

(11) Número de Publicação: **PT 1572180 E**

(51) Classificação Internacional:

**A61K 31/19** (2007.10) **C07C 53/134** (2007.10)  
**C07C 327/16** (2007.10) **A61P 3/06** (2007.10)  
**A61P 3/08** (2007.10) **A61P 3/10** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2003.12.16**

(30) Prioridade(s): **2002.12.19 IT RM20020629**

(43) Data de publicação do pedido: **2005.09.14**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.03.12**  
**085/2009**

(73) Titular(es):

**SIGMA - TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE  
RIUNITE S.P.A.  
VIALE SHAKESPEARE, 47 I-00144 ROMA IT**

(72) Inventor(es):

**ROBERT VAESEY GB  
ROBERT PERKINS GB  
DAVID PLUMPTRE GB**

(74) Mandatário:

**MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA  
AV LIBERDADE, Nº. 69 1250-148 LISBOA PT**

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ALFA-FENILTIOCARBOXÍLICOS COM ACTIVIDADE DE REDUÇÃO DA GLICOSE SÉRICA E ACTIVIDADE DE REDUÇÃO DE LÍPIDOS NO SORO**

(57) Resumo:

**RESUMO****"UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ALFA-FENILTIOCARBOXÍLICOS COM ACTIVIDADE DE REDUÇÃO DA GLICOSE SÉRICA E ACTIVIDADE DE REDUÇÃO DE LÍPIDOS NO SORO"**

A invenção descreve a utilização de derivados dos ácidos alfa-feniltiocarboxílico e alfa-feniloxicarboxílico que satisfazem a fórmula estrutural (I): em que os substituintes possuem as significações descritas na memória descritiva, para a preparação de um medicamento para a profilaxia e para o tratamento da diabetes, em particular diabetes de tipo 2, das complicações que lhes estão associadas, as várias formas de resistência à insulina e hiperlipidemias.

## DESCRIÇÃO

### **"UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ALFA-FENILTIOCARBOXÍLICOS COM ACTIVIDADE DE REDUÇÃO DA GLICOSE SÉRICA E ACTIVIDADE DE REDUÇÃO DE LÍPIDOS NO SORO""**

A presente invenção diz respeito à utilização de ácidos  $\alpha$ -feniltiocarboxílicos para a preparação de um medicamento de fórmula estrutural (I) com actividade de redução da glicose sérica.

#### **Antecedentes da invenção**

A diabetes é uma doença à escala mundial e está associada a complicações clínicas sérias incluindo complicações microvasculares, tais como retinopatia diabética, neuropatia diabética e nefropatia diabética, e a complicações macrovasculares, tais como aterosclerose, vasculopatias periféricas, enfarte do miocárdio e apoplexia.

A resistência à insulina que caracteriza a diabetes também está envolvida na síndrome X, na síndrome do ovário poliquístico, na obesidade, na hipertensão, na hiperlipidemia e na hipercolesterolemia (J. Am Osteopath Assoc, Outubro de 2000; 100 (10): 621-34; JAMA, 27 de Novembro de 2002; 288 (20): 2579-88).

Sabe-se que a hiperlipidemia, a hipercolesterolemia e a hipertensão desempenham um papel decisivo no início da doença cardíaca coronária (DCC).

Também se sabe que o aumento na glicolisação de proteínas está associado às complicações supramencionadas

da diabetes (Diabetologia, Fevereiro de 2001; 44 (2): 129-46).

As referidas complicações constituem uma ameaça grave à saúde e ao bem-estar do indivíduo.

São já conhecidas diversas formas clínicas da diabetes, sendo as mais comuns a diabetes de tipo 1 e de tipo 2. A diabetes de tipo 2 é caracterizada por uma sensibilidade reduzida à acção da insulina (resistência à insulina) e provoca um aumento nos níveis de insulina no corpo numa tentativa para compensar esta falha e origina um consequente aumento nos níveis de glicose. Foram já apresentados diversos estudos que confirmam que a resistência à insulina está associada a diversas doenças para além da própria diabetes de tipo 2, tais como dislipidemia, obesidade, hipertensão arterial, esteatose hepática e determinadas características microvasculares e macrovasculares da própria doença diabética. A associação entre a resistência à insulina e a obesidade, a hipertensão e a dislipidemia é conhecida como síndroma X.

Para o tratamento de diabetes de tipo 2, foram já comercialmente disponibilizadas há algum tempo diversos fármacos, tais como biguanidas e sulfonilureias. A biguanida mais conhecida é a metformina, mas o seu mecanismo de acção não é conhecido e possui efeitos secundários, tais como distúrbios gastrointestinais, bem como o perigo de acidose em estados de insuficiência renal, cardíaca, hepática, pulmonar, etc.. As sulfonilureias promovem a secreção de insulina pelas células  $\beta$  e podem acontecer episódios de hipoglicemia como efeitos secundários possíveis. Além disso, todas as monoterapias

com sulfonilureias ou com metformina estão condenadas ao insucesso a longo termo (estudo UKPDS).

Recentemente, foram disponibilizadas comercialmente as tiazolidinadionas, as quais são agentes antidiabéticos sensibilizadores de insulina, tais como troglitazona (J. Med. Chem., 1989, 32, 421-428), pioglitazona (Arzneim. Forsch./Drug Res., 1990, 40 (1), 37-42) e rosiglitazona (Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4, 1181-1184) que são capazes de reduzir os níveis de hiperglicemia e de insulina diabéticos. Os efeitos secundários já determinados para a troglitazona e o medo relativamente a outros compostos que pertencem a esta classe são: toxicidade hepática (a qual originou a retirada do mercado da troglitazona nos E.U.A.), aumento do colesterol LDL, aumento de peso e edema.

Estes compostos são ligandos sintéticos com uma afinidade elevada para o receptor activado  $\gamma$  do proliferador de peroxissoma (PPAR $\gamma$ ) (J. Biol. Chem., 1995, 270, 12953-12956).

Os receptores activados do proliferador de peroxissoma (PPAR) são receptores que pertencem à superfamília dos receptores nucleares cuja função é controlar a expressão de genes envolvidos no metabolismo dos hidratos de carbono e dos lípidos (J. Med. Chem., 2000, 43, 527-550). Foram já identificados diversos subtipos de PPAR: PPAR $\gamma$ , PPAR $\alpha$  e PPAR $\beta$  (também designado como  $\delta$ ). A isoforma gama (PPAR $\gamma$ ) está envolvida na regulação da diferenciação de adipócitos e na homeostase de energia, ao passo que a isoforma alfa (PPAR $\alpha$ ) controla a oxidação dos ácidos gordos causando a modulação dos níveis de lípidos no plasma. É importante salientar que a redução dos lípidos que é obtida em roedores com agonistas de PPAR $\gamma$ , tais como rosiglitazona, é

dificilmente encontrada em seres humanos, ao passo que a redução de lípidos provoca em roedores por fibratos é confirmada em seres humanos. Há uma relação entre a activação do receptor de PPAR $\gamma$  e a actividade de redução da glicose sérica, a qual foi confirmada em estudos de relação entre a actividade e a estrutura com o objectivo de identificar novas moléculas com uma potencial acção antidiabética (J. Med. Chem., 1996, 39, 665-668; J. Med. Chem., 1998, 41, 5020-5036; 5037-5054; 5055-5069). Parece que acção sensibilizadora de insulina está relacionada com a acção recrutadora de ácidos gordos pelo receptor activado PPAR $\gamma$ , o qual se crê que dê origem a uma melhoria na resistência à insulina dos tecidos, melhorando os níveis de glicemia e diminuindo os níveis de insulina (Diabetes, 1998, 47, 507-514).

Ao longo dos últimos anos, surgiram moléculas de perfis mistos, isto é, ligandos de PPAR $\gamma$  e de PPAR $\alpha$  (KRP 297, Diabetes, 1998, 47, 1841-1847; DRF 2725, Diabetes, 2001, 50, supl. 2, A108; AZ 242, Diabetes, 2001, 50, supl. 2, A121-A122; WO 01/16120). É de acordo com este contexto que se deverá observar a publicação muito recente da patente de invenção de Smithkline Beecham (WO 02/067912, publicada a 6 de Setembro de 2002), na qual se encontra descrita uma nova classe de compostos designados por "pan-agonistas PPAR", isto é, agonistas que são capazes de activar as três isoformas de PPAR para assim minimizar os efeitos secundários da activação de PPAR. Em particular, crê-se que esta classe nova de agentes antidiabéticos, apesar de manter as características típicas da activação de PPAR $\gamma$ , dê origem a um aumento de peso inferior e edemas mais suaves. Estes compostos são potencialmente capazes de

exercer um bom controlo na doença diabética, uma vez que apresentam uma acção de redução da glicose sérica e de redução de lípidos no soro com menos efeitos secundários, os quais são comuns para a primeira série de compostos na classe das tiazolidonadiónicas, que eram exclusivamente ligandos do receptor PPAR $\gamma$ . As estruturas reivindicadas nas patentes de invenção n<sup>os</sup> WO 01/16120 e WO 02/067912 partilham a característica de apresentarem uma porção de tipo fibrato.

No entanto, nem toda a comunidade científica concorda com o que foi referido antes. De facto, há estudos que dizem respeito a compostos de nova geração, quer sejam derivados de tiazolidinadiona quer não sejam, (MC555, J. Biol. Chem., 1998, Vol. 273 (49), 32679-32684; NC2100, Diabetes, 2000, 49, 759-767, YM440, Metabolism, 2000, 49, 411-417), em ensaios de transactivação génica, em experiência *in vitro* sobre a absorção de glicose com tecidos musculares e experiências *in vivo* em animais transgénicos com expressão deficiente do receptor PPAR $\gamma$  que sugerem que poderá não existir uma relação directa entre a activação do receptor PPAR $\gamma$  e a actividade de redução de glicose sérica e de redução de lípidos no soro destes compostos (Toxicology Letters, 2001, 120, 9-19).

Para confirmar estes factos, há diversos investigadores que escolheram utilizar pesquisas *in vivo* em animais diabéticos (murganhos db/db, murganhos ob/ob) para assim identificar possíveis agentes sensibilizadores de insulina que não sejam necessariamente bons ligandos de PPAR. A partir dessas experiências foram seleccionados diversos compostos com uma actividade antidiabética interessante, decorrendo ainda o estudo em modelos animais

(DRF 2189, J. Med. Chem., 1998, 41, 1619-1630; JTT-501, J. Med. Chem.; 1998, 41, 1927- 1933).

A comunidade científica parece estar orientada para a procura de novos compostos com um mecanismo de acção diferente, os quais possuam um efeito idêntico ou superior sobre a sensibilidade à insulina e à homeostase da glicose sem exibirem os efeitos tóxicos (J. Med. Chem., 2001, 44, 2601-2611) e possuam uma actividade de redução de lípidos no soro superior às apresentadas tanto pelos agentes antidiabéticos novos como pelos mais antigos, utilizados no presente momento.

A hiperlipidemia é um aspecto grave da doença diabética, constituindo, em conjunto com a hipertensão que está frequentemente presente, um factor de risco para a aterosclerose e para a doença cardiovascular, que é a causa principal de morte na diabetes.

A necessidade de reduzir os lípidos no sangue é muitas vezes abordada com a utilização de fibratos, os quais, apesar dos resultados positivos obtidos no que diz respeito à resistência à insulina, ainda não provaram ser bem sucedidos como agentes de redução dos lípidos no soro.

O documento WO 03/059875 A, o qual constitui uma técnica anterior segundo o Art. 54(3) EPC, diz respeito à utilização de compostos idênticos aos descritos na presente invenção para o tratamento de doenças que respondam à activação de PPAR $\gamma$ , tais como paragem cardíaca, hiperlipidemia e aterosclerose.

D. A. Winegar *et al.* na obra Current Opinion in Cardiovascular, Pulmonary and Renal Investigational Drugs 2000, Vol. 2, nº3, páginas 233 a 243, descreve, agonistas de PPAR $\alpha$ , tais como fenofibrato, e a sua eficácia, *v.g.*,

para a redução de triglicéridos e de colesterol LDL no soro, para o aumento do colesterol HDL e para melhorar a resistência à insulina. Além do mais, também é discutido o papel dos PPAR na aterosclerose.

D.A. Brooks na obra *J. Med. Chem.*, 2001, Vol. 44, páginas 2061 a 2064, descreve a concepção e a síntese de ácidos 2-metil-2-{4-[2-(5-metil-2-ariloxazol-4-il)-etoxi]-fenoxi}-propiónicos, uma nova classe de agonistas duais de PPAR $\alpha/\gamma$ . Estudou-se a eficácia *in vivo* de um composto exemplificativo dessa classe de agonistas num modelo de animal diabético.

No artigo científico por I. Lalezari *et al.*, na obra *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 58, páginas 6117 a 6121, encontra-se descrito o ácido 2-[4-(3,4-diclorofenilureído)-henoxi]-2-metilpropiónico, designado por LR16. Demonstrou-se que a administração por via oral desse composto provocou uma redução substancial do colesterol sérico total e do colesterol LDL, ao passo que o colesterol HDL permaneceu inalterado.

No documento US 3 262 850 encontram-se descritos determinados derivados alílicos de ácidos alifáticos que reduzem a concentração de colesterol no soro sanguíneo.

No documento GB 1 422 679 encontram-se descritos derivados específicos do ácido fenoxi- $\alpha$ -metilpropiónico que possuem uma actividade elevada para a redução do nível de colesterol no soro sanguíneo e, por tal motivo, são eficazes para o tratamento e para a profilaxia de aterosclerose e hiperlipidemia, bem como para colesterolemia grave.

S. Gronowitz *et al.*, *Acta Pharm. Suec.*, Vol. 15, páginas 361 a 367 (1978) descrevem a síntese e as

propriedades de redução de lípidos de derivados de tiofeno, relacionados com clofibrato.

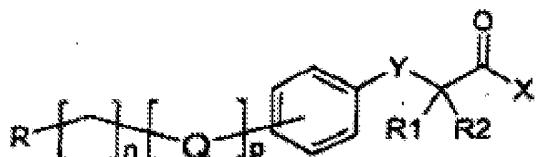
### Descrição abreviada da invenção

Concluiu-se agora que os compostos de fórmula estrutural (I) a seguir descritos são agentes que são activos como agentes de redução da glicose sérica.

Os compostos de fórmula estrutural (I) possuem uma toxicidade baixa e, por tal motivo, são úteis para o tratamento de hiperglicemia e de hiperlipidemia associada a esta.

Como aplicações preferidas refere-se a profilaxia e o tratamento de diabetes, em especial diabetes de tipo 2, das complicações microvasculares da diabetes de tipo 2, tais como retinopatia diabética, neuropatia diabética e nefropatia diabética, das complicações macrovasculares da diabetes, tais como aterosclerose, vasculopatia periférica, síndroma X, obesidade, e as diversas formas de resistência à insulina.

Assim, constitui um objecto da presente invenção a utilização de compostos de fórmula estrutural (I):



(I)

em que:

o símbolo R representa um átomo de H ou um grupo arilo ou heteroarilo, monocíclico, bicíclico ou tricíclico, facultativamente substituído com um ou vários grupos

halogéneo, nitro, hidroxi, alquilo e alcoxi, facultativamente substituídos com um ou vários grupos halogéneo;

o símbolo n representa um número entre 0 e 3;

o símbolo p representa um número entre 0 e 1;

o símbolo X representa -OH ou -O-alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)

cada um dos substituintes R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>, que podem ser iguais ou diferentes, são seleccionados entre: -H, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), -COX;

o substituinte Q é seleccionado entre: NH, O, S, -NHC(O)O-, NHC(O)NH-, -NHC(O)S-, -OC(O)NH-, -NHC(S)O-, -NHC(S)NH-, -C(O)NH-

e o símbolo Y representa S;

e seus sais, misturas racémicas, enantiómeros individuais, estereoisómeros ou isómeros geométricos e tautómeros farmaceuticamente aceitáveis, para a preparação de um medicamento para a profilaxia e para o tratamento da diabetes, em especial da diabetes de tipo 2; das complicações microvasculares da diabetes de tipo 2, tais como retinopatia diabética, neuropatia diabética e nefropatia diabética; das complicações macrovasculares da diabetes, tais como aterosclerose, vasculopatia periférica; da síndrome X; da obesidade e das diversas formas de resistência à insulina.

### **Descrição minuciosa da invenção**

Entre os compostos de fórmula estrutural (I), há um primeiro grupo de compostos preferidos que é constituído por compostos em que o símbolo R representa um grupo arilo facultativamente substituído com um ou vários átomos de halogéneo, alquilo, alcoxi ou haloalquilo e de preferência

metilo, metoxi ou trifluorometilo, nitro, mono-alquilamina ou di-alquilamina.

De preferência, no contexto deste primeiro grupo, o símbolo p representa 1, o símbolo n representa 0, 1 ou 2 e o substituinte Q é oxigénio.

Há um segundo grupo de compostos preferidos que é constituído por compostos em que o símbolo R representa um grupo heteroarilo, preferencialmente contém um átomo de azoto como heteroátomo, v.g., indole e carbazole, ligado à parte restante da molécula por meio de todas as posições permitidas; sendo particularmente preferidos entre estes 1-indolilo e 1-carbazolilo.

No contexto deste segundo grupo. De preferência, o símbolo p representa 1, o símbolo n representa 0, 1 ou 2 e o substituinte Q é oxigénio.

Como compostos particularmente preferidos refere-se os compostos preparados de acordo com os métodos e procedimentos de síntese gerais aqui descritos a seguir, os quais ilustram a aplicabilidade da invenção:

- i. 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2195);
- ii. ácido 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-2-metil-propanóico (ST2518);
- iii. 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1929);
- iv. 2-[3-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2534);
- v. 2-[4-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2531);
- vi. 2-[3-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2365);

- vii. 2-[4-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2387);
- viii. 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1983);
- ix. 2-[3-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2394);
- x. 2-[3-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2167);
- xi. 2-[4-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2011);
- xii. ácido 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-2-metil-propanóico (ST2505);
- xiii. ácido 2-[3-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2653);
- xiv. ácido 2-[4-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2652);
- xv. ácido 2-[3-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2618);
- xvi. ácido 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2622);
- xvii. ácido 2-[3-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2651);
- xviii. ácido 2-[3-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2609);
- xix. ácido 2-[4-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2036);
- xx. 2-[4-[2-(1-(5-metoxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2577);
- xxi. 2-[4-[2-(1-(5-benziloxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2562);

xxii. 2-[3-[5-(4-nitrofenil)-furfuriloxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2501);

xxiii. ácido 2-[4-[2-(1-(5-metoxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutírico (ST2733);

xxiv. ácido 2-[4-[2-(1-(5-benziloxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2740);

xxv. ácido 2-metil-2-[3-[5-(4-nitrofenil)-furfuriloxi]-feniltio]-propanóico (ST2753).

São particularmente preferidos os compostos ST2518 e ST2195.

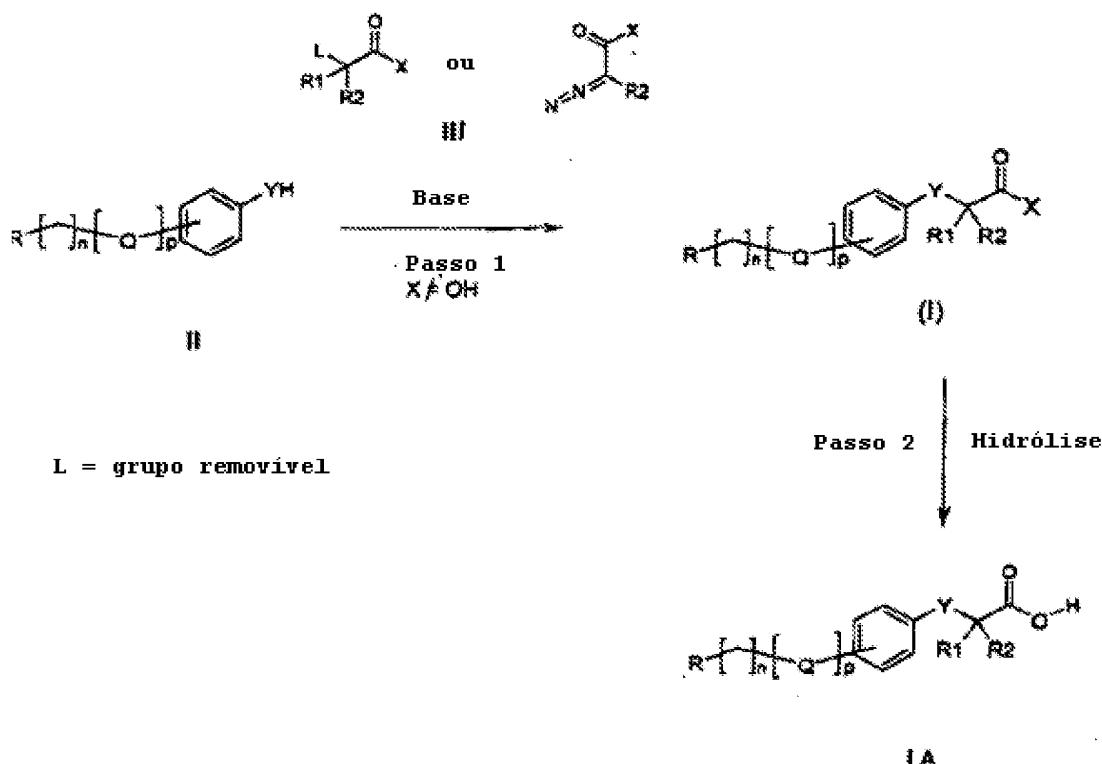
Os compostos de fórmula estrutural (I) são preparados de acordo com as reacções descritas nos métodos gerais A-C.

#### **Métodos gerais de síntese**

Os esquemas seguintes ilustram os métodos utilizados para a síntese dos compostos de fórmula estrutural (I).

Salvo quando indicado de outro modo, as significações dos diversos símbolos são idênticas às apresentadas na fórmula estrutural (I). O procedimento de hidrólise descrito no método A também pode ser utilizado nos outros métodos.

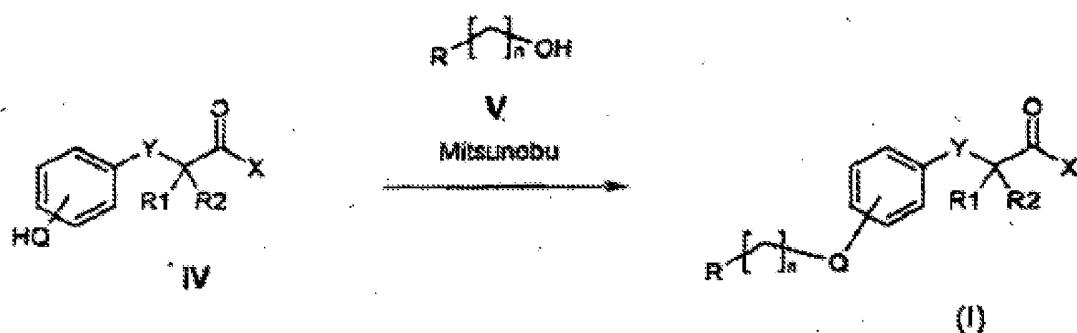
## MÉTODO A



A preparação dos compostos de fórmula estrutural **(I)** teve lugar fazendo reagir o composto de fórmula estrutural **II** com uma base, de preferência inorgânica e preferencialmente hidreto de sódio, para se formar o anião correspondente, o qual se faz então reagir com um composto de fórmula estrutural **III**, que contém um grupo removível, tal como cloro, bromo, iodo, mesilo, tosilo e diazo (no caso do grupo diazo, em vez de uma base inorgânica utilize-se um dímero de acetato de ródio bivalente como catalisador), *v.g.*, 2-metil-alfa-bromoisobutirato, num solvente polar, tal como acetonitrilo, tolueno ou preferencialmente dimetilformamida, durante um intervalo de temperatura compreendido entre 18 e 48 horas e a uma temperatura compreendida entre 10°C e 50°C e de preferência 25°C. Submete-se o produto assim obtido a hidrólise básica

ou ácida, utilizando, por exemplo, NaOH ou, por exemplo, uma mistura de HCl/ácido acético, a uma temperatura compreendida entre 10°C e 100°C, de preferência 25°C, durante um intervalo de tempo compreendido entre 1 e 72 horas, de preferência 3 horas, para se obter o ácido **IA** correspondente.

### MÉTODO B

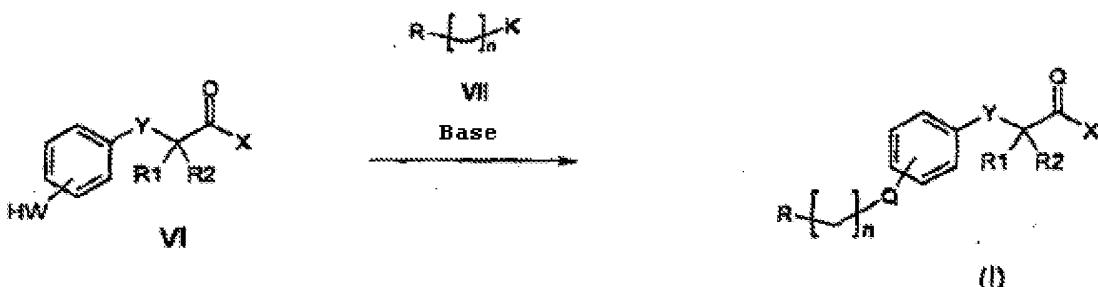


$\text{Q} = \text{O, S}$

$\text{X} \neq \text{OH}$

A preparação dos compostos de fórmula estrutural (I) teve lugar a partir dos compostos de fórmula estrutural **IV**, os quais se fez reagir com um álcool de fórmula estrutural **V** sob condições convencionais de reacção de Mitsunobu, conforme descrito na obra *Synthesis*, 1981, 1-28, utilizando solventes anidros e apróticos, tais como benzeno, tolueno, éter ou, de preferência, tetra-hidrofurano, durante um intervalo de tempo compreendido entre 30 minutos e 72 horas, de preferência 48 horas, a uma temperatura compreendida entre 10°C e 40°C, de preferência 25°C.

## MÉTODO C



W = O, NH, S

K = -NCS, -NCO, -OC(O)Cl, -COOH

Q ≠ N, O, S

Os compostos preparados por método foram obtidos a partir de compostos de fórmula estrutural **VI**, dissolvidos em solventes apróticos, por exemplo, tolueno, éter, benzeno ou, de preferência, tetra-hidrofurano, e depois foram adicionados com o correspondente isocianato, tioisocianato ou cloroformiato de fórmula estrutural **VII**, facultativamente na presença de uma base inorgânica ou orgânica, de preferência trietilamina numa quantidade catalítica ou estequiométrica, deixando-se reagir durante um intervalo de tempo compreendido entre 6 e 72 horas, de preferência 48 horas, a uma temperatura compreendida entre 10°C e 40°C, de preferência 25°C. No caso de o símbolo K representar agentes de condensação COOH, tais como dietilfosforocianidato, EEDQ, DCC ou CDI e semelhantes, então foram utilizados numa proporção de 1:3 equivalentes em relação aos substratos, de preferência de 1:1,5 equivalentes, ou então o processo foi realizado através da formação do cloreto de ácido, efectuando-se a reacção de condensação em solventes orgânicos, tais como DMF, CH<sub>3</sub>CN, CHCl<sub>3</sub>, THF e semelhantes, a uma temperatura compreendida entre 20°C e 80°C, de preferência 25°C, num intervalo de

tempo compreendido entre 18 horas e 3 dias, de preferência 24 horas. Os exemplos seguintes ilustram mais minuciosamente a invenção, embora não limitem o seu âmbito.

### **Exemplo 1**

Preparação de 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2195)

Preparação do produto intermediário, 2-(3-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo

#### ***Método A (passo 1)***

Preparou-se o produto a partir de 3-mercaptovenol (2,00 g, 15,9 mmol) em 40 mL de CH<sub>3</sub>CN anidro e de NaH a 80% (0,572 g 19,1 mmol) a 0°C. Decorridos 5 minutos, adicionou-se metil-2-bromoisobutirato (2,88 g, 15,9 mmol) à suspensão. Manteve-se a mistura de reacção assim obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Depois deste período, verteu-se a mistura em H<sub>2</sub>O e extraiu-se com acetato de etilo. Secou-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio anidro e evaporou-se até à secura. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de gel de sílica, utilizando como eluente CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 98/2. Obteve-se 2,900 g de produto (rendimento: 81%); p.f. (ponto de fusão): 41,5°C-42,5°C; TLC: gel de sílica, eluente CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 98/2, R<sub>f</sub> (rácio frontal): 0,23; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ: 7,19 (t, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,95 (t lr, 1H), 6,81 (dd, 1H), 3,69 (s, 3H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS-3' (5 μm) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O a 50/50 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,75 mL/minuto, detector UV 205 nm, tempo de retenção 13,82 minuto; KF: 0,3% de H<sub>2</sub>O; A. E. em conformidade com C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S.

Preparação de 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2195)

**Método B**

Preparou-se o produto a partir de 2-(3-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito antes) (1,00 g, 4,42 mmol) e de álcool 4-clorofenetílico (0,692 g, 4,42 mmol) em 15 mL de THF anidro, aos quais se adicionou, progressivamente e em pequenas quantidades, DIAD (1,16 g, 5,75 mmol) e trifenilfosfina (1,500 g, 5,75 mmol), mantendo a temperatura a um valor inferior a 30°C. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando como eluente hexano/AcOEt a 9/1. Obteve-se 1,146 g de um produto oleoso (rendimento: 71%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 9/1,  $R_f = 0,28$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,25 (m, 6H), 7,00 (m, 1H), 6,90 (d, 1H), 4,15 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,08 (t, 2H), 1,55 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: 30°C, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 80/20 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,75 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 19,34 minutos; KF: 1,7% de  $\text{H}_2\text{O}$ ; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClO}_3\text{S}$ .

**Exemplo 2**

Preparação do ácido 2-3-(2-(4-clorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2518)

**Método A (passo 2)**

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2195 (preparado tal como descrito no exemplo 1) (0,150 g, 0,41 mmol) em 9 mL de metanol, ao qual se adicionou 4 mL de NaOH 1N. Manteve-se a solução assim obtida sob agitação magnética durante 48 horas à temperatura ambiente. Após este período, diluiu-se a solução com água, acidificou-se com HCl 1N e extraiu-se a fase aquosa com AcOEt. Secou-se a fase aquosa sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Obteve-se 0,128 g de produto (rendimento: 88%); p.f.: 105°C-106°C; TLC: gel de sílica, eluente  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  9,4/0,6, Rf: 0,42;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,45 (m, 5H), 7,10 (m, 2H), 6,80 (dd, 1H), 4,15 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry-C18' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: 30°C, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{acetato de amónio}$  10 mM a 35/65 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,80 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 4,66 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ClO}_3\text{S}$ .

### Exemplo 3

Preparação de 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1929)

Preparação do intermediário 2-(4-hidroxifenil-tio)-isobutirato de metilo (ST 1923)

Preparou-se o produto em epígrafe, de acordo com o procedimento descrito no método A (passo 1), a partir de 4-mercaptofenol (0,500 g, 4,0 mmol) em 10 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro, ao qual se adicionou NaH a 80% (0,144 g, 4,8 mmol). Arrefeceu-se a mistura até 0°C e, decorridos 5 minutos, adicionou-se metil- $\alpha$ -bromoisobutirato (0,724 g, 4,0 mmol).

Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética durante dois dias à temperatura ambiente. Após este período, verteu-se a mistura sobre H<sub>2</sub>O e extraiu-se com acetato de etilo; acidificou-se então a fase aquosa com HCl 1N e extraiu-se novamente com acetato de etilo. Secou-se as fases orgânicas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrou-se e evaporou-se. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de gel de sílica, utilizando CHCl<sub>3</sub> como eluente. Obteve-se 0,760 g de produto (rendimento: 84%); p.f.: 110°C-112°C; TLC: gel de sílica, eluente CHCl<sub>3</sub>, R<sub>f</sub>: 0,11; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ: 7,30 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 5,57 (m lr, 1H), 3,70 (s, 3H), 1,45 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry - C<sub>18</sub>', (5 μm) 4,6 x 250 mm, T: 30°C, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O a 50/50 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,75 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 10,14 minutos; A. E. (análise elementar) em conformidade com C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>S.

Preparação de 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1929)

Preparou-se o produto em epígrafe de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(4-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito antes) (0,800 g, 3,54 mmol) e de álcool 4-clorofenetílico (0,554 g, 3,54 mmol) em 20 mL de THF anidro. Adicionou-se, progressivamente e em pequenas porções, DEAD (0,801 g, 4,6 mmol) e trifenilfosfina (1,205 g, 4,6 mmol), mantendo a temperatura inferior a 30°C. Manteve-se a reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando

hexano/acetato de etilo a 9/1 como eluente. Obteve-se 0,416 g de um produto oleoso (rendimento: 32%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/acetato de etilo a 9/1, Rf: 0,32;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,40-7,19 (m, 6H), 6,80 (d, 2H), 4,15 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,08 (t, 2H) 1,45 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry-C<sub>18</sub>', (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: 30°C, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 70/30 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,75 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 31,40 minutos; KF: 0,4% de  $\text{H}_2\text{O}$ ; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClO}_3\text{S}$ .

#### **Exemplo 4**

##### **Preparação de 2-[3-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2534)**

Preparou-se o produto em epígrafe de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(3-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 1) (0,280 g, 1,24 mmol) e de DIAD (0,325 g, 1,61 mmol), dissolvido em 3 mL de THF anidro, e adicionou-se gota a gota, a uma solução álcool 2,4-diclorofenetílico (0,260 g, 1,36 mmol) e trifenilfosfina (0,422 g, 1,61 mmol) em 4 mL de THF anidro a 0°C. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 9,6/0, 4 como eluente. Obteve-se 0,327 g de um produto oleoso (rendimento: 66%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 9/1, Rf: 0,34;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,40 (d, 1H), 7,20 (m, 3H), 7,00 (m, 2H), 6,90 (dd, 1H), 4,15 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,20 (t, 2H), 1,45 (s,

6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS-3' (5  $\mu$ m) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 90/10 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,8 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 12,40 minutos; KF: 0,2% de  $\text{H}_2\text{O}$ ; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{S}$ .

### **Exemplo 5**

#### Preparação de 2-[4-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2531)

Preparou-se o produto em epígrafe de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(4-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 3) (0,280 g, 1,24 mmol) e DIAD (0,325 g, 1,61 mmol), dissolvido em 3 mL de THF anidro, e adicionou-se, gota a gota, a uma solução de álcool 2,4-diclorofenetílico (0,260 g, 1,36 mmol) e trifenilfosfina (0,422 g, 1,61 mmol) em 4 mL de THF anidro a 0°C. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 9,6/0,4 como eluente. Obteve-se 0,346 g de produto (rendimento: 70%); p.f.: 73°C-74°C; TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 9/1, Rf: 0,26;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,35 (m, 3H), 7,22 (m, 2H), 6,83 (d, 2H), 4,18 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,20 (t, 2H), 1,45 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS-3' (5  $\mu$ m) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 85/15 (v/v), pH: tal qual, caudal: 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 12,58 minutos; KF: 0,4% de  $\text{H}_2\text{O}$ ; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{S}$ .

**Exemplo 6****Preparação de 2-[3-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2365)**

Preparou-se o produto em epígrafe de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(3-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 1) (0,609 g, 2,7 mmol) e adicionou-se, progressivamente e em pequenas porções, 9H-carbazol-9-etanol (0,570 g, 2,7 mmol), DIAD (0,708 g, 3,5 mmol) e trifenilfosfina (0,917 g, 3,5 mmol), mantendo a temperatura inferior a 30°C, em 14 mL de THF anidro. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética durante 18 horas à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 9/1 como eluente. Obteve-se 0,510 g de produto (rendimento: 45%); p.f.: 101°C-103°C; TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 8/2, Rf: 0,38;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 8,05 (d, 2H), 7,50 (m, 4H), 7,15 (m, 2H), 7,08 (t, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,80 (m, 1H), 4,75 (t, 2H), 4,35 (t, 2H), 3,60 (s, 3H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry-C<sub>18</sub>', (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 150 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 65/35 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,80 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 11,45 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{S}$ .

**Exemplo 7****Preparação de 2-[4-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2387)**

Preparou-se o produto de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(4-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 3) (0,609 g, 2,7 mmol) e adicionou-se, progressivamente e em porções, 9H-carbazol-9-etanol (0,570 g, 2,7 mmol), DIAD (0,708 g, 3,5 mmol) e trifenilfosfina (0,917 g, 3,5 mmol), mantendo a temperatura inferior a 30°C, em 14 mL de THF anidro. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética durante 18 horas à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 9/1 como eluente. Obteve-se 0,702 g de produto (rendimento: 62%); p.f.: 72°C-74°C; TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 8/2, Rf: 0,30;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 8,05 (d, 2H), 7,50 (m, 4H), 7,15 (m, 4H), 6,75 (d, 2H), 4,75 (t, 2H), 4,35 (t, 2H), 3,60 (s, 3H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry-C<sub>18</sub>', (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 150 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 70/30 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,80 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 11,60 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{S}$ .

### Exemplo 8

#### Preparação de 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1983)

##### Preparação do produto intermediário 1-(2-hidroxietil)-indole

Preparou-se o produto intermediário de acordo com o procedimento descrito na obra J. Med. Chem., 1998, 41/10, 1619-1639, com a excepção do tempo de reacção (igual a 30

horas em vez de 30 minutos), a partir de indole (5,0 g, 42,7 mmol), KOH (3,6 g, 64,1 mmol) e bromoetanol (6,4 g, 51,3 mmol) em 50 mL de DMSO anidro, a uma temperatura compreendida entre 25°C e 30°C, para se obter 5 g do produto oleoso (rendimento: 73%).

Preparação de 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1983)

Preparou-se o produto de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(4-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 3) (0,671 g, 2,97 mmol) e adicionou-se, progressivamente e em porções, 1-(2-hidroxietil)-indole (0,478 g, 2,97 mmol), DEAD (0,672 g, 3,86 mmol) e trifenilfosfina (1,011 g, 3,86 mmol), mantendo a temperatura inferior a 30°C, em 15 mL de THF anidro. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética durante 48 horas e à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/acetato de etilo a 8/2 como eluente. Ao todo, obteve-se 0,500 g de produto ainda impuro, o qual se dissolveu em acetato de etilo e se lavou com uma solução de NaOH 1 N. Secou-se a fase orgânica e evaporou-se para se obter um resíduo de 0,230 g, o qual se purificou novamente por cromatografia através de gel de sílica, efectuando a eluição com  $\text{CHCl}_3$ . Obteve-se 0,184 g de produto oleoso (rendimento: 17%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/acetato de etilo a 8/2, Rf: 0,29;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,62 (d, 1H), 7,40-7,10 (m, 6H), 6,78 (d, 2H), 6,50 (d, 1H), 4,50 (m, 2H), 4,24 (m, 2H), 3,61 (s, 3H), 1,40 (s,

6H); HPLC: coluna: 'Symmetry-C<sub>18</sub>', (3,5 µm) 4,6 x 75 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O a 60/40 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,90 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 10,70 minutos; KF: 1,7% de H<sub>2</sub>O; A. E. em conformidade com C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S.

### **Exemplo 9**

#### Preparação de 2-[3-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2394)

Preparou-se o produto em epígrafe de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(3-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 1) (1,00 g, 4,42 mmol) e de 1-(2-hidroxietil)-indole (preparado tal como descrito no exemplo 8) (0,711g, 4,42 mmol) em 20 mL de THF anidro, aos quais se adicionou, progressivamente e em pequenas quantidades, DIAD (1,16 g, 5,75 mmol) e trifenilfosfina (1,500 g, 5,75 mmol), mantendo a temperatura inferior a 30°C. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 8/2 como eluente. Obteve-se 0,581 g de produto oleoso (rendimento: 35%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 9/1, R<sub>f</sub>: 0,22; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ: 7,62 (d, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,30-6,80 (m, 7H), 6,52 (d, 1H), 4,55 (m, 2H), 4,30 (m, 2H), 3,61 (s, 3H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Supelco-C<sub>18</sub>' (5 µm) 4,6 x 150 mm, T: 30°C, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O a 70/30 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,90 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 6,36 minutos; A. E. em conformidade com C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S.

**Exemplo 10****Preparação de 2-[3-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2167)**

Preparou-se o produto de acordo com o procedimento descrito no método B (com a exceção de se ter substituído DEAD por DIAD), a partir de 2-(3-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 1) (1,110 g, 4,9 mmol), de 2-(2-naftil)-etanol (0,842 g, 4,9 mmol), de DIAD (1,290 g, 6,37 mmol) e de trifenilfosfina (1,670 g, 6,37 mmol) em 20 mL de THF anidro. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 7/3 como eluente. Purificou-se novamente o produto por dissolução em acetato de etilo e lavagem da fase orgânica com uma solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Secou-se a fase orgânica sobre sulfato de sódio e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Obteve-se 1,14 g de produto oleoso (rendimento: 61,2%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 9/1,  $R_f$ : 0,20;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,80 (m, 3H), 7,75 (s, 1H), 7,45 (m, 3H), 7,25 (t, 1H), 7,05 (m, 2H), 6,90 (d, 1H), 4,25 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,30 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS-3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 80/20 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,9 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 18,91 minutos; KF: 1,0% de  $\text{H}_2\text{O}$ ; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$ .

**Exemplo 11****Preparação de 2-[4-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2011)**

Preparou-se o produto de acordo com o procedimento descrito no método B, a partir de 2-(4-hidroxifeniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 3) (1,000 g, 4,42 mmol) e adicionou-se, progressivamente e em porções, 2-(2-naftil)-etanol (0,760 g, 4,42 mmol), DEAD (1,000 g, 5,75 mmol) e trifenilfosfina (1,500 g, 5,75 mmol), mantendo a temperatura inferior a 30°C, em 30 mL de THF anidro. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o solvente e purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, utilizando hexano/AcOEt a 9/1 como eluente. Obteve-se 1,262 g de produto (rendimento: 75%); p.f.: 56°C-57°C; TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 9/1, Rf: 0,23;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,85-7,70 (m, 4H), 7,45-7,28 (m, 5H), 6,83 (d, 2H), 4,27 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,26 (t, 2H), 1,45 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS-3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 80/20 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,75 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 23,51 minutos; KF: 0,16% de  $\text{H}_2\text{O}$ ; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$ .

**Exemplo 12****Preparação do ácido 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2505)****Método A (passo 2)**

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST1929 (preparado tal como descrito no exemplo 3) (0,572 g, 1,57 mmol) em 36 mL de metanol, à qual se adicionou 15,7 mL de NaOH 1 N. Manteve-se a solução obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura de refluxo. Após este período, acidificou-se a solução com HCl 1 N e extraiu-se a fase aquosa com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o produto por cromatografia através de uma coluna de gel de sílica, efectuando a eluição com hexano/AcOEt a 7:3. Obteve-se 0,448 g do produto (rendimento: 81,5%); p.f.: 87°C-88°C; TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt a 6/4, Rf: 0,3; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ: 7,40 (d, 2H), 7,25 (d, 2H), 7,20 (d, 2H), 6,80 (d, 2H), 4,15 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry-C<sub>18</sub>' (5 μm) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/acetato de amónio 10 mM a 45/55 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,70 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 4,73 minutos; A. E. em conformidade com C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>ClO<sub>3</sub>S.

### **Exemplo 13**

Preparação do ácido 2-[(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2653)

#### **Método A (passo 2)**

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2534 (preparado tal como descrito no exemplo 4) (0,700 g, 1,75 mmol) em 11 mL de CH<sub>3</sub>OH, à qual se adicionou 21 mL de NaOH 1 N. Manteve-se a solução obtida sob agitação magnética durante dois dias a 40°C. Após este período, evaporou-se o CH<sub>3</sub>OH sob uma pressão hipobárica,

acidificou-se a fase aquosa com HCl 1 N e extraiu-se com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Obteve-se 0,486 g de produto (rendimento: 72%); p.f.: 86°C-88°C; TLC: gel de sílica, eluente CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 9,6/0,4, Rf: 0,18; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ: 7,40 (s, 1H), 7,20 (m, 3H), 7,05 (m, 2H), 6,90 (d, 1H), 4,15 (t, 2H), 3,05 (t, 2H), 1,45 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5 μm) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM a 70/30 (v/v), pH: aproximadamente 3 (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), caudal: 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 16,78 minutos; A. E. em conformidade com C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S.

#### **Exemplo 14**

Preparação do ácido 2-[4-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2652)

#### ***Método A (passo 2)***

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2531 (preparado tal como descrito no exemplo 5) (0,130 g, 0,32 mmol) em 3 mL de tetra-hidrofuran, à qual se adicionou 3 mL de uma solução aquosa de LiOH (0,040 g, 1,67 mmol). Manteve-se a suspensão obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o tetra-hidrofuran sob uma pressão hipobárica, acidificou-se a fase aquosa com HCl 1 N e extraiu-se com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de uma coluna de gel de sílica, efectuando a eluição com CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 9,6/0,4. Obteve-se

0,044 g de produto (rendimento: 36%); TLC: gel de sílica, eluente  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  a 9,6/0,4,  $R_f$ : 0,20;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,40 (m, 3H), 7,20 (m, 2H), 6,80 (d, 2H), 4,15 (t, 2H), 3,15 (t, 2H), 1,45 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM a 65/35 (v/v), pH: aproximadamente 3 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), caudal: 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 27,20 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{O}_3\text{S}$ .

### **Exemplo 15**

Preparação do ácido 2-[3-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2618)

#### ***Método A (passo 2)***

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2365 (preparado tal como descrito no exemplo 6) (0, 120 g, 0,286 mmol) em 3 mL de tetra-hidrofuran, à qual se adicionou 1 mL de uma solução aquosa de LiOH (0,014 g, 0,5 mmol). Manteve-se a suspensão assim obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o tetra-hidrofuran sob uma pressão hipobárica, acidificou-se a fase aquosa com HCl 1 N, extraiu-se sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Obteve-se 0,042 g de produto (rendimento: 36%); TLC: gel de sílica, eluente  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  a 9,6/0,4,  $R_f$ : 0,24;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 8,05 (d, 2H), 7,50 (m, 4H), 7,10-7,00 (m, 5H), 6,80 (d, 1H), 4,70 (t, 2H), 4,30 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM a 70/30 (v/v), pH: tal qual, caudal: 1

mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 11,92 minutos; A. E. em conformidade com  $C_{24}H_{23}NO_3S$ .

### **Exemplo 16**

Preparação do ácido 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2622)

#### ***Método A (passo 2)***

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST1983 (preparado tal como descrito no exemplo 8) (1 g, 2,71 mmol) em 15 mL de  $CH_3OH$ , à qual se adicionou 30 mL de NaOH 1 N. Manteve-se a solução obtida sob agitação magnética durante 48 horas a 40°C. Após este período, evaporou-se o  $CH_3OH$  sob uma pressão hipobárica, acidificou-se a fase aquosa com HCl 1 N e extraiu-se com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre  $Na_2SO_4$  anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo através de uma coluna de gel de sílica, efectuando a eluição com  $CHCl_3/CH_3OH$  a 9,6/0,4. Obteve-se 0,679 g de produto (rendimento: 70%); TLC: gel de sílica, eluente  $CHCl_3/CH_3OH$  a 9,6/0,4,  $R_f$ : 0,27;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,60 (d, 1H), 7,40 (d, 3H), 7,20 (m, 3H), 6,80 (d, 2H), 6,50 (d, 1H), 4,50 (t, 2H), 4,25 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisili ODS 3' (5  $\mu$ m) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $CH_3CN/KH_2PO_4$  50 mM a 70/30 (v/v), pH: tal qual, caudal: 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 8,30 minutos; A. E. em conformidade com  $C_{20}H_{21}NO_3S$ .

### **Exemplo 17**

Preparação do ácido 2-[3-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2651)

**Método A (passo 2)**

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2394 (preparado tal como descrito no exemplo 9) (0,140 g, 0,38 mmol) em 3 mL de tetra-hidrofuran, à qual se adicionou 2 mL de uma solução aquosa de LiOH (0,040 g, 1,67 mmol). Manteve-se a suspensão obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente. Após este período, evaporou-se o tetra-hidrofuran sob uma pressão hipobárica, acidificou-se a fase aquosa com HCl 1 N e extraiu-se com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de uma coluna de gel de sílica, efectuando a eluição com  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  a 9,6/0,4. Obteve-se 0,086 g de produto (rendimento: 63%); TLC: gel de sílica, eluente  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  a 9,6/0,4,  $R_f$ : 0,19;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,60 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,20-7,00 (m, 6H), 6,80 (d, 1H), 6,50 (d, 1H), 4,50 (t, 2H), 4,20 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM a 65/35 (v/v), pH: tal qual, caudal: 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 8,77 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{S}$ .

**Exemplo 18**

Preparação do ácido 2-[3-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2602)

**Método A (passo 2)**

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2167 (preparado tal como descrito no exemplo 10) (0,270 g, 0,71 mmol) em 18 mL de  $\text{CH}_3\text{OH}$ , à qual se adicionou

15 mL de NaOH 2 N. Manteve-se a solução obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura de refluxo. Após este período, arrefeceu-se a mistura de reacção, acidificou-se com HCl 1 N e extraiu-se com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo por cromatografia através de uma coluna de gel de sílica, efectuando a eluição com hexano/AcOEt a 7/3,0. Obteve-se 030 g de produto (rendimento: 14%); TLC: gel de sílica, eluente hexano/AcOEt 6/4,  $R_f$ : 0,24;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,80 (m, 3H), 7,70 (s, 1H), 7,40 (m, 3H), 7,20 (m, 1H), 7,10 (s, 2H), 6,90 (d, 1H), 4,20 (t, 2H), 3,20 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM a 70/30 (v/v), pH: tal qual, caudal: 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 11,77 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{S}$ .

### **Exemplo 19**

Preparação do ácido 2-[4-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2036)

#### **Método A (passo 2)**

Preparou-se o produto a partir de uma solução do composto ST2011 (preparada tal como descrito no exemplo 11) (0,498 g; 1,29 mmol) em 30 mL de  $\text{CH}_3\text{OH}$ , à qual se adicionou 12,9 mL de NaOH 1 N. Manteve-se a solução obtida sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura de refluxo. Após este período, arrefeceu-se a mistura de reacção, acidificou-se com HCl 1 N e extraiu-se com AcOEt. Secou-se a fase orgânica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrou-se e

evaporou-se o solvente sob uma pressão hipobárica. Obteve-se 0,450 g de produto (rendimento: 95%); p.f.: 103°C-104°C; TLC: gel de sílica, eluente  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  a 9,8/0,2, Rf: 0,13;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$ : 7,80 (m, 3H), 7,70 (s, 1H), 7,40 (m, 5H), 6,80 (d, 2H), 4,20 (t, 2H), 3,20 (t, 2H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu\text{m}$ ) 4,6 x 250 mm, T: temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM a 75/25 (v/v), pH: tal qual, caudal: 0,75 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 13,10 minutos; A. E. em conformidade com  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{S}$ .

### **Exemplo 20**

Preparação de 2-[4-[2-(1-(5-metoxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2577)

#### ***Método B***

A uma solução do composto ST1923 (preparado tal como descrito no exemplo 3) (0,2 g, 0,88 mmol) em THF anidro (6 mL) adicionou-se 2-(5-metoxi-indol-1-il)-etanol (preparado tal como descrito no exemplo 8, partindo de 5-metoxi-indole e de 2-bromo-etanol) (0,185 g, 0,97 mmol), DIAD (0,230 g, 1,14 mmol) e trifenilfosfina (0,299 g, 1,14 mmol), em pequenas porções. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente, depois removeu-se o solvente sob uma pressão hipobárica, dissolveu-se o resíduo em  $\text{AcOEt}$  e lavou-se com  $\text{NaOH}$  1 N. Secou-se a fase orgânica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrou-se e evaporou-se. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de gel de sílica, utilizando como eluente hexano/ $\text{AcOEt}$  a 87/13, para se obter 0,180 g de produto final (rendimento de 51%). TLC: gel de sílica, eluente: hexano/ $\text{AcOEt}$  a 7/3, Rf: 0,39;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,

CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,30 (m, 3H), 7,15 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,90 (dd, 1H), 6,78 (d, 2H), 6,40 (d, 1H), 4,50 (t, 2H), 4,25 (t, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,65 (s, 3H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5 μm) 4,6 x 250mm, temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O a 85/15 v/v, pH tal qual, caudal 0,75 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 7,80 minutos; A. E.: em conformidade com o esperado para C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub>S.

### **Exemplo 21**

Preparação de 2-[4-[2-(1-(5-benziloxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2562)

#### ***Método B***

A uma solução do composto ST1923 (preparado tal como descrito no exemplo 3) (0,2 g, 0,88 mmol) em THF anidro (6 mL), adicionou-se 2-(5-benziloxi-indol-1-il)-etanol (preparado tal como descrito no exemplo 8, partindo de 5-benziloxi-indole e de 2-bromo-etanol) (0,26 g, 0,97 mmol), DIAD (0,230g, 1,14 mmol) e trifenilfosfina (0,299 g, 1,14 mmol), em pequenas porções. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro à temperatura ambiente, depois removeu-se o solvente sob uma pressão hipobárica, dissolveu-se o resíduo em AcOEt e lavou-se com NaOH 1 N. Secou-se a camada orgânica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrou-se e evaporou-se sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de gel de sílica, utilizando como eluente hexano/AcOEt a 85/15, para se obter 0,240 g de produto final (rendimento de 57%). P.f.: 87°C-88°C; TLC: gel de sílica, eluente: hexano/AcOEt a 7/3, Rf 0,41; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,45-7,2 (m, 10H), 7,00 (dd, 1H), 6,80

(d, 2H), 6,40 (d, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,50 (t, 2H), 4,25 (t, 2H), 3,60 (s, 3H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5  $\mu$ m) 4,6 x 250 mm, temperatura ambiente, fase móvel  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  a 90/10 v/v, pH tal qual, caudal 0,80 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 8,21 minutos; A. E.: em conformidade com o esperado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{29}\text{NO}_4\text{S}$ .

### **Exemplo 22**

Preparação de 2-[3-[5-(4-nitrofenil)-furfuriloxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2501)

#### ***Método B***

A uma solução de 2-(3-hidroxi-feniltio)-isobutirato de metilo (preparado tal como descrito no exemplo 1) (1,02 g, 4,5 mmol) em THF anidro (23 mL) adicionou-se álcool 5-nitrofurfurílico (0,986 g, 4,5 mmol), DIAD (1,18 g, 5,85 mmol) e trifenilfosfina (1,53 g, 5,85 mmol), em pequenas porções. Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética à temperatura ambiente, depois removeu-se o solvente sob uma pressão hipobárica, dissolveu-se o resíduo em AcOEt e lavou-se com NaOH 1 N. Secou-se a camada orgânica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrou-se e removeu-se sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo obtido por cromatografia através de gel de sílica, utilizando como eluente hexano/AcOEt a 9,4/0,6, para se obter 0,380 g de produto final (rendimento de 20%). P.f.: 81°C-82°C; TLC: gel de sílica, eluente: hexano/AcOEt a 7/3, Rf 0,45;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8,22 (d, 2H), 7,80 (d, 2H), 7,22 (m, 2H), 7,10-7,00 (m, 3H), 6,80 (d, 1H), 6,60 (d, 1H), 5,10 (s, 2H), 370 (s, 3H), 1,50 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Symmetry C<sub>18</sub>' (5  $\mu$ m) 4,6 x 250 mm, temperatura ambiente, fase móvel

CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O a 85/15 v/v, pH tal qual, caudal 0,85 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 6,24 minutos; A. E.: em conformidade com o esperado para C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub>S.

### **Exemplo 23**

Preparação do ácido 2-[4-[2-(1-(5-metoxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutírico (ST2733)

#### ***Método A (passo 2)***

A uma solução do composto ST2577 (preparado tal como descrito no exemplo 20) (0,2 g, 0,50 mmol) em CH<sub>3</sub>OH (3,2 mL) adicionou-se uma solução de NaOH 1 N (6 mL). Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética de um dia para o outro a 40°C, depois removeu-se a fase orgânica sob uma pressão hipobárica e extraiu-se a fase aquosa com AcOEt. Separou-se a camada aquosa, acidificou-se com HCl 1 N e depois extraiu-se novamente com AcOEt. Lavou-se este segundo extracto orgânico com água, secou-se sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrou-se e evaporou-se sob uma pressão hipobárica para se obter 0,138 g de produto final (rendimento de 72%). P.f.: 100°C-102°C; TLC: gel de sílica, eluente: CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 8/2, Rf: 0,62; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,40 (d, 2H), 7,25 (s, 1H), 7,10 (d, 2H), 6,90 (d, 1H), 6,78 (d, 2H), 6,40 (d, 1H), 4,50 (t, 2H), 4,20 (t, 2H), 3,80 (s, 3H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5 µm) 4,6 x 250 mm, temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM a 70/30, pH tal qual, caudal 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 7,32 minutos; A. E.: em conformidade com o esperado para C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>S.

**Exemplo 24**

Preparação do ácido 2-[4-[2-(1-(5-benziloxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2740)

**Método A (passo 2)**

A uma solução do composto ST2562 (preparado tal como descrito no exemplo 21) (0, 430 g, 0,90 mmol) em CH<sub>3</sub>OH (10 mL) adicionou-se uma solução de NaOH 1 N (15 mL). Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética durante 48 horas a 40°C, depois removeu-se a fase orgânica sob uma pressão hipobárica e extraiu-se o resíduo aquoso com ACOEt. Separou-se a fase aquosa, acidificou-se com HCl 1 N e depois extraiu-se novamente com ACOEt. Lavou-se este segundo extracto orgânico com água, secou-se sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e evaporou-se sob uma pressão hipobárica para se obter 0,310 g de produto final (rendimento de 74%). P.f.: 160°C-162°C; TLC: gel de sílica, eluente: CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 9/1, Rf: 0,57; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7,40-7,15 (m, 10H), 7,20 (s, 2H), 7,00 (d, 1H), 6,90 (d, 2H), 6,40 (s, 1H), 5,15 (s, 2H), 4,50 (t, 2H), 4,20 (t, 2H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5 μm) 4,6 x 250 mm, temperatura ambiente, fase móvel: CH<sub>3</sub>CN/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM a 70/30, pH tal qual, caudal mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 11,60 minutos; A. E. em conformidade com o esperado para C<sub>27</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>4</sub>S.

**Exemplo 25**

Preparação do ácido 2-metil-2-[3-[5-(4-nitrofenil)-furfuriloxi]-feniltio]-propanóico (ST2753)

**Método A (passo 2)**

A uma solução do composto ST2501 (preparado tal como descrito no exemplo 22) (0,4 g, 0,93 mmol) em CH<sub>3</sub>OH (10 mL)

adicionou-se uma solução de NaOH 1 N (25 mL). Manteve-se a mistura de reacção sob agitação magnética durante 4 dias a 40°C, depois removeu-se a fase orgânica sob uma pressão hipobárica e extraiu-se o resíduo aquoso com AcOEt. Separou-se a fase aquosa, acidificou-se com HCl 1 N e depois extraiu-se novamente com AcOEt. Lavou-se este segundo extracto orgânico com água, secou-se sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e evaporou-se sob uma pressão hipobárica. Purificou-se o resíduo por cromatografia através de gel de sílica, efectuando a eluição com CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 9,4/0,6, para se obter 0,215 g de produto final (rendimento de 56%). P.f.: 137°C-138°C; TLC: gel de sílica, eluente: CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH a 9/1, Rf 0,53; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ: 8,30 (d, 2H), 8,00 (d, 2H), 7,40 (m, 2H), 7,10 (d, 3H), 6,80 (s, 1H), 4,20 (s, 2H), 1,40 (s, 6H); HPLC: coluna: 'Inertisil ODS 3' (5 μm) 4,6 x 250 mm, temperatura ambiente, fase móvel CH<sub>3</sub>CN/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM a 70/30, pH tal qual, caudal 1 mL/minuto, detector UV a 205 nm, tempo de retenção 11,38 minutos; A. E.: em conformidade com o esperado para C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub>S.

### **Exemplo 26**

Actividade antidiabética e de redução de lípidos no soro em murganhos db/db

As mutações em animais de laboratório tornaram possível o desenvolvimento de modelos que apresentam diabetes não dependente de insulina associados a obesidade, hiperlipidemia e resistência à insulina, o que nos permite testar a eficácia de novos compostos antidiabéticos (Reed e Scribner, Diabetes, obesity and metabolism, 1: 75-86, 1999).

Um modelo de mурганho diabético por meio de genética que é amplamente utilizado é o mурганho db/db C57BL/KsJ.

A base genética deste modelo consiste num defeito no gene receptor de leptina (mурганho db/db), o que provoca resistência a leptina e dá origem a excesso de alimentação, obesidade, hiperinsulinemia e resistência à insulina, com os sintomas subsequentes de secreção insular insuficiente e hiperglicemia (Kodama *et al.*, *Diabetologia*, 37: 739-744, 1994; Zhang *et al.*, *Nature*, 372: 425-432, 1994; Chen *et al.*, *Cell*, 84: 491-495, 1996).

Uma vez que a hiperglicemia é acompanhada por obesidade e resistência à insulina, o mурганho db/db mostra características que se assemelham às da diabetes de tipo 2 em pacientes humanos, sendo por tal motivo útil para testar compostos sensibilizadores de insulina.

Os mургanhos db/db C57BL/KsJ utilizados nas experiências foram fornecidos por Jackson Lab (via Ch. River). Após 10 dias de ambientação em condições normais ( $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ;  $55\% \pm 15\%$  de umidade; 15 a 20 substituição do ar/hora; ciclos de 12 horas de luz-escuridão com luz entre as 07h00m e as 19h00m) numa dieta convencional 4 FR21 (Mucedola), foram colhidas amostras de sangue em condições de pós-absorção (desde entre as 08h30m e as 16h30m) a partir da veia caudal com o auxílio de um cateter 'Jelco 22G' (Johnson and Johnson). Verificou-se os níveis plasmídicos de glicose, insulina, triglicéridos, colesterol, ácidos gordos livres e ureia para uma distribuição bem equilibrada de mургanhos nos grupos de tratamento.

No início do tratamento, verificou-se as massas corporais dos murganhos e foram realizados ajustes para monitorizar o consumo de água e comida.

Os murganhos foram tratados duas vezes por dia por via oral (às 08h30m e às 18h30m) durante 25 dias (experiência I) ou durante 12 dias (experiência II) com os compostos de acordo com a invenção, utilizando como compostos de referência rosiglitazona, bezafibrato e fenofibrato (experiência I) ou o composto tal como no exemplo 1 (experiência II).

Os compostos foram administrados numa dose equivalente a 25 mg/kg do composto ST2195 do exemplo 1 de acordo com a invenção, em 10 mL/kg de veículo (1% de CMC que contém 0,5% de Tween 80 em H<sub>2</sub>O desionizada). Em particular, administrhou-se rosiglitazona numa dose de 5 mg/kg (Lohray *et al.*, *J. Med Chem*, 41, 1619-1630, 1998), bezafibrate numa dose de 24,8 mg/kg e fenofibrate numa dose de 24,7 mg/kg.

Durante a experiência, monitorizou-se os níveis de glicose sérica, as conclusões do teste de tolerância oral à glicose oral (OGTT), diversos parâmetros do estado dos lípidos e o aumento de peso.

Os compostos de acordo com a invenção demonstraram ser capazes de diminuir os níveis de glicose sérica durante a alimentação (quadro 1), durante a pós-absorção (quadros 2, 2a, 5 e 5a) e durante condições de jejum (quadros 3 e 3a).

Também demonstraram ser capazes de melhorar a tolerância à glicose (quadros 4 e 4a) e de reduzir a fructosamina, que é um índice da glicosilação de proteínas (quadro 5), a qual, tal como referido antes, desempenha um papel importante no desenvolvimento de complicações microvasculares e macrovasculares da diabetes.

Os compostos de acordo com a invenção também demonstraram uma boa aptidão para reduzir os níveis séricos de triglicéridos; idênticos aos da rosiglitazona e do fenofibrato (quadros 6 e 6a).

Além disso, ao contrário da rosiglitazona, os compostos de acordo com a invenção fizeram aumentar os níveis de colesterol HDL (quadros 6 e 6a) e proporcionaram um valor de aumento de peso inferior à da rosiglitazona e um valor próximo à da induzida pelos fibratos (quadro 7 e 7a).

Um aumento dos valores de colesterol HDL constitui um indicador do agonismo de PPAR $\alpha$  e uma diminuição do risco de aterosclerose. De facto, o agonismo de PPAR $\alpha$  faz aumentar a oxidação dos ácidos gordos nos tecidos, reduzindo assim a acumulação de triglicéridos intracelulares, que favorecem a resistência à insulina (Virkamäki *et al.*, Diabetes, 50, 2337-2343, 2001; Mensink *et al.*, Diabetes, 50, 2545-2554, 2001; Kelley e Goodpaster, Diabetes Care, 24, 933-941, 2001).

#### **Quadro 1 (experiência I)**

Determinou-se os níveis de glicose no sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1, com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 12 dias de tratamento. As amostras foram colhidas durante a etapa de alimentação, aproximadamente 15 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo			
Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %
Controlo		487 ± 25	
Rosiglitazona	5,0	365 ± 64	-25
Bezafibrato	24,8	503 ± 21	+3
Fenofibrato	24,7	466 ± 8	-4
Exemplo 1	25,0	303 ± 16 ▲	-38

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ▲ indica  $P < 0,001$  vs. controlo

### Quadro 2 (experiência I)

Determinou-se os níveis de glicose no sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1, com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 12 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de pós-absorção (jejum entre as 09h00m e as 17h00m) e 8 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo			
Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %
Controlo		414 ± 11	
Rosiglitazona	5,0	314 ± 33 □	-24
Bezafibrato	24,8	421 ± 30	+2
Fenofibrato	24,7	409 ± 11	-1
Exemplo 1	25,0	216 ± 16 ▲	-48

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: □ e ▲ indicam  $P < 0,05$  e  $P < 0,001$ , respectivamente, vs. controlo

**Quadro 2a (experiência II)**

Determinou-se os níveis de glicose no sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1 e tal como no exemplo 2 (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1), após 9 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de pós-absorção (jejum entre as 09h00m e as 17h00m) e 8 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo			
Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %
Controlo		351 ± 23	
Exemplo 1	25,0	223 ± 20 △	-36
Exemplo 2	24,0	155 ± 21 ▲	-66

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: △ e ▲ indicam  $P < 0,01$  e  $P < 0,001$ , respectivamente, vs. controlo

**Quadro 3 (experiência I)**

Determinou-se os níveis de glicose no sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1, com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 18 dias de tratamento. As amostras foram colhidas durante a etapa de jejum durante 18 horas e 6 horas após o último tratamento.

---

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo

---

Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %
Controlo		344 ± 35	
Rosiglitazona	5,0	225 ± 27 ■	-35
Bezafibrato	24,8	298 ± 21	-13
Fenofibrato	24,7	384 ± 20	+12
Exemplo 1	25,0	144 ± 3 △	-58

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ■ e △ indicam  $P < 0,02$  e  $P < 0,01$ , respectivamente, vs. controlo

### Quadro 3a (experiência II)

Determinou-se os níveis de glicose no sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1 e tal como no exemplo 2 (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1), após 11 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de jejum durante 18 horas e 5 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo			
Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %
Controlo		248 ± 18	
Exemplo 1	25,0	158 ± 7 ▲	-36
Exemplo 2	24,0	128 ± 8 ▲	-48

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ▲ indicam  $P < 0,001$  vs. controlo

### Quadro 4 (experiência I)

Determinou-se a área sob a curva (AUC) para a glicose nos OGTT ao sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1,

com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 18 dias de tratamento.

Determinou-se os valores de OGTT (glicose a 3g/kg) em murganhos em jejum durante 18 horas e 5 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo

Composto	Dose mg/kg	AUC glicose a.u.	Variação %
Controlo		51182 ± 2392	
Rosiglitazona	5,0	38174 ± 3555 △	-25
Bezafibrato	24,8	44476 ± 1827	-13
Fenofibrato	24,7	45192 ± 1546	-12
Exemplo 1	25,0	24527 ± 889 ▲	-52

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: △ e ▲ indicam  $P < 0,02$  e  $P < 0,01$ , respectivamente, vs. controlo

#### Quadro 4a (experiência II)

Determinou-se a área sob a curva (AUC) para a glicose no OGTT ao sangue de murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1 e tal como no exemplo 2 (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1), após 11 dias de tratamento.

Determinou-se os valores de OGTT (glicose a 3g/kg) em murganhos em jejum durante 18 horas e 5 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo

Composto	Dose mg/kg	AUC glicose a.u.	Variação %
Controlo		43208 ± 2117	
Exemplo 1	25,0	25929 ± 1299 ▲	-40
Exemplo 2	24,0	24517 ± 2261 ▲	-43

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ▲ indicam  $P < 0,001$  vs. controlo

#### Quadro 5 (experiência I)

Determinou-se os níveis de glicose e de fructosamina no plasma em murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1, com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 25 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de pós-absorção (jejum entre as 09h00m e as 16h30m) e 7,5 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo

Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %	Fructosamida mM	Variação %
Controlo		456 ± 45		0,80 ± 0-03	
Rosiglitazona	5,0	296 ± 39 ■	-35	0,52 ± 0,12	-35
Bezafibrato	24,8	536 ± 22	+18	1,01 ± 0,04 Δ	+26
Fenofibrato	24,7	553 ± 30	+21	0,92 ± 0,02 Δ	+15
Exemplo 1	25,0	206 ± 8 Δ	-55	0,41 ± 0,04 ▲	-49

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ■, Δ e ▲ indicam  $P < 0,02$ ,  $P < 0,01$  e  $P < 0,001$ , respectivamente, vs. controlo

#### Quadro 5a (experiência II)

Determinou-se os níveis de glicose no plasma em murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1 e tal como no exemplo 2 (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1); após 12 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de pós-absorção (jejum entre as 09h00m e as 16h30m) e 7,5 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo			
Composto	Dose	Glicose	Variação
	mg/kg	mg/dL	%
Controlo		576 ± 27	
Exemplo 1	25,0	356 ± 30 ▲	-38
Exemplo 2	24,0	263 ± 30 ▲	-54

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ▲ indica  $P < 0,001$  vs. controlo

#### Quadro 6 (experiência I)

Determinou-se os níveis de triglicéridos e de colesterol HDL no plasma em murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1, com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 25 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de pós-absorção (jejum entre as 09h00m e as 16h30m) e 7,5 horas após o último tratamento.

---

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo

---

Composto	Dose mg/kg	Glicose mg/dL	Variação %	Fructosamida mM	Variação %
Controlo		95,4 ± 7,2		82,0 ± 6,1	
Rosiglitazona	5,0	43,7 ± 4,1 ▲	-54	65,4 ± 3,6 □	-20
Bezafibrato	24,8	88,3 ± 12,7	-7	93,8 ± 3,8	+14
Fenofibrato	24,7	66,5 ± 3,5 Δ	-30	96,4 ± 4,2	+18
Exemplo 1	25,0	45,3 ± 2,3 ▲	-53	98,0 ± 3,5 □	+20

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: □, Δ e ▲ indicam P < 0,05, P < 0,01 e P < 0,001, respectivamente, vs. controlo

#### Quadro 6a (experiência II)

Determinou-se os níveis de triglicéridos e de colesterol HDL no plasma em murganhos db/db tratados duas vezes por dia por via oral com o composto, tal como no exemplo 1 e tal como no exemplo 2 (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1); após 12 dias de tratamento.

As amostras foram colhidas durante a etapa de pós-absorção (jejum entre as 09h00m e as 16h30m) e 7,5 horas após o último tratamento.

Valores médios ± D.P. e variação (%) vs. Controlo

Composto	Dose mg/kg	Triglicéridos mg/dL	Variação %	colesterol HDL mg/dL	Variação %
Controlo		87,0 ± 3,1		86,4 ± 2,3	
Exemplo 1	25,0	45,1 ± 1,4 ▲	-48	123,7 ± 1,9 ▲	+43
Exemplo 2	24,0	48,6 ± 2,5 ▲	-44	102,5 ± 4,7 Δ	+19

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: ▲ e Δ indicam P < 0,01 e P < 0,001, respectivamente, vs. controlo

#### Quadro 7 (experiência I)

Massa corporal inicial e final de murganhos db/db tratados oralmente duas vezes por dia com o composto, tal como no exemplo 1, e com fibratos (em doses equivalentes a 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1) e com rosiglitazona (5 mg/kg), após 25 dias de tratamento.

Medição no estado de pós-absorção (jejum desde as 09h00 e as 16h30m).

Valores médios  $\pm$  D.P. e variação (%) vs. controlo

Composto	Dose mg/kg	m.c. inicial g	Variação %	m.c. final g	Variação %
Controlo		31,7 $\pm$ 0,9		28,3 $\pm$ 0,8	
Rosiglitazona	5,0	32,6 $\pm$ 1,4	+3	42,1 $\pm$ 2,5 $\Delta$	+49
Bezafibrato	24,8	33,7 $\pm$ 0,7	+6	35,2 $\pm$ 1,3 $\blacktriangle$	+24
Fenofibrato	24,7	33,3 $\pm$ 0,7	+5	34,5 $\pm$ 1,0 $\blacktriangle$	+22
Exemplo 1	25,0	32,3 $\pm$ 0,3	+2	35,9 $\pm$ 0,6 $\blacktriangle$	+27

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student:  $\Delta$  e  $\sigma$  indicam  $P < 0,01$  e  $P < 0,001$ , respectivamente, vs. controlo

#### Quadro 7a (experiência II)

Massa corporal inicial e final de murganhos db/db tratados oralmente duas vezes por dia com o composto, tal como no exemplo 1 e como no exemplo 2 (com uma dose equivalente de 25 mg/kg do composto, tal como no exemplo 1), após 12 dias de tratamento.

Medição no estado de pós-absorção (jejum desde as 09h00 e as 16h30m).

Valores médios  $\pm$  D.P. e variação (%) vs. controlo

Composto	Dose mg/kg	m.c. inicial g	Variação %	m.c. final g	Variação %
Controlo		38,8 ± 0,7		37,5 ± 0,6	
Exemplo 1	25,0	38,6 ± 0,4	-1	40,3 ± 0,8	+7
Exemplo 2	24,0	37,8 ± 0,5	-3	39,4 ± 0,9	+5

Número de animais por grupo: 6

Teste t de Student: □ indica  $P < 0,05$  vs. Controlo

### **Exemplo 27**

Transfecção transitória de células eucarióticas para avaliar a actividade agonista dos ligandos de PPAR $\alpha$

Neste exemplo demonstra-se que os compostos de acordo com a invenção também possuem actividade agonista de PPAR $\alpha$ .

A identificação de agonistas de PPAR $\alpha$  é feita por meio de pesquisas *in vitro*, recorrendo a técnicas da biologia celular.

Os ensaios de transactivação em células eucarióticas fazem com que seja possível avaliar quantitativamente a aptidão de um ligando hipotético para favorecer a interacção de um factor transcricional com o seu próprio elemento de resposta existente num promotor [Sladek R. et al., na obra: Nuclear Receptors: A Practical Approach, Oxford Press, págs. 63-68 (1999)].

Uma vez que o receptor a activado do proliferador de peroxissoma (PPAR $\alpha$ ) exerce a sua função moduladora transcricional, é necessária a sua dimerização com o receptor do ácido 9-cis-retinóico (RXR). O dímero formado consegue ligar-se ao elemento de resposta do proliferador de peroxissoma (PPRE) localizado no promotor génico visado, apenas se for activado pela presença de um ligando pertencente pelo menos a um dos dois receptores [Berger J. e Moller D. E., Annu. Rev. Med., 53, 409-35 (2002)].

Deste modo, um ensaio de transactivação exige a presença simultânea dos componentes seguintes na linhagem celular pré-selecciónada:

- a) uma quantidade suficiente de PPAR $\alpha$ ;
- b) uma quantidade suficiente do receptor do ácido 9-cis-retinóico (RXR);
- c) um plasmídeo quimérico contendo o gene repórter controlado por um PPRE, localizado a montante de um promotor heterólogo viral. No nosso caso o gene repórter é cloranfenicol-acetil-transferase (CAT).

Sempre que os níveis endógenos de PPAR $\alpha$  e RXR são insuficientes, podem ser aumentados a partir do exterior mediante a transfecção de vectores de expressão que contenham os genes dos receptores em causa [Kersten S. e Wahli W., na obra: Nuclear Receptors: A Practical Approach, Oxford Press, págs. 74-76 (1999)].

O plasmídeo pCH 110 contém o gene para a  $\beta$ -galactosidase e é co-transflectado conjuntamente com o gene repórter CAT, proporcionando o controlo interno para a eficiência da transfecção e para a normalização dos resultados.

No entanto, utilizando este sistema de transfecção e de gene repórter, não é possível eliminar totalmente a interferência por receptores endógenos constitutivamente expressos pela linhagem celular utilizada.

Assim sendo, recorre-se a um método alternativo que nos permite contornar o problema da interferência pelo possível receptor endógeno.

Neste modelo, pratica-se um ensaio de transactivação em que o vector de expressão mPPAR $\alpha$ LBD/Gal4DBD permite a síntese pela célula transfectada de uma proteína quimérica,

em que o domínio de ligação do ligando (LBD) de PPAR $\alpha$  é fundido com o domínio de ligação do ADN (DBD) do factor de transcrição GAL4 de levedura [Luckow B. et al., Nucleic Acids Res., 15, 5490 (1987)]. Simultaneamente, faz-se a transfecção de um plasmídeo (pG5CAT) que contém 5 cópias do local de ligação de elevada afinidade para GAL4 (também designado UAS, sequência activadora de montante), a montante do promotor viral E1b fundido com o gene repórter CAT [Moya-Camarena S. Y. et al., J. Lipid Res., 40 (8), 1426-33 (1999)]. Este modelo elimina a interferência de eventuais receptores endógenos.

Isto deve-se ao facto de a activação de E1b e a produção de CAT ir ocorrer exclusivamente graças à interacção de GAL4DBD com o seu próprio elemento de resposta (UAS). Uma vez que o factor de transcrição GAL4 não é expresso em células eucarióticas, a transactivação do gene repórter pode ocorrer apenas quando, em consequência da interacção de um ligando com o LBD de PPAR $\alpha$ , a proteína quimérica PPAR $\alpha$ /GAL4 reconhece a sequência de UAS no plasmídeo pG5CAT. Conjuntamente com o vector de expressão e com o vector repórter, foram também transfectadas células com o plasmídeo pCH110 que permite o controlo interno da eficiência da transfecção e a normalização dos resultados.

### **Procedimento experimental**

Utilizou-se uma linhagem celular de fibroblastos de rim de macaco [Elbrecht A. et al., J. Biol. Chem., 274 (12), 7913-22 (1999)]. As células foram co-transfectadas com o vector repórter, o plasmídeo de expressão que codifica a proteína fusão Gal4DBD/PPAR $\alpha$ LBD e o vector de controlo pCH 110. As células foram expostas a

concentrações cada vez maiores dos compostos em estudo e avaliou-se a actividade de CAT. Como controlo foram utilizadas células não tratadas.

### **Cultura de células**

Foram criados em cultura fibroblastos de rim de macaco (COS-7), em conformidade com as técnicas habituais de cultura de células, a 37°C em atmosfera contendo dióxido de carbono na concentração de 5% v/v, utilizando o meio de crescimento DMEM (meio de Eagle modificado por Dulbecco), modificado com bicarbonato de sódio na concentração de 3,7 g/L, L-glutamina 4 mM, glicose na concentração de 4,5 g/L, piruvato de sódio 1 mM e 10% (v/v) de soro fetal de bovino, na presença de estreptomicina na concentração de 100 µg/mL e penicilina na concentração de 100 U/mL, no volume final.

### **Transfecção transitória de células COS-7**

Efectuou-se a co-transfecção das células utilizando o reagente de transfecção FuGENE6 (Roche), constituído por uma mistura definida de lípidos, capaz de produzir complexos com ADN e de o transportar para o interior das células. Vinte e quatro horas antes da transfecção, fez-se uma distribuição das células por placas, segundo uma densidade de  $1,2 \times 10^5$  células/cavidade, em placas de 12 cavidades, e manteve-se tudo a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub> (v/v). Substituiu-se o meio de cultura, isento de soro, em cada 2 horas antes da transfecção e depois efectuou-se o tratamento das células com o reagente de transfecção FuGENE6, em conformidade com as instruções sugeridas pelo fornecedor. Dito de modo abreviado, acrescentou-se directamente às células a mistura de

transfecção contendo 0,8 µg do vector de expressão, 1,6 µg do vector repórter, 0,8 µg do vector de controlo e 9 µL do reagente FuGENE6, por cavidade, na presença de meio de cultura isento de soro. Decorridas 5 horas, substituiu-se o meio de transfecção por 1 mL de meio de cultura completado com soro e antibióticos na presença ou na ausência das moléculas que se pretendia testar, segundo 3 concentrações diferentes (2 µM, 20 µM e 100 µM). Como composto de referência de controlo positiva utilizou-se Wy-14 643 (2 µM), que é um ligando conhecido de PPAR $\alpha$ .

**Preparação dos extractos de proteínas celulares e pesquisa de actividade de CAT**

Decorridas 48 horas de incubação a 37°C numa atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub> v/v, efectuou-se a lavagem das células duas vezes com 1 mL de tampão fosfato (PBS) e efectuou-se a sua remoção mecanicamente para fora das cavidades em tampão (tris[hidroximetil]aminometano 10 mM a pH 8, ácido etileno-diaminatetraacético 1 mM a pH 8, cloreto de sódio 0,1 M). Após centrifugação durante 3 minutos a 1000 r.p.m., as células foram recolocadas em suspensão em 65 µL de tampão de citólise (tris-HCl 0,25 M a pH 8), tendo sido desmembradas graças a três ciclos rápidos de congelação-descongelação. Os materiais celulares insolúveis (resíduos) foram removidos por centrifugação a 15000 r.p.m. durante 15 minutos a 4°C e recuperou-se o sobrenadante que foi utilizado para ensaios de pesquisa de actividade de CAT e de  $\beta$ -galactosidase.

Os extractos foram guardados a -80°C até virem a ser analisados depois da adição prévia de glicerol (até à

concentração final de 10% v/v) e de  $\beta$ -mercaptoetanol (concentração final 5 mM) num volume final de 75  $\mu$ L.

O ensaio para a avaliação da actividade de CAT foi feito recorrendo a uma variante do método descrito por Sleigh [Sleigh M. J., Annal Biochem., 156 (1), 251-6 (1986)]. Dito de forma abreviada, acrescentou-se 20  $\mu$ L de extracto celular proteico (pré-aquecido a 65°C durante 10 minutos para desactivar a actividade enzimática de desacetilação interna) a uma solução contendo 10  $\mu$ L de n-butiril-coenzima A (3,5 mg/mL), 5  $\mu$ L de [ $^{14}$ C]-cloranfenicol (0,25  $\mu$ Ci) e 65  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O destilada. Decorridas 2 horas de incubação a 37°C, bloqueou-se a reacção com 200  $\mu$ L de uma solução de xileno/2,6,10,14-tetrametil-pentadecano (a 1:2 v/v).

Após agitação vigorosa e centrifugação durante 5 minutos à velocidade máxima, acrescentou-se 150  $\mu$ L de sobrenadante a 5 mL de fluido de cintilação e analisou-se com um contador de radiação  $\beta$  (cintilador) para se determinar o conteúdo em [ $^{14}$ C]-butiril-cloranfenicol formado em consequência da reacção enzimática.

#### **Teste para determinar a actividade de $\beta$ -galactosidase**

Como controlo interna para a normalização da actividade de CAT em relação à eficiência de transfecção, recorreu-se à actividade de  $\beta$ -galactosidase codificada pelo gene correspondente no plasmídeo pCH 110 co-transfectado. Mediú-se a actividade de  $\beta$ -galactosidase de acordo com uma variante do método descrito por Sambrook [Sambrook *et al.* na obra: Molecular Cloning, A Laboratory Manual, editado por Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]. Dito de forma abreviada, acrescentou-se 20  $\mu$ L de extractos

proteicos a 750  $\mu$ L de tampão de reacção contendo 1 volume de ONPG (O-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido) na concentração de 2 mg/mL e 3 volumes de "tampão Z" (cloreto de potássio 10 mM, cloreto de magnésio 1 mM,  $\beta$ -mercaptoetanol 50 mM e tampão fosfato). Deixou-se a reacção decorrer a 37°C e interrompeu-se mediante a adição de 200  $\mu$ L de uma solução de carbonato de sódio 1 M, no momento em que era visível o aparecimento da coloração amarela típica. Manteve-se as amostras a incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente e depois efectuou-se as análises com o espectrofotómetro, medindo a absorbância para o comprimento de onda igual a 420 nm ( $A_{420}$ ).

Utilizou-se a fórmula a seguir indicada para a normalização dos resultados das análises de CAT comparativamente com a actividade de  $\beta$ -galactosidase:

**cintilações por minuto (cpm) na amostra de CAT - cintilações por minuto (cpm) da contraprova**

**unidades de  $\beta$ -galactosidase\***

**$A_{420} \times$  factor de diluição**

$$\text{unidades de } \beta\text{-galactosidase*} = \frac{\text{unidades de } \beta\text{-galactosidase*}}{\text{período de incubação (minutos)}}$$

O quadro 8 apresenta a actividade agonista de PPAR $\alpha$  respeitante aos compostos dos exemplos 1, 2, 4, 10, 13 e 18, a título exemplificativo.

#### **Quadro 8**

Ensaio de transactivação mediada por mPPAR $\alpha$ LBD/Gal4DBD em células COS-7. Os resultados são expressos em termos de activação do gene repórter CAT como percentagem do valor

medido na presença do composto de referência (WY-14643 2  $\mu\text{M}$ ), considerado convencionalmente igual a 100%.

Composto	Concentração		
	2 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{M}$	100 $\mu\text{M}$
Exemplo 1	44,9%	129,9%	232,1%
Exemplo 2	69,7%	103,6%	280,9%
Exemplo 4	113,1%	284,9%	421%
Exemplo 13	132,3%	199,3%	203,8%
Exemplo 10	98,1%	360%	462,7%
Exemplo 18	85%	96,4%	151,9%

### Exemplo 28

#### Transfecção transitória de células eucarióticas para avaliar a actividade agonista de ligando de PPAR $\gamma$

Neste exemplo demonstra-se que há um conjunto de compostos de acordo com a invenção que também possuem actividade agonista de PPAR $\gamma$ .

A identificação de agonistas de PPAR $\gamma$  é feita por meio de um ensaio de transactivação específico em células eucarióticas.

Uma vez que o receptor  $\gamma$  activado do proliferador de peroxissoma (PPAR $\gamma$ ) exerce a sua função modeladora transcricional, é necessária a sua dimerização com o receptor do ácido 9-cis-retinóico (RXR). O dímero formado consegue ligar-se ao elemento de resposta do proliferador de peroxissoma (PPRE), localizado no promotor do gene visado, apenas se for activado pela presença de um ligando

que existe pelo menos num dos dois receptores [Berger J. e Moller D. E., *Annu. Rev. Med.*, 53, 409-35 (2002)].

Deste modo, um ensaio de transactivação específico para o PPAR $\gamma$  necessita da presença simultânea dos componentes seguintes na linhagem celular pré-selecionada:

- a) uma quantidade suficiente de PPAR $\gamma$ ;
- b) uma quantidade suficiente do receptor do ácido 9-cis-retinóico (RXR);
- c) um plasmídeo quimérico contenga o gene repórter controlado por um PPRE, localizado a montante de um promotor heterólogo viral. No nosso caso o gene repórter é cloranfenicol-acetil-transferase (CAT).

No ensaio de transactivação utilizado, as células pré-selecionados são transfetadas com o vector de expressão pSG5 Stop-mPPAR $\gamma$ 1 que permite a síntese do receptor PPAR $\gamma$  pelas células transfetadas. Simultaneamente, faz-se a transfeção de um repórter plasmídico (pBLCAT2-PPRE) que contém um elemento de resposta do proliferador de peroxissoma (PPRE) isolado pelo promotor génico para acil-CoA-oxidase, a montante do promotor heterólogo da timidina-cinase viral (TK) fundida com o gene repórter CAT. Uma vez que os níveis celulares endógenos do receptor RXR são suficientemente elevados, também não é necessário transfetar um vector de expressão específico para o RXR. A expressão do gene que codifica CAT está sob o controlo do promotor de TK que não contém nenhum PPER. Assim sendo, qualquer aumento dos níveis de CAT irá resultar do aumento da transcrição génica dependente da dimerização de PPAR $\gamma$  com RXR e da ligação heterodimérica formada com o elemento de resposta do proliferador de peroxissoma. Conjuntamente com o vector de expressão e com o vector repórter, as

células também são transfectadas com o plasmídeo pCH 110 que permite o controlo interno da eficiência de transfecção e a normalização dos resultados.

### **Procedimento experimental**

Utilizou-se uma linhagem celular de fibroblastos embrionários de murganho (NIH-3T3) [Hogan J. C. et al., Biochem Biophys Res Commun., 287 (2), 484-92 (2001)]. As células foram transfectadas com o plasmídeo repórter, o plasmídeo de expressão que codifica o receptor PPAR $\gamma$  e com o vector de controlo pCH 110. As células foram expostas a concentrações cada vez maiores dos compostos em estudo e avaliou-se a actividade de CAT. Como controlo foram utilizadas células não tratadas.

### **Cultura de células**

Os fibroblastos embrionários de murganho (NIH-3T3) foram criados em cultura em conformidade com as técnicas habituais de cultura de células, a 37°C numa atmosfera contendo 5% (v/v) de dióxido de carbono, utilizando para tal o meio de crescimento DMEM (meio de Eagle modificado por Dulbecco), modificado com bicarbonato de sódio na concentração de 3,7 g/L, L-glutamina 4 mM, glicose na concentração de 4,5 g/L, piruvato de sódio 1 mM e 10% (v/v) de soro fetal de bovino, na presença de estreptomicina na concentração de 100  $\mu$ g/mL e penicilina na concentração de 100 U/mL, no volume final.

### **Transfecção transitória de células NIH-3T3**

Efectuou-se a co-transfecção das células utilizando o reagente de transfecção FuGENE6 (Roche), já descrito no exemplo anterior. Vinte e quatro horas antes da transfecção, fez-se uma distribuição das células por placas, segundo uma densidade de  $8,0 \times 10^4$  células/cavidade, em placas de 12 cavidades, e manteve-se tudo a  $37^{\circ}\text{C}$  em atmosfera contendo 5% de  $\text{CO}_2$  (v/v). Substituiu-se o meio de cultura, isento de soro, em cada 2 horas antes da transfecção e depois efectuou-se o tratamentos das células com o reagente de transfecção FuGENE6, conforme descrito no exemplo anterior. Decorridas 5 horas, substituiu-se o meio de transfecção por 1 mL de meio de cultura completado com soro e antibióticos na presença ou na ausência das moléculas que se pretendia testar, para 3 concentrações diferentes ( $2 \mu\text{M}$ ,  $20 \mu\text{M}$  e  $100 \mu\text{M}$ ). Utilizou-se rosiglitazona, um ligando de PPAR $\gamma$  conhecido, como composto de referência de controlo positiva.

**Preparação dos extractos de proteínas celulares e pesquisa de actividade de CAT**

Efectuou-se a preparação dos extractos proteicos celulares e realizou-se o ensaio de pesquisa da actividade de CAT exactamente conforme descrito no exemplo anterior.

**Teste para determinar a actividade de  $\beta$ -galactosidase**

Como controlo interno para a normalização da actividade de CAT em relação à eficiência de transfecção, recorreu-se à actividade de  $\beta$ -galactosidase codificada pelo gene correspondente no plasmídeo pCH 110 co-transfectado.

Mediu-se a actividade de  $\beta$ -galactosidase exactamente conforme descrito no exemplo anterior.

Para a normalização dos resultados da análise de CAT em relação à actividade de  $\beta$ -galactosidase, utilizou-se a fórmula descrita no exemplo anterior.

O quadro 9 apresenta a actividade agonista de PPAR $\gamma$  para diversos compostos, a título exemplificativo.

#### Quadro 9

Ensaio de transactivação mediada por PPAR $\gamma$  em células NIH-3T3.

Os resultados estão expressos sob a forma de activação do gene repórter CAT em percentagem do valor medido na presença do composto de referência (rosiglitazona 2  $\mu$ M), a que se atribui convencionalmente o valor de 100%.

Composto	Concentração		
	2 $\mu$ M	20 $\mu$ M	100 $\mu$ M
Exemplo 2	28,6%	61,2%	114,3%
Exemplo 13	61,6%	91,6%	101%
Exemplo 18	25%	67%	82,2%

Os resultados obtidos, apresentados nos quadros 1 a 7a, mostram que os compostos de acordo com a invenção são agentes úteis para tratar diabetes e hiperlipidemia associada a diabetes, para aumentar os níveis de colesterol HDL e para evitar e tratar as complicações relacionadas com diabetes e resistência à insulina.

As composições farmacêuticas para utilização na presente invenção contêm, enquanto seu ingrediente activo, pelo menos um composto de fórmula estrutural (I), quer por

si só quer em combinação com um ou vários compostos de fórmula estrutural (I), ou então o referido composto ou os referidos compostos de fórmula estrutural (I) em combinação com outros ingredientes activos úteis para tratar doenças enumeradas na presente invenção, por exemplo, outros produtos que possuam actividade capaz de diminuir a glicose sérica e capazes de diminuir os lípidos séricos; e também as formas de dosagem separadas ou as formas adequadas para terapias combinadas. O ingrediente activo de acordo com a presente invenção irá ser misturado com veículos e/ou excipientes adequados vulgarmente utilizados em farmácia, por exemplo, os que vêm descritos na obra "Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook", última edição. As composições irão conter uma quantidade terapeuticamente eficaz do ingrediente activo. As doses irão ser decididas pelo especialista neste domínio, *v.g.*, o médico assistente ou o médico que preste os cuidados primários, consoante o tipo de doença que irá ser tratada e em função do estado do paciente, ou concomitantemente com a administração de outros ingredientes activos. A título de exemplo, é possível indicar dosagens compreendidas entre 0,01 e 400 mg/dia, de preferência entre 0,1 e 200 mg/dia.

Como exemplos de composições farmacêuticas refere-se aquelas que permitem a administração por via oral ou parentérica - intravenosa, intramuscular, subcutânea, transdermal. As composições farmacêuticas adequadas para o efeito são seleccionadas entre comprimidos, cápsulas duras ou moles, pós, soluções, suspensões, xaropes e formas sólidas para preparações líquidas preparadas posteriormente. As composições para administração parentérica são, por exemplo, todas as formas que possam

ser injectadas intramuscular, intravenosa e subcutaneamente, ou que se apresentem como soluções, suspensões ou emulsões. Também convém mencionar as formulações lipossómicas. Outras formas são os comprimidos para a libertação controlada do ingrediente activo, ou para administração oral, comprimidos revestidos com camadas adequadas, pós microencapsulados, complexos com ciclodextrinas e os artefactos implantáveis, por exemplo, os de aplicação subcutânea, tais como os implantes ou injeções implantáveis.

**REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO**

A presente listagem de referências citadas pela requerente é apresentada meramente por razões de conveniência para o leitor. Não faz parte da patente de invenção europeia. Embora se tenha tomado todo o cuidado durante a compilação das referências, não é possível excluir a existência de erros ou omissões, pelos quais o EPO não assume nenhuma responsabilidade.

**Patentes de invenção citadas na descrição**

- WO 0116120 A [0012] [0012]
- WO 02067912 A [0012] [0012]
- WO 03059875 A [0018]
- US 3262850 A [0022]
- GB 1422679 A [0023]

**Literatura citada na descrição, para além das patentes de invenção**

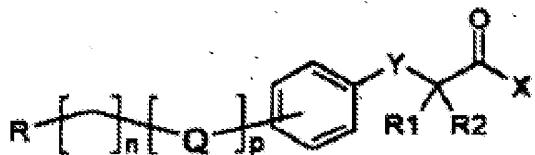
- *J Am Osteopath Assoc*, Outubro de 2000, vol. 100(10), 621-34 [0003]
- *JAMA*, 27 de Novembro de 2002, vol. 288 (20), 2579-88 [0003]
- *Diabetologia*, Fevereiro de 2001, vol. 44 (2), 129-46 [0005]
- *J. Med. Chem.*, 1989, vol. 32, 421-428 [0009]
- *Arzneim. Forsch/Drug Res.*, 1990, vol. 40 (1), 37-42 [0009]
- *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, vol.4, 1181-1184 [0009]
- *J. Biol. Chem.*, 1995, vol. 270, 12953-12956 [0010]
- *J. Med. Chem.*, 2000, vol. 43, 527-550 [0011]
- *J. Med. Chem.*, 1996, vol. 39, 665-668 [0011]

- *J. Med. Chem.*, 1998, vol. 41, 5020-50365037-50545055-5069 [0011]
- *Diabetes*, 1998, vol. 47, 507-514 [0011]
- *Diabetes*, 1998, vol. 47, 1841-1847 [0012]
- *Diabetes*, 2001, vol. 50 (2), A108 [0012]
- *Diabetes*, 2001, vol. 50 (2), A121-A122 [0012]
- *J. Biol. Chem.*, 1998, vol. 273 (49), 32679-32684 [0013]
- *Diabetes*, 2000, vol. 49, 759-767 [0013]
- *Metabolism*, 2000, vol. 49, 411-417 [0013]
- *Toxicology Letters*, 2001, vol. 120, 9-19 [0013]
- *J. Med. Chem.*, 1998, vol. 41, 1619-1630 [0014]
- *J. Med. Chem.*, 1998, vol. 41, 1927-1933 [0014]
- *J. Med. Chem.*, 2001, vol. 44, 2601-2611 [0015]
- **D.A. WINEGAR et al.** Current Opinion in Cardiovascular, Pulmonary and Renal Investigational Drugs, 2000, vol. 2, 233-243 [0019]
- **D.A. BROOKS.** *J. Med. Chem.*, 2001, vol. 44, 2061-2064 [0020]
- **I. LALEZARI et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 85, 6117-6121 [0021]
- **S. GRONOWITZ et al.** *Acta Pharm. Suec.*, 1978, vol. 15, 361-367 [0024]
- *Synthesis*, 1981, 1-28 [0039]
- *J. Med. Chem.*, 1998, vol. 41 (10), 1619-1639 [0050]
- **REED; SCRIBNER.** *Diabetes, obesity and metabolism*, 1999, vol. 1, 75-86 [0069]
- **KODAMA et al.** *Diabetologia*, 1994, vol. 37, 739-744 [0071]
- **ZHANG et al.** *Nature*, 1994, vol. 372, 425-432 [0071]
- **CHEN et al.** *Cell*, 1996, vol. 84, 491-495 [0071]
- **LOHRAY et al.** *J. Med. Chem.*, 1998, vol. 41, 1619-1630 [0076]

- **VIRKAMÄKI et al.** *Diabetes*, 2001, vol. 50, 2337-2343 [0082]
- **MENSINK et al.** *Diabetes*, 2001, vol. 50, 2545-2554 [0082]
- **KELLEY; GOODPASTER.** *Diabetes Care*, 2001, vol. 24, 933-941 [0082]
- **SLADEK R. et al.** *Nuclear Receptors: A Practical Approach*. Oxford Press, 1999, 63-68 [0122]
- **BERGER J.; MOLLER D.E.** *Annu. Rev. Med.*, 2002, vol. 53, 409-35 [0123]
- **KERSTEN S.; WAHLI W.** *Nuclear Receptors: A Practical Approach*. Oxford Press, 1999, 74-76 [0125]
- **LUCKOW B. et al.** *Nucleic Acids Res*, 1987, vol. 15, 5490 [0129]
- **MOYA-CAMARENA S.Y. et al.** *J. Lipid Res.*, 1999, vol. 40 (8), 1426-33 [0129]
- **ELBRECHT A. et al.** *J. Biol. Chem*, 1999, vol. 274 (12), 7913-22 [0131]
- **SLEIGH M.J.** *Annal Biochem.*, 1986, vol. 156 (1), 251-6 [0136]
- **SAMBROOK et al.** *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 [0138]
- **BERGER J.; MOLLER D.E.** *Annu. Rev. Mend.*, 2002, vol. 53, 409-35 [0144]
- **HOGAN J.C. et al.** *Biochem Biophys Res Commun.*, 2001, vol. 287 (2), 484-92 [0147]

### REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de compostos de fórmula estrutural (I):



(I)

em que:

o símbolo R representa um átomo de H ou um grupo arilo ou heteroarilo, monocíclico, bicíclico ou tricíclico, facultativamente substituído com um ou vários grupos halogéneo, nitro, hidroxi, alquilo e alcoxi, facultativamente substituídos com um ou vários grupos halogéneo;

o símbolo n representa um número entre 0 e 3;

o símbolo p representa um número entre 0 e 1;

o símbolo X representa um grupo -OH, -O-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) cada um dos substituintes R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup>, que podem ser iguais ou diferentes, são seleccionados entre: -H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), -COX;

o substituinte Q é seleccionado entre: NH, O, S, -NHC(O)O-, NHC(O)NH-, -NHC(O)S-, -OC(O)NH-, -NHC(S)O-, -NHC(S)NH- e -C(O)NH-

e o símbolo Y representa S;

e seus sais, misturas racémicas, enantiómeros individuais, estereoisómeros ou isómeros geométricos e tautómeros farmaceuticamente aceitáveis, para a preparação de um medicamento para a profilaxia e para o tratamento da hiperglicemias.

2. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o símbolo R representa um grupo arilo, facultativamente substituído com um ou vários átomos de halogéneo, alquilo, alcoxi ou haloalquilo, o símbolo p representa 1, o símbolo n representa 0, 1 ou 2 e o substituinte Q é oxigénio.

3. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o símbolo R representa um grupo arilo substituído com um ou vários grupos metilo, metoxi, trifluorometilo ou nitro.

4. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o símbolo R representa um grupo heteroarilo que contém um azoto enquanto heteroátomo, ligado à parte restante da molécula por meio de todas as posições permitidas, o símbolo p representa 1, o símbolo n representa 0, 1 ou 2 e o substituinte Q é oxigénio.

5. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que R é 1-indolilo ou 1-carbazolilo.

6. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o composto é seleccionado entre o conjunto constituído por:

- i. 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2195);
- ii. ácido 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-2-metil-propanóico (ST2518);
- iii. 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1929);
- iv. 2-[3-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2534);

- v. 2-[4-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2531);
- vi. 2-[3-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2365);
- vii. 2-[4-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2387);
- viii. 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST1983);
- ix. 2-[3-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2394);
- x. 2-[3-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2167);
- xi. 2-[4-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2011);
- xii. ácido 2-[4-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-2-metil-propanóico (ST2505);
- xiii. ácido 2-[3-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2653);
- xiv. ácido 2-[4-(2-(2,4-diclorofenil)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2652);
- xv. ácido 2-[3-(2-(carbazol-9-il)-etoxi)-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2618);
- xvi. ácido 2-[4-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2622);
- xvii. ácido 2-[3-[2-(1-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2651);
- xviii. ácido 2-[3-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-2-metil-propanóico (ST2609);
- xix. ácido 2-[4-[2-(2-naftil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2036);

xx. 2-[4-[2-(1-(5-metoxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2577);

xxi. 2-[4-[2-(1-(5-benziloxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2562);

xxii. 2-[3-[5-(4-nitrofenil)-furfuriloxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2501);

xxiii. ácido 2-[4-[2-(1-(5-metoxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-isobutírico (ST2733);

xxiv. ácido 2-[4-[2-(1-(5-benziloxi)-indolil)-etoxi]-feniltio]-2-metilpropanóico (ST2740);

xxv. ácido 2-metil-2-[3-[5-(4-nitrofenil)-furfuriloxi]-feniltio]-propanóico (ST2753).

7. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o composto é 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-isobutirato de metilo (ST2195).

8. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o composto é o ácido 2-[3-[2-(4-clorofenil)-etoxi]-feniltio]-2-metil-propanóico (ST2518).

9. Utilização de acordo com a reivindicação 1, para a profilaxia e para o tratamento de diabetes, de complicações microvasculares da diabetes e de complicações macrovasculares da diabetes.

10. Utilização de acordo com a reivindicação 1, para a profilaxia e para o tratamento de diabetes de tipo 2, retinopatia diabética, neuropatia diabética, nefropatia diabética e vasculopatia periférica.

11. Utilização de acordo com a reivindicação 1 para a profilaxia e para o tratamento de síndroma X, obesidade e das diversas formas de resistência à insulina.
12. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que a hiperglicemia está associada a hiperlipidemia.
13. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o medicamento se encontra sob a forma de comprimidos, cápsulas duras ou moles, pós, soluções, suspensões, xaropes, formas sólidas para preparações líquidas preparadas posteriormente, emulsões, formulações lipossómicas, formas para a libertação controlada do ingrediente activo, comprimidos revestidos com camadas adequadas, pós microencapsulados, complexos com ciclodextrinas, artefactos implantáveis, artefactos implantáveis subcutâneos, injecções implantáveis ou implantes.
14. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o medicamento pode ser administrado por via oral ou parentérica.
15. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o composto de fórmula estrutural (I) está presente numa dose compreendida entre 0,01 mg e 400 mg.
16. Utilização de acordo com a reivindicação 1, em que o composto de fórmula estrutural (I) está presente numa dose compreendida entre 0,1 mg e 200 mg.

Lisboa, 23/04/2009