retal da droga. As composições adequadas podem ser preparadas pela mistura do composto com um excipiente não irritante adequado, o qual é sólido em temperaturas ordinárias, mas líquido na temperatura retal e, portanto derreterão no rectum (reto) para liberar a droga. Tais materiais são manteiga de cacau e glicol polietileno.

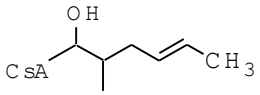
[0083] Para o uso tópico, cremes, unguentos, gelatinas, soluções ou suspensões, etc. adequados, os quais são normalmente usados com ciclosporina podem ser empregados.

[0084] Em uma realização particularmente preferida, uma solução líquida contendo um surfactante, etanol, um solvente lipofílico e/ou anfifílico como ingredientes não ativos é usada. Especificamente, uma fórmula de emulsão oral múltipla contendo a mistura análoga isomérica e os seguintes ingredientes: d-alpha Tocoferila polietileno glicol 1000 succinato (vitamina E TPGS), óleo triglicerídeo de cadeia média (Medium Chain Triglyceride = MCT oil), Tween 40, e etanol é usada. Uma cápsula de gelatina macia (compreendendo gelatina, glicerina, água e sorbitol) contendo o composto e os mesmos ingredientes não medicinais como na solução oral, também pode ser preferencialmente usada.

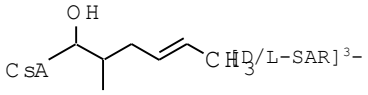
[0085] Contudo, deverá ser subentendido que o nível específico de dose para qualquer paciente em particular dependerá de uma variedade de fatores incluindo a atividade do composto específico empregado, a idade, o peso corporal, a saúde em geral, o sexo, a dieta, o tempo de administração, a rota de administração, a taxa de excreção, a combinação de droga e a natureza e severidade da doença ou condição em particular que estiver sofrendo a terapia.

Metodologia

[0086] As reações estabelecidas aqui abaixo são exemplos gerais das reações químicas capazes de sintetizar os compostos desejados modificados no resíduo de amino ácido 1 (AA1) e no resíduo de amino ácido 3 (AA3) do CsA. As modificações no AA1 são representadas como



E as modificações no AA3 são representadas como



[0087] Ambas as modificações no AA1 e no AA3 usam reagentes que têm as propriedades químicas requeridas, e deveria ser subentendido pó um indivíduo com especialização na técnica que substituições de certos reagentes podem ser feitas.

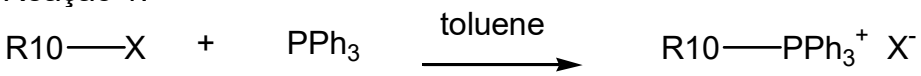
[0088] A identidade e a pureza dos compostos preparados foram geralmente estabelecidas por meio de metodologias incluindo espectrometria de massa, espectroscopia HPLC e NMR. O espectro de massa (ESI – MS) foi medido com um sistema Hewlett Packard 1100 MSD. O espectro NMR foi medido com um espectrômetro Varian Mercury Plus 400 MHz em solventes deuterados (DMSO para sais de fosfônio, benzeno para todos os outros compostos). Fase reversa analítica e preparativa HPLC foi realizada com um sistema Agilent 1100 Series.

Síntese dos Compostos de Sal de Fosfônio

[0089] Os sais de fosfônio foram preparados através da reação de trifenilafosfino ou quaisquer outros fosfinos adequados com haletos de alquila (R-X; X = Cl, Br, ou I). Os haletos de alquila adequados são quaisquer haletos alifáticos primários ou quaisquer haletos alifáticos secundários com qualquer comprimento de cadeia ou pso molecular. Estes haletos de alquila podem ser ramificados ou não ramificados, saturados ou não saturados.

[0090] Se a reação é realizada em tolueno (Reação 1), o produto precipita diretamente a partir da solução de reação. Contudo, os substratos não reagentes requerem um solvente mais polar como dimetilaformamida (DMF) (Reação 2) para reduzir os tempos de reação e para atingir produções satisfatórias.

Reação 1:



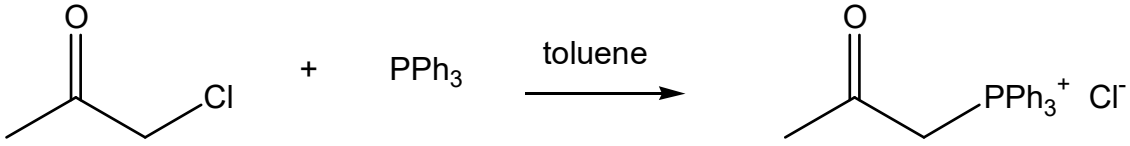
Fórmula V

(na fórmula acima tolueno)

Fórmula V

[0091] Onde X é um haleto (incluindo, mas não limitado a Cl, Br,e I) e R10 é uma cadeia alifática saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de cetonas, hidroxilas, nitrilas, ácidos carboxílicos, ésteres e 1,3-dioxolanos; um grupo aromático, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de haletos, ésteres e nitro; ou uma combinação das cadeias alifáticas saturadas ou insaturadas, lineares ou ramificadas e dos grupos aromáticos acima mencionados.

Exemplo 1. Síntese de 404-15

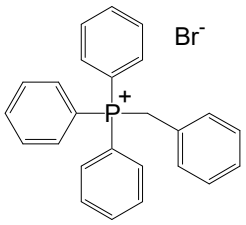
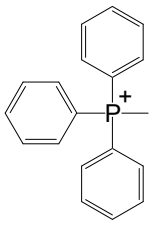
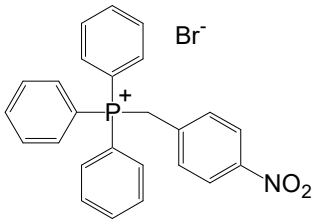
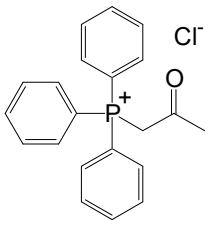
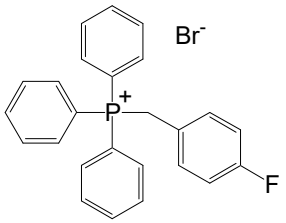
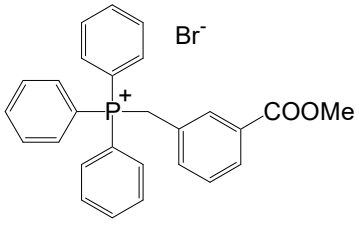


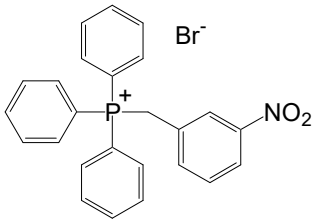
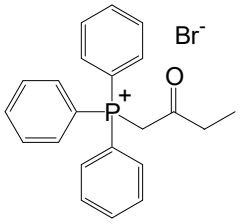
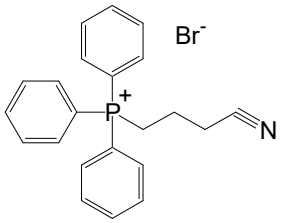
(na fórmula acima toluene = tolueno)

[0092] Como um exemplo ilustrativo, trifenilafosfino (13 mmol) é dissolvido em 50 mL de tolueno e cloro acetona (10 mmol) é adicionado para fornecer uma solução clara. A reação é misturada sob refluxo por toda a noite. Um material sólido incolor é filtrado, é lavado com tolueno e hexano e é seco à vácuo.

[0093] Usando a Reação 1, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

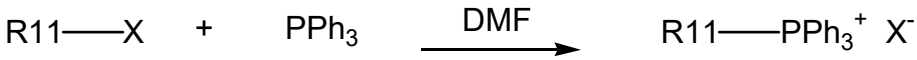
Composto	Reagente (R10-X)	Condições
404-08	brometo de benzila	4 horas sob refluxo

		
404-09	iodeto de metila	RT durante a noite
		
404-12	4-nitrobrometo de benzila	6 horas sob refluxo
		
404-15	Cloro acetona	Refluxo durante a noite
		
404-64	4-fluorobrometo de benzila	Refluxo durante a noite
		
404-77	metil 3-bromometilbenzoato	6 horas sob refluxo
		
404-87	3-nitrobrometo de benzila	6 horas sob refluxo

		
404-161	1-bromo-2-butanono	RT durante a noite
		
404-170	4-bromobutironitrila	refluxo durante a noite
		

[0094] Alternativamente, sais de fosfônico adequados podem ser sintetizados através da Reação 2 conforme abaixo ilustrado:

Reação 2:



Fórmula VI

[0095] Onde X é um haleto (incluindo, mas não limitado a Cl, Br,e I) e R10 é uma cadeia alifática saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de cetonas, hidroxilas, nitrilas, ácidos carboxílicos, ésteres e 1,3-dioxolanos; um grupo aromático, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de haletos, ésteres e nitro; ou uma combinação das cadeias alifáticas saturadas ou insaturadas, lineares ou ramificadas e dos grupos aromáticos acima mencionados.

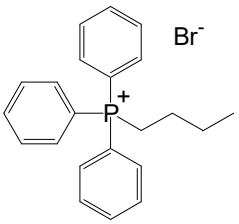
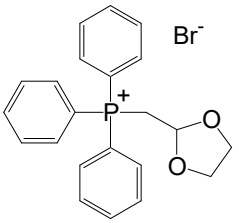
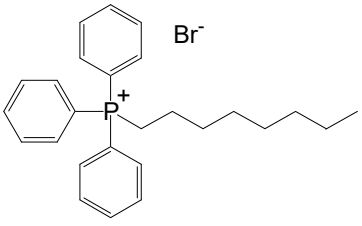
Exemplo 2: Síntese de 404-51

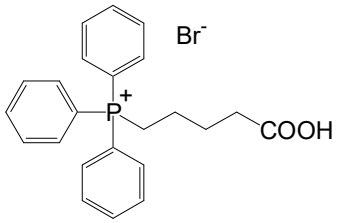
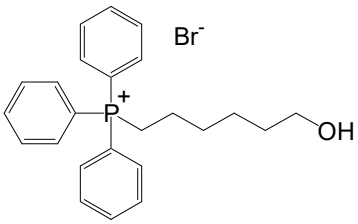
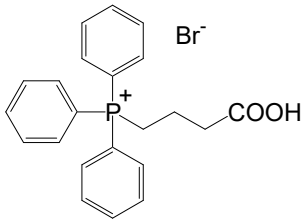
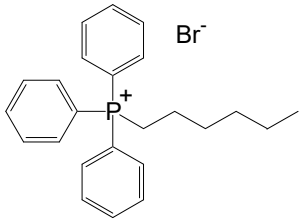
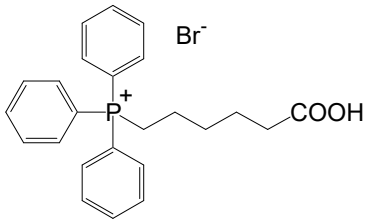
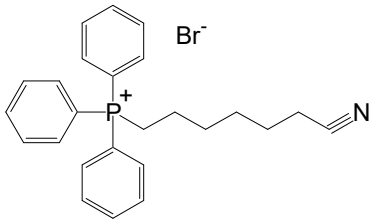


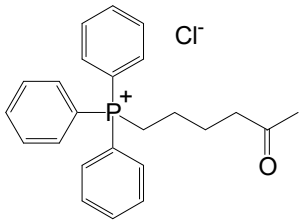
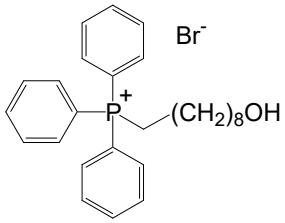
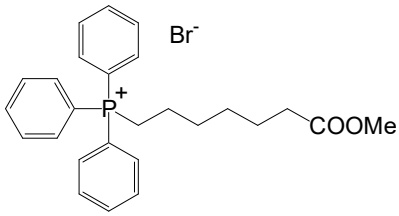
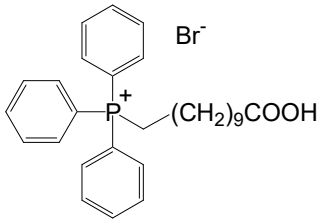
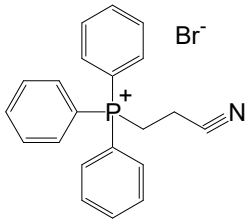
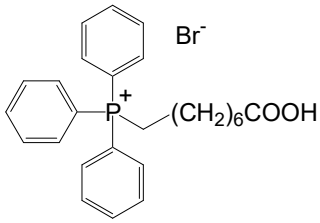
[0096] Como um exemplo ilustrativo, trifenilafosfino (11 mmol) é dissolvido em 10 mL de DMF e ácido 4-bromobutírico (10 mmol) é adicionado. A reação é misturada por 7 horas a 110º C e então e permitido que resfrie durante a noite. Cinquenta mL de tolueno são adicionados e um material sólido, cristalino e incolor é coletado por meio de filtração. O produto é lavado com tolueno e hexano e é seco a vácuo durante a noite.

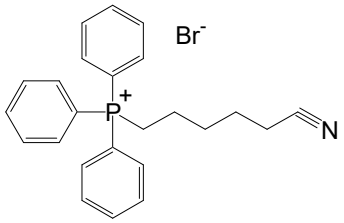
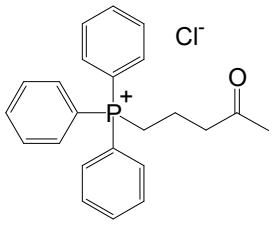
[0097] Se a cristalização não assenta/é estabelecida depois do tratamento com tolueno, o produto é extraído com 20 mL de MeOH/H_2O (mistura de 1:1). A fase aquosa é lavada com tolueno e hexano e é levada a uma secagem. O resíduo é misturado com 50 mL de acetato de etila (EtOAc) a uma temperatura de refluxo por 20 – 30 minutos. Se um material sólido cristalino é obtido, o produto é coletado por filtração, é lavado com EtOAc e hexano e é seco. No caso do produto obtido ser um óleo ou uma goma, o EtOAc é decantado e o produto remanescente é seco à vácuo.

[0098] Usando a Reação 2, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

Composto	Reagente (R11-X)	Condições
404-14 	1-bromobutano	6.5 horas a 120 °C
404-29 	2-bromometil-1,3-dioxolano	120 °C durante a noite
404-34 	1-bromo octano	110 °C durante a noite

404-51 	Ácido bromovalérico	5-8 horas a 120 °C		
404-78 	6-bromohexanol	110 °C durante a noite	94	6 horas sob refluxo
404-116 	ácido 4-bromobutírico	7 horas a 110 °C		
416-01 	1-bromohexano	110 °C durante a noite		
416-02 	Ácido bromohexanoico	6-110 °C durante a noite		
419-132 	7-bromoheptanonitrila	110 °C durante a noite		

419-134		6-cloro-2-hexanono	110 °C durante a noite
419-136		9-bromo-1-nonanol	110 °C durante a noite
420-32		metil 7-bromohexanoato	110 °C durante a noite
420-78		Ácido 11-bromoundecanoico	110 °C durante a noite
420-80		3-bromopropionitrila	110 °C durante a noite
420-82		Ácido 8-bromo octanoico	110 °C durante a noite
420-90		6-bromohexanonitrila	110 °C durante a noite

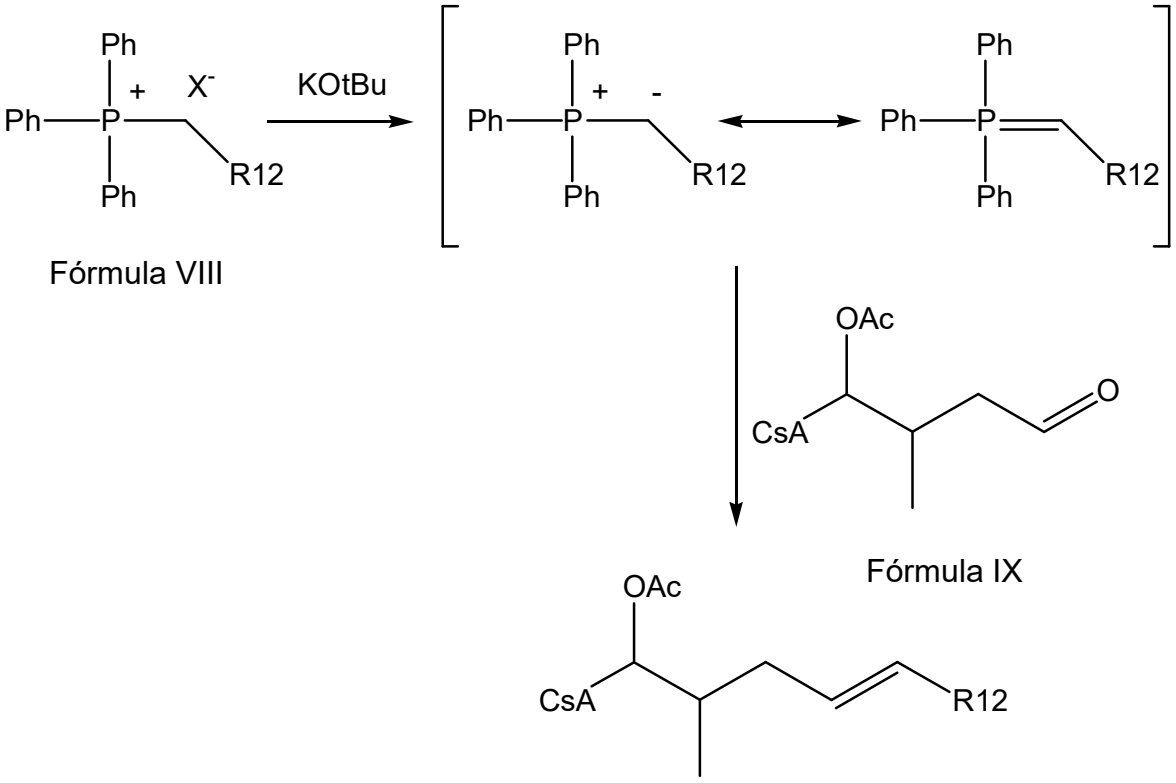
			
420-94		5-coloro-2-pentanono	110 °C durante a noite
			

Reação de Wittig

[0099] A reação de Wittig é geralmente aplicável a uma ampla variedade de substratos e reagentes. A cadeia lateral, a qual é introduzida ao substrato na reação, pode representar qualquer número de compostos alifáticos ramificados ou não ramificados, saturados e não saturados com um comprimento variável (R') e pode conter uma grande variedade de grupos funcionais.

[00100] Na reação de Wittig a base, tal como terc-butóxido de potássio (KOtBu), é usada para gerar um ileto a partir de um sal de fosfônio. O ileto reage com o grupo carbonila do substrato, CsA-aldeído, para formar um alqueno. Os sais de fosfônio contendo uma cadeia lateral de ácido carboxílico requerem pelo menos dois equivalentes de base para gerar o ileto.

[00101] Reação 3: Síntese de um análago intermediário de Ciclosporine Acetilado usando um composto de Sal de Fosfônio através de uma Reação de Wittig



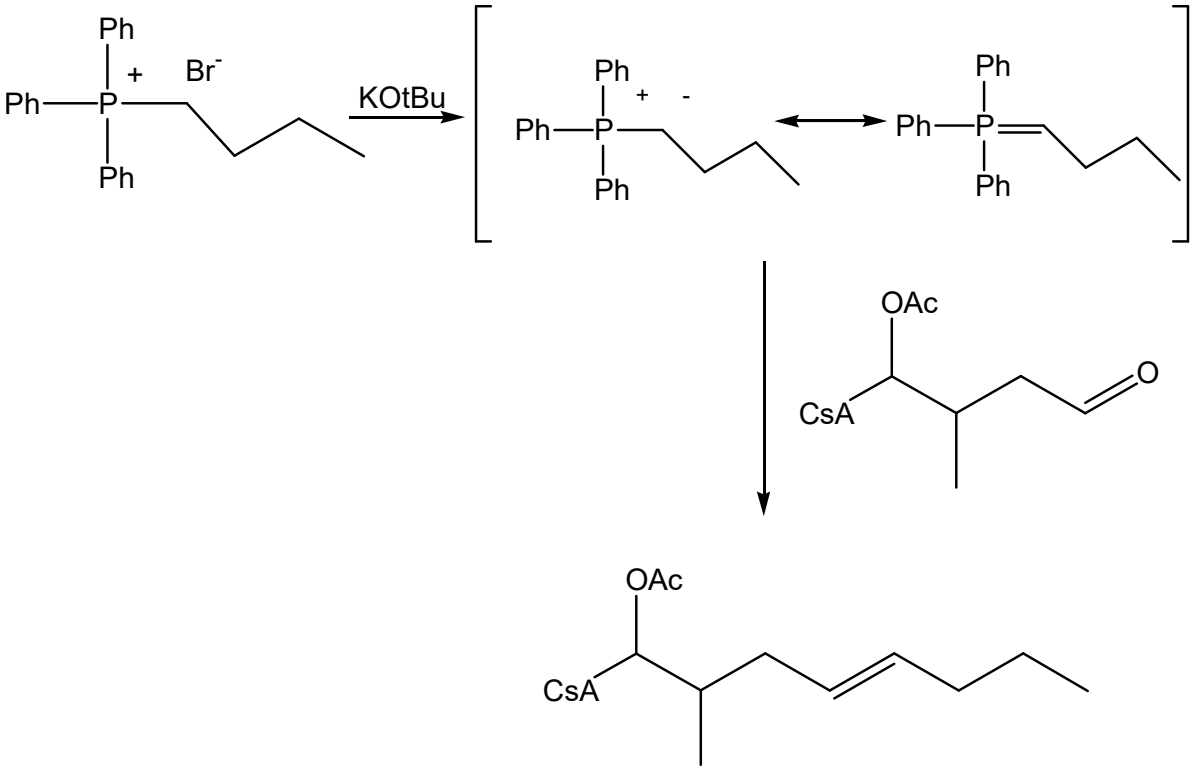
Fórmula VIII

Fórmula IX

Fórmula X

[00102] Onde X é um haleto (incluindo, mas não limitado a Cl, Br,e I) e R12 é uma cadeia alifática saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de cetonas, hidroxilas, nitrilas, ácidos carboxílicos, ésteres e 1,3-dioxolanos; um grupo aromático, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de haletos, ésteres e nitro; ou uma combinação das cadeias alifáticas saturadas ou insaturadas, lineares ou ramificadas e dos grupos aromáticos acima mencionados.

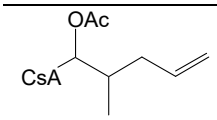
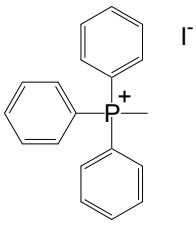
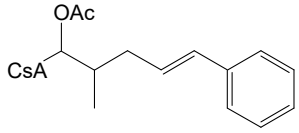
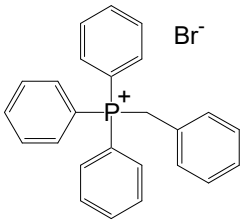
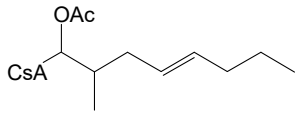
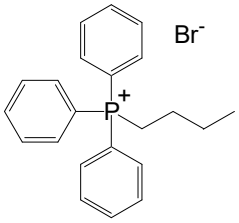
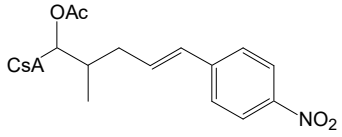
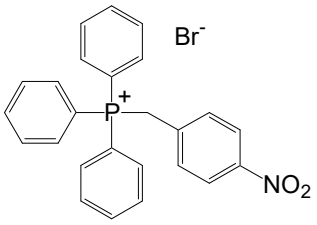
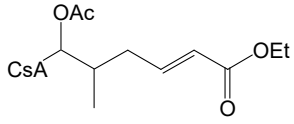
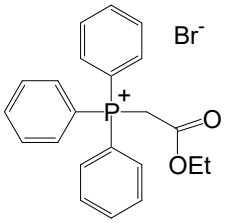
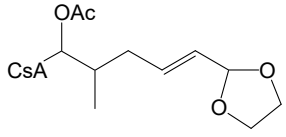
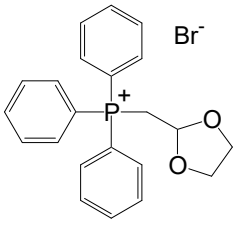
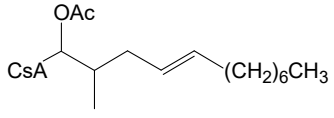
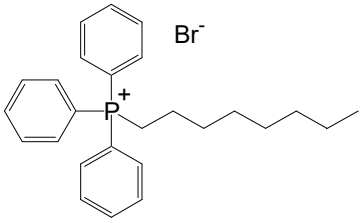
Exemplo 3: Síntese do Composto 404-20 usando um Composto de Sal de Fosfônio através de uma Reação de Wittig:

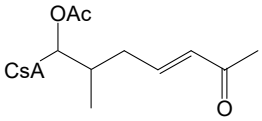
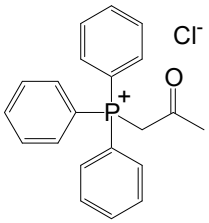
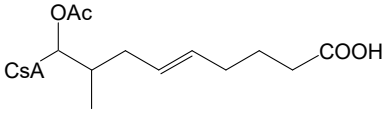
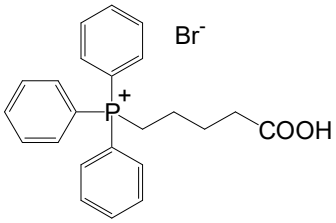
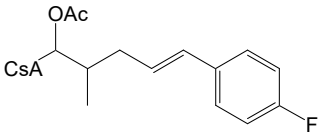
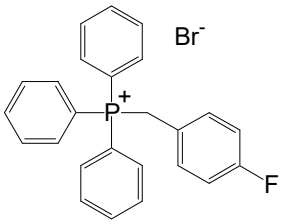
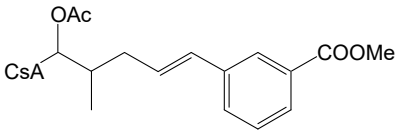
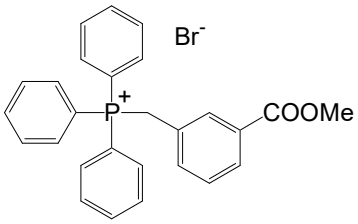
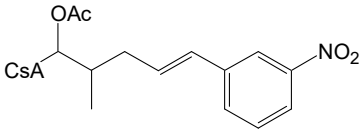
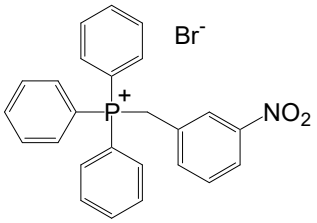
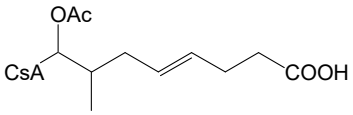
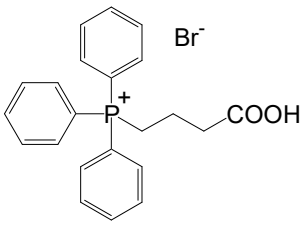


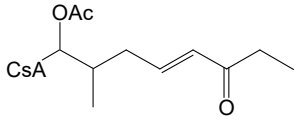
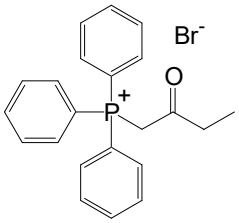
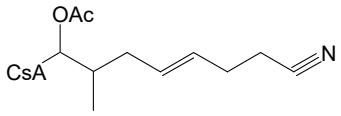
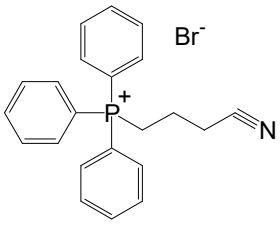
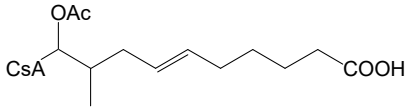
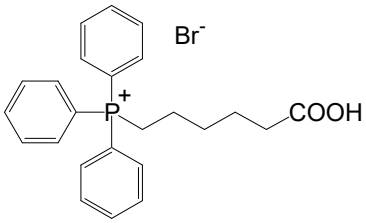
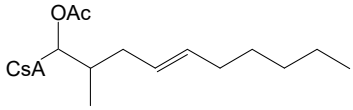
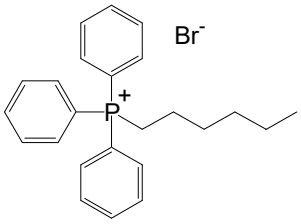
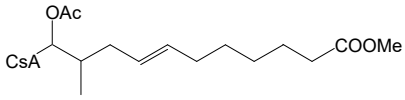
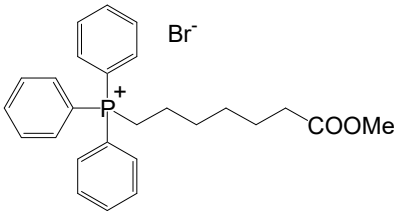
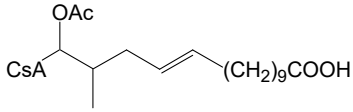
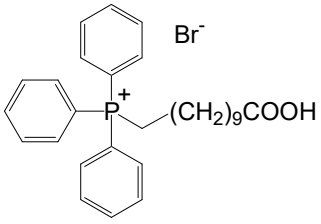
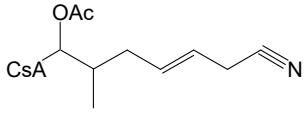
[00103] Como um exemplo ilustrativo, um frasco de 250 mL seco no forno é carregado sob uma atmosfera de argônio com brometo de trifenilabutilafosfônio (6.0 mmol) e 40 mL de tetrahidrofurano anídrico (THF). A suspensão é resfriada até 0º C e terc-butóxido de potássio (6.0 mmol) é adicionado para obter uma coloração laranja. A reação é misturada em temperatura ambiente por 1 – 2 horas, seguido pela adição de CsA-Aldeído (2.0 mmol, dissolvido em 20 mL de THF anídrico). A mistura é continuada por 3 horas em temperatura ambiente. A reação é resfriada e abafada com 10 mL NH_4Cl sat. e com 20 mL de água gelada. As camadas são separadas e a fase aquosa é extraída com EtOAc. As camadas orgânicas são combinadas, são lavadas com salmoura e secas sobre Na_2SO_4. O solvente é removido e o produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/acetona 3:1).

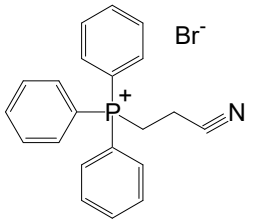
[00104] Usando a reação 3, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

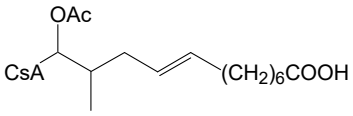
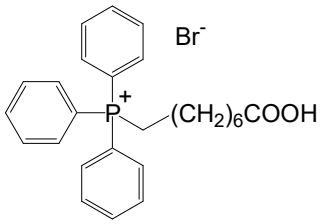
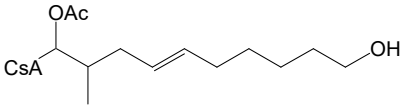
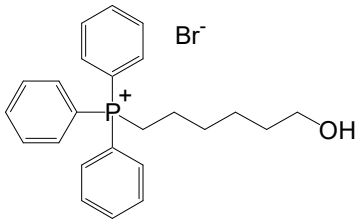
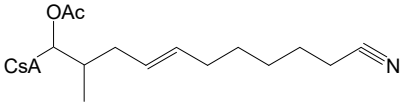
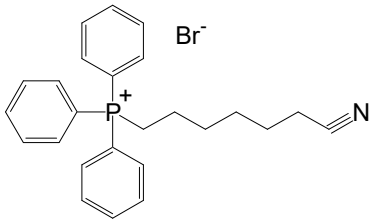
Composto	Material de Disparo	MS (Na^+)	Observações
404-16	404-09	1252.9	

			
404-19	404-08	1328.9	
			
404-20	404-14	1294.9	
			
404-30	404-12	1373.9	Misturado a 60 °C durante a noite
			
404-31		1324.9	misturado a 60 °C por 2 dias
			
404-33	404-29	1325.0	
			
404-40	404-34	1351.2	
			

404-43 	404-15 	1295.1	misturado em refluxo por 10 dias
404-59 	404-51 	1338.9	2 eq de KOtBu
404-65 	404-64 	1347.1	
404-79 	404-77 	1386.9	misturado a TA durante a noite
404-89 	404-87 	1374.1	misturado a TA por 2 dias
404-134 	404-116 	1325.0	2 eq de KOtBu; misturado a TA por 2 dias
404-163	404-161	1308.8	misturado em refluxo por 15 dias

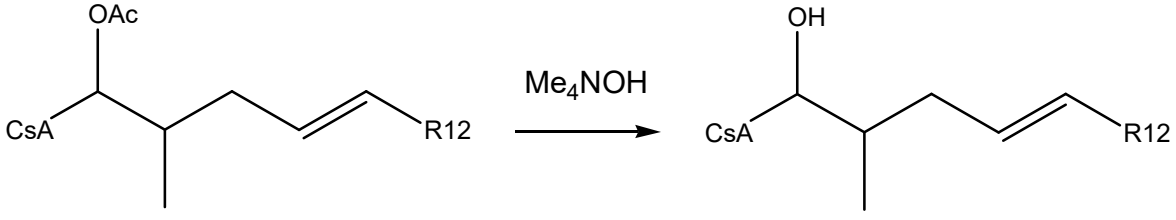
			
404-187	404-170	1305.9	misturado em TA durante a noite
			
416-04	416-02	1353.0	2 eq de KOtBu
			
416-09	416-01	1323.1	
			
420-40	420-32	1381.0	misturado em TA durante a noite
			
420-85	420-78	1423.1	2 eq de KOtBu
			
420-89	420-80	1291.9	
			



420-92 	420-82 	1381.1	2 eq de KOtBu
420-96 	404-78 	1338.9	
420-101 	419-132 	1347.9	

Desacetilação

Reação 4: Desacetilação de Análogos de Ciclosporina Acetilado

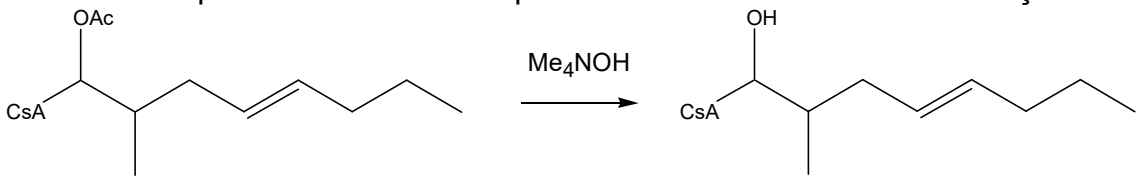


Fórmula X Fórmula XI

[00105] Onde R12 é uma cadeia alifática saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de cetonas, hidroxilas, nitrilas, ácidos carboxílicos, ésteres e 1,3-dioxolanos; um grupo aromático, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de

haletos, ésteres e nitro; ou uma combinação das cadeias alifáticas saturadas ou insaturadas, lineares ou ramificadas e dos grupos aromáticos acima mencionados.

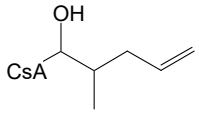
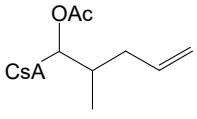
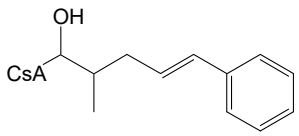
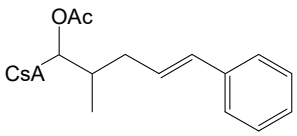
Exemplo 4: Síntese de Composto 404-90 através da Desacetilação

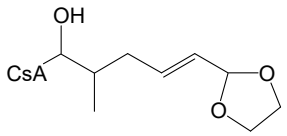


[00106] Como um exemplo ilustrativo, uma solução de 404-20 (0.16 mmol) em 10 mL de MeOH é combinada com pentahidrato de tetrametilamôniohidroxido (0.47 mmol) em 2 mL H_2O. A mistura é misturada em temperatura ambiente por 2 dias. A reação é concentrada à vácuo e 5 mL de H_2O são adicionados. A reação é extraída com EtOAc, o extrato é lavado com salmoura, é seco sobre Na_2SO_4, e é concentrado para a secagem. O produto cru bruto é purificado por fase reversa de HPLC preparativo.

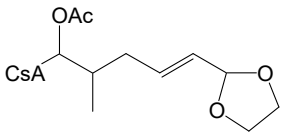
[00107] A purificação de compostos desacetilados é geralmente realizada sobre gel de sílica (hexano/acetona 2:1) ou por HPLC preparativo. No caso de compostos 404-60, 404-137, 416-08, 420-98 e 420-100 (ácido carboxílicos), a reação é acidificada até um pH 2 – 3 com 1 M HCL antes da extração.

[00108] Usando a reação 4, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

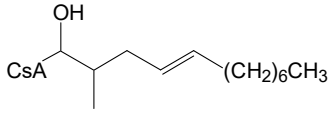
Composto	Material de disparo	MS (Na^+)
404-22	404-16	1210.9
		
404-25	404-19	1287.0
		
404-36	404-33	1283.0

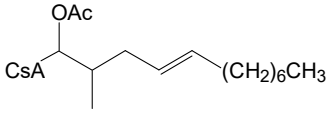


404-44

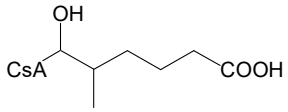


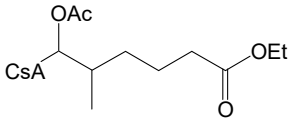
404-40 1309.1



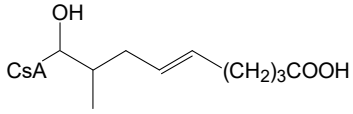


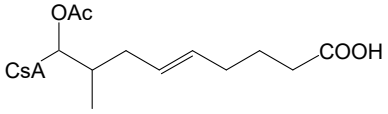
404-58 404-57 1257.1



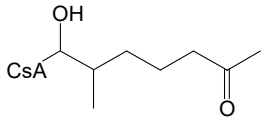


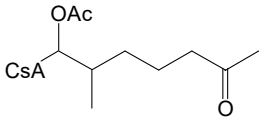
404-60 404-59 1297.1



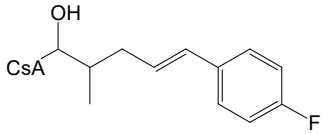


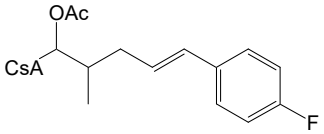
404-61 404-56 1255.1



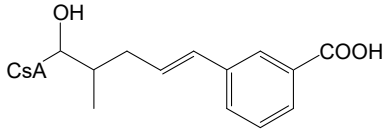


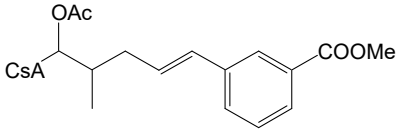
404-66 404-65 1305.1



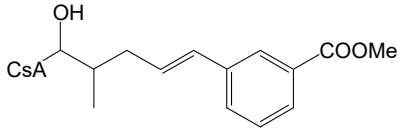


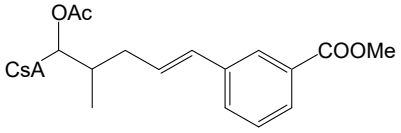
404-81-1 404-79-1 1331.1



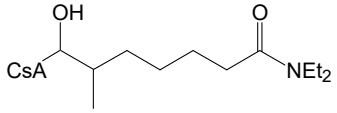


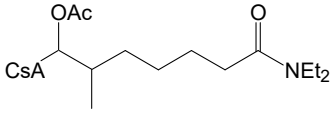
404-81-2 404-79-1 1345.1



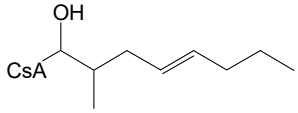


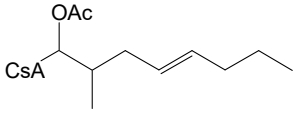
404-85 404-83 1326.2



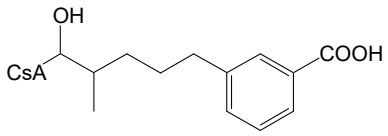


404-90 404-20 1253.0

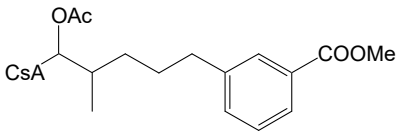




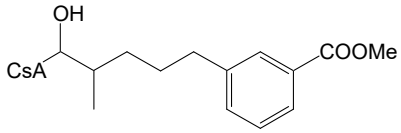
404-96-1 404-94 1333.0



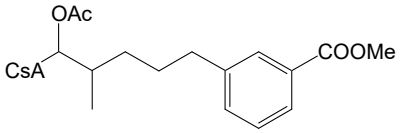
404-96-2



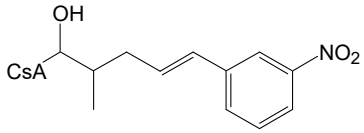
404-94 1347.0



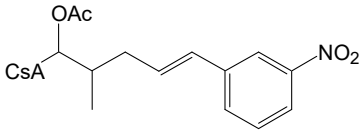
404-97



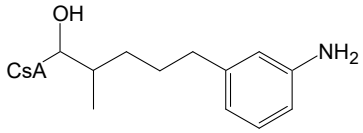
404-89 1331.9



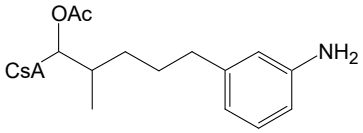
404-125



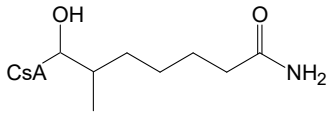
404-120 1304.0



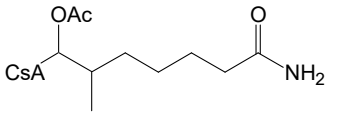
404-130



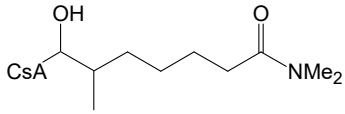
404-128 1270.1



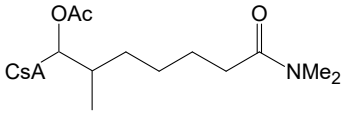
404-132



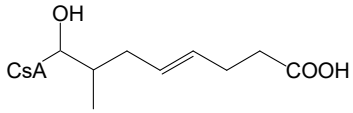
404-129 1298.0



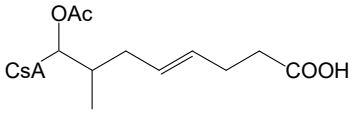
404-137



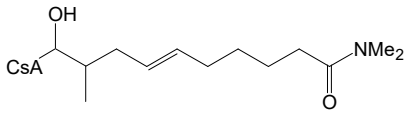
404-134 1283.0



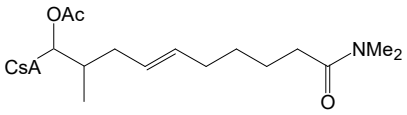
404-154



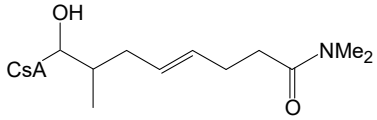
404-150 1338.1



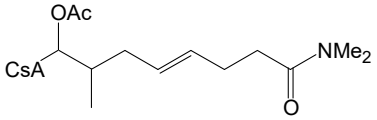
404-157



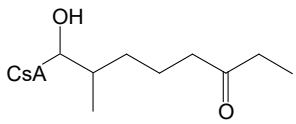
404-155 1310.0



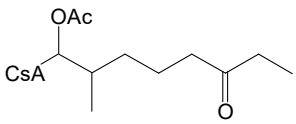
404-173



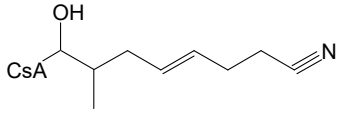
404-172 1268.9

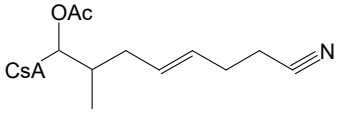


404-194

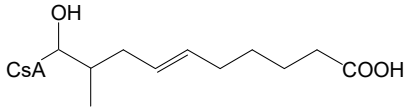


404-187 1263.9

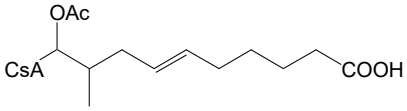




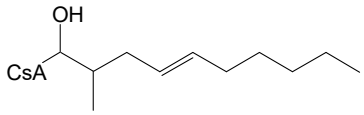
416-08



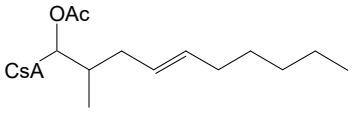
416-04 1311.0



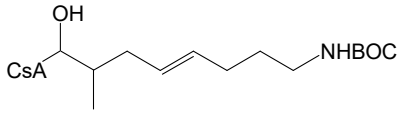
416-13



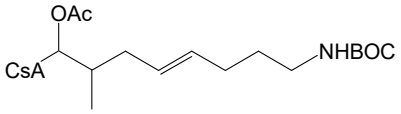
416-09 1281.1



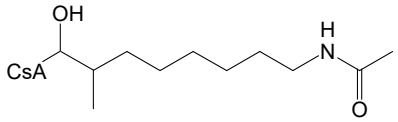
420-17



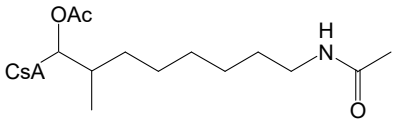
420-08-1 1368.0



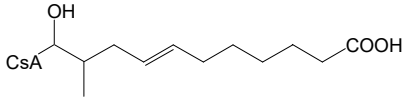
420-30-1



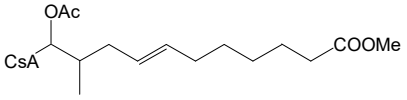
420-27 1312.0



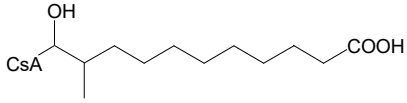
420-43



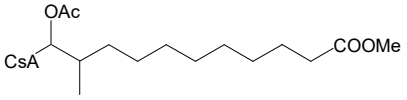
420-40 1324.9



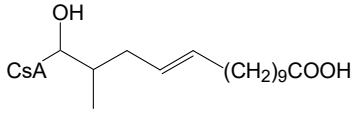
420-47



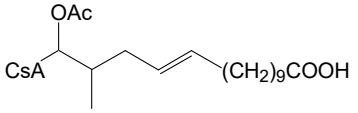
420-46 1327.0



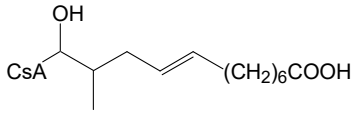
420-98



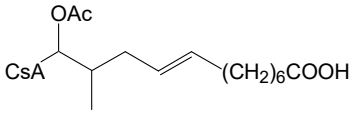
420-85 1381.1



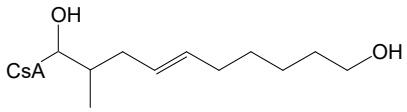
420-100



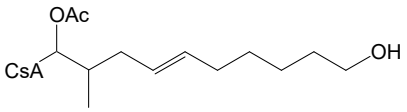
420-92 1339.1



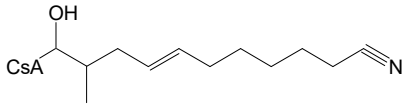
420-102



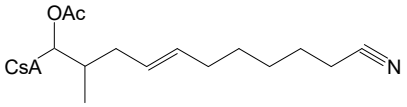
420-96 1297.0



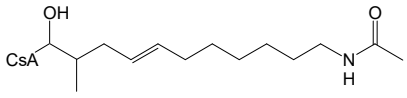
420-108



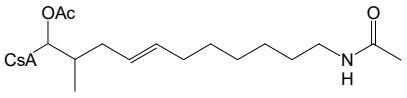
420-101 1305.9



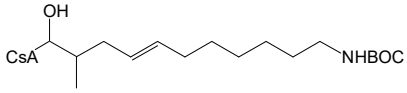
420-117



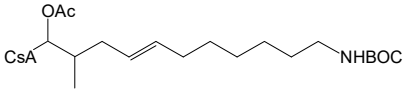
420-109-1 1352.1

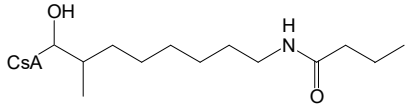
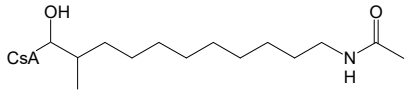
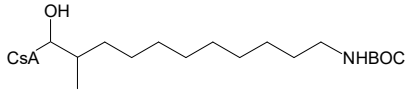
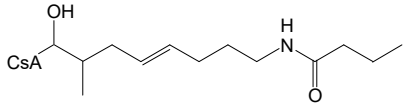
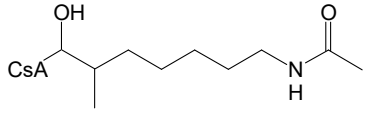
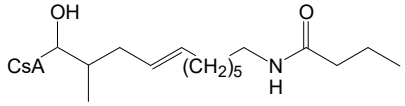


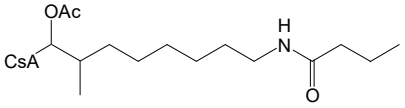
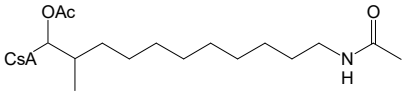
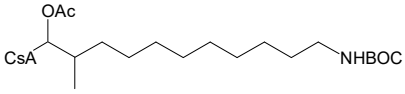
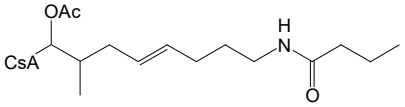
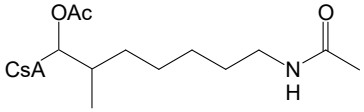
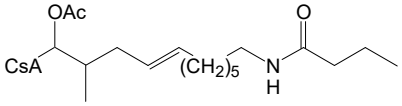
420-120



420-110-1 1410.0



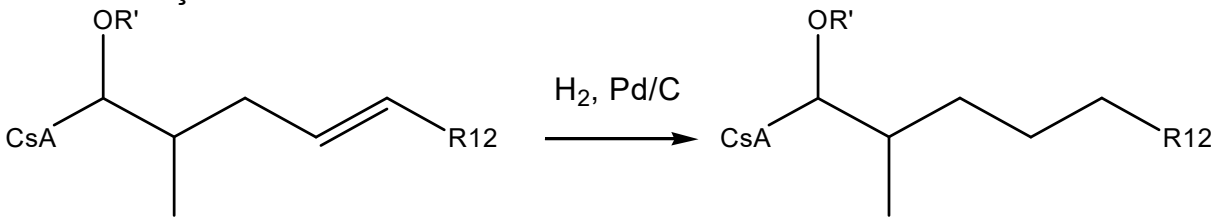
420-122		1340.0
420-124		1354.0
420-125		1412.0
420-126		1337.9
420-131		1297.9
420-132		1380.0

420-107-2		
420-109-2		
420-110-2		
420-107-1		
420-130		
420-128-1		

Hidrogenização da Ligação Dupla

[00109] A ligação dupla pode ser hidrogenada sobpressão atmosférica para obter a cadeia lateral saturada. Os grupos funcionais tais como hidroxila, carbonila e carboxila são estáveis sob estas condições e não requerem proteção. R' representa tanto um grupo acetila ou hidrogênio. No caso de compostos carbonila α,β-não saturados, a ligação dupla tem que ser reduzida antes da desacetilação para evitar a ciclização através de uma adição nucelofílica do grupo livre de hidroxi sobre a ligação dupla ativada.

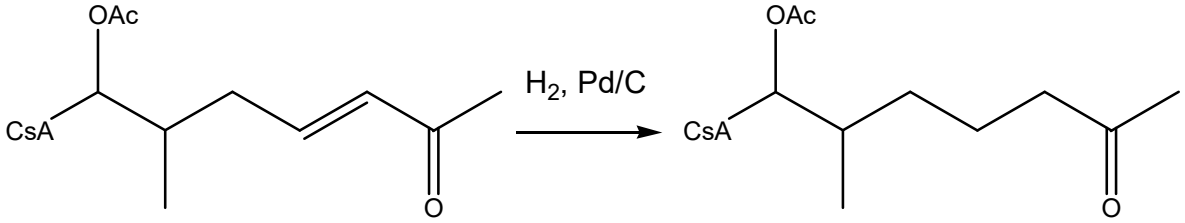
Reação 5:



Fórmula XII Fórmula XIII

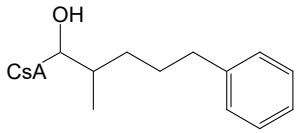
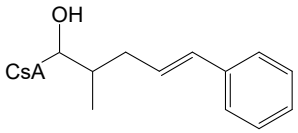
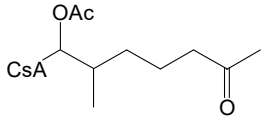
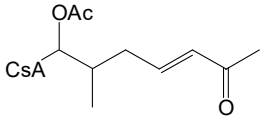
[00110] Onde R12 é uma cadeia alifática saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de cetonas, hidroxilas, nitrilas, ácidos carboxílicos, ésteres, amidas, aminos protegidos por acila e 1,3-dioxolanos; um grupo aromático, opcionalmente contendo um substituinte selecionado a partir do grupo de haletos, ésteres e nitro; ou uma combinação das cadeias alifáticas saturadas ou insaturadas, lineares ou ramificadas e dos grupos aromáticos acima mencionados, e R' é tanto um H ou um grupo acetila. .

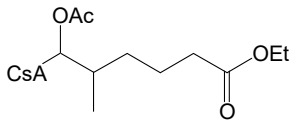
Exemplo 5: Síntese de 404-56:

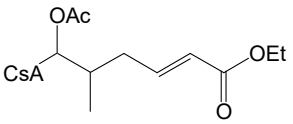


[00111] Como um exemplo ilustrativo, 404-43 (0.34 mmol) é dissolvido em 40 mL de EtOH anídrico e 43 mg Pd/C (10 %) e 0.2 mL de ácido acético são adicionados. A mistura é misturada sob-hidrogênio em pressão atmosférica por 2 dias. A reação é filtrada através de Celite e é concentrada a vácuo. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

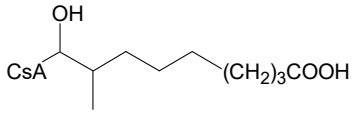
[00112] Usando a reação 5, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

Composto	Material de disparo	MS (Na^+)
404-50	404-25	1289.1
		
404-56	404-43	1297.0
		
404-57	404-31	1327.1

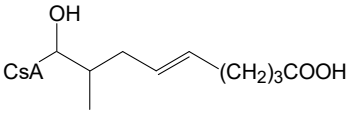




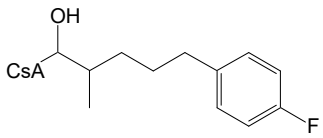
404-63



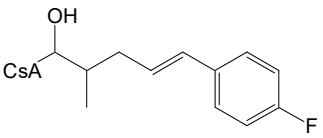
404-60 1299.1



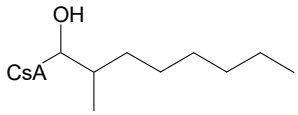
404-74



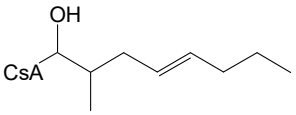
404-66 1307.1



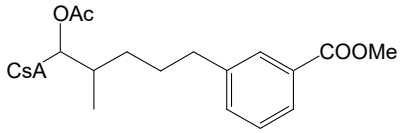
404-92



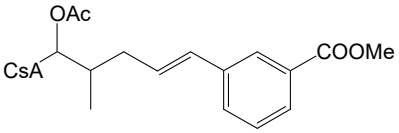
404-90 1255.1



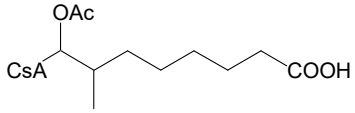
404-94



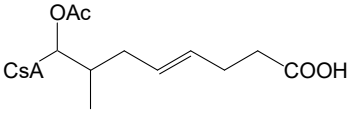
404-79 1388.9



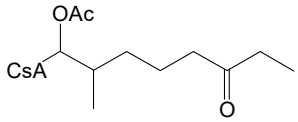
404-168



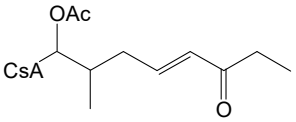
404-134 1326.8



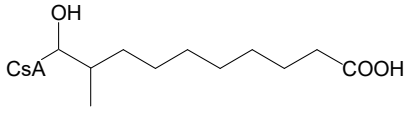
404-172



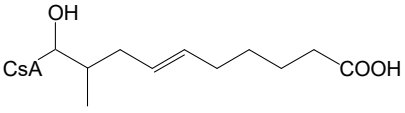
404-163 1310.9



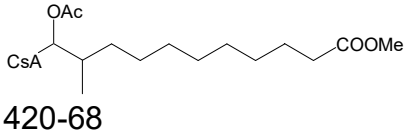
420-19



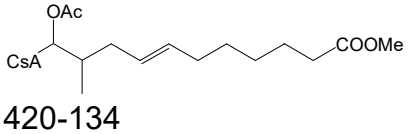
416-08 1313.0



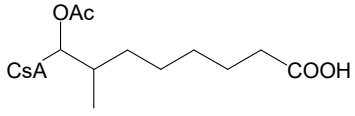
420-46



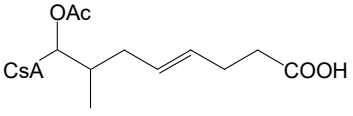
420-40 1383.1



420-68

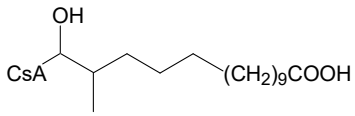
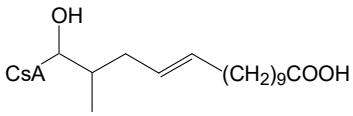
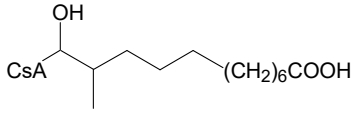
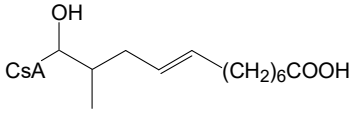
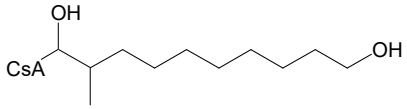
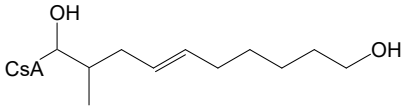
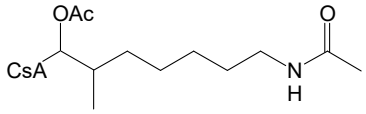
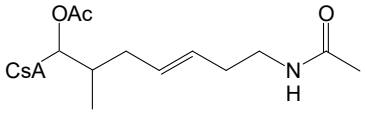


420-134 1326.9



420-106

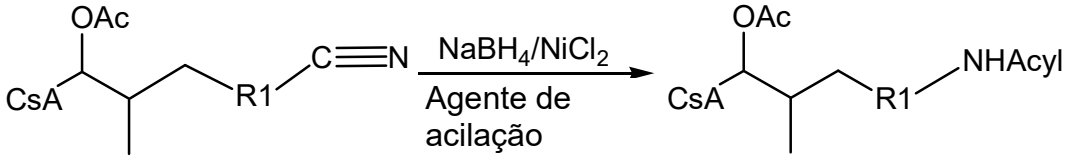
420-98 1383.1

		
420-111	420-100	1341.0
		
420-112	420-102	1298.9
		
420-130	420-123	1340.0
		

Redução do Grupo Nitrila

[00113] A redução do grupo nitrila ao amino primário correspondente pode ser alcançada com boreto de níquel gerado in situ a partir de borohidreto de sódio ($NaBH_4$) e cloreto (II) de níquel ($NiCl_2$). A adição de um reagente de captura adequado acarreta nos aminos primários protegidos por acila (carbamatos ou amidas, respectivamente) e previne a formação de aminos secundários como uma reação lateral não desejada. A ligação dupla é parcialmente reduzida sob as dadas condições e uma mistura de produto é obtida. Ambos os compostos de amino protegidos saturado e não saturado foram isolados e foram purificados. Para a reação 420-123 a mistura não foi separada. Ao invés, a mistura sofreu uma hidrogeniozação catalítica para produzir o composto totalmente saturado.

Reação 6:



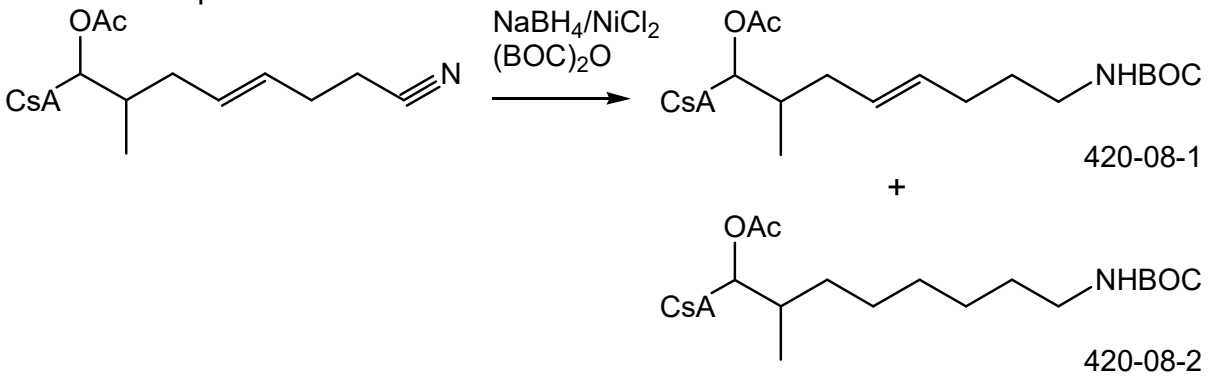
Fórmula XV Fórmula XVI

(acylating agent = agente de acilação)

[00114] Onde acila é qualquer um dos BOC, acetila ou butirila, o agente de

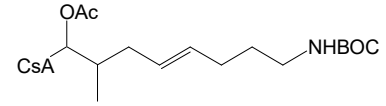
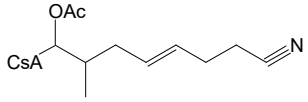
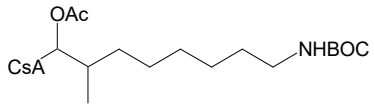
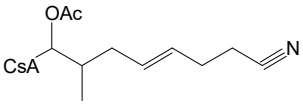
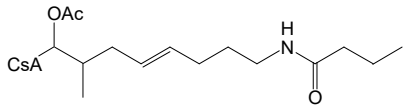
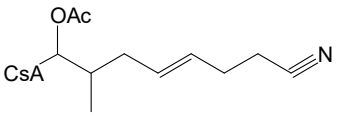
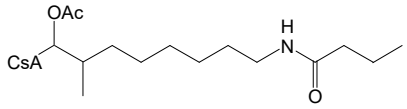
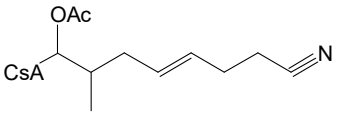
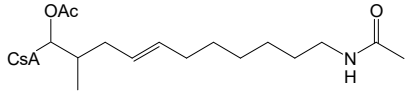
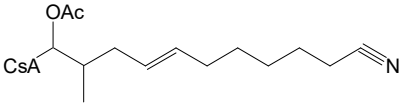
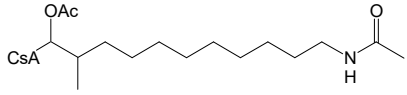
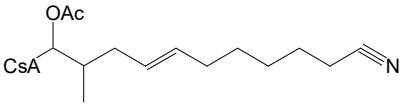
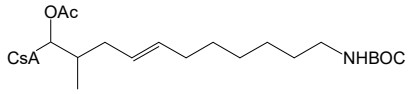
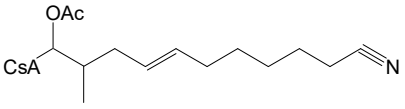
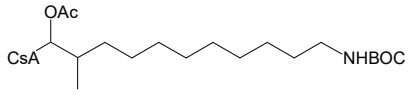
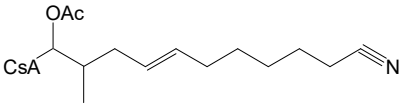
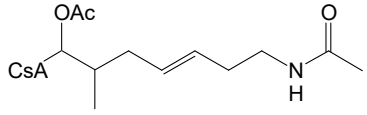
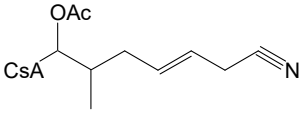
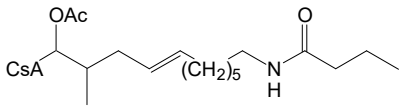
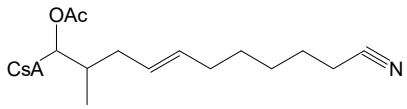
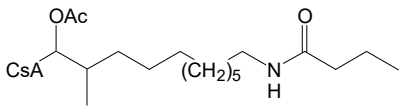
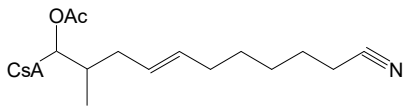
acilação é qualquer um dos di-terc-butiladicarbonato, anidreto acético, e anidreto butírico e R1 é um grupo alifático ramificado ou uma cadeia linear saturada ou insaturada. Deveria ser subentendido por aqueles indivíduos com especialização na técnica que os agentes de acilação acima descritos podem ser substituídos por uma grande variedade de agentes de acilação para produzir uma similar e grande variedade de aminos protegidos por acila.

Exemplo 6: Síntese de 420-08



[00115] Como um exemplo ilustrativo, 404-187 (0.257 mmol) é dissolvido em 15 mL de metanol e é resfriado até 0º C. Di-terc-butiladicarbonato (0.514 mmol) e cloreto (II) de níquel (0.025 mmol) são adicionados para fornecer uma solução clara. Borohidreto de sódio (3.85 mmol) é adicionado em porções durante um período de 1 hora. A mistura resultante é misturada em temperatura ambiente durante a noite. Borohidreto de sódio (1.95 mmol) adicional é adicionado a 0º C e a mistura é continuada por 3 horas em temperatura ambiente. HPLC mostra uma mistura de 420-08-1 (composto de carbamato) e 420-08-2 (composto de carbamato com ligação dupla reduzida). A reação é misturada por 30 minutos com dietilenotriamino (0.257 mmol) e é então concentrada a vácuo. O resíduo é corrigido com 75 mL de EtOAc, é lavado com uma solução de 20 mL de $NaHCO_3$ sat. e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo. O produto cru bruto é purificado com HPLC preparativo.

[00116] Usando a reação 6, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

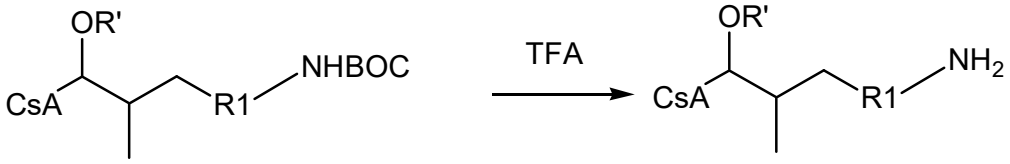
Composto	Material de disparo	Reagente de proteção	MS (Na^+)
420-08-1 	404-197 	di-terc-butiladicarbonato	1410.0
420-08-2 	404-197 	di-terc-butiladicarbonato	1412.1
420-107-1 	404-197 	anidreto butírico	1379.9
420-107-2 	404-197 	anidreto butírico	1382.1
420-109-1 	420-101 	anidreto acético	1394.1
420-109-2 	420-101 	anidreto acético	1396.1
420-110-1 	420-101 	di-terc-butiladicarbonato	1452.1
420-110-2 	420-101 	di-terc-butiladicarbonato	1454.1
420-123 [1] 	420-89 	anidreto acético	1337.9/1339.9
420-128-1 	420-101 	anidreto butírico	1422.1
420-128-2 	420-101 	anidreto butírico	1424.1

[1] mistura não separada

Desproteção do Amino

[00117] O amino protegido BOC (carbamato) pode ser convertido em amino livre por intermédio da hidrólise acídica usando ácido trifluoroacético (TFA).

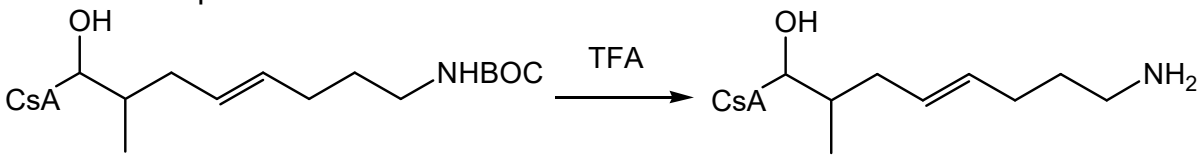
Reação 7:



Fórmula XX Fórmula XXI

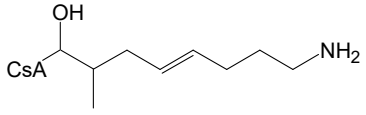
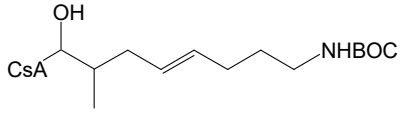
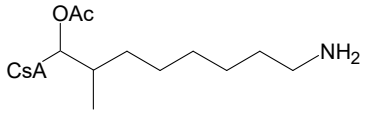
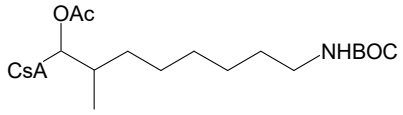
[00118] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada e R' é tanto um H ou um grupo acetila.

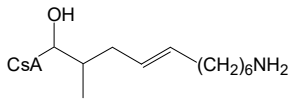
Exemplo 7: Síntese de 420-23

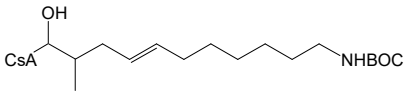


[00119] Como um exemplo ilustrativo, 420-17 (0.026 mmol) é dissolvido em 4 mL de DCM anidrico e 2 mL de ácido trifluoroacético é adicionado a 0º C. A reação é misturada em temperatura ambiente por 3 horas. Vinte 20 mL de diclorometano é adicionado. A mistura de reação é lavada com H_2O e com uma solução de $NaHCO_3$ sat. e é seca sobre Na_2SO_4. O solvente é removido e o produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

[00120] Usando a reação 7, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

Composto	Material de disparo	MS (M+1)
420-23	420-17	1246.0
		
420-25	420-13	1290.0
		
420-129	420-120	1288.0

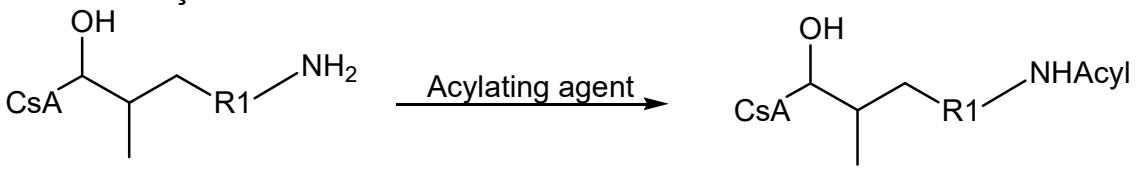




Proteção do grupo Amino

[00121] A função do amino livre pode ser protegida usando uma ampla variedade de grupos protetores usando métodos já estabelecidos. Uma mais ampla variedade de agentes protetores está disponível comparado à introdução redutiva começando a partir de nitrila. Em conjunto, as reações 7 e 8 oferecem uma rota alternativa a da reação 6 para a preparação dos compostos de amino protegidos por acila.

Reação 8:

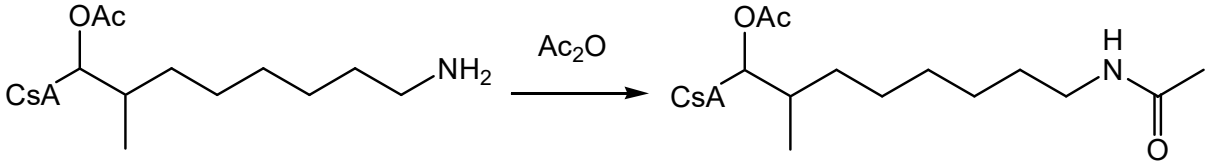


Fórmula XXI Fórmula XIV

(na formula: Acylating agent = Agente de acilação)

[00122] Onde acila é qualquer um dos BOC, acetila ou butirila, o agente de acilação é qualquer um dos di-terc-butiladicarbonato, anidreto acético, e anidreto butírico e deveria ser subentendido por aqueles indivíduos com especialização na técnica que uma ampla variedade de agentes de acilação incluindo dicarbonatos, anidretos e haletos de acila podem ser empregados para produzir uma ampla variedade de aminos protegidos por acila, e R1 é um grupo alifático ramificado ou uma cadeia linear saturada ou insaturada.

Exemplo 8: Síntese de 420-27



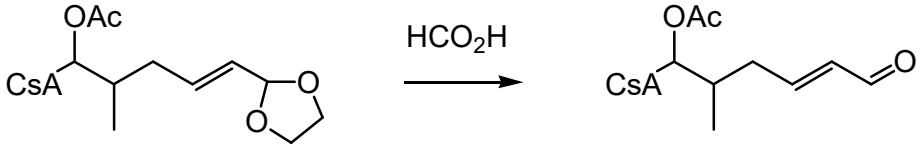
[00123] Como um exemplo ilustrativo, 420-25 (0.039 mmol) é dissolvido em

3 mL de piridino anídrico sob nitrogênio. A reação é resfriada até 0º C e anidreto acético (0.59 mmol) é adicionado. A mistura é misturada em temperatura ambiente durante a noite. O solvente é removido a vácuo e o resíduo é corrigido com 25 mL de EtOAc. A reação é lavada com uma solução de $NaHCO_3$ sat. de 2 x 10 mL 1 M HCl, 2 x 10 mL e com 10 mL de salmoura e é seca sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo para fornecer um produto como um material sólido incolor.

Desproteção do Aldeído

[00124] Uma metade de 1,3-dioxolano é convertida em uma função de aldeído através de hidrólise acídica. .

Reação 9 e Exemplo 9: Síntese de 404-47



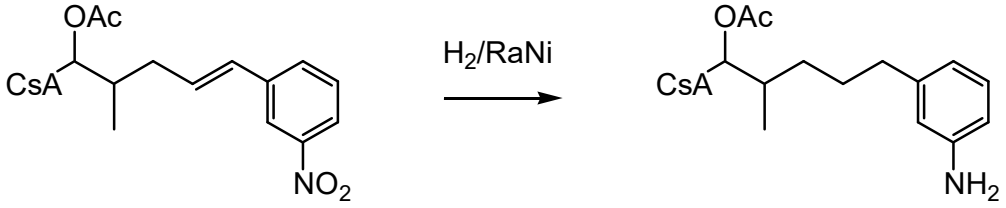
Fórmula XVIII Fórmula XIX

[00125] Como um exemplo ilustrativo, uma solução de 404-33 (0.246 mmol) em 20 mL de ácido fórmico é misturada em temperatura ambiente por 45 minutos. Cem mL de água gelada e 200 mL de uma solução de $NaHCO_3$ sat. foram lentamente adicionadas a reação (forte espumação). A reação é extraída com 2 x 150 mL de EtOAc. Os extratos combinados são lavados com uma solução de $NaHCO_3$ sat., com água e com salmoura e são secos sobre Na_2SO_4. O solvente é removido e o produto é seco a vácuo.

Redução do grupo Nitro

[00126] O composto nitro aromático é reduzido a anilina através de hidrogenização catalítica. A reação acarreta na redução da ligação dupla.

Reação 10 e Exemplo 10: Síntese de 404-120



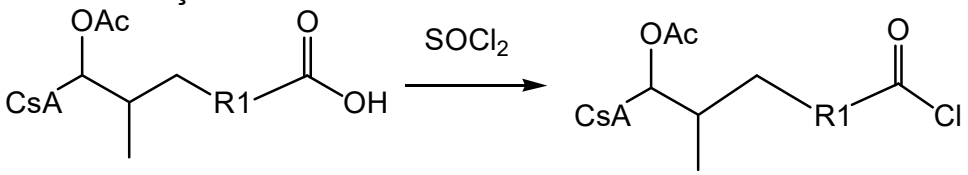
Fórmula XXII Fórmula XXIII

[00127] Como um exemplo ilustrativo, 404-89 (0.13 mmol) é dissolvido em 2 mL de etanol e Raney-Nickel (níquel de Raney) (0.18 g, 50 % em H_2O, lavado 3 vezes com etanol, e então suspenso em 2mL de etanol) e 0.1 mL de ácido acético são adicionados. A reação é misturada em temperatura ambiente por dois dias. A reação é filtrada através de Celite e a torta de filtro é lavada com metanol. O material filtrado é levado a secagem. O resíduo é corrigido com EtOAc, é lavado com uma solução de $NaHCO_3$ e salmoura e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo. O produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/acetona 2:1).

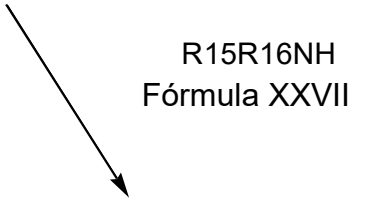
Síntese do Amida

[00128] As amidas são preparadas a partir de ácidos carboxílicos pela reação de um amino com o cloreto de ácido correspondente (Reação 11). A síntese também pode proceder e ser realizada diretamente a partir do ácido pelo uso de reagentes de acoplamento apropriados, tais como DCC e HOBt (Reação 12).

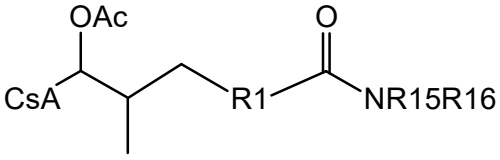
Reação 11:



Fórmula XXV Fórmula XXVI



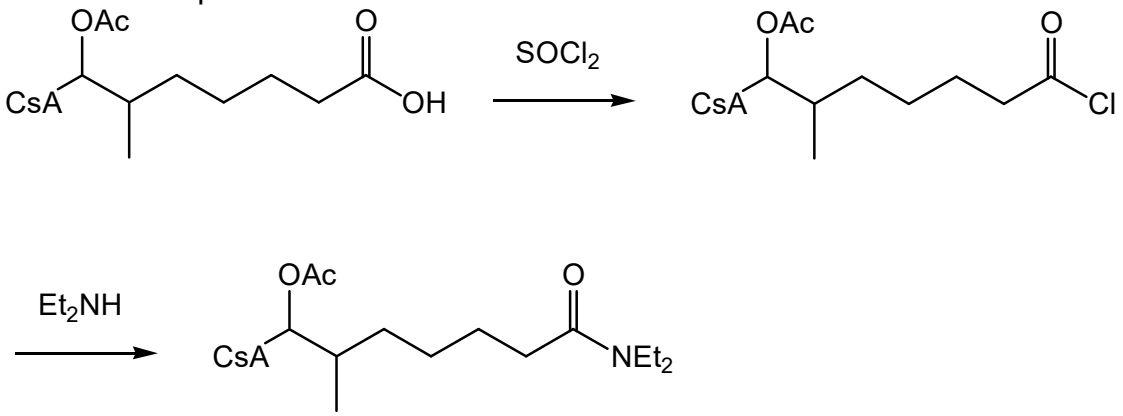
R15R16NH
Fórmula XXVII



Fórmula XXVIII

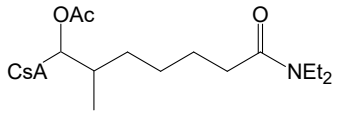
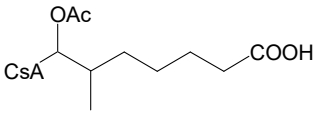
[00129] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, R15 e R16 são, independentemente, hidrogênio ou uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, ou onde NR15R16 em conjunto formam uma metade de morfolinila.

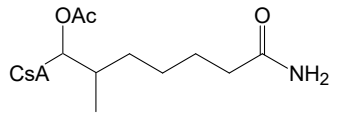
Exemplo 11: Síntese de 404-85

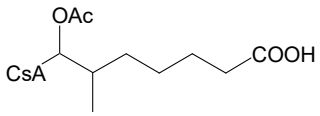


[00130] Como um exemplo ilustrativo, 365-73 (0.04 mmol) e tionilacloreto (68 mmol) são combinados sob uma atmosfera de nitrogênio e são aquecidos até o refluxo por 2 horas. É permitido com que a reação resfrie e a mesma é concentrada até a secagem. Vinte mL de tolueno são adicionados e a reação é concentrada até a secagem outra vez (duas vezes). O resíduo é corrigido com 5 mL de toluene anídrico e dietilamino (0.48 mmol) é adicionado. A reação é misturada em temperatura ambiente durante a noite. Cinco mL de H_2O são adicionados e a mistura é extraída com 20 mL de EtOAc. O extrato é lavado com salmoura e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo e o produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/acetona 3:1).

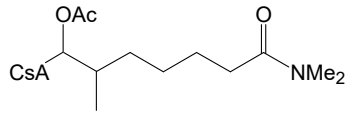
[00131] Usando a reação 11, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

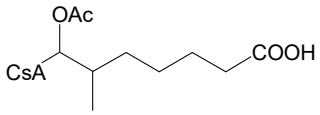
Composto	Material de disparo	MS (Na^+)	Amine
404-83	365-73	1368.2	dietilamino
			
404-128	404-124	1311.9	Amônia anídrica [1]





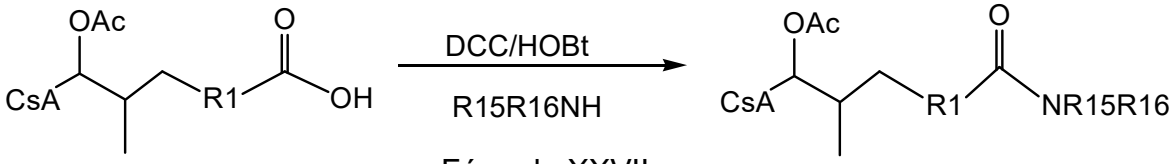
404-129	404-124	1340.1	Dimetil-amino [2]





[1] passado através da reação por 10 min a 0 °C; [2] 2 M da solução em THF

Reação 12:



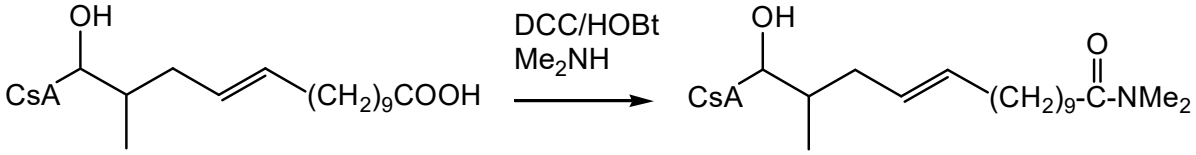
Fórmula XXV

Fórmula XXVII

Fórmula XXVIII

[00132] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, R15 e R16 são independentemente hidrogênio ou uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, ou onde NR15R16 em conjunto formam juntos uma metade de morfolinila.

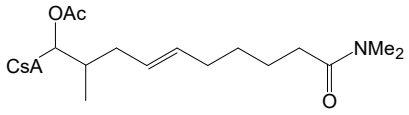
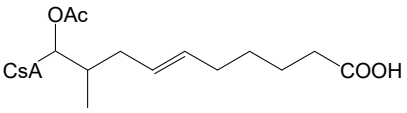
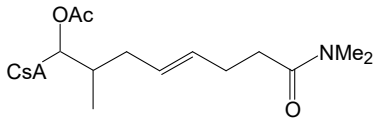
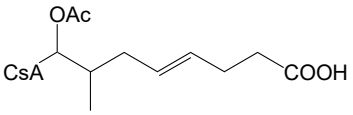
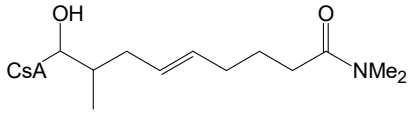
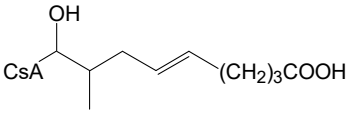
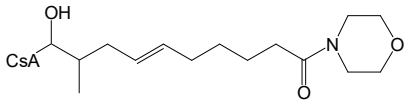
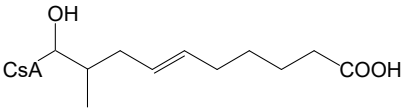
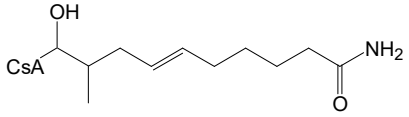
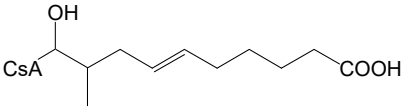
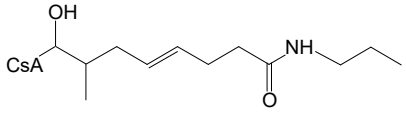
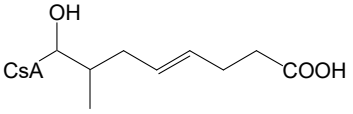
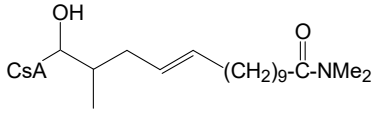
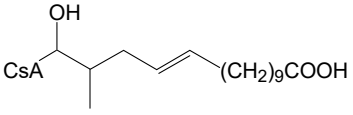
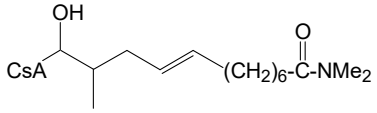
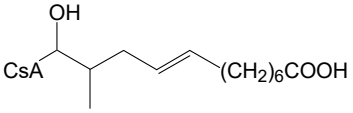
Exemplo 12: Síntese de 420-104

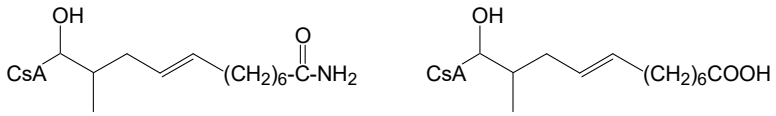


[00133] Como um exemplo ilustrativo, 420-98 (0.078 mmol) é dissolvido em 10 mL DCM anídrico sob uma atmosfera de nitrogênio. Diciclohexilacarbodiimido (DCC, 0.117 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazola (HOBt, 0.078 mmol) são adicionados a 0 °C e a mistura é misturada por 15 minutos. Dimetilamino (0.78 mmol) é adicionado para fornecer uma solução clara e incolor. O banho de resfriamento é removido depois de 15 minutos e a mistura é continuada em temperatura ambiente por 5 dias. A reação é transferida para um funil separador e 20 mL de DCM e 10 mL de 0.5 M HCl são adicionados. A camada orgânica é corrigida, é seca sobre Na_2SO_4 e é concentrada até a secagem. O resíduo é corrigido com 10 mL de acetonitrila. O material sólido não dissolvido é filtrado para

por a e o material filtrado é concentrado a vácuo. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

[00134] Usando a reação 12, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

Composto	Material de disparo	MS (Na^+)	Amino
404-150 	416-04 	1380.1	Dimetil-amino [2]
404-155 	404-134 	1352.1	Dimetil-amino [2]
404-156 	404-60 	1324.1	Dimetil-amino [2]
404-162 	416-08 	1379.9	Morfolino
404-164 	416-08 	1309.8	amônia anídrica [1]
404-178 	404-137 	1323.9	Propilamino
420-104 	420-98 	1408.1	Dimetil-amino [2]
420-114 	420-100 	1366.0	Dimetil-amino [2]
420-121	420-100	1338.0	amônia anídrica [1]

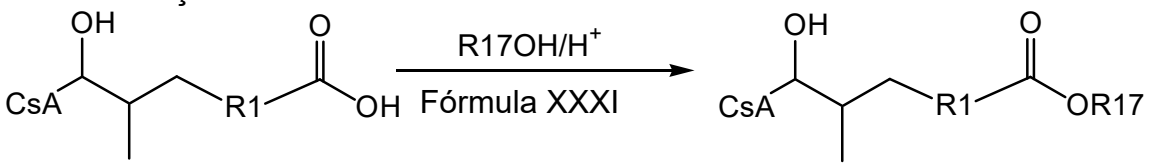


[1] passado através da reação por 10 min a 0 °C; [2] solução de 2 M em THF

Esterificação

[00135] Os ésteres de ácido carboxílico são preparados a partir dos ácidos carboxílicos correspondentes e de um álcool tanto usando catálise acídica (Reação 13) ou reagentes de acoplamento (DCC e DMAP, Reação 14).

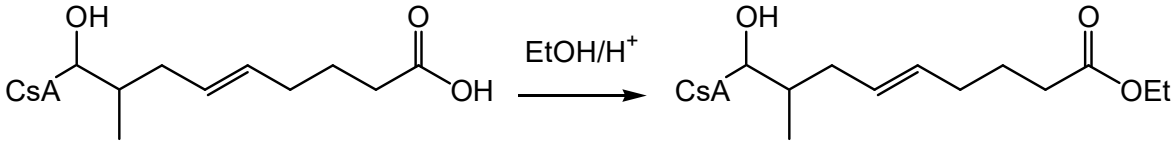
Reação 13:



Fórmula XXIV Fórmula XXXII

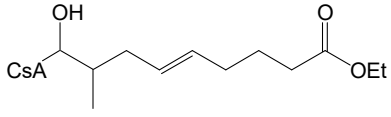
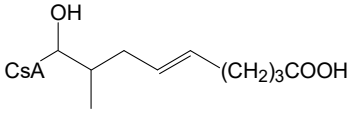
[00136] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, e R17 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, opcionalmente contendo um substituinte de halogênio ou hidroxila.

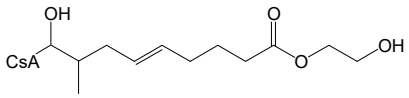
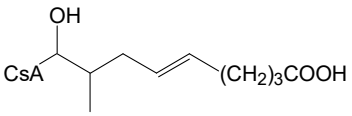
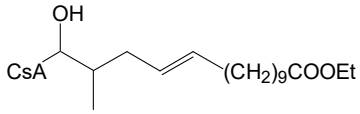
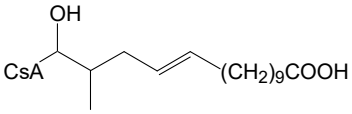
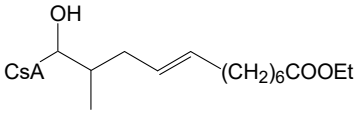
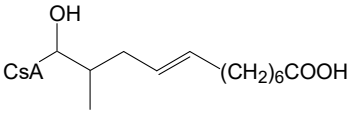
Exemplo 13: Síntese de 404-171



[00137] Como um exemplo ilustrativo, uma mistura de 404-60 (0.059 mmol), 4 mL EtOH e 2 µL de H_2SO_4 conc. é aquecida até o refluxo por 4 horas. O solvente é evaporado e o resíduo é corrigido com acetonitrila. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

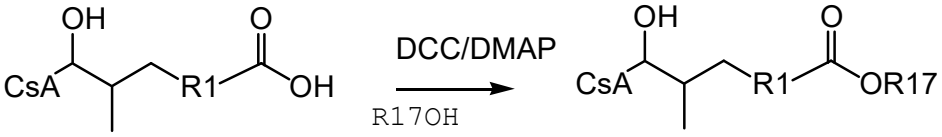
[00138] Usando a reação 13, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

Composto	Material de disparo	MS (Na^+)	Reagente
404-171	404-60	1368.2	etanol
			
404-182	404-60	1311.9	glicol

			etileno [1]
420-103	420-98	1409.1	etanol
			
420-113	420-100	1366.9	etanol
			

[1] 3 horas a 90 °C; produto extraído com EtOAc

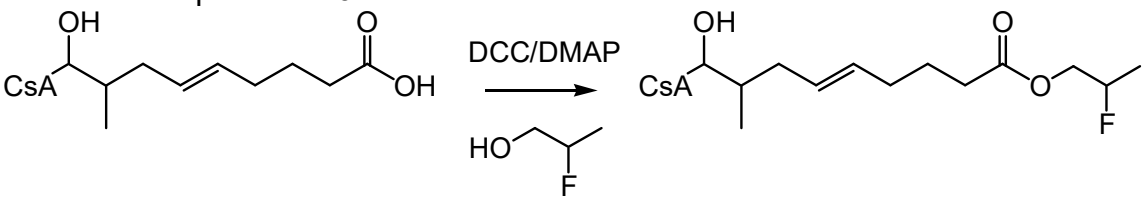
Reação 14:



Fórmula XXIV Fórmula XXXII

[00139] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, e R17 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, opcionalmente contendo um substituinte de halogênio ou hidroxila.

Exemplo 14: 420-24



[00140] Como um exemplo ilustrativo, 404-60 (0.053 mmol) é dissolvido em 4 mL DCM anídrico e é resfriado até 0 °C sob uma atmosfera de nitrogênio. Dimetilaminopiridino (DMAP, 0.005 mmol), 2-fluoropropanol (0.27 mmol) e diciclohexilacarbodiimido (DCC, 0.058 mmol) são adicionados e a reação é misturada por 15 min a 0 °C. O banho de resfriamento é removido e a mistura é continuada durante a noite em temperatura ambiente. 20 mL de DCM são adicionados, a reação é então lavada com H_2O e é evaporada até secar. O resíduo é corrigido com 10 mL de acetonitrila e é filtrado. O material filtrado é concentrado a

vácuo. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

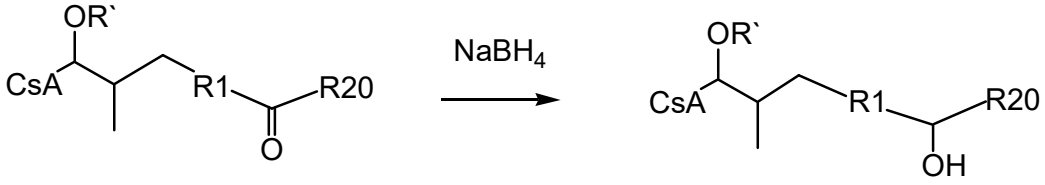
Alcoóis

[00141] Além da síntese direta na reação de Wittig, os alcoóis são obtidos através de um número de reações. A redução de um grupo carbonila com borohidreto de sódio acarreta em alcoóis primários (a começar a partir de aldeído) ou secundários (a começar a partir de cetona), respectivamente.

[00142] A oxidação de uma ligação dupla através do método de hidroboração pode acarretar e uma mistura de isômeros. A reação procede predominantemente em uma orientação anti Markovnikov. No caso de um olefino terminal, o álcool primário é o produto principal.

[00143] Um olefino pode ser convertido em um diol através da oxidação com peróxido de hidrogênio. A reação de um composto de carbonila com um reagente de Grignard acarreta em alcoóis secundários (a começar a partir de aldeídos) e terciários (a começar a partir de cetonas). Este método permite uma extensão da cadeia de carbono. nio peroxide.

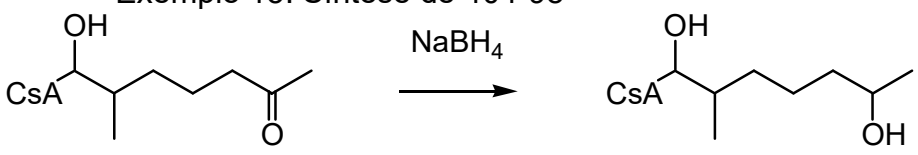
Reação 15:



Fórmula XXXV Fórmula XXXVI

[00144] Onde R' é um H ou acetila, R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, e R20 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada.

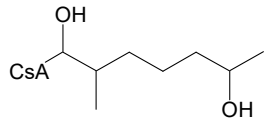
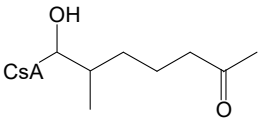
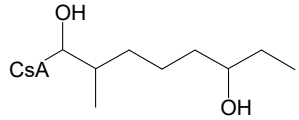
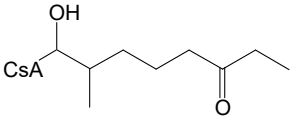
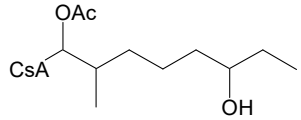
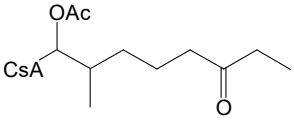
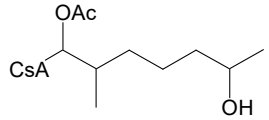
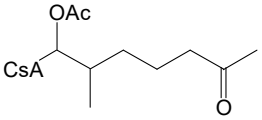
Exemplo 15: Síntese de 404-98



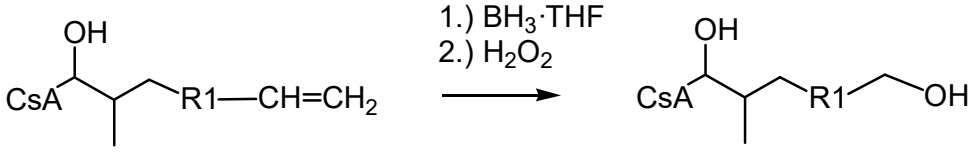
[00145] Como um exemplo ilustrativo, 404-61 (0.0365 mmol) é dissolvido em

4.5 mL de EtOH anídrico sob uma atmosfera de nitrogênio. Borohidreto de sódio (0.15 mmol, suspenso em 0.5 mL EtOH anídrico) é adicionado a 0 °C e a mistura resultante é misturada em temperatura ambiente durante a noite. Adicionalmente, borohidreto de sódio (0.08 mmol) é adicionado e a mistura é continuada durante a noite. A reação é abafada e resfriada com 5 mL 1 M HCl sob um banho de resfriamento e é extraída com EtOAc. O extrato é lavado com salmoura, seco sobre Na_2SO_4 e é concentrado até secar. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

[00146] Usando a reação 15, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados.

Composto	Material de disparo	MS (Na^+)
404-98 	404-61 	1256.9
404-195 	404-173 	1271.0
404-198 	404-172 	1313.0
420-09 	404-56 	1298.9

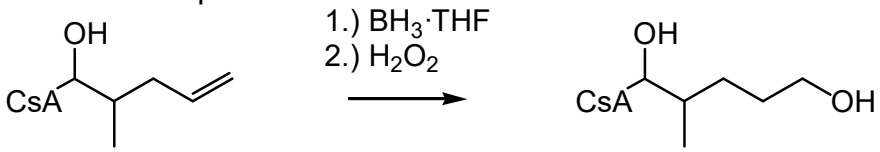
Reação 16:



Fórmula XXVIII Fórmula XXIX

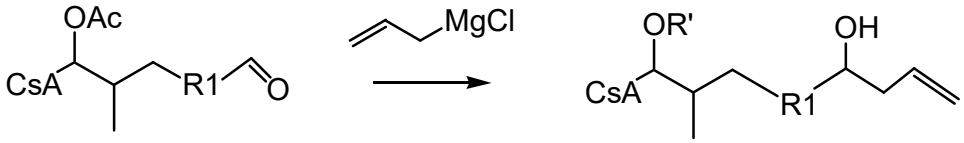
[00147] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada.

Exemplo 16: Síntese de 420-28-1



[00148] Como um exemplo ilustrativo, 404-16 (0.081 mmol) é dissolvido sob uma atmosfera de nitrogênio em 4 mL de THF anídrico. A reação é resfriada até 0 °C e BH_3·THF (1 M sol. in THF, 0.06 mmol) é adicionado. A reação é misturada em temperatura ambiente durante a noite. HPLC mostra que a reação é incompleta. Adicionalmente, BH_3·THF (0.5 mmol) é adicionado e a mistura é continuada por 4 horas em temperatura ambiente. A reação é resfriada até 0 °C e 1.0 mL 1 M NaOH e 0.30 mL de uma solução de peróxido de hidrogênio a 30 % são adicionados . A mistura é misturada em temperatura ambiente durante a noite. A reação é extraída com 25 mL EtOAc. O extrato é lavado com salmoura, é seco sobre Na_2SO_4 e concentrado até a secagem. O produto é purificado com HPLC preparativo.

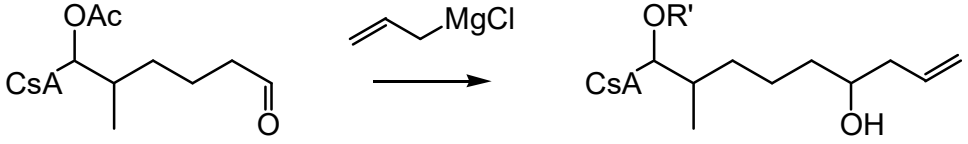
Reação 17:



Fórmula XLI Fórmula XLIII

[00149] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, R’ é tanto um H ou um grupo acetila.

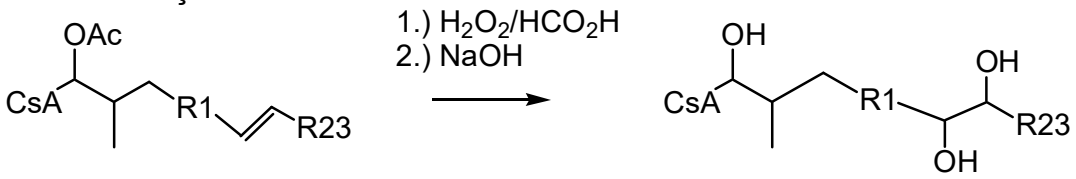
Exemplo 17: Síntese de 420-49



[00150] Como um exemplo ilustrativo, 420-49 (0.037 mmol) é dissolvido sob uma atmosfera de argônio in 5 mL THF anídrico. A reação é resfriada até -70 °C e cloreto de alila magnésio (1 M sol. em THF, 0.22 mmol) é adicionado. A reação é misturada por 15 minutos at -70 °C e é então permitido que atinja a temperatura ambiente. Depois de 90 minutos a reação é abafada e resfriada com uma solução de

NH_4Cl sat. A reação é extraída com 25 mL de EtOAc. O extrato é lavado com salmoura, é seco sobre Na_2SO_4 e concentrado até a secagem. O produto é purificado por HPLC preparativo. Uma mistura do composto acetilado e desacetilado é obtida.

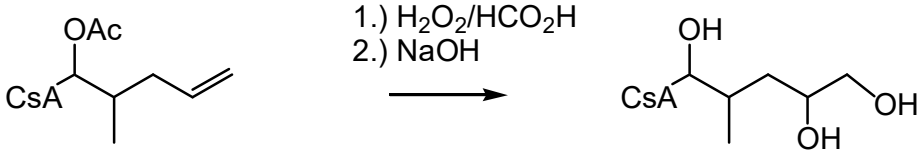
Reação 18:



Fórmula XLV Fórmula XLVI

[00151] Onde R1 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada, e R23 é uma cadeia alifática linear ou ramificada, saturada ou insaturada.

Exemplo 18: Síntese de 404-126

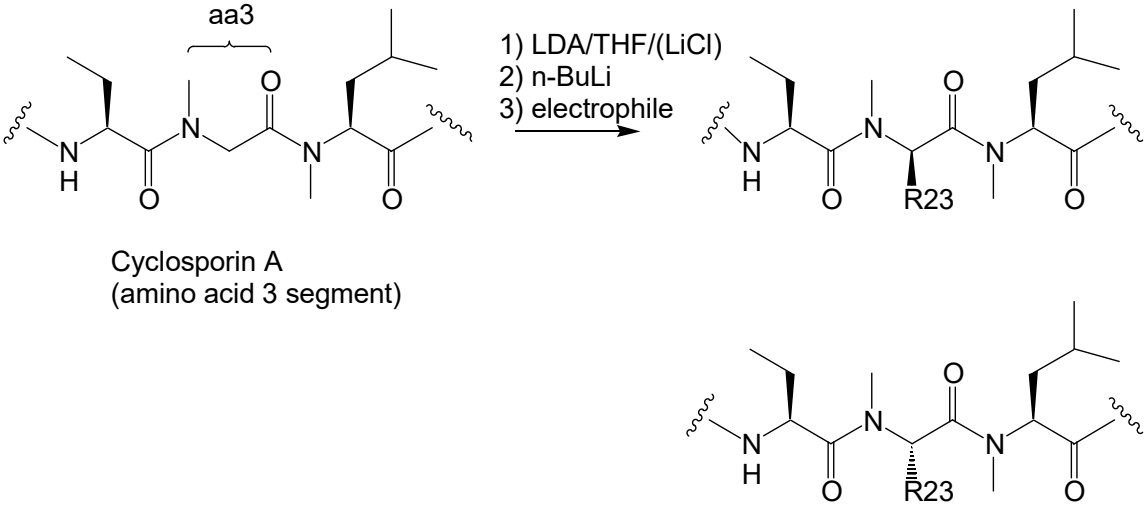


[00152] Como um exemplo ilustrativo, 404-16 (0.054 mmol) é dissolvido in 1 mL de ácido fórmico e peróxido de hidrogênio (30 % solução aquosa, 0.52 mmol) é adicionado. A reação é misturada em temperatura ambiente durante a noite e é então concentrada até a secagem. O resíduo é dissolvido em 25mL EtOAc, lavado com uma solução de $NaHCO_3$ sat. e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo. A reação é corrigida com 9 mL THF e 3 mL 1 M NaOH, e é misturada por 4 horas em temperatura ambiente. O solvente é removido e o resíduo é partido entre 25 mL EtOAc e 5 mL H_2O. A camada orgânica é lavada com salmoura e é seca sobre Na_2SO_4. O solvente é evaporado e o produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

Exemplo 19: Modificação de amino ácido 3

[00153] CsA sofre uma substituição no AA3 conforme indicado abaixo. A

reação com LDA em excesso (Lithium diisopropilamide = diisopropilamida de lítio) acarreta em um derivativo de hexalitio contendo quatro unidades de azaenolato de lítio assim como uma unidade de alcóxido de lítio sobre a cadeia lateral do amino ácido 1 e uma unidade de enolato de lítio sobre AA3, respectivamente. Uma reação subsequente com um eletrófilo adequado gera produtos de substituição sobre o resíduo AA3 (sarcosino). Os eletrófilos adequados são, por exemplo, haletos de alquila, aldeídos, dióxido de carbono e disulfetos de alquila (Tabela 1). Ambos os epímeros D e L podem ser obtidos com razões relativas dependendo das condições da reação. A Rota A (refira-se aqui abaixo) acarreta predominantemente no produto D, ao passo quer a Rota B (adição de LiCl em excesso) fornece a mistura de ambos os epímeros.



Cyclosporin A
(amino acid 3 segment)

(na fórmula acima: 3) eletrófilo + Ciclosporina A (segmento do amino ácido 3)

Exemplo 19: Reação de substituição no AA3 do Ciclosporina A. Os estéreo isômeros D e L são obtidos.

Rota A: [D-MeSar]^3-CsA

[00154] Um frasco seco em um forno é carregado sob uma atmosfera de argônio com 160 mL de THF anídrico e diisopropilamino (2.07 mL, 14.8 mmol). A solução é resfriada até -78 °C e n-butila lítio (2.5 M em hexano, 5.4 mL, 13.5 mmol) é adicionado. Depois de misturar por 30 minutos, CsA (2.40 g, 2.0 mmol, dissolvido

em 40 mL de THF anídrico) é adicionado. A reação é misturada por 1 hora a -78 °C. Adicionalmente, n-butila lítio (3.2 mL, 8.0 mmol) é adicionado, seguido pela adição de iodeto de metila (1.25 mL, 20.0 mmol). E a mistura é continuada a -78 °C por 1.5 horas, e é permitido que a reação fosse aquecida até uma temperatura ambiente por 1.5 horas adicionais. 20 mL de H_2O são adicionados e o THF é removido a vácuo. Adicionalmente, 50 mL de H_2O são adicionados e uma extração é realizada com 150 mL de EtOAc. O extrato é lavado com salmoura e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo e o produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/acetona 3:1). Produção: 0.74 g (0.61 mmol, 30 %).

Rota B: [MeSar]^3-CsA

[00155] Um frasco seco de 100 mL é carregado sob uma atmosfera de argônio com 7.5 mL de THF anídrico e diisopropilamino (0.46 mL, 3.3 mmol). A solução é resfriada até 0 °C e n-butila lítio (1.32 mL, solução de 2.5 M em hexano, 3.3 mmol) é adicionado. A reação é misturada por 20 minutos a 0 °C e é então resfriada até -78 °C. Uma solução de CsA (601 mg, 0.5 mmol) e de cloreto de lítio (636 mg, 15 mmol) em 12 mL de THF anídrico é preparada e é resfriada até -78 °C sob uma atmosfera de argônio. A solução de LDA é então transferida nesta mistura através de uma cânula. A reação é misturada a -78 °C por 2 horas. Adicionalmente, n-butila lítio (1.20 mL, 3.0 mmol) é adicionado, seguido por iodeto de metila (0.62 mL, 10 mmol). É permitido que a mistura seja aquecida até -20 °C e é misturada nesta temperatura por 3 horas. É permitido que a reação aqueça até uma temperatura ambiente, é abafada e resfriada com uma solução de NH_4Cl, é extraída com EtOAc (2 x 20 mL), é lavada com salmoura e é seca sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo e o produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/acetona 3:1). Produção: [L-MeAla^3]-CsA: 302 mg (0.25 mmol, 50 %). [D-MeAla^3]-CsA: 76 mg (0.06 mmol, 12 %).

Tabela 1: Exemplos possíveis eletrófilos usados para a alquilação da

posição-3 do Ciclosporina.

Eletrófilo	R23 [1]	Rota	Observações
iodeto de metila	—CH_3	A/B	-
iodeto de etila	—CH_2CH_3	A/B	-
Brometo de alila	—CH_2CHCH_2	B	-
1,3-diiodopropano	—$CH_2CH_2CH_2I$	B	-
1,4-diiodobutano	—$(CH_2)_3CH_2I$	B	-
Trimetilamônio 3-iodopropano hexafluorofosfato	—$(CH_2)_3N^+(CH_3)_3$	B	-
brometo de propargila	—CH_2CCH	A	10 equiv eletrófilo; misturado por 1 h em temperatura ambiente depois da adição do eletrófilo.
terc-butila bromoacetato	—CH_2CO_2(t-Bu)	A	5 equiv eletrófilo; misturado por 1 h em temperatura ambiente depois da adição do eletrófilo
brometo de benzila	—CH_2Ph [2]	A	15 equiv LDA e 30 equiv eletrófilo; misturado por 6 h at -75 °C e 10 h at temperatura ambiente depois da adição do eletrófilo
formaldeído	—CH_2OH	A	formaldeído preparado a partir de paraformaldeído a 170 °C antes da adição
acetaldeído	—$CH(OH)CH_3$	B	misturado por 2.5 h a -78 °C depois da adição do eletrófilo
pivalaldeído	—CH(OH)(t-Bu) [3]	B	misturado por 70 min a -78 °C depois da adição do eletrófilo
benzaldeído	—CH(OH)Ph	B	misturado por 2.5 h a -78 °C depois da adição do eletrófilo
dióxido de carbono	—COOH	A	CO_2 gás passado por 15 min através da mistura de reação a -78 °C; misturado por 1 h a -78 °C depois da adição do eletrófilo
disulfeto de dimetila	—SCH_3	B	misturado por 18 h a 0 °C depois da adição do eletrófilo
disulfeto de p-tolila	—S(p-Tol) [4]	B	misturado por 18 h a 0 °C depois da adição do eletrófilo

[1] de acordo com o Exemplo 19 [2] Ph = fenila; [3] t-Bu = terc-butila; [4] Tol = tolila.

[00156] Os Exemplos 20 e 21, abaixo mencionados, são exemplos gerais

das reações químicas que são capazes de sintetizar os compostos desejados modificados no amino ácido 1 e 3 do CsA, usando reagentes que tem as propriedades químicas requisitadas e, deveria ser subentendido por aqueles indivíduos com especialização na técnica que as substituições de certos reagentes podem ser realizadas.

Exemplo 20: AA1 Modificação de CsA alquilado.

[00157] O Exemplo 20 proporciona uma rota sintética pela introdução de substituintes na posição-3 do CsA antes da modificação da cadeia lateral AA1. Seguindo a alquilação-3, um procedimento de 2 etapas acarreta no aldeído acetilado (composto 3 no exemplo abaixo), o qual é um substrato adequado para a modificação da posição-1 via uma reação de Wittig. Este método permite a introdução de resíduos na cadeia lateral AA1 que têm uma estabilidade limitada sob condições de reação usada nas etapas 1 – 3, tal como uma base forte e agentes oxidantes.

Exemplos adicionais dos compostos preparados usando esta sequência são sumarizados na Tabela 2.

Etapa 1: Alquilação da cadeia lateral AA3



1A **1B**

[00158] A síntese é realizada de acordo com a Rota A ou B, respectivamente, conforme é acima descrito.

Etapa 2: Acetilação do grupo hidróxi sobree a cadeia lateral AA1



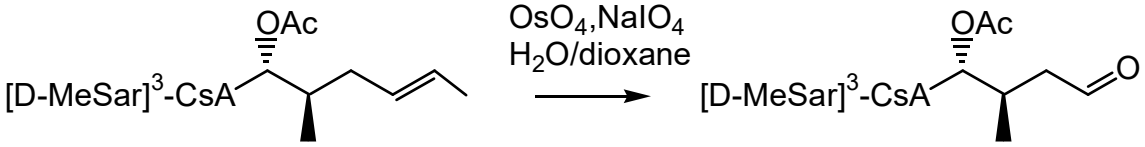
1A **2**

(na fórmula: piridino)

[00159] Um frasco seco em um forno é carregado sob nitrogênio com [D-

MeSar]^3-CsA (1.84 g, 1.51 mmol), N,N-dimetilaminopiridino (19 mg, 0.15 mmol) e 20 mL piridino anídrico, seguido por anidreto acético (10 mL, 0.1 mol). A reação é misturada em temperatura ambiente durante a noite. A mistura é derramada em 100 mL de água gelada e é misturada até que todo o gelo esteja derretido. Um material sólido é coletado por meio de filtração e é seco a ar. O material sólido é dissolvido em 50 mL de EtOAc e é lavado com 1 M de uma solução de HCl (2x), $NaHCO_3$ sat e com salmoura. A fase orgânica é seca sobre Na_2SO_4 e é evaporada. O produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/EtOAc/MeOH 10:10:0.5).

Etapa 3: Formação do Aldeído

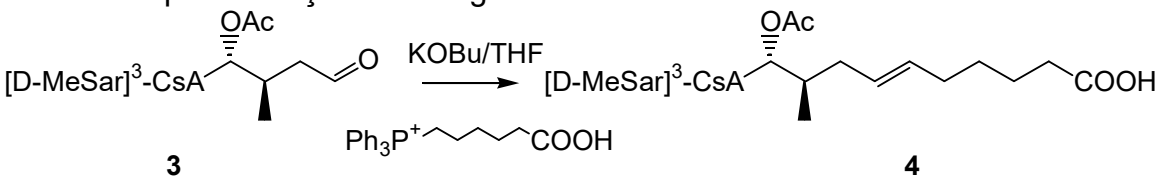


2 **3**

(na fórmula: dioxano)

[00160] Em um frasco contendo o composto 2 (800 mg, 0.636 mmol) são adicionados 10 mL de dioxano e 10 mL de H_2O. Uma solução de $NaIO_4$ (544 mg, 2.54 mmol) e OsO_4 (7.9 mM solução em água/dioxano 1:1, 4.05 mL, 32 mmol) são adicionados e a reação é misturada em temperatura ambiente durante a noite. 75 mL de H_2O são adicionados e a reação é extraída com 3 x 25 mL de EtOAc. Os extratos são lavados com água, com uma solução de $NaHCO_3$ sat., com água e salmoura (25 mL cada) e são secos sobre $MgSO_4$. O solvente é removido a vácuo e o produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/EtOAc 3:1).

Etapa 4: Reação de Wittig

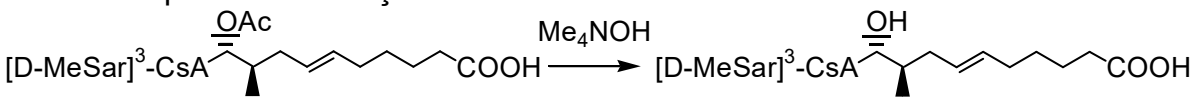


3 **4**

[00161] Um frasco seco em um forno é carregado sob uma atmosfera de argônio com brometo de fosfônio de ácido trifenila-6-hexanoico (90 mg, 0.195 mmol) e 5 mL de THF anídrico. T-butóxido de potássio (Solução de 1 M em THF, 0.39 mL,

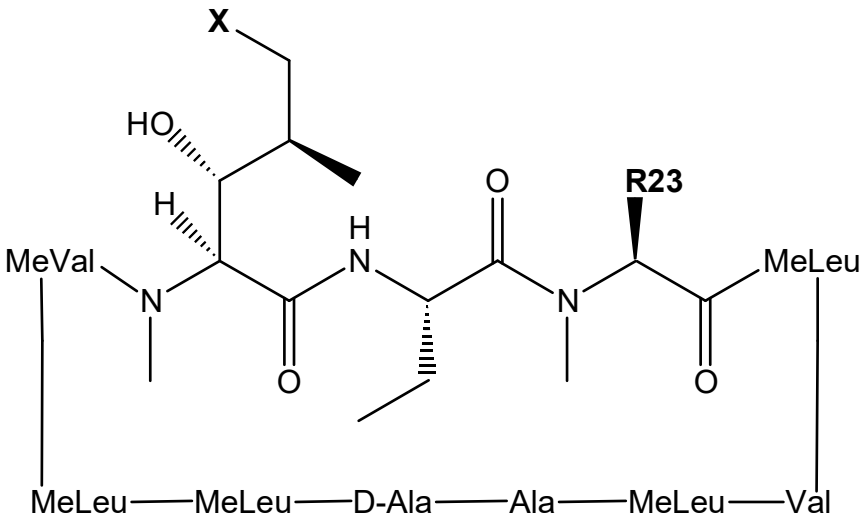
0.39 mmol) é adicionado a 0 °C e a solução é misturada por 30 minutos para fornecer uma coloração laranja brilhante. O Composto 3 (81 mg, 0.065 mmol, dissolvido em 1 mL de THF anídrico) é adicionado a reação por gotejamento e a mistura é continuada em temperatura ambiente durante a noite. A reação é abafada e resfriada com uma solução de NH_4Cl sat. e é extraída com EtOAc. O extrato é lavado com salmoura e é seco Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo e o produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (tolueno/acetona 3:1).

Etapa 5: Deacetilação

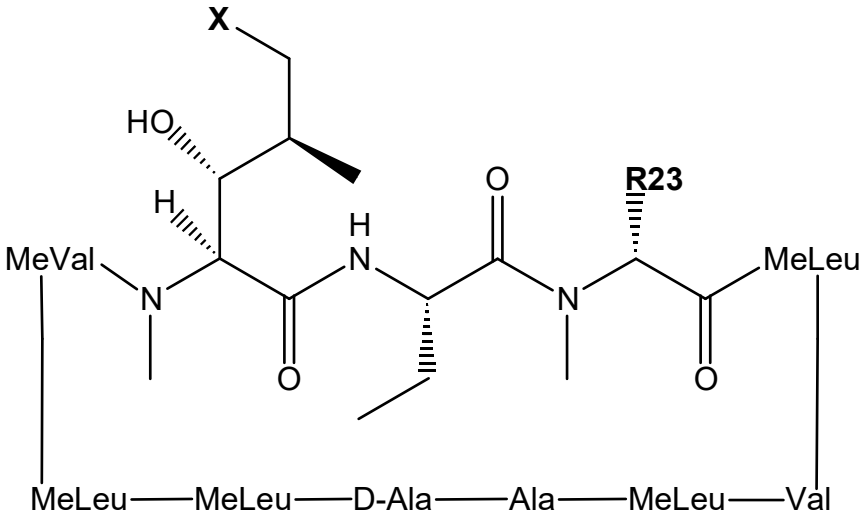


4 **5**

[00162] O Composto 4 (30 mg, 0.022 mmol) é dissolvido em 2 mL de metanol e 0.5 mL de água e pentahidrato de hidróxido de tetrametilamônio (12 mg, 0.066 mmol) é adicionado. A reação é misturada em temperatura ambiente por vários dias até que HPLC confirme que a desproteção está completa. A reação is acidificada até um pH 2 com 1 M HCl e é concentrada em um vácuo. O resíduo é corrigido com EtOAc, é lavado com água e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é evaporado e o produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.



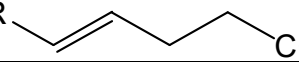
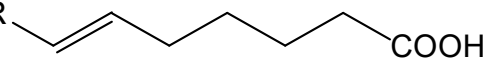
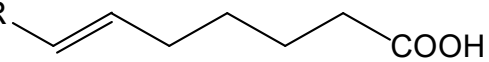
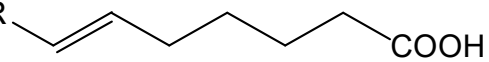
L-isomer

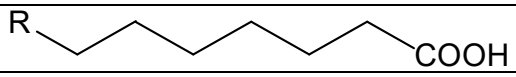
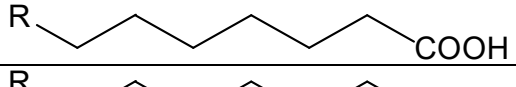
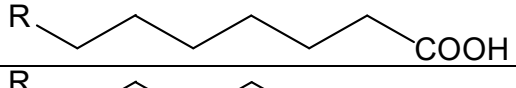
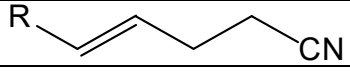
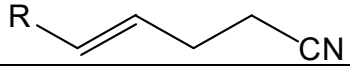
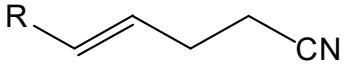
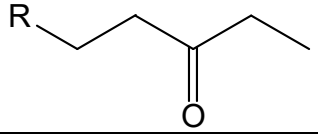
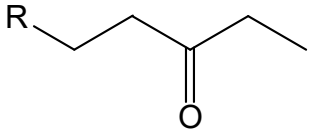
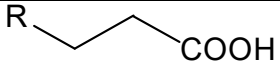
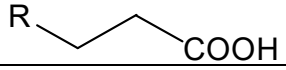
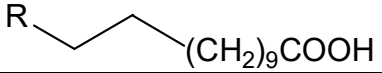


D-isomer

[00163] Representação esquemática dos derivativos de Ciclosporina 1, 3-modificados.

[00164] Usando o método do Exemplo 20, os seguintes compostos são exemplos adicionais dos compostos que podem ser sintetizados (X e Y em referência a representação esquemática acima mencionada; e em referência ao R em X é para indicar a fixação da estrutura ao AA1 do CsA).

Composto	X	R23	Isômero	MS (Na^+)
431-13		$-CH_3$	L	1296.8
414-64		$-CH_3$	D	1325.0
431-19		$-CH_3$	L	1324.8
431-40		$-CH_2CH_3$	D	1338.8

440-02		$-CH_3$	D	1327.1
431-20		$-CH_3$	L	1326.9
440-13		$-CH_2CH_3$	D	1341.1
431-21		$-CH_3$	D	1277.9
431-44		$-CH_2CH_3$	L	1291.9
440-14		$-CH_2CH_3$	D	1292.0
431-136		$-CH_3$	L	1283.1
440-24		$-CH_3$	D	1283.1
440-10-1		$-CH_3$	D	1270.9
440-22-1		$-CH_2CH_3$	D	1285.0
440-20		$-CH_3$	D	1397.2

Alquilação dos Compostos de AA1 modificados

[00165] A Reação 21 introduz os substituintes ao resíduo de AA3 dos compostos previamente modificados sobre a cadeia lateral AA1. Adicionalmente aos grupos disponíveis através da Reação 19, esta rota permite a introdução de substituintes em AA3 que são instáveis quando das condições de reação usadas na Reação 20, por exemplo, um resíduo de tiometila poderia sofrer oxidação durante a formação do aldeído na Etapa 3 deste método.

Exemplo 21

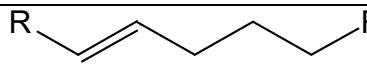
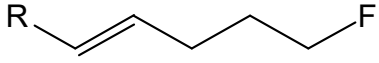
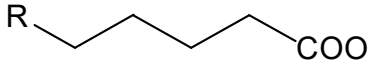
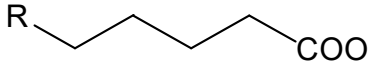
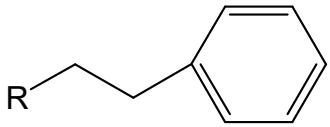
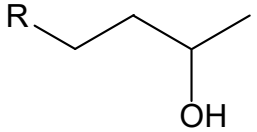
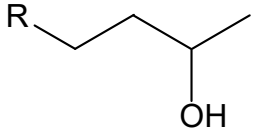
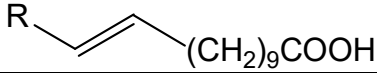
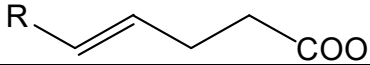
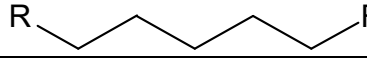


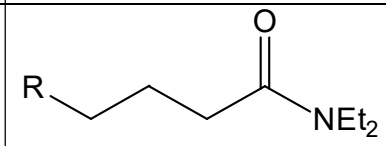
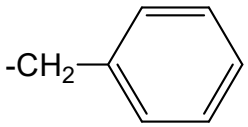
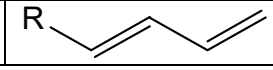
404-76 **420-176**

[00166] Um frasco de 25 mL é carregado sob uma atmosfera de argônio com 1.5 mL de THF anídrico e diisopropilamino (87 µL, 0.62 mmol). A solução é resfriada

até 0 °C e n-butila lítio (2.5 M in hexano, 0.25 mL, 0.62 mmol) é adicionado. A mistura é misturada por 20 minutos a 0 °C e é então resfriada até -70 °C. A solução clara de LDA é transferida em uma solução de 404-76 (118 mg, 0.095 mmol) e cloreto de lítio (120 mg, 2.84 mmol) em 5 mL de THF anídrico a -70 °C. E a mistura é continuada por 2 horas a -70 °C. Adicionalmente, n-butila lítio (0.23 mL, 0.58 mmol) é adicionado, seguido de iodeto de metila (118 µL, 1.89 mmol). É permitido que a reação aqueça até -20 °C e é mantida nesta temperatura durante a noite. A reação é abafada e resfriada com uma solução de NH_4Cl Sat. e é extraída com EtOAc. O extrato é lavado com salmoura, é seco sobre Na_2SO_4 e é evaporado até a secagem. O produto cru bruto é purificado sobre gel de sílica (hexano/acetona 3:1 → 2:1).

Tabela 3: Exemplos dos compostos preparados pelo Método 21 (X e Y de acordo com a Figura 3; e referência de R em X é para indicar a fixação da estrutura ao AA1 do CsA).

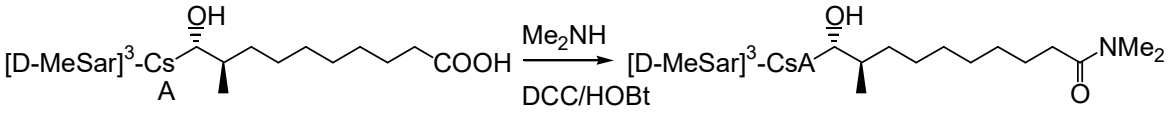
Composto	X	R23	Isômero	MS (Na^+)
420-176-1		$-CH_3$	D	1284.9
420-176-2		$-CH_3$	L	1284.9
420-177-1		$-CH_3$	D	1298.8
420-177-2		$-CH_3$	L	1298.8
420-180-1		$-CH_3$	D	1302.8
420-182-1		$-CH_3$	D	1270.8
420-182-2		$-CH_3$	L	1270.8
420-186		$-CH_2CH_3$	L	1409.0
431-42		$-SCH_3$	D/L [1]	1328.8
440-03		$-SCH_3$	D	1319.1

440-78		$-(CH_2)_3N^+(CH_3)_3$	D/L [1]	1359.9 [2]
440-34-3			D	1416.2
440-36		$-CH_3$	D	1251.1

[1] isômeros não separados; [2] m^+ sinal.

[00167] As modificações adicionais aos grupos funcionais no resíduo AA1 (ou AA3, respectivamente), podem ser realizadas para obter vários derivativos dos compostos, tais como ésteres, amidas, alcoóis, etc. os compostos saturados podem ser obtidos por intermédio da redução da ligação dupla criada por meio da reação de Wittig.

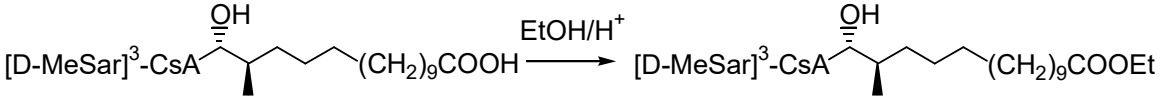
Exemplo 22: Formação de amida a partir de Ácido carboxílico – Síntese de 440-08



440-02 **440-08**

[00168] 440-02 (48 mg, 0.037 mmol) é dissolvido sob uma atmosfera de nitrogênio em 5 mL de DCM anídrico e resfriado até 0 °C. Diciclohexilacarbodiimido (DCC, 11.6 mg, 0.056 mmol) e 1-hidroxibenzotriazole (HOBt, 5.0 mg, 0.037 mmol) são adicionados e a mistura é misturada por 15 minutos a 0 °C. Uma solução de Dimetilamino (2 M solução em THF, 0.19 mL, 0.38 mmol) é adicionado e a mistura é continuada em temperatura ambiente por 3 dias. A reação é diluída com 20 mL de DCM e é lavada com 15 mL 0.5 M HCl. A fase orgânico é seca sobre Na_2SO_4 e é levada a secagem. A mistura crua bruta é purificada por HPLC preparativo.

Exemplo 23: Formação de Éster – Síntese de 440-31

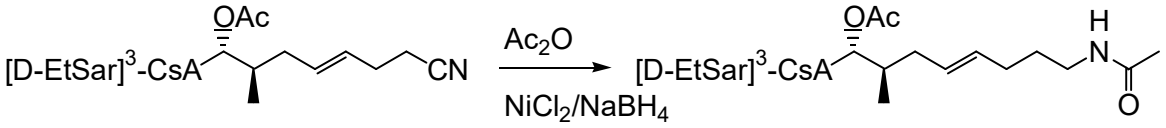


440-20 **440-31**

[00169] 440-20 (30 mg, 0.022 mmol) é dissolvido em 4 mL de EtOH anídrico

e 2 µL de H_2SO_4 conc. A reação é aquecida até o refluxo por 3 horas e é então permitido o resfriamento até a temperatura ambiente. A reação levada até a secagem. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

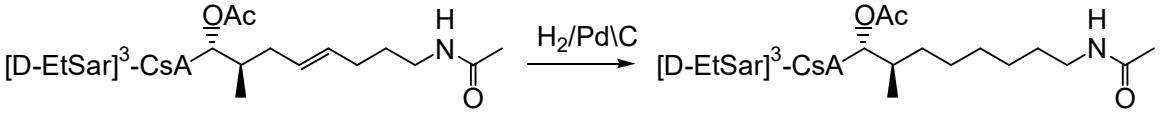
Exemplo 24: Formação de Amida a partir do Composto de Nitrila (Amida Reverso) – Síntese de 440-15



440-09 **440-15**

[00170] Um frasco de 50 mL é carregado sob nitrogênio com 440-09 (80 mg, 0.061 mmol) e 5 mL MeOH. A reação é resfriada até 0 °C e $Ni(II)Cl_2 \cdot 6H_2O$ (1.4 mg, 0.006 mmol) e anidreto acético (19 µL, 0.20 mmol) são adicionados. Borohidreto de sódio (104 mg, 2.75 mmol) é adicionado em 2 lotes de 2 horas, devidamente separados. Então, é permitido que a reação fosse aquecida até a temperatura ambiente e é misturada durante a noite. Depois que a reação seja completa, 7 mL 1 M de HCl é adicionado. A solução é concentrada a vácuo até aproximadamente metade do seu volume original. A mistura resultante é extraída com EtOAc, o extrato é lavado com uma solução de $NaHCO_3$ sat. e com salmoura e é seco sobre Na_2SO_4. O solvente é removido a vácuo. O produto, o qual contém algum composto saturado, é usado na seguinte etapa sem qualquer purificação adicional.

Exemplo 25: Síntese de 440-25

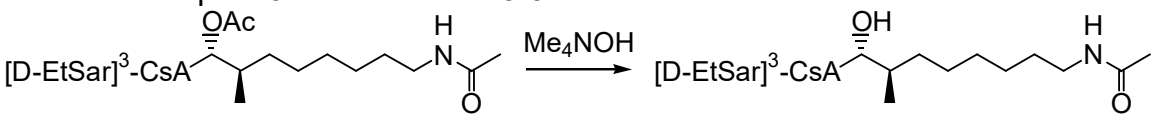


440-15 **440-25**

[00171] 440-15 (83 mg, 0.061 mmol) é dissolvido em 10 mL de EtOH anídrico. Paládio (10 wt % sobre carbono, 8 mg) e 3-4 gotas de ácido acético são adicionados. A reação é hidrogenada sobpressão atmosférica em temperatura ambiente por vários dias até que completa de acordo com HPLC. A reação é filtrada através de Celite e um material filtrado é evaporado até a secagem. O produto cru

bruto é purificado por HPLC preparativo e é então sujeito a etapa de desacetilação.

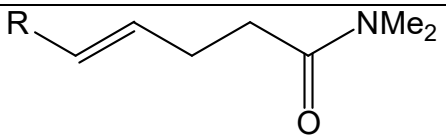
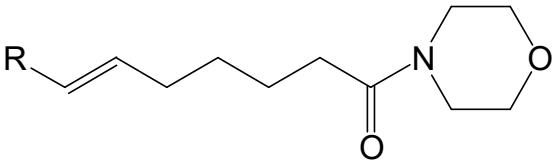
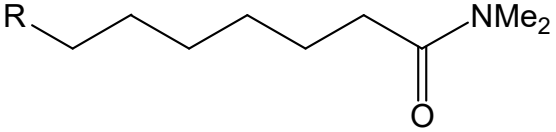
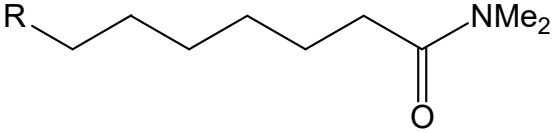
Exemplo 26: Síntese de 440-32

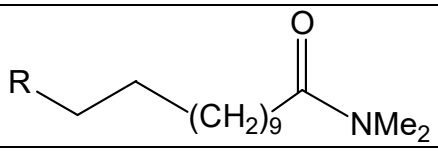
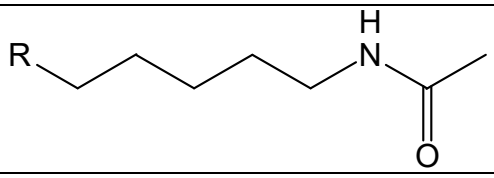
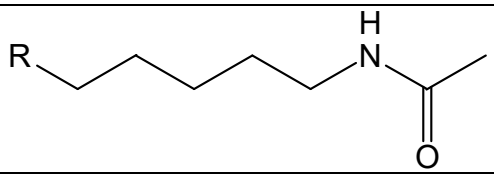
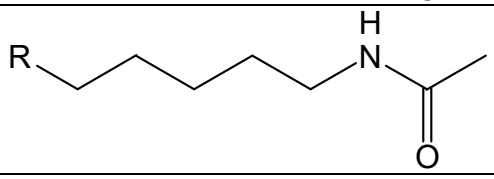
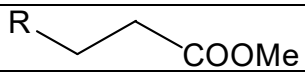
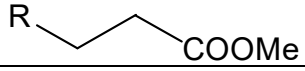
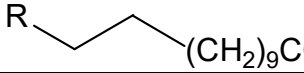


440-25 **440-32**

[00172] 440-25 (41 mg, 0.03 mmol) é dissolvido em 4 mL MeOH e pentahidrato de hidróxido de tetrametilamônio (16 mg, 0.09 mmol, dissolvido em 1 mL de H_2O) é adicionado. A reação é misturada em temperatura ambiente por 2 dias. A reação é concentrada a vácuo. 5 mL de H_2O é adicionado e um produto é extraído com EtOAc. O extrato é lavado com salmoura, é seco sobre Na_2SO_4 e é evaporado até a secagem. O produto cru bruto é purificado por HPLC preparativo.

Tabela 4: Exemplos de derivativos dos compostos de ciclosporina 1,3-modificados obtidos por meio da redução da ligação dupla criada na reação de Wittig (X e Y de acordo com a Figura 3; e referência de R em X é para indicar a fixação da estrutura no AA1 do CsA).

Composto	X	R23	Isômero	MS (Na^+)
431-23		$-CH_3$	L	1323.8
431-29		$-CH_3$	L	1393.9
440-08		$-CH_3$	D	1354.1
440-27		$-CH_2CH_3$	D	1368.1

440-23		-CH_3	D	1424.2
431-32		-CH_3	D	1325.9
431-53		-CH_2CH_3	L	1339.9
440-32		-CH_2CH_3	D	1340.1
440-10-2		-CH_3	D	1285.0
440-22-2		-CH_2CH_3	D	1299.1
440-31		-CH_3	D	1425.2

Estudo/Ensaio da Inibição de Isomerase do Ciclofilina A

[00173] Um estudo/ensaio enzimático foi usado para medir uma inibição de atividade de CyP-A por análogos de S=CsA 1,3- da presente invenção, de acordo com um protocolo descrito na literatura científica com pequenas modificações. O estudo/ensaio tem como base a habilidade do CyP-A catalisar uma mudança de conformação nos peptídeos contidos em pro lineares a partir de conformações isoméricas *cis* a *trans*. Brevemente, um substrato de peptídeo que inclui uma metade de nitroanilido foi alimentada a uma mistura de reação contendo CyP-A, composto de teste (análogo de CsA, CsA ou um veículo de dimetilasulfoxido), e uma segunda enzima, alfa-quimotripsina. Cada um dos compostos de teste foi testado em uma concentração de 10, triplicamente ou quadruplicamente. O peptídeo foi convertido a partir da conformação *cis* para a conformação *trans*, ambos por intermédio de processos não catalísticos e catalítico de CyP. O isômero *trans* do

peptídeo, mas não o isômero *cis* é um substrato para alfa-quimotripsina. O nitroanilido clivado imediatamente por alfa-quimotripsina a partir do restante do peptídeo e o nitroanilido livre acumularam em uma taxa proporcional a isomerização *cis-trans*. Uma vez que o nitroanilido é um produto colorido, a sua acumulação foi quantificada por meio da medição da sua absorvência com um espectrofotômetro. A acumulação de nitroanilido foi medida por seis minutos e a primeira ordem de taxa de constância por cada uma das reações foi calculada usando um software Graphpad prism. A taxa de constância de CyP-A catalística de cada uma das reações foi determinada por meio da subtração da taxa de constância não catalística (derivada a partir de uma reação sem CyP-A) a partir da taxa total de constância da reação. Pontos de plotagem das taxas de constância catalítica como uma função das concentrações inibidoras demonstraram as potências dos compostos, definidas pelos seus valores IC_{50}.

PROTOCOLO DETALHADO

A. Peptídeo

[00174] O peptídeo do estudo/ensaio foi N-succinila-alanino-alanino-prolino-fenilalanino-p-nitroanilido. O mesmo foi dissolvido até uma concentração de 3 mM em uma solução de trifluoroetanolamino e cloreto de lítio (TFE/LiCl). TFE/LiCl foi preparado de uma forma fresca a cada um dos dias pela dissolução de cloreto de lítio em trifluoroetanolamino em uma concentração de 17 mg/ml. Seguido da dissolução de LiCl, o conteúdo de água da solução de TFE/LiCl foi reduzido por meio da adição de peneiras moleculares aquecidas a seco e pela leve mistura da solução por pelo menos 30 minutos. O peptídeo foi então dissolvido em TFE/LiCl e a solução foi resfriada até 4º C – 9º C antes dos estudos/ensaios. A dissolução do peptídeo no TFE/LiCl seco promoveu mais peptídeo a existir na conformação *cis* no começo de cada uma das reações do estudo/ensaio. A análise dos dados mostrou que aproximadamente 60% do peptídeo nos nossos estudos/ensaios começaram

como um isômero cis, o qual é consistente com os dados relatados na literatura científica. Nas reações de enzima, o peptídeo foi diluído 20 vezes até uma concentração final de estudo/ensaio de 150 µM.

B. Compostos de Teste

[00175] Os compostos de teste consistiram em CsA, análogos de CsA, ou dimetilasulfoxido (DMSO). Soluções de estoque de CsA e análogos de CsA foram feitas por meio da dissolução em DMSO em uma concentração de 10 mg/mL em tubos micro centrífugos estéreis. As soluções de estoque foram armazenadas a -20º C quando não estavam em uso. Diluições adicionais dos compostos de teste foram feitas em cada um dos dias dos estudos/ensaios. DMSO e CsA foram testados em cada um e em todos os experimentos para servir como o veículo de controle e o composto de referência, respectivamente.

[00176] As soluções de estoque de 10mg/ml de CsA e de análogos de CsA foram diluídas com DMSO até 50 µM em tubos micro centrífugos, com base nos pesos moleculares dos compostos. Nove diluições de 3 vezes cada, de cada um dos compostos em DMSO foram feitas em uma placa de poli estireno com 96 poços. Uma alíquota de solução de DMSO ou só do veículo de DMSO foi diluída 50 vezes em um compensador de reação (refira-se abaixo no que diz respeito às receitas) para fazer as concentrações finais de CsA ou do análogo de CsA de 1000, 333, 111, 37, 12, 4.1, 1.4, 0.46, 0.15, e 0.05 nM. As soluções de compensador de reação foram armazenadas a 4º C – 7º C por pelo menos uma hora antes dos estudos/ensaios.

C. Compensador de Reação

[00177] A solução de disparo (compensador salino) para um compensador de reação consistiu em Hepes 50 mM, cloreto de sódio 10mM e soro albumina humano 1mg/ml ajustado até um pH 8.0 com hidróxido de sódio. O compensador salino foi armazenado a 4º C quando não estava em uso. Em cada um dos dias do

estudo/ensaio, alfa-quimotripsina bovino foi dissolvido em um volume de compensador salino até uma concentração de 1mg/ml. Uma alíquota da solução de alfa-quimotripsina foi removida para servir como o compensador de reação de controle não catalítico. O recombinante humano CyP-A foi adicionado ao remanescente da solução de alfa-quimotripsina até uma concentração de 5nM. A solução contendo alfa-quimotripsina e CyP-A foi designada como um compensador de reação e foi usada para a preparação das soluções de reação.

D. Protocolo de Reação

[00178] Todas as reações do estudo/ensaio foram realizadas em uma sala fria dentro de uma variação de temperatura de 4º C – 8º C. Todas as soluções e equipamento foram armazenados na sala fria por pelo menos 1 hora antes do estudo/ensaio. A baixa temperatura foi necessária para que as reações procedessem em uma taxa suficientemente lenta para serem medidas com o equipamento disponível. O dispositivo de medição foi um leitor de microplaca BMG Polarstar configurado para leituras de absorção na OD 405 nm. As reações foram realizadas em placas de estudo/ensaio de poli estireno com fundo plano e 96 poços. Cada um dos estudos/ensaios consistiu em 12 reações separadas em uma fileira da placa. O peptídeo teve uma alíquota de 5 µl por poço com uma pipeta de canal simples emu ma fileira da placa, então a placa era posicionada no segurador da placa do leitor de microplaca. As reações eram iniciadas por dispensar 95 µl do compensador de reação em cada um dos poços contendo os peptídeos usando uma pipeta de 12 canais e misturando cada uma das reações por completo por meio da repetição da introdução da pipeta para assegurar uma dissolução uniforme do peptídeo. As 12 reações em cada um dos estudos/ensaios realizados foram representadas pelo seguinte:

a) 10 reações, representando uma réplica para cada uma das 10 concentrações de cada um dos compostos de teste (CyP-A no compensador de

reação)

b) 1 reação com 5 µl Veículo de DMSO (CyP-A no compensador de reação)

c) 1 reação com 5 µl Veículo de DMSO (CyP-A ausente a partir do compensador de reação)

As gravações de absorvência/absorção foram iniciadas imediatamente depois da mistura. Aproximadamente 15 segundos passaram a partir da adição de um compensador de reação até a primeira gravação de OD_{405} devido ao tempo de mistura e o ajuste do equipamento. As leituras subsequentes foram realizadas com intervalos de 6 segundos para um total de 60 leituras durante um período de 360 segundos. Três a quatro vezes de reações foram realizadas para cada um dos compostos de teste para proporcionar os dados das réplicas.

E. Análise dos dados

[00179] Os dados brutos consistiam em um aumento dependente de tempo das $OD_{405.}$ Na presença de CyP-A e na ausência do inibidor, o peptídeo foi completamente convertido no isômero trans dentro de aproximadamente 150 segundos conforme é demonstrado por um platô na $OD_{405.}$ Os dados de OD_{405} versus tempo foram plotadas com um software Graphpad Prism e encaixado com uma equação exponencial de uma fase para derivar uma taxa de constância de primeira ordem K para cada uma das reações. Nas reações sem CyP-A, a taxa de constância inteiramente representou a isomerização térmica cis para trans espontânea e não catalítica do peptídeo e foi definida como uma taxa de constância não catalítica K_0. Nas reações contendo CyP-A, a isomerização ocorreu através de ambos os processos não catalítico e de enzima catalisada. Assim sendo, a taxa de constância K nas reações contendo CyP-A representou a soma da taxa de constância não catalítica K_0 e a taxa de constância catalítica K_{cat}. A K_{cat} foi calculada pela subtração de K_0 (obtida a partir da reação sem CyP-A) a partir do total da taxa de constância K. Tipicamente K_{cat} foi 3 vezes mais alta do que K_0 nas reações com 5

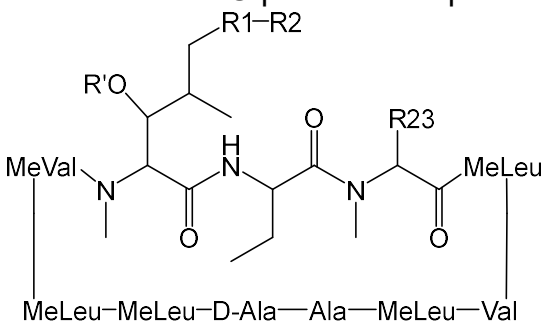
nM CyP-A, 150 μM de substrato de peptídeo e sem inibidor.

[00180] A plotagem de K_{cat} versus a concentração de inibidor foi encaixada com regressões não lineares de resposta de dose sigmoidal, para demonstrar as potências inibidoras. Os valores de EC_{50} calculados por software representaram as concentrações dos compostos de teste que inibiram K_{cat} por 50%. Para normalizar a variabilidade inter experimental nas condições do estudo/ensaio, CsA foi realizado em cada um dos experimentos como um composto de referência e o análogo de CsA foi expresso como uma potência de uma vez relativa ao CsA com base nos valores de EC_{50}. Por exemplo, um EC_{50} de um análogo de CsA que foi ½ de CsA representou uma potência de duas vezes comparado a CsA, ao passo que um EC_{50} de um análogo de CsA que foi 5 vezes mais alto do que CsA, representou uma potência de 0.2 vezes comparado ao CsA.

[00181] A Tabela 5, mostrada na Figura anexa, mostra a inibição de Ciclofilina A e a imunosupressão de análogos de CsA modificados na posição 1 e nas posições 1 e 3 de acordo com a presente invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto **CARACTERIZADO** pelo fato de que é da fórmula L:



Fórmula L,

em que:

a) R’ é H ou acetila;

b) R1 é uma cadeia de carbono alifática, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, de 2 a 15 átomos de carbono de comprimento;

c) R2 é selecionado dentre o grupo consistindo em:

i. uma amida não substituída, N-substituída, ou N,N-disubstituída, em que um substituinte da amida N-substituída, ou N,N-disubstituída compreende uma alquila de entre 1 e 7 carbonos de comprimento;

ii. um ácido carboxílico;

iii. uma nitrila;

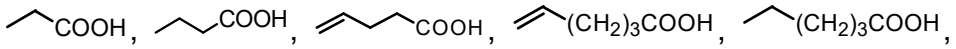
iv. um éster de entre 1 e 7 carbonos de comprimento;

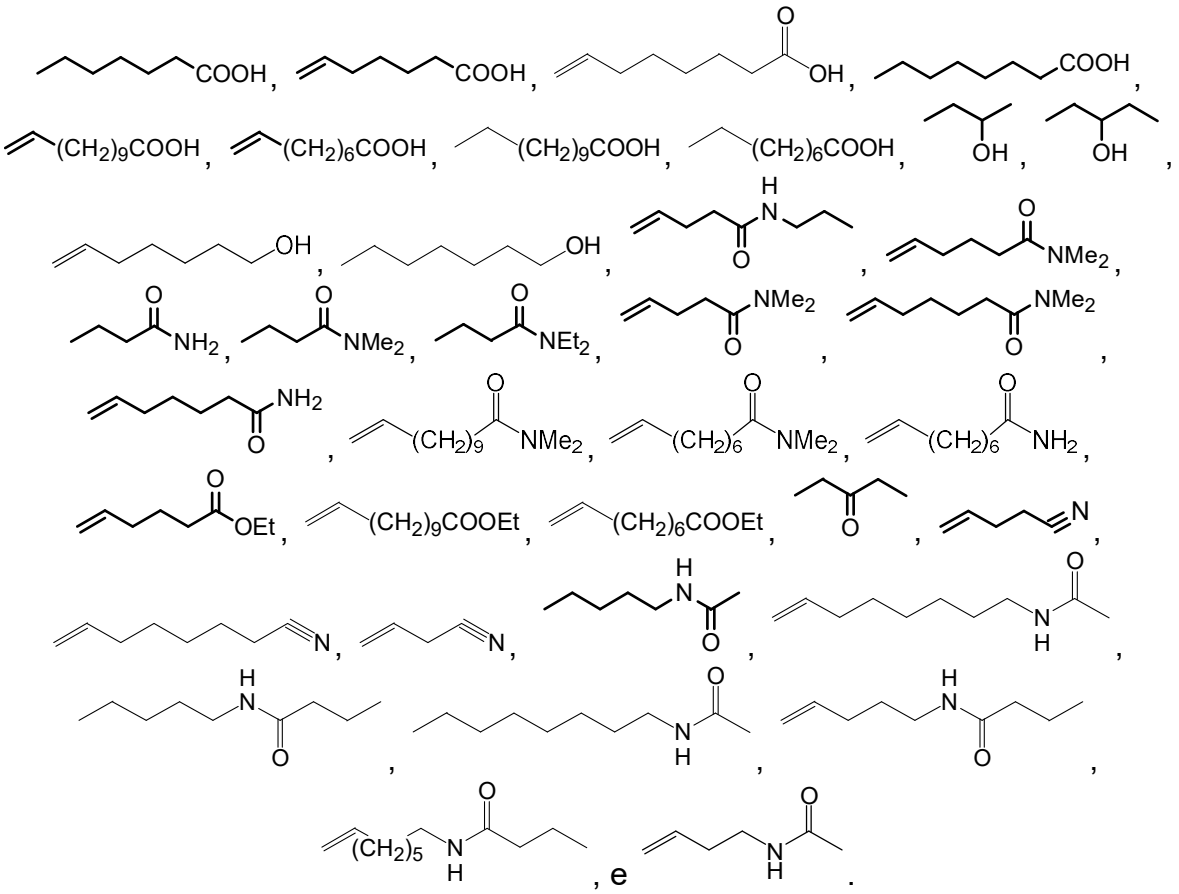
v. uma cetona, em que o grupo carbonila da cetona é conectado a R1 e uma cadeia alquila saturada ou insaturada da cetona está entre 1 e 7 carbonos de comprimento; e

vi. uma alquila monohidroxilada de entre 1 e 7 carbonos de comprimento; e

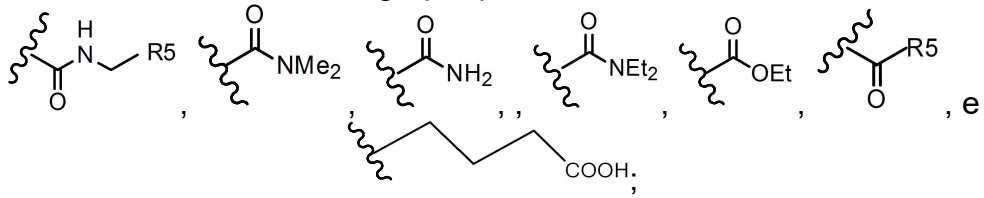
d) R23 é alquila C_1-C_3 não substituída.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R1-R2 é selecionado dentre o grupo que consiste em:





3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R2 é selecionado dentre o grupo que consiste em:

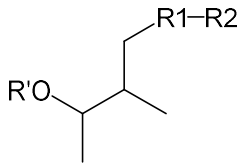


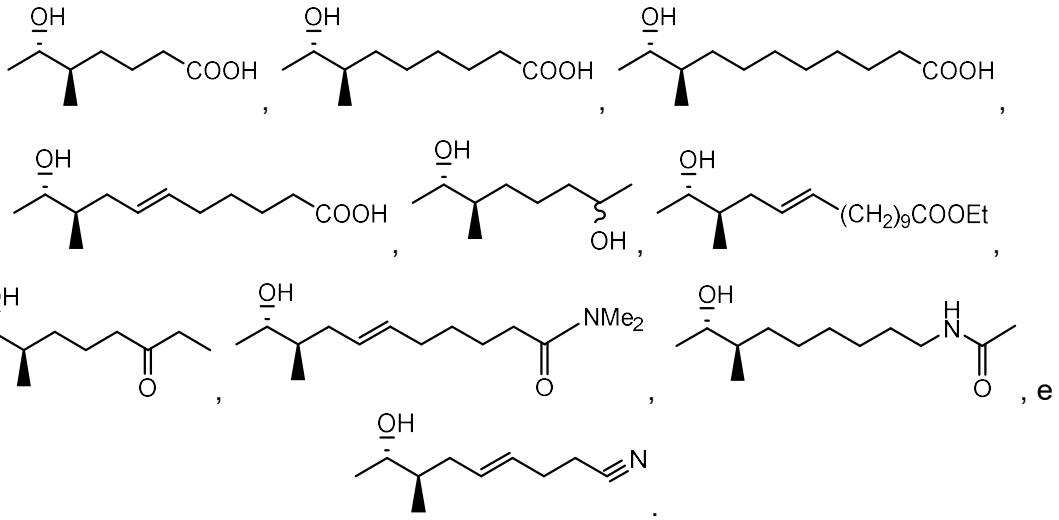
em que:

R5 é uma cadeia de carbono alifática, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, entre 1 e 7 carbonos de comprimento.

4. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R1 é uma cadeia de carbono alifática, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, de 5 a 8 átomos de carbono de comprimento.

5. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato

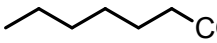
de que  na Fórmula L é selecionado dentre o grupo que consiste em:



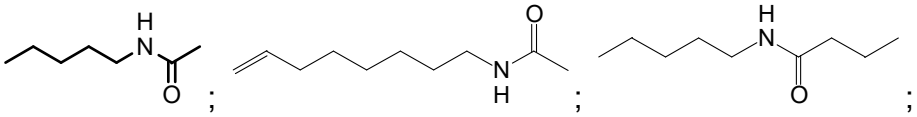
6. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R1–R2 é pelo menos 6 átomos de carbono de comprimento.

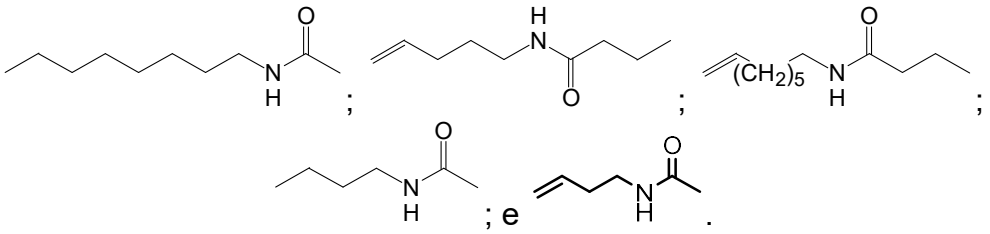
7. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R23 é selecionado dentre o grupo que consiste em: $-CH_3$ e $-CH_2CH_3$.

8. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o composto compreende o D-epímero do aminoácido 3, que é o aminoácido ao qual R23 está ligado.

9. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R1-R2 é  ; e R23 é metila, e em que o composto é um D-epímero, em que o centro quiral do D-epímero é o carbono ao qual R23 está ligado.

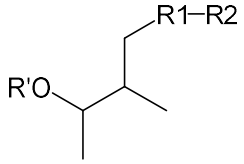
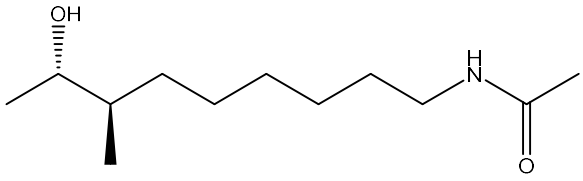
10. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o substituinte R1-R2 é selecionado dentre o grupo que consiste em:



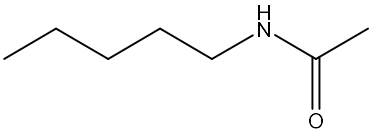
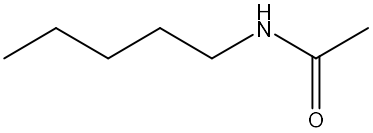
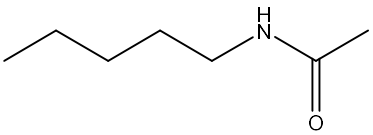


11. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R2 é amida N-substituída;

em que um substituinte da amida N-substituída compreende uma alquila de entre 1 e 7 carbonos de comprimento.

12. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que na Fórmula L  é  .

13. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R', R1-R2, e R23 e o isômero do referido composto são selecionados dentre os seguintes:

R'	R1-R2	R23	Isômero
H		$-CH_3$	D
H		$-CH_2CH_3$	L
H		$-CH_2CH_3$	D

em que o isômero é a forma isomérica do aminoácido 3, que é o aminoácido ao qual R23 está ligado.

14. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 13, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R23 é metila.

15. Composto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R' é H.

16. Composição farmacêutica **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende o composto, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, e um ou mais excipientes farmacêuticos.

17. Uso do composto, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é para a preparação de um medicamento para tratar ou prevenir uma doença ou uma lesão mediada por ciclofilina em um mamífero, em que a doença ou lesão é mediada por super expressão de ciclofilina ou a doença é uma super expressão de ciclofilina congênita, em que a doença ou lesão mediada por ciclofilina é selecionada dentre o grupo consistindo em uma infecção viral; doença inflamatória; câncer; distúrbio muscular; distúrbio neurológica; e lesão associada com isquemia, reperfusão, perda de homeostase celular de cálcio, perda de homeostase iônica, aumento na produção de radicais livres, ou de toxinas que induzem a disfunção mitocondrial;

em que a infecção viral é opcionalmente causada por um vírus selecionado dentre o grupo consistindo em vírus da imunodeficiência humana, hepatite A, hepatite B, Hepatite C, Hepatite D, Hepatite E, SARS-CoV, hCoV-NL63, hCoV-HKU-1, hCoV-OC43, hCOV-229E, coronavirus, vírus peritonite infecciosa de felino, e vírus da gastroenterite transmissível;

em que a doença inflamatória é opcionalmente selecionada dentre o grupo consistindo em asma, doença autoimune, inflamação crônica, prostatite crônica, glomerulonefrite, doença de hipersensibilidade, doença inflamatória intestinal, sepse, doença de célula muscular lisa vascular, aneurisma, doença inflamatória pélvica, lesão de reperfusão, artrite reumatoide, rejeição a transplante, e vasculite;

em que o câncer é opcionalmente selecionado dentre o grupo consistindo em câncer de células pequenas e não pequenas do pulmão, câncer de bexiga, câncer hepato celular, câncer pancreático, câncer de mama, glioblastoma, câncer colo retal, carcinoma de célula escamosa, melanoma, e câncer de próstata;

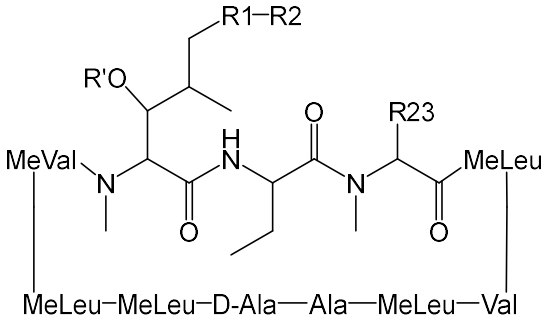
em que o distúrbio muscular é opcionalmente selecionado dentre o grupo consistindo em lesão de reperfusão miocardial, distrofia muscular, miopatias de colágeno VI, Síndrome de Parada Pós-Cardíaca (PCAS), falha do coração, aterosclerose, e aneurisma abdominal aórtica;

em que o distúrbio neurológico é opcionalmente selecionado dentre o grupo consistindo em doença de Alzheimer, doença de Parkinson, doença de Huntington, atrofia múltipla de sistemas, esclerose múltipla, paralisia cerebral, epilepsia, derrame, neuropatia diabética, esclerose lateral amiotrófica (doença de Lou Gehrig), distúrbio bipolar, lesão excitotóxica, encefalopatia hepática, hipoglicemia, toxicidade por manganês, privação de alvo neuronal, ácidos graxos tóxicos, lesão de nervo mecânico, lesão de coluna espinal, e lesão cerebral; e

em que a lesão associada com a perda de homeostase celular de cálcio é opcionalmente selecionada dentre o grupo consistindo em infarto do miocárdio, derrame, hepato toxicidade aguda, colestase, e lesão de armazenamento/reperfusão de órgãos de transplante.

18. Uso, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que os ácidos graxos tóxicos compreendem ácido araquidônico.

19. Processo para a preparação de um composto de fórmula L:



Fórmula L,

em que:

a) R’ é H ou acetila;

b) R1 é uma cadeia de carbono alifática, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, de 2 a 15 átomos de carbono de comprimento;

c) R2 é selecionado dentre o grupo consistindo em:

i. uma amida não substituída, N-substituída, ou N,N-disubstituída, em que um substituinte da amida N-substituída, ou N,N-disubstituída compreende uma alquila de entre 1 e 7 carbonos de comprimento;

ii. um ácido carboxílico;

iii. uma nitrila;

iv. um éster de entre 1 e 7 carbonos de comprimento;

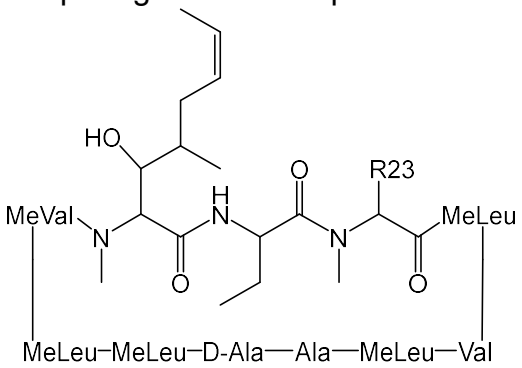
v. uma cetona, em que o grupo carbonila da cetona é conectado a R1 e uma cadeia alquila saturada ou insaturada da cetona está entre 1 e 7 carbonos de comprimento; e

vi. uma alquila monohidroxilada de entre 1 e 7 carbonos de comprimento; e

d) R23 é alquila C_1-C_3 não substituída,

CARACTERIZADO pelo fato de que compreende as etapas de:

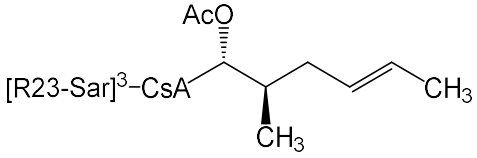
1) reagir ciclosporina-A (CsA) com uma alquilamida básica de lítio na presença de um solvente adequado opcionalmente com LiCl, seguido pela reação com um eletrófilo adequado para gerar um composto de fórmula 1:



Fórmula 1;

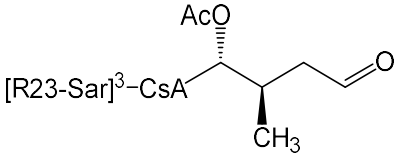
2) reagir o composto de fórmula 1 com AC_2O na presença de um solvente

adequado para formar um composto de fórmula 2A:



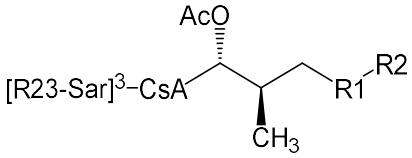
Fórmula 2A;

3) reagir o composto de fórmula 2A com um oxidante para formar um composto de fórmula 3A:



Fórmula 3A;

4) reagir o composto de fórmula 3A com um eletrófilo para formar um composto de fórmula 4A:



Fórmula 4A;

e

5) opcionalmente desacilar o composto de fórmula 4A.

20. Processo, de acordo com a reivindicação 19, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a preparação do composto de fórmula L compreende a adição de um excesso de LiCl no solvente adequado na etapa 1) para formar predominantemente o L-epímero do composto de fórmula L, ou a preparação do composto de fórmula L é realizada na ausência de LiCl no solvente adequado na etapa 1) para formar predominantemente o D-epímero do composto de Fórmula L, em que o centro quiral do L-epímero ou D-epímero do composto de Fórmula L é o átomo de carbono ao qual R23 está ligado.

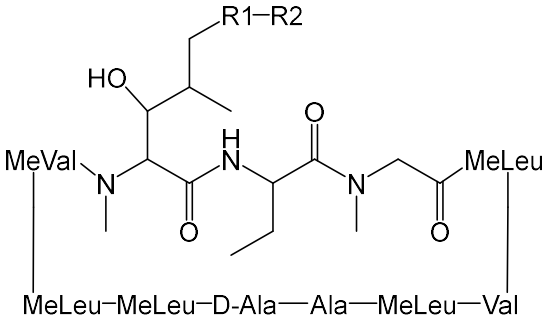
21. Processo, de acordo com a reivindicação 19 ou 20, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o eletrófilo é selecionado dentre o grupo definido na tabela a seguir,

para gerar o R23 correspondente na tabela:

Eletrófilo	R23
Iodeto de metila	—CH_3
Iodeto de etila	—CH_2CH_3.

22. Processo para a preparação do composto de Fórmula L, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende as etapas de:

reagir um composto de Fórmula 5:



Fórmula 5,

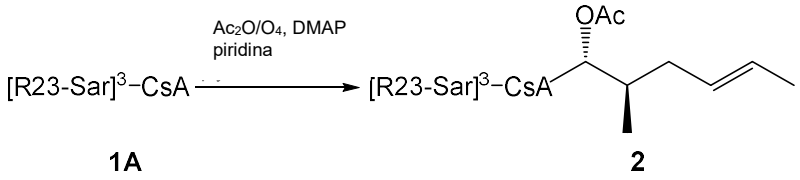
em que R1 e R2 são, como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, com uma alquilamida básica de lítio, na presença de um eletrófilo adequado em um solvente apropriado para formar o composto de Fórmula L, em que R23 é alquila C_1-C_3 não substituída.

23. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 19 a 22, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a alquilamida básica de lítio é diisopropilamida de lítio.

24. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 20 a 24, **CARACTERIZADO** pelo fato de que R2 é um ácido carboxílico e R23 é -CH_3.

25. Processo para a preparação do composto de fórmula L, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende as etapas de:

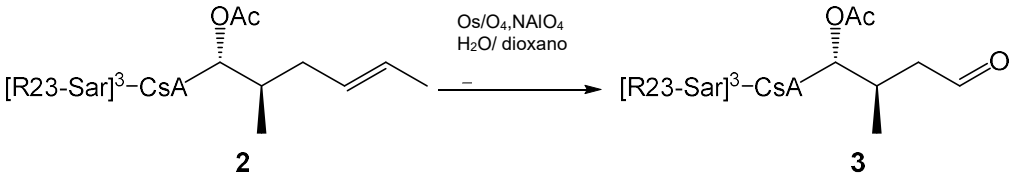
reagir um composto de fórmula 1A com dimetilaminopiridina na presença de um solvente adequado para formar um composto de fórmula 2:



1A **2**

,

opcionalmente seguido pela formação de um aldeído de fórmula 3:



2 **3**

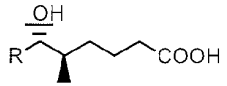
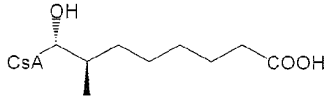
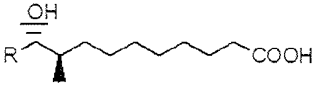
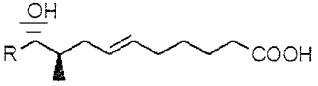
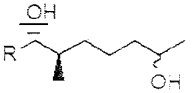
,

opcionalmente seguido por uma reação de Wittig para gerar o composto de fórmula L, em que R23 é selecionado dentre o grupo consistindo em $-CH_3$ e $-CH_2CH_3$.

Petição 870230038290, de 08/05/2023, pág. 125/128

Figura 1A

Tabela 5

	Modificação	Estrutura 1-Mod		1 + 3-D-MeAla	
Nomenclatura 1-Mod	Estrutura 1-Mod	Inibição de Cyp A potência de dobra vs CsA	% de imunosupressão vs Csa	Inibição de Cyp A potência de dobra vs CsA	% de imunosupressão vs Csa
404-58		0.16	< 1	1.3	< 1
420-171		2.3		8.7	< 1
420-19		3.7	< 1	9.5	3.4
416-08		3.7	< 1	14.3	3
404-98		2.2	6.5	15	7.6

Petição 870230038290, de 08/05/2023, pág. 126/128

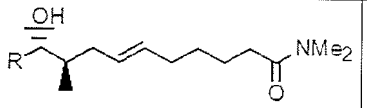
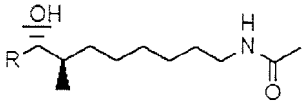
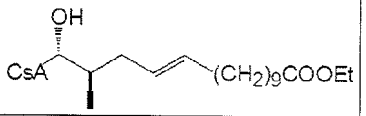
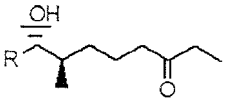
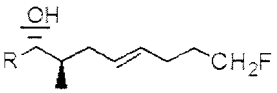
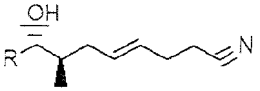
404-154		0.98	2	8.3 (saturado)	9.2 (saturado)
420-30-1		3.3	< 1	11.7	< 1
420-103		0.19	10	1.9 (saturado)	7.7 (saturado)
404-173		1.14	2.6	3.9	4
404-76		0.65	12.5	2.8	9.7
404-194		0.61	2	4.4	1.4

Figura 1B

Petição 870230038290, de 08/05/2023, pág. 127/128

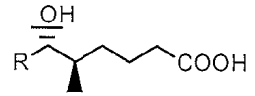
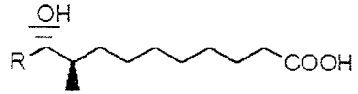
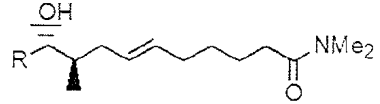
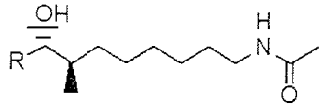
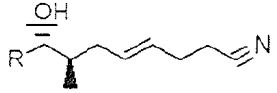
	Modificação	Estrutura 1-Mod		1 + 3-D-EtSar	
Nomenclatura 1-Mod	Estrutura 1-Mod	Inibição de Cyp A potência de dobra vs CsA	% de imunosupressão vs Csa	Inibição de Cyp A potência de dobra vs CsA	% de imunosupressão vs Csa
404-58		0.16	< 1	0.56	< 1
420-19		3.7	< 1	4.2	2.3
404-154		0.98	2	10.6 (saturado)	4.1 (saturado)
420-30-1		3.3	< 1	8.9	1.1
404-194		0.61	2	2.1	4.9

Figura 1C