



INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

DIRECÇÃO DE SERVIÇOS DE PATENTES

CAMPO DAS CEBOLAS, 1100 LISBOA
TEL.: 888 51 51 / 2 / 3 TELEX: 18356 INPI
TELEFAX: 87 5308

FOLHA DO RESUMO

Modalidade e n.º (11) 99.010 M	T D	Data do pedido: (22)	Classificação Internacional
-----------------------------------	-----	----------------------	-----------------------------

Requerente (71): MERRELL DOW PHARMACEUTICALS, INC., uma sociedade organiza da e existindo segundo as leis do Estado de Delaware, Estados Unidos da América, norte-americana, industrial, com sede em 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, Ohio 45215, Estados Unidos da América

Inventores (72):

ROBERT JOSEPH DINERSTEIN, KEITH ALLEN DIEKEMA, JEFFREY STEPHEN SABOL

Reivindicação de prioridade(s) (30)

Figura (para interpretação do resumo)

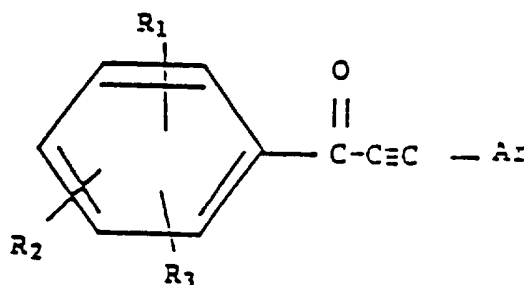
Data do pedido	País de Origem	N.º de pedido
20.09.1990	US	585,411
11.10.1990	US	595,506

Epigrafe: (54)

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS DERIVADOS DE 1-FENIL-3-ARIL-2-PROPI NO-1-ONA E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊU TICAS QUE OS CONTÊM"

Resumo: (máx. 150 palavras) (57)

Descreve-se um processo para a preparação de compos tos de fórmula geral



(1)

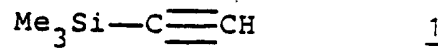
ou dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico que consiste, por exemplo,

NÃO PREENCHER AS ZONAS SOMBREADAS

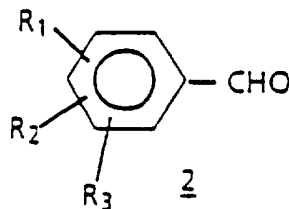
Modalidade e n.º (11)	T D	Data do pedido (22)	Classificação Internacional
-----------------------	-----	---------------------	-----------------------------

Resumo (continuação) (57)

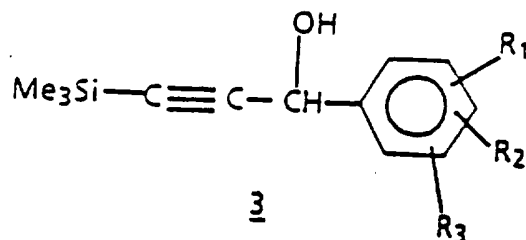
(a) em fazer reagir um composto de fórmula



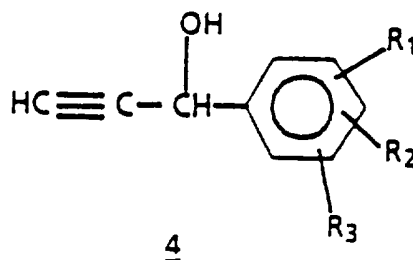
com uma base não nucleófila, no seio de um dissolvente aprótico, para se obter um acetileno de lítio e em fazer reagir esse acetileno com um composto de fórmula geral



para se obter um composto de fórmula geral



(b) em remover o grupo trimetilsililo do composto resultante de fórmula geral 3 para se obter um composto de fórmula geral



ingelani

NÃO PREENCHER AS ZONAS SOMBREADAS



Modalidade e n.º (11)

T.D.

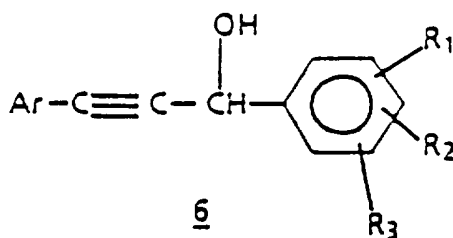
Data do pedido (22)

Resumo (continuação) (57)

(c) em acoplar o composto resultante de fórmula geral

4 com um composto de fórmula geral

na presença de um catalisador de acoplamento no seio de um dissolvente alcalino conjuntamente com uma quantidade catalítica de iodeto de ferro (I) para se obter um composto de fórmula geral



e

(d) em oxidar o composto resultante de fórmula geral 6.

Estes compostos, que inibem a captação do cálcio nos leucócitos ou nas plaquetas, são utilizáveis no tratamento de doenças dependentes do cálcio presente nesses elementos do sangue como, por exemplo, doenças imunitárias tais como artrite reumatóide ou vasculite imunitária ou doenças inflamatórias tais como dermatoses neutrofilas ou doenças cardiovasculares tais como enfarte de miocárdio.

(Dr. Jorge Garin)

L. J.

" PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS DERIVADOS DE
1-FENIL-3-ARIL-2-PROPINO-1-ONA E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊU-
TICAS QUE OS CONTÊM "

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito às 1-fenil-3-aril-2-propino-1-onas, à utilização destes compostos como bloqueadores da captação do cálcio pelos leucócitos e trombócitos, às composições farmacêuticas que os contêm como princípios activos e a um processo para a sua preparação.

ANTECEDENTES

Os leucócitos polinorfonucleares (leucócitos) proporcionam um meio de defesa fundamental contra as infecções microbianas. A resposta aos microrganismos invasores produz uma activação de processos celulares oxidativos (produção de radicais hidroxilo) e não oxidativos (enzimas digestivas; mieloperoxidase, elastase, etc) de modo a destruir eficazmente os microrganismos. No entanto, a resposta dos leucócitos a um estímulo estranho, pode também causar a destruição dos tecidos do hospedeiro e desempenhar um papel importante na patogénese de várias situações de doença não infecciosa.

Os leucócitos possuem uma grande variedade de mecanismos que



lhes possibilitam responder a estímulos estranhos, mecanismos esses que são iniciados pelos receptores da superfície celular. A activação dos receptores ou a activação celular geral dá origem a uma alteração da fisiologia celular, fazendo com que a célula, ela própria, se torne "activada". As moléculas de activação indicadoras intracelulares designam-se frequentemente por segundos mensageiros, sendo os primeiros mensageiros os próprios ligandos activadores extracelulares.

Um dos principais mensageiros secundários, em muitas células é o ião cálcio (Ca^{2+}). Existem dois modos gerais segundo os quais os receptores da superfície celular geram sinais de cálcio intracelular. Um deles consiste na activação da fosfolipase C. A activação da fosfolipase C gera trifosfato de inositol, o qual, por sua vez, liberta o cálcio armazenado na célula. Alternativamente, os receptores celulares podem abrir ou fechar os canais de iões, deixando que o cálcio entre na célula, vindo do meio extracelular. Os canais do ião Ca^{2+} existentes na membrana plasmática distinguem-se ainda por serem de dois tipos funcionais: (1) canais de cálcio sensíveis à diferença de potencial, os quais são activados quando um fluxo pequeno e transitório de iões altera ligeiramente a diferença de potencial através da membrana plasmática; ou (2) canais operados por receptores, os quais são abertos directamente pelos ligandos dos receptores. O primeiro tipo de canais opera principalmente em células sensíveis à diferença de potencial, tais como neuronios e células musculares. Muitas células, tais como leucócitos, não são inicialmente sensíveis à dife-

4.

rença de potencial mas têm receptores na superfície celular que estão funcionalmente ligados a canais de ião Ca^{2+} sensíveis aos receptores na membrana plasmática. A ligação de certos ligandos activa estes receptores, abrindo, conseqüentemente, os canais de cálcio e permitindo a entrada de iões Ca^{2+} no citosol, onde vão actuar como segundos mensageiros.

Quando as células são activadas, o que corresponde a um influxo de iões Ca^{2+} , as estruturas intracelulares que se ligam a esses iões respondem a estas alterações, dependendo da sua afinidade relativa e especificidade para o cálcio. Conhecem-se algumas proteínas Ca^{2+} dependentes. A primeira destas proteínas que se descobriu e caracterizou foi a troponina C que se encontrou em células do músculo esquelético electricamente activas. Uma proteína de ligação ao Ca^{2+} , descoberta mais tarde que se encontra presente tanto em células sensíveis à diferença de potencial, como em células sensíveis a receptores é a calmodulina. Entre o número crescente de proteínas celulares que se sabe serem reguladas pela calmodulina de um modo Ca^{2+} dependente encontram-se algumas formas de nucleótido-fosfodiesterase e adenilato-ciclase, ciclicas, assim como ATPases dependentes do cálcio ligado à membrana, fosforilase-quinase, quinases de cadeia curta com miosina e a sua associação com os fusos do aparelho mitótico e os feixes de filamentos de actina. Apesar de não se conhecer o número total de proteínas dependentes do cálcio ou afectadas por enzimas Ca^{2+} dependentes, é claro que o cálcio é necessário como meio de activação destes processos.

Quando se activam leucócitos, podem ocorrer determinados acontecimentos que são importantes na indução de doenças mediadas pelo cálcio intracelular. Por exemplo, pensa-se que os leucócitos, principalmente os neutrófilos, desempenham um papel importante nos sintomas e danos tecidulares do hospedeiro nas seguintes doenças: gota, artrite reumatóide, vasculite auto-imune, glomerulonefrite, doenças inflamatórias dos intestinos síndrome de dificuldade respiratória do adulto, enfisema, asma, lesões térmicas associadas a hemólise e neoplasias malignas em locais de inflamação crónica (Malech e Gallin, 1987). Consequentemente, parece desejável a inibição da captação de iões Ca^{2+} pelos leucócitos, de modo a aliviar ou retardar a progressão destas doenças auto-imunes e inflamatórias, associadas à captação de cálcio.

A captação de Ca^{2+} pelos leucócitos e a melhoria das doenças imunes e inflamatórias pode estender-se também às doenças associadas à pele e tecidos dérmicos. Incluídas na lista de doenças inflamatórias relacionadas com a via tópica, encontram-se as associadas à pele e à derme, incluindo dermatoses neutrófilas, dermatites crónicas, psoríase, dermatites de contacto, dermatites atópicas e seborreicas e o acne.

O cálcio é também um importante mediador nos trombócitos (plaquetas), onde se sabe que os iões Ca^{2+} constituem um mediador necessário no ciclo intrínseco da coagulação do sangue. Por exemplo, a necessidade de iões Ca^{2+} no processo de coagulação do san-

4.

gue e de formação de trombos é bem conhecida, podendo inibir-se estes processos in vitro, em certo grau in vivo, mediante a adição de agentes quelantes, tais como os EDTA, um citrato ou um oxalato, que se vão ligar aos iões Ca^{2+} . Sabe-se que os iões Ca^{2+} desempenham um papel importante na cascata fibrinolítica e constituem um mecanismo activo através do qual se pode modular, sob o ponto de vista terapêutico, a resposta fibrinolítica.

Uma das principais funções das plaquetas ocorre em um local de lesão vascular, onde formam agregados de coágulos para fechar a ferida. Esta resposta pode também provocar vários efeitos secundários prejudiciais, por exemplo, durante a reperfusão isquémica a formação do trombo pode conduzir à oclusão da artéria, a ponto de poder causar um enfarte do miocárdio. Portanto, é vantajoso, em muitas circunstâncias, inibir a captação de iões Ca^{2+} pelas plaquetas, de modo a controlar a resposta trombolítica.

A entrada de iões Ca^{2+} no citosol, através de várias formas de activação mediadas por receptores ou pela descarga de quantidades armazenadas intracelularmente, está ligada de modo crítico a certos acontecimentos celulares da activação leucocitária e da agregação plaquetária. A alteração dos ciclos das vias de mobilização do ião Ca^{2+} proporciona um mecanismo de modulação das respostas dos leucócitos e das plaquetas. Assim, é de esperar que os compostos que inibam a mobilização do ião Ca^{2+} possam reduzir os processos de doença Ca^{2+} dependentes associados à activação e

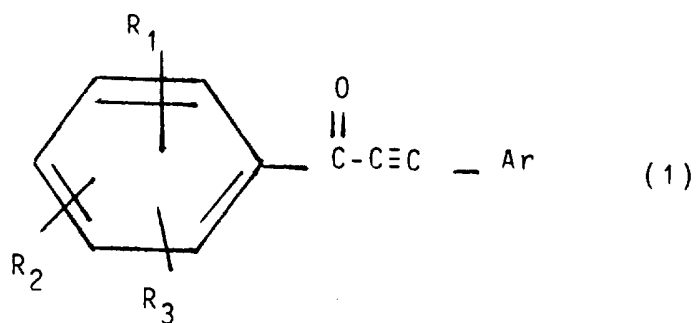
4.

inibição de leucócitos em doenças inflamatórias e auto-imunes e em situações que incluam a agregação plaquetária e em certas patologias trombolíticas.

SUMARIO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a novos derivados 1-fenil-3-aril-2-propino-1-ona que são utilizáveis como inibidores da captação de cálcio pelos leucócitos em associação com doenças imunitárias e inflamatórias agudas e crônicas, incluindo doenças relacionadas da pele e dos tecidos dérmicos. Finalmente, a presente invenção diz também respeito à utilização de derivados 1-fenil-3-aril-2-propino-1-ona no tratamento de processos dependentes de cálcio do sistema cardiovascular, incluindo doenças do sistema trombolítico.

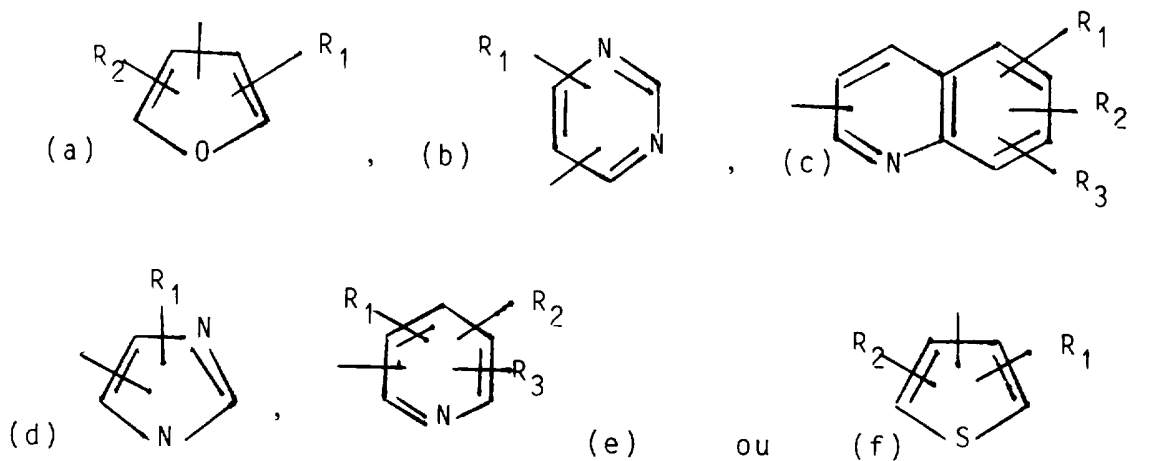
A presente invenção diz respeito a compostos de fórmula geral



na qual

R_1 , R_2 e R_3 representam, cada um, independentemente, um átomo de hidrogênio ou de halogênio, um grupo alquilo C_{1-6} ou alcoxi C_{1-6} ou um grupo de fórmula geral $-N(Y_1)(Y_2)$ ou $Xz-(Q)-(CH_2)_n-O-$ em que Y_1 e Y_2 representam, cada um, independentemente, um átomo de hidrogênio ou um grupo alquilo C_{1-6} ; Q representa um grupo fenilo ou naftilo; n representa zero ou o número inteiro 1; X representa um grupo alcoxi C_{1-6} ou um grupo de fórmula geral $-N(Y_1)(Y_2)$ na qual Y_1 e Y_2 têm os significados definidos antes; e z representa zero ou o número inteiro 1 ou 2; e

Ar representa um grupo de fórmula geral



e aos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

A presente invenção proporciona também um método para a ini-

4.

bição da captação de cálcio em um doente que necessite disso, que consiste em administrar uma quantidade inibidora eficaz sob o ponto de vista terapêutico de um composto de fórmula geral (1).

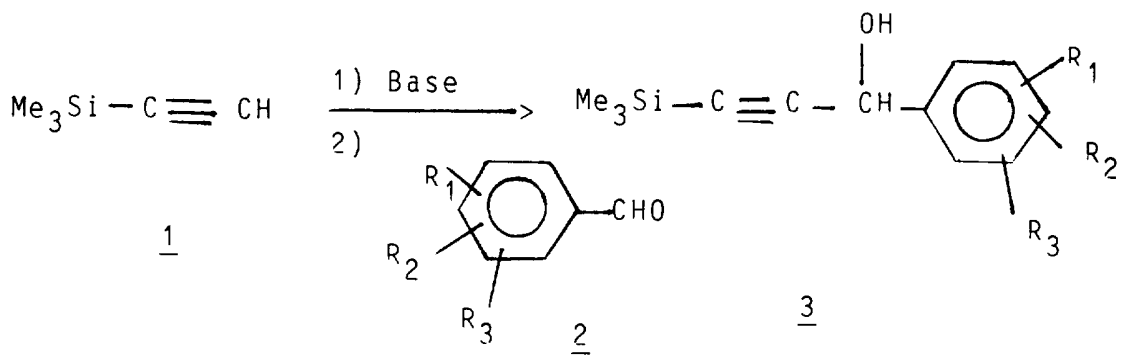
DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

Quando utilizado na presente invenção a designação "alquilo C₁₋₆" diz respeito a radicais hidrocarbilo, de cadeia linear ou ramificada saturada, com 1 a 6 átomos de carbono. Incluídos no âmbito deste termo encontram-se os grupos metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, n-pentilo, n-hexilo ou outros similares. A designação "alcoxi C₁₋₆" diz respeito a grupos metoxi, etoxi, propoxi e outros similares. Considera-se também que o termo X_Z-(Ar)-(CH₂)_n-O- inclui especificamente grupos benziloxi, (4-metoxi)-benziloxi, e outros similares. O termo "halogéneo" diz respeito a átomos de flúor, cloro, bromo ou iodo.

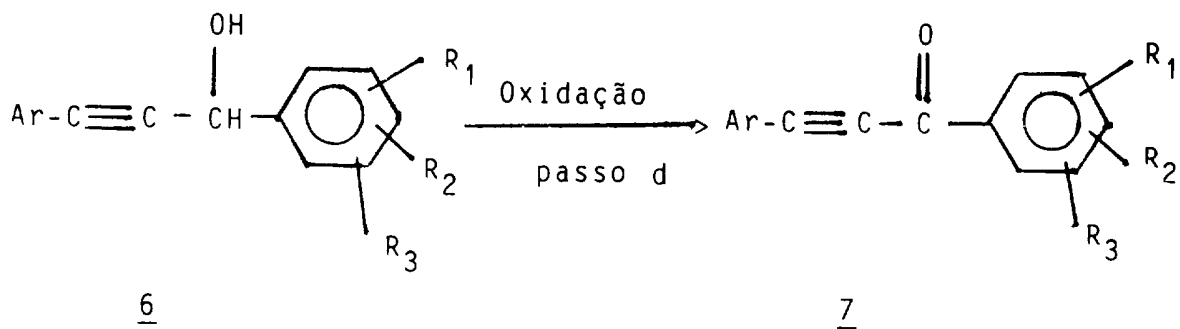
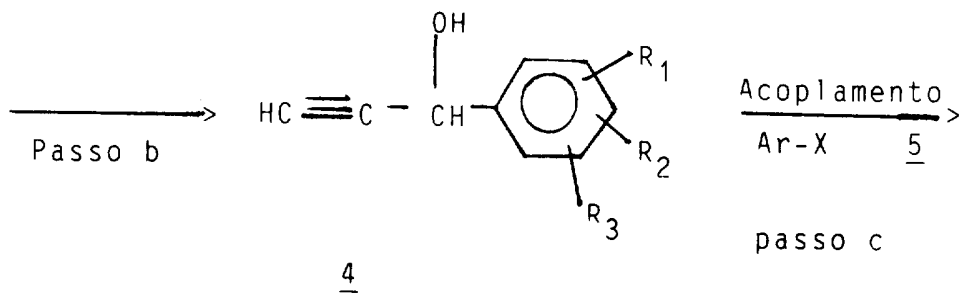
Os compostos de fórmula geral (1) podem ser preparados mediante processos e técnicas que os entendidos na matéria bem conhecem. Um esquema geral de síntese para a preparação de compostos de fórmula geral (1) encontra-se descrito no Esquema A, em que todos os símbolos, caso não seja dada outra indicação, têm os significados definidos antes.

4.

ESQUEMA A



passo a



X = Cl, Br, I

4.

De um modo geral, pode preparar-se uma 1-fenil-3-aryl-2-propino-1-ona de fórmula geral 7 de acordo com o Esquema A realizando um processo em 4 passos.

No passo a, faz-se reagir, primeiro, um trimetilsililacetileno de fórmula geral (1) com uma base não nucleófila como, por exemplo o hexametil-dissilazano de lítio, no seio de um dissolvente aprótico apropriado, tal como o tetra-hidrofurano. Faz-se reagir, depois, o acetileno de lítio resultante com um benzaldeído apropriado de fórmula geral 2, para se obter o correspondente α -[trimetilsilil]-etinil]-benzenometanol de fórmula geral 3.

No passo b, pode remover-se a função trimetilsililo do α -[trimetilsilil]-etinil]-benzenometanol apropriado de fórmula geral 3 mediante técnicas e procedimentos que os entendidos na matéria bem conhecem. Por exemplo, pode remover-se a função trimetilsililo fazendo reagir o α -[trimetilsilil]-etinil]-benzenometanol apropriado de fórmula geral 3 com fluoreto de tetra-n-butilamónio no seio de um dissolvente aprótico apropriado, tal como o tetra-hidrofurano, para se obter o α -(etinil)-benzenometanol correspondente de fórmula geral 4.

No passo c, pode acoplar-se o α -(etinil)-benzenometanol apropriado de fórmula geral 4 a um halogeneto de arilo apropriado de fórmula geral 5 na presença de um catalisador de acoplamento apropriado, tal como cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio(II)

4.

no seio de um dissolvente básico apropriado, tal como a dietilamina, juntamente com uma quantidade catalítica de iodeto de cobre (I), para se obter o correspondente α -[(aril)-etiniz]-benzenometanol de fórmula geral 6.

No passo d, pode oxidar-se o α -[(aril)-etiniz]-benzenometanol apropriado de fórmula geral 6 para se obter a correspondente 1-fenil-3-aril-2-propino-1-ona de fórmula geral 7, mediante técnicas e procedimentos convencionais. Por exemplo, pode oxidar-se o α -[(aril)-etiniz]-benzenometanol apropriado de fórmula geral 6 para obter a correspondente 1-fenil-3-aril-2-propino-1-ona de fórmula geral 7 efectuando quer uma oxidação de Swern (dimetilsulfóxido, cloreto de oxalilo e trietilamina), quer uma oxidação com dicromato de piridínio no seio de um dissolvente aprótico apropriado, tal como o cloreto de metileno, quer ainda uma oxidação com manganato de bário no seio de um dissolvente aprótico apropriado, tal como o cloreto de metileno.

Os compostos iniciais utilizados no procedimento geral de síntese indicado no Esquema A são facilmente obteneveis pelos entendidos na matéria.

Os exemplos que se seguem apresentam sínteses típicas de acordo com o Esquema A. Estes exemplos destinam-se apenas a ilustrar não limitando de modo algum o âmbito da presente invenção. Quando aqui utilizados, os termos que se seguem têm os significa-

4.

dos seguintes: "g" significa gramas; "mmoles" significa milimoles; "ml" significa mililitros; "pe" significa ponto de ebulição; "°C" significa graus Celsius; "mmHg" significa milímetros de mercúrio; "P.F." significa Ponto de Fusão; "mg" significa miligramas; "μM" significa micromolar; "μg" significa microgramas.

Exemplo 1

1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona.

Passo a: 4-dimetilamino- α - ζ (trimetilsilil)-etnil γ -benzenometanol

Coloca-se sob atmosfera de argon hexametildissilazano de lítio (12 ml de uma solução 1M em tetra-hidrofurano, 12 mmoles) e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 1,7 ml (12 mmoles) de trimetilsililacetileno e agita-se durante 1 hora à temperatura de 0°C. Adicionam-se 1,49 g (10 mmoles) de 4-dimetilaminobenzaldeído em 25 ml de tetra-hidrofurano. Deixa-se que a temperatura desta mistura atinja a temperatura ambiente e agita-se durante 3 horas. Verte-se a mistura sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e evapora-se o dissolvente sob vazio. Filtra-se o óleo através de gel de sílica (acetato de etilo a 20%/hexano) e evapora-se o dissolvente sob vazio, obtendo-se 2,26 g do composto do título.

L.

Passo b: 4-dimetilamino- α -(etnil)-benzenometanol

Coloca-se sob atmosfera de árgon uma mistura de 2,26 g (9,13 mmoles) de 4-dimetilamino- α -[(trimetilsilil)-etnil]-benzenometanol e 11 ml de tetra-hidrofurano. Adicionam-se, gota a gota, 11 ml (11 mmoles) de uma solução 1M de fluoreto de tetra-n-butilamônio em tetra-hidrofurano. Agita-se durante 1 hora à temperatura ambiente e partilha-se entre éter etílico e água. Separa-se a fase orgânica, lava-se com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca-se sobre sulfato de magnésio, filtra-se e concentra-se sob vázio obtendo-se 1,37 g (85,6%) do composto do título.

Passo c: 4-dimetilamino- α -(4-piridinil)-etnil]-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de azoto 0,78 g (4 mmoles) de cloidrato de 4-bromopiridina, 0,88 g (5 mmoles) de 4-dimetilamino- α -(etnil)-benzenometanol e 25 ml de dietilamina. Adicionaram-se 140 mg de cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio(II) e seguidamnte 20 mg de iodeto de cobre(I). Agita-se durante toda a noite à temperatura ambiente e filtra-se. Evapora-se o dissolvente sob vázio e filtra-se através de gel de sílica [acetato de etilo/hexano (2:1)]. Evapora-se o dissolvente sob vázio e recristaliza-se em uma mistura de acetato de etilo a 25%/hexano, obtendo-se 0,5 g do composto do título. P.F.:117°C.

L.

Passo d: 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona

Colocam-se 1,75 g de dicromato de piridínio e 20 ml de cloreto de metileno sob atmosfera de árgon e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Adiciona-se 0,8g de uma mistura de 4-dimetilamino- α - β (4-piridinil)-etínil β -benzenometanol e 4-dimetilamino- α -(etínil)-benzenometanol (1:1). Agita-se durante toda a noite aquecendo lentamente até atingir a temperatura ambiente. Dilui-se com éter etílico e filtram-se os sais de crómio. Purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica utilizando como eluente acetato de etilo/hexano (2:1. Obtem-se 0,94 g do composto do título. P.F.: 143°C-145°C.

Exemplo 21-fenil-3-(4-piridinil)2-propino-1-onaPasso a: α - β (trimetilsilil)-etínil β -benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 20 ml (20 mmoles) de uma solução 1M de hexametildissilazano de lítio em tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de 0°C. Gota a gota, adicionam-se 2,83 ml (20 mmoles) de trimetilsililacetileno e agita-se durante 1 hora à temperatura de 0°C. Adicionam-se 2,03 ml (20 mmoles) de benzaldeído em 10 ml de tetra-hidrofurano. Deixa-se retomar a temperatura ambiente e agita-se durante 1 hora. Verte-se a mistura sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e

4.

evapora-se o dissolvente sob vazio. Filtra-se o óleo através de gel de sílica (acetato de etilo a 20%/hexano) e evapora-se o dissolvente sob vazio, obtendo-se 4,09 g do composto do título.

Passo b: -(etinil)-benzenometanol

Coloca-se sob atmosfera de árgon uma mistura de 4,09 g (20 mmoles) de -(trimetilsilil)-etinil /-benzenometanol e de 25 ml de tetra-hidrofurano e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Gota a gota, adicionam-se 25 ml (25 mmoles) de uma solução 1M de fluoreto de tetra-n-butilamónio em tetra-hidrofurano. Deixa-se retornar a temperatura ambiente e agita-se durante 1 hora. Partilha-se entre éter e água. Separa-se a fase orgânica, lava-se com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio e concentra-se sob vazio. Purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica utilizando como eluente acetato de etilo a 15%/hexano, depois do que se purifica por destilação obtendo-se 2,15 g do composto do título. p.e. 100^o-110^oC, 0,1 mmHg.

Passo c: -(4-piridinil)-etinil /-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de azoto 2,33 g (12 mmoles) de cloreto de 4-bromopiridina, 1,95 g (14,8 mmoles) de -(etinil)benzenometanol e 25 ml de dietilamina. Adicionam-se 105 mg de cloreto de bis(trifenilfosfina) paládio(II) e seguidamente 59 mg de iodeto de cobre(I). Agita-se durante 3 horas à temperatura ambiente. Evapora-se o dissolvente sob vazio, agita-se o resíduo com 50 ml de acetato de etilo e separam-se os

4.

sólidos por filtração. Evapora-se o dissolvente sob vácuo e purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica utilizando como eluente acetato de etilo/hexano (4:3). Obtem-se 0,4 g que se recristaliza em uma mistura de hexano/clorofórmio, obtendo-se 0,2 g do composto do título. P.F.: 93°C-96°C.

Passo d: 1-fenil-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona

Coloca-se sob atmosfera de argônio 0,5 ml (1 mmole) de uma solução 2M de cloreto de oxalilo em cloreto de metileno e arrefece-se em um banho de neve carbônica/acetona. Adiciona-se 0,14 ml (2 mmoles) de dimetilsulfóxido e agita-se durante 10 minutos à temperatura de -70°C. Adiciona-se 0,18g (0,86 mmole) de α -[(4-piridinil)-etnil]- β -benzenometanol em 1ml de cloreto de metileno. Agita-se durante 10 minutos à temperatura de -78°C. Adiciona-se 0,56 ml (4 mmoles) de trietilamina, retira-se o banho de arrefecimento e agita-se durante 45 minutos. Verte-se sobre gel de sílica e elui-se com uma mistura acetato de etilo a 60%/hexano. Evapora-se o dissolvente sob vácuo e recristaliza-se em uma mistura de hexano/clorofórmio, obtendo-se 58,1 mg do composto do título. P.F.: 74°C-75°C.

Exemplo 3

1-fenil-3-(3-piridinil)-2-propino-1-ona

Passo a: α -[(trimetilsilil)-etnil]- β -benzenometanol

4.

Colocam-se sob atmosfera de árgon 12 ml (12 mmoles) de uma solução 1M de hexametildissilazano de lítio em tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 1,7 ml (12 mmoles) de trimetilsililacetileno e agita-se durante 1 hora à temperatura de 0°C. Adicionaram-se 1,06 g (10 mmoles) de benzaldeído em 25 ml de tetra-hidrofurano. Deixa-se retomar a temperatura ambiente e agita-se durante 3 horas. Verte-se a mistura sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e evapora-se o dissolvente sob vazio. Filtra-se o óleo através de gel de sílica (acetato de etilo a 20%/hexano) e evapora-se o dissolvente sob vazio, obtendo-se o composto do título.

Passo b: α -(etinil)-benzenometanol

Coloca-se sob atmosfera de árgon uma mistura de 1,87 g (9,13 mmoles) de α -[(trimetilsilil)-etinil]-benzenometanol e 11 ml de tetra-hidrofurano. Gota a gota, adicionam-se 11 ml (11 mmoles) de uma solução 1M de fluoreto de tetra-n-butilamónio em tetra-hidrofurano. Agita-se durante 1 hora à temperatura ambiente e partilha-se entre éter etílico e água. Separa-se a fase orgânica, lava-se com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca-se sobre sulfato de magnésio, filtra-se e concentra-se sob vazio, obtendo-se o composto do título.

Passo c: α -[(3-piridinil)-etinil]-benzenometanol

4.

Colocam-se sob atmosfera de azoto 0,78 g (4 mmoles) de clo-
ridrato de 3-bromopiridina, 661 mg (5 mmoles) de α -(etinil)-benze-
nometanol e 25 ml de dietilamina. Adicionam-se 140 mg de cloreto
de bis(trifenilfosfina)paládio(II) e seguidamente 20 mg de iodeto
de cobre(I). Agita-se durante toda a noite à temperatura ambiente
e filtra-se. Evapora-se o dissolvente sob vazio e filtra-se
através de gel de sílica [acetato de etilo/hexano (2:1)]. Evapo-
ra-se o dissolvente sob vazio e recristaliza-se em uma mistura de
acetato de etilo a 25%/hexano. Obtem-se o composto do título.

Passo d: 1-fenil-3-(3-piridinil)-2-propino-1-ona

Colocam-se sob atmosfera de árgon 1,75 g de dicromato de pi-
ridínio e 20 ml de cloreto de metileno e arrefecem-se até à tem-
peratura de 0°C. Adicionaram-se 663 mg (3,2 mmoles) de α -[3-piri-
dinil]-etinil]-benzenometanol. Agita-se durante toda a noite
aquecendo lentamente até se atingir o valor da temperatura am-
biente. Dilui-se com éter etílico e separam-se por filtração os
sais de crómio. Purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica
utilizando como eluente acetato de etilo/hexano (2:1). Obtem-se o
composto do título.

Exemplo 4

1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona

Passo a: α -[(trimetilsilil)-etinil]-(4-dietilamino)-benzenome-
tanol

4.

Colocam-se sob atmosfera de árgon 12 ml (12 mmoles) de uma solução 1M de hexametildissilazano de lítio em tetra-hidrofurano e 40 ml de tetra-hidrofurano e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 1,69 ml (12 mmoles) de trimetilsililacetileno e agita-se durante 45 minutos à temperatura de 0°C. Adiciona-se uma solução de 1,77 g (10 mmoles) de 4-dietilaminobenzaldeído em 10 ml de tetra-hidrofurano. Retira-se o banho de arrefecimento e agita-se durante 1 hora à temperatura ambiente. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio, obtendo-se 2,8 g do composto do título.

Passo b: α -[etinil]-(4-dietilamino)-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 1,8 g de α -[etinil]-(4-dietilamino)-benzenometanol em 15 ml de tetra-hidrofurano e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 15 ml (15 mmoles) de uma solução 1M de fluoreto de tetra-n-butilamónio em tetra-hidrofurano. Retira-se o banho de arrefecimento e agita-se durante 2 horas à temperatura ambiente. Verte-se sobre éter etílico e água e separa-se a fase orgânica, depois do que se lava com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Evapora-se o dissolvente sob vazio obtendo-se um óleo escuro. Verte-se sobre gel de sílica e elui-se com acetato de etilo a 20%/hexano.

4.

Obtêm-se 1,67 g do composto do título.

Passo c: -/ (4-piridinil)-etnil /-(4-dietilamino)-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 1,40 g (7,2 mmoles) de cloridrato de 4-bromopiridina, 1,67 g (8,2 mmoles) de -/ etnil -(4-dietilamino)-benzenometanol e 35 ml de dietilamina. Adicionam-se 0,2 g de cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio(II) e 70 mg de iodeto de cobre(I) e agita-se durante toda a noite à temperatura ambiente. Separam-se os sólidos por filtração, evapora-se a dietilamina sob vácuo e purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica utilizando como eluente acetato de etilo a 60%/hexano. Obtêm-se 1,4 g do composto do título. P.F.:100^o-103^oC.

Passo d: 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona

Misturam-se 1,4g de -/ (4-piridinil)-etnil /-(4-dietilamino)-benzenometanol e 2,82 g de dicromato de piridínio e 25 ml de cloreto de metileno. Agitam-se durante toda a noite à temperatura ambiente. Diluem-se com 4 vezes o volume de éter etílico. Separam-se os sais sólidos de crômio por filtração e evapora-se o dissolvente sob vácuo. Cristaliza-se o resíduo em uma mistura de éter etílico a 20%/hexano. Separa-se por filtração o sólido amarelo brilhante resultante e seca-se ao ar, obtendo-se 0,16g (primeira colheita) e 0,23g (segunda colheita) do composto do título

P.F.: 85⁰-87⁰C.

Exemplo 5

1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-pirimidinil)-2-propino-1-ona

Passo a: α -[(4-pirimidinil)-etnil]-(4-dietilamino)-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 1,75 g (11 mmoles) de 4-bromopirimidina, 2,45g (14 mmoles) de α -[etnil]-(4-dietilamino)-benzenometanol (Exemplo 1, Passo b) e 75 ml de dietilamina. Adicionam-se 240 mg de cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio(II) e 40 mg de iodeto de cobre(I) e agita-se durante 3 horas à temperatura ambiente. Separam-se os sólidos por filtração, evapora-se a dietilamina sob vazio e purifica-se por cromatografia em gel de sílica utilizando como eluente uma mistura de acetato de etilo a 60%/hexano. Obtem-se 0,79 g do composto do título. P.F.: 131⁰-134⁰C.

Passo d: 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-pirimidinil)-2-propino-1-ona

Misturam-se 0,7g de α -[(4-pirimidinil)-etnil]-(4-dietilamino)-benzenometanol e 1g de manganato de bário e 25 ml de cloreto de metileno. Agita-se durante toda a noite à temperatura ambiente. Verte-se sobre gel de sílica e elui-se com uma mistura de acetato de etilo a 60%/hexano. Recristaliza-se em uma mistura de clorofórmio/hexano, obtendo-se 0,35g do composto do título.

P.F.: 180⁰-182⁰C.

Exemplo 6

1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-quinolinil)-2-propino-1-ona

Passo c: α -[(4-quinolinil)-etnil]-(4-dietilamino)-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 2,08 g (10 mmoles) de 4-bromoquinolina, 2,10 g (12 mmoles) de α -[etnil]-(4-dietilamino)-benzenometanol (Exemplo 1, Passo b) e 50 ml de dietilamina. Adicionam-se 230 mg de cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio(II) e 35 mg de iodeto de cobre(I) e agita-se durante 3 horas à temperatura ambiente. Separam-se os sólidos por filtração, evapora-se a dietilamina sob vácuo e purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica utilizando como eluente acetato de etilo a 60%/hexano e recristalização em uma mistura de éter etílico a 20%/hexano. Obtêm-se 1,9g do composto do título. P.F.: 115⁰-117⁰C.

Passo d: 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-quinolinil)-2-propino-1-ona

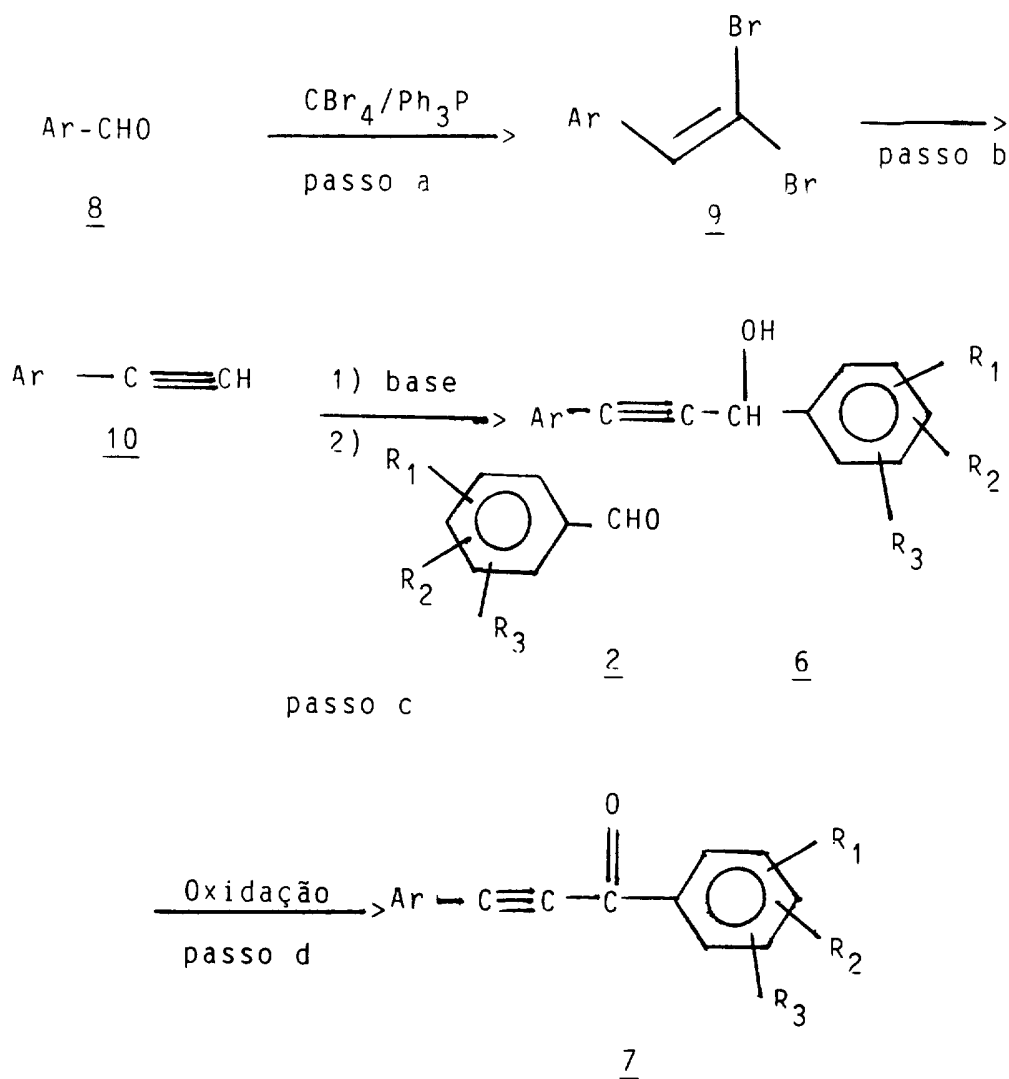
Misturam-se 1,81g (6 mmoles) de α -[(4-quinolinil)-etnil]-4-(dietilamino)-benzenometanol e 100 ml de cloreto de metileno e arrefece-se em um banho de água e gelo. Adicionam-se 2,31g (9 mmoles) de manganato de bário e retira-se o banho de arrefecimen-

4.

to. Agita-se durante 16 horas à temperatura ambiente. Verte-se sobre gel de sílica e elui-se com uma mistura de acetato de etilo a 60%/hexano e recristaliza-se em uma mistura de clorofórmio/hexano, obtendo-se 0,51 g do composto do título. P.F.: 163^o-165^oC.

Alternativamente, podem preparar-se os compostos de fórmula geral I de acordo com o procedimento descrito no Esquema B, em que todos os símbolos caso não seja dada outra indicação, têm os significados definidos antes.

Esquema B



4.

De um modo geral, pode preparar-se uma 1-fenil-3-aryl-2-propino-1-ona de fórmula geral 7 mediante um processo em 4 passos.

No passo a, pode preparar-se o 2',2'-dibromoestireno apropriado de fórmula geral 9 fazendo reagir o arilaldeído apropriado de fórmula geral 8 com tetrabrometo de carbono e trifenilfosfina no seio de um dissolvente apropriado como, por exemplo, o cloreto de metileno.

No passo b, pode preparar-se o arilacetileno apropriado de fórmula geral 10, fazendo reagir o 2',2'-dibromoestireno apropriado de fórmula geral 9 com uma base não nucleófila como, por exemplo, n-butil-lítio no seio de um dissolvente aprótico apropriado, tal como o tetra-hidrofurano.

No passo c, pode preparar-se o α -(aryl)-etinil β -benzenometanol apropriado de fórmula geral 6, fazendo reagir primeiro o arilacetileno apropriado de fórmula geral 10 com uma base não nucleófila, como por exemplo, o hexametil-dissilazano de lítio. depois pode fazer-se reagir acetileno de lítio correspondente com o benzaldeído apropriado de fórmula geral 2, obtendo-se o α -(aryl)-etinil β -benzenometanol apropriado de fórmula geral 6.

No passo d, pode oxidar-se o α -(aryl)-etinil β -benzenometanol apropriado de fórmula geral 6 para obter a correspondente

4.

1-fenil-3-aryl-2-propino-1-ona de fórmula geral 7, mediante técnicas e procedimentos convencionais e descritos anteriormente no Esquema A.

Os entendidos na matéria podem facilmente obter os compostos iniciais para utilizar no procedimento geral de síntese descrito no Esquema B.

Os exemplos que se seguem apresentam sínteses típicas de acordo com o descrito no Esquema B. Estes exemplos servem apenas para ilustrar, não se destinando a limitar de qualquer modo o âmbito da presente invenção.

Exemplo 7

1-fenil-3-(2-imidazolil)-2-propino-1-ona

Passo a: 2-(2',2'-dibromoetenil)-imidazol

Misturam-se 49,8g (150 mmoles) de tetrabrometo de carbono e 75 ml de cloreto de metileno e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Gota a gota, adiciona-se uma solução de 78,6g (300 mmoles) de trifenilfosfina em 75 ml de cloreto de metileno. Agita-se durante 30 minutos à temperatura de 0°C. Gota a gota, adiciona-se uma solução de 7,57 (78,8 mmoles) de 2-imidazol-carboxaldeído em 75 ml de cloreto de metileno. Retira-se o banho de arrefecimento e agi-

4.

ta-se à temperatura ambiente até à conclusão da reacção. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica, obtendo-se o composto do título.

Passo b: 2-imidazolacetileno

Colocam-se sob tamosfera de árgon 5,6 g (22,3 mmoles) de 2-(2',2'-dibromoetenil)-imidazol e 70 ml de tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de -78°C . Gota a gota, adicionam-se 18,7 ml (46,8 mmoles) de uma solução 2,5 M de n-butil-lítio em hexano. Agita-se durante 1 hora à temperatura de -78°C , retira-se o banho de arrefecimento e agita-se à temperatura ambiente até à conclusão da reacção. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica, obtendo-se o composto do título.

Passo c: α -[(2-imidazolil)-etinil]-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 3 ml (3 mmoles) de uma solução orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica, obtendo-se o composto do título.

4.

Passo b: 2-imidazolilacetilo

Colocam-se sob atmosfera de árgon 5,6g (22,3 mmoles) de 2-(2',2'-dibromoetenil)-imidazol e 70 ml de tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de -78°C . Gota a gota, adicionam-se 18,7 ml (46,8 mmoles) de uma solução 2,5M de n-butil-lítio em hexano. Agita-se durante 1 hora à temperatura de -78°C , retira-se o banho de arrefecimento e agita-se à temperatura ambiente até à conclusão da reacção. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica, obtendo-se o composto do título.

Passo c: [(2-imidazolil)-etinil]-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 3 ml (3 mmoles) de uma solução 1M de hexametildissilazano de lítio em tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de 0°C . Adicionam-se 276 mg (3 mmoles) de 2-imidazolilacetileno em 20 ml de tetra-hidrofurano e agita-se à temperatura de 0°C até que a formação do anião esteja concluída. Adiciona-se uma solução de 297 mg (2,8 mmoles) de benzaldeído em tetra-hidrofurano, retira-se o banho de gelo e agita-se à temperatura ambiente até que a reacção esteja concluída. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e

L.

seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vácuo. Purifica-se por cromatografia sobre gel de sílica, obtendo-se o composto do título.

Passo d: 1-fenil-3-(2-imidazolil)-2-propino-1-ona

Colocam-se sob atmosfera de argônio 0,75 g (2 mmoles) de dicromato de piridínio e 15 ml de cloreto de metileno e arrefecem-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 297 mg (1,5 mmoles) de α -(2-imidazolil)-etnil β -benzenometanol. Agita-se durante toda a noite aquecendo lentamente até à temperatura ambiente. Dilui-se com éter etílico e separam-se os sais de crómio por filtração. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Exemplo 8

1-fenil-3-(tiofen-2-il)-2-propino-1-ona

Passo a: 2-(2',2'-dibromoetenil)-tiofeno

Misturam-se 49,8g (150 mmoles) de tetrabrometo de carbono e 75 ml de cloreto de metileno e arrefece-se até à temperatura de 0°C. Gota a gota, adiciona-se uma solução de 78,6g (300 mmoles) de tri-fenilfosfina em 75 ml de cloreto de metileno. Agita-se durante 30 minutos à temperatura de 0°C. Gota a gota, adiciona-se uma solução de 8,75g (78,8 mmoles) de 2-tiofeno-carboxaldeído em 75 ml de cloreto de metileno. Retira-se o banho de arrefecimento e agita-

4.

-se à temperatura ambiente até que a reacção esteja concluída. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Passo b: (tiofen-2-il)-acetileno

Colocam-se sob atmosfera de árgon 5,97 g (22,3 mmoles) de 2-(2',2'-dibromoetenil)-tiofeno e 70 ml de tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de -78°C . Gota a gota, adicionam-se 18,7 ml (46,8 mmoles) de uma solução 2,5M de n-butil-lítio em hexano. Agita-se durante 1 hora à temperatura de -78°C , retira-se o banho de arrefecimento e agita-se à temperatura ambiente até à conclusão da reacção. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Passo c: α -[(tiofen-2-il)-etinil]-benzenometanol

Colocam-se sob atmosfera de árgon 3 ml (3 mmoles) de uma solução 1M de hexametildissilazano de lítio em tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de 0°C . Adicionam-se 324 mg (3 mmoles) de (tiofen-2-il)-acetileno em 20 ml de tetra-hidrofurano e agita-se à temperatura de 0°C até que a formação do anião este-

4.

ja concluída. Adiciona-se uma solução de 297 mg (2,8 mmoles) de benzaldeído em tetra-hidrofurano, retira-se o banho de gelo e agita-se à temperatura ambiente até que a reacção esteja concluída. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a camada orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Passo d: 1-fenil-3-(tiofen-2-il)-2-propino-1-ona

Colocam-se sob atmosfera de árgon 0,75 g (2 mmoles) de dicromato de piridínio e 15 ml de cloreto de metileno e arrefecem-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 321 mg (1,5 mmoles) de α -[(2-tiofenil)-etnil]-benzenometanol. Agita-se durante toda a noite aquecendo lentamente até à temperatura ambiente. Dilui-se com éter etílico e separam-se os sais de crómio por filtração. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Exemplo 9

1-fenil-3-(2-furanil)-2-propino-1-ona

Passo a: 2-(2',2'-dibromoetenil)-furano

Misturam-se 49,8 g (150 mmoles) de tetrabrometo de carbono e 75 ml de cloreto de metileno e arrefece-se até à temperatura de 0°C.

4.

Gota a gota, adiciona-se uma solução de 78,6 g (300 mmoles) de trifenilfosfina em 75 ml de cloreto de metileno. Agita-se durante 30 minutos à temperatura de 0°C. Gota a gota, adiciona-se uma solução de 7,57g (78,8 mmoles) de 2-furano-carboxaldeído em 75 ml de cloreto de metileno. Retira-se o banho de arrefecimento e agita-se à temperatura ambiente até que a reacção esteja concluída. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Passo b: 2-furanilacetileno

Colocam-se sob atmosfera de árgon 5,6 g (22,3 mmoles) de 2-(2',2'-dibromoetenil)-furano e 70 ml de tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de -78°C. Gota a gota, adicionam-se 18,7 ml (46,8 mmoles) de uma solução 2,5M de n-butil-lítio em hexano. Agita-se durante 1 hora à temperatura de -78°C, retira-se o banho de arrefecimento e agita-se à temperatura ambiente até que a reacção esteja completa. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Passo c: α -[(2-furanil)-etnil]-benzenometanol

4.

Colocam-se sob atmosfera de árgon 3 ml (3 mmoles) de uma solução 1M de hexametildissilazano de lítio em tetra-hidrofurano e arrefecem-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 276 mg (3 mmoles) de 2-furanilacetileno em 20 ml de tetra-hidrofurano e agita-se à temperatura de 0°C até que a formação do anião esteja concluída. Adiciona-se uma solução de 297 mg (2,8 mmoles) de benzaldeído em tetra-hidrofurano, retira-se o banho de arrefecimento e agita-se à temperatura ambiente até que a reacção esteja concluída. Verte-se sobre éter etílico e água, separa-se a fase orgânica e seca-se sobre sulfato de magnésio. Filtra-se e evapora-se o dissolvente sob vazio. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Passo c: 1-fenil-3-(2-furanil)-2-propino-1-ona

Colocam-se sob atmosfera de árgon 0,75 g (2 mmoles) de dicromato de piridínio e 15 ml de cloreto de metileno, e arrefecem-se até à temperatura de 0°C. Adicionam-se 297 mg (1,5 mmoles) de α - β -(2-furanil)-etnil β -benzenometanol. Agita-se durante toda a noite aquecendo lentamente até à temperatura ambiente. Dilui-se com éter etílico e separam-se os sais de crómio por filtração. Purifica-se por cromatografia em gel de sílica obtendo-se o composto do título.

Os compostos que se seguem podem ser preparados mediante procedimentos similares aos descritos antes, nos Exemplos 1 a 9:

- 1-fenil-3-(2-piridinil)-2-propino-1-ona
- 1-fenil-3-(1-imidazolil)-2-propino-1-ona;
- 1-fenil-3-(3-imidazolil)-2-propino-1-ona;
- 1-fenil-3-(tiofen-3-il)-2-propino-1-ona;
- 1-fenil-3-(2-furanil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-piridinil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(3-piridinil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(3-imidazolil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-imidazolil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(1-imidazolil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-tiofenil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(tiofen-3-il)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-furanil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(3-furanil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-pirimidinil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(3-pirimidinil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(2-quinolinil)-2-propino-1-ona;
- 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(3-quinolinil)-2-propino-1-ona.

Um dos aspectos da presente invenção proporciona um método para inibir a captação do cálcio pelos leucócitos. Tal como aqui se utiliza, o termo "inibição" diz respeito a qualquer processo segundo o qual se atrasa, interrompe, suspende ou termina a captação de cálcio para o interior dos leucócitos, o que não indica necessariamente uma eliminação total da captação de cálcio para o interior das células ou dos tecidos afectados.



O termo "cálcio" e a expressão "ião cálcio (Ca^{2+})" podem utilizar-se aqui indiferentemente, para referir o elemento cálcio e os seus estados iónicos que possam estar de algum modo envolvidos nos processos celulares dos leucócitos. Admite-se ainda que a inibição da captação de cálcio pelos leucócitos, por compostos de fórmula geral (1), pode afectar um ou mais estados elementares do cálcio e não deve ser limitada a uma forma iónica de cálcio e/ou à sua associação a qualquer contra-ião específico; por exemplo, cloreto de cálcio, carbonato de cálcio, fluoreto de cálcio, etc., são associações conhecidas que se consideram dentro da definição de "cálcio", tal como aqui se utiliza.

A captação de cálcio pelos leucócitos é um dos acontecimentos indicadores da activação dos leucócitos e funciona como um segundo mensageiro para a célula. Frequentemente, a captação de cálcio depende de um primeiro mensageiro como, por exemplo, a ligação de um ligando ao seu receptor na superfície celular. A ligação de ligandos aos seus receptores pode servir para abrir canais de Ca^{2+} , permitindo a entrada de Ca^{2+} no citosol, onde o mesmo funciona depois como segundo mensageiro. Quando as células estão activadas, o que corresponde a um influxo de Ca^{2+} , podem ocorrer determinados acontecimentos que contribuem para ou conduzem a doenças baseadas em reacções inflamatórias ou reacções auto-imunes.

Os leucócitos englobam uma classe de células do sistema imu



nitário que são histológica e bioquimicamente distintas de outras células do sistema imunitário. Tal como são referidos na presente memória descritiva, os leucócitos englobam cinco classes principais de células; neutrófilos, basófilos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos.

Dentro destas classes de células, podem existir ainda classificações de tipos celulares; por exemplo, os neutrófilos podem incluir ainda leucócitos polimorfonucleares. Todas as classes principais de leucócitos se relacionam, na medida em que derivam de uma célula-mãe mielóide progenitora. Apesar de o termo "neutrófilo" ser aqui utilizado predominantemente, ele é utilizado tanto para exemplificar a acção dos leucócitos, como de todas as células que derivam de células-mãe mielóides e não se pretende que este facto constitua qualquer limitação à utilização ou administração de compostos de fórmula geral (1) que possam ser causadores ou sintomáticos da acção de qualquer tipo particular de leucócitos ou células do sistema imunitário. Além disso, a acção de leucócitos em um processo que consiste em limitar ou parar a captação de cálcio para atingir a cura em um processo de doença não é limitada pelo facto de a doença ser consequência de múltiplos tipos de células ou de tecidos e engloba uma interacção complexa de interacções celulares e tecidulares. Um dos aspectos da presente invenção é a inibição da captação de cálcio pelos leucócitos, resultando desse o efeito de inibição uma modulação benéfica das funções fagocitárias dos leucócitos. Entende-se, portanto, ainda que as células leucocitárias podem classificar-se pela funciona-

4.

lidade inibida; por exemplo, poder-se-ia usar o termo fagócitos ou células com funções fagocíticas para designar um grupo ou sub-grupo de células englobando as células aqui denominadas leucócitos.

Os leucócitos respondem a uma grande variedade de patologias inflamatórias ou auto-imunes. Durante estes estados, a activação dos receptores ou a activação celular, em geral, origina uma fisiologia celular alterada na qual o leucócito se torne activado. Frequentemente, o termo "activação" é utilizado para referir o processo ou o estado dos leucócitos que se tornaram activados que podem ser caracterizados pela resposta das células à captação de cálcio enquanto se tornam activadas ou mantêm o estado de activação.

A activação de mecanismos celulares oxidativos e não oxidativos, que resultam da activação do leucócito, desempenha um papel importante no desenvolvimento de vários processos de doenças auto-imunes. Fazendo parte do sistema de defesa celular, incluindo os sintomas adversos e os danos tecidulares do hospedeiro, a activação dos leucócitos participantes é parcialmente dependente do cálcio. Os processos de doença não infecciosos nos quais se pensa que os leucócitos, principalmente os neutrófilos, desempenham um papel importante nos sintomas e danos tecidulares do hospedeiro incluem: gota, artrite reumatóide, vasculite auto-imune, glomerulonefrite, dermatose neutrófila, doenças inflamatórias do

L.

intestino, enfarte do miocárdio, síndrome de dificuldade respiratória no adulto, enfisema, asma, lesões térmicas associadas a hemólise e neoplasias malignas em locais de inflamação crónica (malech e Gallin; 1987).

Em várias doenças auto-imunes, tais como a gota, artrite auto-imune, vasculite auto-imune e certas formas de glomerulonefrite, verifica-se que os neutrófilos se acumulam nas regiões articulares e contribuem para a destruição da articulação e do tecido mole. Apesar de vários processos estarem envolvidos na fisiopatologia destas doenças, a afluência de neutrófilos à área em questão está bem documentada e pode ser responsável por uma grande parte dos aspectos histopatológicos observáveis destas doenças. A este respeito, vários estudos em sistemas experimentais demonstraram claramente que os processos não oxidativos, provavelmente resultantes da activação de neutrófilos, particularmente a libertação da elastase pelos neutrófilos e por outras enzimas proteolíticas e glicolíticas, podem lesionar directamente os tecidos do hospedeiro.

Uma grande variedade de perturbações dermatológicas estão associadas à infiltração de neutrófilos nos tecidos dérmicos e ectodérmico da pele. As doenças de pele na quais os neutrófilos participam na progressão da doença, influem, sem se limitarem a estas, formas de dermatose psoriasiforme, dermatoses neutrofili-

4.

cas associadas a vasos sanguíneos, tais como as que se verificam na síndrome de Sweet e na doença de Behcet e pioderma gangrenosa. Nestes processos de doença os neutrófilos vão aumentar e manter os sintomas inflamatórios e reforçar as lesões tecidulares, podendo assim impedir a cura.

Um certo número de outras doenças, tais como as doenças inflamatórias do intestino e enfarte do miocárdio, estão relacionadas com uma deficiência na função dos neutrófilos dentro de um determinado órgão. Estudos em animais sugerem que as anomalias na circulação dos neutrófilos nos intestinos, originam uma activação anormal dessas células. No mesmo sentido, demonstrou-se que os neutrófilos se deslocam para o local do enfarte, nos tecidos dos miocárdicos, desempenhando um papel importante no aumento das lesões dos tecidos após um enfarte do miocárdio.

A patogénese de várias perturbações respiratórias, incluindo a síndrome de dificuldade respiratória do adulto (SDRA), enfisema e asma, foi associada à infiltração de neutrófilos e agravamento da doença. As lesões oxidativas dos tecidos pulmonares mediadas por neutrofilos podem ser uma componente importante da patogénese destas perturbações respiratórias. Além do mais, a acumulação de neutrófilos com a libertação de elastase pode ter um papel importante na destruição de tecidos que ocorre no enfisema e nas últimas fases da resposta inflamatórias na asma alérgica. A resposta



alérgica, durante a qual os neutrófilos libertam os seus constituintes, pode resultar da libertação de histamina pelos mastócitos.

A activação dos neutrófilos pode intervir na patogénese geral de doenças relacionadas com a activação do complemento. Como se sabe, o complemento pode servir para activar neutrófilos com a produção concomitante de radicais hidroxilo. A produção de radicais hidroxilo a partir da activação dos neutrófilos pode ser responsável pela fragilidade dos eritrócitos e pela hemólise intravascular associada à activação do complemento.

O termo "inflamação", tal como aqui se utiliza refere-se a um processo que frequentemente envolve leucócitos do sistema imunitário, sendo o processo envolvido em uma "situação inflamatória". Clinicamente, os principais sinais de inflamação podem incluir um ou mais dos seguintes sintomas: vermelhão, edema, calor, dor, perda de função e febre. No entanto, certos acontecimentos celulares que acompanham a inflamação incluem, embora não exclusivamente, activação, marginalização, emigração e exsudação de leucócitos. Considera-se também que, em qualquer patologia na qual exista um estado inflamatório precoce ou latente, os leucócitos podem participar nas suas causas subjacentes ou intervir na perpetuação ou expansão do estado de doença ou patologia. Assim, aqui considera-se que os processos que envolvam uma patologia in-



flamatória envolvem também leucócitos do sistema imunitário e, como tal, podem ser classificados como doenças auto-imunes" e patologias mediadas por leucócitos possíveis de serem tratadas com compostos de fórmula geral (1). Considera-se também que os compostos, de acordo com a presente invenção, que afectam a captação de cálcio pelos leucócitos, podem ser potencialmente benéficos na melhoria das patologias que envolvam inflamação e/ou doenças auto-imunes.

O desenvolvimento de métodos, como os que se incluem na presente invenção, para cancelar as respostas dos neutrófilos ou para inactivar os metabolitos oxidativos e o conteúdo dos grânulos dos neutrófilos, será útil para limitar a destruição de tecidos nestas doenças inflamatórias não infecciosas.

As plaquetas (trombócitos) são células sanguíneas não nucleadas que derivam de megacariocitos existentes na medula óssea. As plaquetas são também necessárias para a coagulação do sangue e ajudam a reparar rupturas nas paredes dos vasos sanguíneos. A resposta das plaquetas para formar coágulos e reparar danos no tecido vascular pode também ter vários efeitos secundários prejudiciais; por exemplo, durante a reperfusão isquémica, a formação de trombos e a agregação plaquetária associada pode, eventualmente, levar à oclusão da artéria. Sabe-se também que o fecho ou a oclusão das paredes das artérias e das veias pode conduzir ao



aparecimento de enfarte do miocárdio. É também sabido que o cálcio é necessário nos processos de coagulação do sangue e de formação de trombos; por exemplo, a modulação da resposta de coagulação pelo EDTA e por outros agentes quelantes que se ligam ao cálcio está estabelecida nesta área. É de esperar portanto, que a inibição da captação de cálcio pelas plaquetas, quando se tratam doentes deste modo, pode resultar, ela própria, em um meio viável para modular terapêuticamente a activação plaquetária o que deverá incluir a libertação de mediadores vasoactivos e a formação de agregados plaquetários.

Tal como aqui se utiliza, o termo "doente" diz respeito a um animal de sangue quente, tal como um mamífero, afectado por uma determinada doença auto-imune. Entende-se que os cães, gatos, ratos, ratinhos, cavalos, gado bovino, gado ovino e o homem, são exemplos de animais incluídos no âmbito do significado deste termo.

Pensa-se que os compostos de fórmula geral (1) exerceu a sua actividade inibidora sobre a captação de cálcio pelos leucócitos e pelas plaquetas, proporcionando assim alívio dos mecanismos dependentes do cálcio envolvidos na imunorregulação, incluindo as doenças inflamatórias e auto-ímmunes. No entanto, deve ter-se em atenção que a presente invenção não está limitada por qualquer teoria ou mecanismo particular para explicar a sua eficácia na



aplicação prática. Entende-se também que a utilização dos compostos finais de fórmula geral (1) engloba também todos os seus radicais que incluem derivados de fórmulas (1a), (1b), (1c), e (1d).

Tal como é conhecido pelos entendidos na matéria, certos estados de doença em determinadas doenças inflamatórias e auto-imunes caracterizam-se por acontecimentos que conduzem à captação de cálcio pelos leucócitos. Tal como aqui se utiliza a expressão "acontecimentos que conduzem à captação de cálcio pelos leucócitos" pode dizer respeito quer aos acontecimentos iniciais que levaram à situação inicial quer aos acontecimentos associados à manutenção de situações inflamatórias ou auto-imunes. Os entendidos na matéria sabem ainda que certas doenças cardiovasculares se caracterizam por acontecimentos que conduzem à captação de cálcio pelas plaquetas, podendo tais acontecimentos estarem relacionados quer com os acontecimentos iniciais que conduzem à situação patológica, quer com eventos associados à manutenção do estado de doença cardiovascular.

Mais especificamente, a presente invenção proporciona um método para tratar um doente afectado por uma doença dependente do cálcio a nível dos leucocitos podendo tais estados de doença ser, embora não exclusivamente, uma doença inflamatória ou uma doença auto-imune, que consiste em administrar uma quantidade eficaz, inibidora da captação de cálcio, de um composto de fórmula geral (1).

Uma quantidade inibidora da captação do cálcio, de um composto de fórmula geral (1), eficaz sob o ponto de vista terapêutico, significa uma quantidade que é eficaz no controlo da activação de leucócitos envolvidos em um estado de doença auto-imune. A expressão "controlo da activação" diz respeito a todos os processos nos quais possa haver um atraso, interrupção, suspensão ou paragem da progressão da doença auto-imune, não indicando necessariamente a eliminação total de todos os sintomas da doença.

Os entendidos na materia sabem ainda que certas doenças cardiovasculares se caracterizam por acontecimentos que conduzem à captação de cálcio pelas plaquetas, podendo tais acontecimentos estar relacionados quer com os acontecimentos iniciais que conduzem à situação patológica quer com eventos associados à manutenção do estado de doença cardiovascular.

A presente invenção proporciona também um método para o tratamento de doentes afectados por um estado de doença dependente do cálcio ao nível das plaquetas, podendo estes estados de doença corresponder, embora não exclusivamente, a doenças cardiovasculares, que consiste em administrar uma quantidade eficaz inibidora da captação de cálcio, de um composto de fórmula geral (1).

Uma quantidade inibidora da captação de cálcio, eficaz sob o ponto de vista terapêutico, de um composto de fórmula geral (1)



significa uma quantidade que é eficaz no controlo da função plaquetária envolvida num estado de doença cardiovascular. A expressão controlo da função plaquetária envolvida numa doença cardiovascular diz respeito a todos os processos nos quais possa haver um atraso, interrupção, suspensão ou paragem da progressão da doença cardiovascular e não indica, necessariamente, a eliminação total de todos os sintomas da doença.

A quantidade inibidora, eficaz sob o ponto de vista terapêutico, quer em uma doença auto-imune, quer em uma patologia cardiovascular, pode ser facilmente determinada pelo médico assistente, como entendido na materia, mediante a utilização de técnicas convencionais e a observação de resultados obtidos em circunstâncias análogas. Ao determinar a dose eficaz sob o ponto de vista terapêutico, o médico que faz o diagnóstico deve considerar um determinado número de factores respeitantes não só ao homem, mas também a outros animais como, por exemplo, o seu tamanho, a idade e o estado de saúde do doente, a doença específica envolvida, o grau de desenvolvimento ou a gravidade da doença: a resposta do doente em causa; o composto administrado; o modo de administração; a biodisponibilidade característica da preparação administrada; a posologia seleccionada; a utilização de medicação concomitante; e outras circunstâncias relevantes.

Prevê-se que a quantidade eficaz, sob o ponto de vista tera-

4.

pêutico, de um composto de fórmula geral (1) esteja compreendida entre cerca de 0,1 miligrama por quilograma de peso do corpo e por dia (mg/Kg/dia) e cerca de 100 mg/Kg/dia. As quantidades preferíveis estarão compreendidas entre cerca de 0,5 e cerca de 10 mg/Kg/dia.

Ao efectuar o tratamento de um doente afectado por uma das doenças anteriormente descritas, pode administrar-se um composto de fórmula geral (1), sob qualquer forma ou modo que torne o composto biodisponível em quantidades eficazes, incluindo as vias oral e parentérica. Por exemplo, os compostos de fórmula geral (1) podem ser administrados por via oral, sub-cutânea, intramuscular, intravenosa, trans-dérmica, intranasal ou rectal ou aplicar-se topicamente, etc. Geralmente, prefere-se a administração oral. Os entendidos na preparação de composições farmacêuticas podem rapidamente seleccionar a forma e o modo de administração adequados, dependendo das características particulares do composto seleccionado, da doença a tratar incluindo o grau de gravidade e de outras circunstâncias relevantes.

Estes compostos podem administrar-se isoladamente ou sob a forma de uma composição farmacêutica, em associação com veículos e excipientes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, cujas proporções e natureza são determinados pela solubilidade e propriedades químicas do composto seleccionado, pela via de adminis-

4.

tração escolhida e pela prática farmacêutica convencional. Os compostos de acordo com a presente invenção, embora eficazes por eles próprios, podem ser incluídos em composições farmacêuticas e administrados sob a forma dos seus sais de adição de ácido, aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, tendo em vista a estabilidade, facilidade de cristalização, maior solubilidade ou qualquer outro factor similar.

Em um outro aspecto, a presente invenção proporciona também composições farmacêuticas que contêm uma quantidade eficaz de um composto de fórmula geral (1) misturado ou em qualquer outra associação com um ou mais veículos ou excipientes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico. A expressão "quantidade inibidora eficaz da captação de cálcio" aplica-se a compostos de fórmula geral (1) para referir quantidades inibidoras eficazes, apropriadas para inibir a captação de cálcio pelos leucócitos, podendo essa inibição destinar-se a tratar um doente afectado por uma doença auto-imune ou inflamatória. E ainda, a expressão "quantidade inibidora eficaz da captação de cálcio" aplica-se a composto de fórmula geral (1) para referir quantidades inibidoras eficazes apropriadas para inibir a captação de cálcio pelas plaquetas, em casos de doentes afectados por doença relacionada com o sistema cardiovascular.

As composições farmacêuticas são preparadas de modo conven-



cional. O veículo ou excipiente pode ser um produto sólido, semi-sólido ou líquido que sirva como veículo ou meio para o principio activo. Os veículos ou excipientes adequados são bem conhecidos. A composição farmacêutica pode estar adaptada para utilização oral, parentérica ou tópica e pode ser administrada ao doente sob a forma de comprimidos, cápsulas, supositórios, soluções, suspensões ou outras formas similares.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem ser administrados por via oral, por exemplo, com um diluente inerte ou com um veículo comestível. Podem acondicionar-se em cápsulas de gelatina ou em comprimidos. Para efeitos de administração oral, podem incorporar-se os compostos em excipientes e utilizarem-se sob a forma de comprimidos, pastilhas, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, hóstias, gomas de mascar, etc. Estas preparações devem conter pelo menos 4% do composto de acordo com a presente invenção, o principio activo, percentagem esta que pode variar, dependendo da forma farmacêutica em particular, podendo apropriadamente estar compreendida entre 4% e 70% do peso da forma unitária. A quantidade de compostos presente nas composições será tal que se obtenha uma dosagem apropriada. De acordo com a presente invenção preferem-se as composições e preparações preparadas de modo a que uma unidade de dosagem oral contenha 5,0 a 300 miligramas de um composto de acordo com a presente invenção.

Os comprimidos, pilulas, cápsulas, pastilhas e similares podem também conter um ou mais dos seguintes adjuvantes; aglutinantes, tais como a celulose microcristalina, goma de tragacanta ou gelatina; excipientes, tais como o amido ou a lactose; agentes desagregantes, tais como o ácido algínico, Primogel, amido de milho e afins; lubrificantes, tais como o estearato de magnésio ou o Sterotex; agentes deslizantes, tais como o dióxido de silício coloidal; podendo adicionar-se também agentes edulcorantes, tais como a sacarose ou a sacarina, e aromatizantes tais como essencia de hortelã-pimenta, salicilato de metilo ou aroma de laranja. Quando a forma unitária de dosagem é uma cápsula, esta pode conter, além dos materiais anteriormente mencionados, um veículo líquido, tal como o polietilenoglicol ou um óleo gordo. Outras formas unitárias de dosagem podem conter diversos materiais que modificam a forma física da unidade de dosagem, como, por exemplo, revestimentos. Assim, os comprimidos ou as pilulas podem ser revestidas com açúcar, goma-laca ou outros agentes de revestimento entérico. Um xarope pode conter, adicionalmente aos compostos da presente invenção, sacarose como agente edulcorante e determinados conservantes, corantes e aromas. Os materiais utilizados na preparação destas várias composições, devem ser puros do ponto de vista farmacêutico e não tóxicos, nas quantidades utilizadas.

Para efeitos de administração parentérica, podem incorporar-se os compostos de acordo com a presente invenção em

4

soluções ou em suspensões. Estas preparações devem conter pelo menos 0,1% de um composto da presente invenção, percentagem esta que pode variar entre 0,1% e 50% do peso da preparação. A quantidade de composto de acordo com a presente invenção, incluída nestas composições será tal que se obtenha uma dosagem apropriada. De acordo com a presente invenção preferem-se as composições farmacêuticas e as preparações preparadas de modo a que a unidade de dosagem para administração parentérica contenha 5,0 a 100 miligramas do composto da presente invenção.

Os compostos de fórmula geral (1) de acordo com a presente invenção podem também ser administrados topicamente e, neste caso, o veículo pode consistir em uma solução, uma pomada ou um gel. A base, pode compreender, por exemplo, uma ou mais das seguintes substâncias petrolatum, lanolina, polietilenoglicóis, cera de abelhas, parafina líquida, diluentes tais como água e álcool e agentes emulsionantes e estabilizantes. As composições farmacêuticas tópicas podem ter uma concentração de um composto de fórmula geral (1) ou de um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, compreendida entre cerca de 0,1 e cerca de 10% (peso por unidade de volume).

As soluções ou suspensões podem incluir também um ou mais dos seguintes adjuvantes: diluentes estéreis, tais como água para injectáveis, solução salina, óleos fixos, polietilenoglicóis, gli-

4

cerina, propilenoglicol ou outros solventes sintéticos; agentes anti-bacterianos, tais como álcool benzílico ou metilparabeno; anti-oxidantes, tais como o ácido ascórbico ou o bissulfito de sódio; agentes quelantes, tais como o ácido etilenodiaminotetra-acético; tampões, tais como acetatos, citratos ou fosfatos e agentes para ajustar a tonicidade, tais como o cloreto de sódio ou a dextrose. As composições farmacêuticas para administração parentérica pode acondicionar-se em ampolas, seringas descartáveis ou frascos-ampola de doses múltiplas, de vidro ou de plásticos.

Deve entender-se que os termos, as expressões e as abreviações seguintes são aqui utilizadas como sinónimos entre si: leucócitos polimorfonucleares (LPMN), ácido [4-(2-hidroxi-etil)-1-piperazina-etanossufónico (HEPES), factor multiplicativo de gravidade usado para exprimir a força centrífuga exercida durante a centrifugação (x g), mililitros (ml), graus celsius ($^{\circ}\text{C}$), ião cálcio (Ca^{2+}), nanómetro (nm), dimetilsulfóxido (DMSO), ácido etileno-bis(oxietilenonitrilo)-tetra-acético (EGTA), gramas (g), miligramas (mg), nanogramas (ng), molar (M), milimolar (mM), micromolar (μM), zimozan opsonizado (OZ), acetato de miristato de forbol (AMF), formil-metionil-leucil-fenilalanina (fMLF), leucotrieno B_4 (LTB_4).

Frequentemente, representam-se os compostos por uma abrevia-

4.

tura de três letras "MDL", um espaço e um conjunto de cinco ou seis dígitos. Como tal, entendem-se as seguintes representações: 1-fenil-3- \int 3-(4-metoxibenziloxi)fenil \int -2-propino-1-ona (MDL 100,225); 1-fenil-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona (MDL 101,098); 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona (MDL 102,175); 1-fenil-3- \int (4-benziloxi)fenil \int -2-propino-1-ona (MDL 101,097); 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propeno-1-ona (MDL 101,240); 1-fenil-3-(4-piridinil)-2-propeno-1-ona (MDL 29,355); 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-pirimidinil)-2-propino-1-ona (MDL 102,387); 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-quinolindil)-2-propino-1-ona (MDL 100,767); 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-quinolinil)-2-propino-1-ona (MDL 102,387).

A resposta dos leucócitos a sinais de activação (estimulantes) pode ser avaliada por ensaios in vitro mediante a determinação do cálcio intracelular ou a determinação dos factores libertados, tais como o anião superóxido e a mieloperoxidase. Pode ainda determinar-se a resposta dos leucócitos à estimulação in vivo, através de edemas experimentais em animais, tais como edema experimental da orelha do rato induzido pelo óleo de mostarda e o edema experimental da pata do rato induzido pela carragenina. A requerente desenvolveu o método para a utilização dos compostos da presente invenção e a sua utilidade nos ensaios que se seguem.

Materiais

Utilizaram-se ratos Sprague-Dawley (150-250 gramas) originários de Harlan Sprague-Dawley (Indianapolis, IN). Suplementaram-se os sais equilibrados de Hanks (HBSS; Gibco, Grand Island, Ny) com HEPES 20 mM e ajustou-se a pH 7,4. Utilizou-se caseinato de sódio da ICN Biochemical (Cleveland, OH) e Fura-2/AM proveniente da Molecular Probes (Eugene, OR). A Ionomicina era da Cal Biochem. (San Diego, CA). A superóxido-dismutase era da DDI Pharmaceuticals (Mountain View, CA). Todos os outros reagentes eram da Sigma Chemical CO. (St. Louis, MO). Todos os reagentes adquiridos foram utilizados tal como se apresentavam originalmente.

Isolamento de leucócitos polimorfonucleares (LPMN)

Obtiveram-se LPMN de rato a partir de exsudados resultantes da injeção de 6 ml de caseinato de sódio a 8% na cavidade peritoneal. Dezoito horas após a injeção, sacrificaram-se os ratos por inalação de dióxido de carbono e lavou-se a cavidade peritoneal com uma solução salina de Hanks equilibrada (SSHE). Após concentração dos LPMN por centrifugação, removeram-se os eritrócitos contaminantes por lise hipotônica. Lavaram-se depois os LPMN, duas vezes, por centrifugação (400 x g durante 10 minutos) e suspenderam-se novamente em SSHE. A viabilidade celular foi superior a 90% por exclusão de Azul de Tripano e mais de 90% das células eram LPMN mediante verificação por coloração de Wright-

-Giensa.

Os níveis de cálcio intracelular foram obtidos utilizando Fura-2 como indicador fluorescente (Grynkiewicz et al., 1985). Introduziu-se o Fura-2 nos LPMN sob a forma de éster acetoximetílico (Fura-2/AM), utilizando o método de Korchak et al., (1988). Concretamente., incubaram-se 1×10^8 LPMN/ml em SSHE com Fura-2/AM $10 \mu\text{M}$, durante 10 minutos a 37°C . Diluiu-se a suspensão celular dez vezes com SSHE e incubou-se novamente durante mais 20 minutos. Centrifugaram-se depois as células ($400 \times g$ durante 8 minutos à temperatura de 25°C) e resuspenderam-se os LPMN (1×10^7 células/ml) em SSHE contendo albumina de soro de Bovino a 1%. Armazenaram-se as células à temperatura ambiente e utilizaram-se nas 3 horas imediatas.

As determinações dos níveis de cálcio intracelular foram efectuadas utilizando um espectrofluorómetro de duplo comprimento de onda (Photon Technology International, New Brunswick, NJ). Agitaram-se magnéticamente 2 ml de suspensão de LPMN (1×10^7 células/ml) à temperatura de 37°C . Antes da activação, pré-incubaram-se as células com os compostos durante 15 minutos à temperatura de 37°C . Quando se dissolveram os compostos em DMSO e se adicionaram directamente o DMSO nunca excedeu 0,3% da suspensão celular final. A variação total do volume, devida à adição de compostos, veículos e estímulos, nunca excedeu 3%. Calibraram-se as concentrações intracelulares de cálcio, estabelecendo um nível

L

de cálcio máximo nas células com a adição de ionomicina $7 \mu\text{M}$ aos LPMN em SSHE contendo BSA a 1%. Seguiu-se um tratamento com EGTA 20 mM durante 1 hora para obter um nível de cálcio mínimo. Utilizou-se o método de Grynkiewicz et al. (1985) para quantificar os níveis de cálcio intracelular, assumindo um K_D de 240 nM para o Fura-2. Cada experiência foi efectuada e repetida em três ocasiões diferentes, sendo o modelo das variações de cálcio representativo destas experiências.

Libertação da Mieloperoxidase (MPO)

A libertação da MPO foi determinada utilizando a oxidação da o-dianisidina catalizada pela MPO. As experiências foram levadas a cabo em placas de microtitulação com 96 cavidades (Webster e Hensen, 1978). Em cada cavidade, incubaram-se alíquotas de 50 microlitros (μl) de uma suspensão de LPMN (2×10^7 células/ml em SSHE) com 50 μl de SSHE contendo o veículo (DMSO a 0,3%) ou o inibidor, durante 30 minutos à temperatura de 37°C . A concentração final de DMSO nunca excedeu 0,3% e foi constante durante cada uma das experiências. Para activar os LPMN, adicionaram-se 50 μl de um dos seguintes compostos, durante 30 minutos à temperatura de 37° : N-formil-Met-Leu-Phe (fMLF; $0,1 \mu\text{M}$); acetato de miristato de forbol (AMF, 200 ng/ml); ou Zimoson opsonizado de soro de rato (OZ; 2,6 mg/ml, preparado pelo método de Ward et al., 1983). Adicionaram-se os estímulos em 50 μl de SSHE que também continham os compostos ou o veículo, conforme o caso, para evitar alterar a con-

4.

centração do inibidor.

Conclui-se a activação celular por centrifugação das placas a 600Xg durante 5 minutos à temperatura de 22^oC. De cada cavidade, retiraram-se, para o ensaio da MPO, alíquotas de 100 µl do sobrenadante e transferiram-se para uma placa de microtitulação de fundo plano com 96 cavidades. A cada alíquota de sobrenadante adicionaram-se 100 µl de uma solução recente contendo 50 µl de tampão de fosfato de sódio 0,2 M (pH 6,2) 25 µl de O-dianisidina 3,9 mM e 25 µl de peróxido de hidrogénio 0,015M. Obtiveram-se brancos utilizando a mesma solução sem peróxido de hidrogénio. Agitaram-se as placas que se incubaram depois durante 15 minutos, na ausência de luz, à temperatura ambiente. Mediram-se as absorvâncias das amostras a 450 nm.

Produção de Anião superóxido (ASO)

A produção de anião superóxido foi medida utilizando um método comparável ao de Leslie (1987), em placas de microtitulação, na presença de catalase (Arthur et al., 1987). Incubaram-se alíquotas de 50 ml de uma suspensão de LPMN de rato (2×10^7 células/ml em SSHE), com 50 µl de SSHE contendo o veículo (DMSO a 0,3%) ou o composto, durante 30 minutos à temperatura de 37^oC como se descreveu antes. A cada amostra adicionaram-se depois 100 µl de tampão contendo 5,98 mg/ml de citocromo C (Sigma Tipo III) e 0,1 mg/ml de catalase, mais os compostos quando apropriado. Preparou-se também um branco para a medição espectrofotométrica,

contendo células não estimuladas, na presença de citocromo C, catalase e SOD. Para activar os LPMN, adicionaram-se 75 μ l de AMF ou OZ para atingir a concentração final de activador celular (mais veículo ou inibidor como se descreveu anteriormente para a libertação de MPO) e incubaram-se as células subsequentemente à temperatura de 37°C durante 60 minutos. A activação ficou concluída mediante centrifugação a 600Xg durante 5 minutos, à temperatura de 4°C. Transferiram-se alíquotas de 200 μ l de sobrenadante para uma segunda placa de microtitulação, com cavidades e fundo plano e avaliaram-se por espectrofotometria a 550 nm.

Exemplo 10

Acção de Vários Estímulos Sobre o Cálcio Intracelular dos LPMN

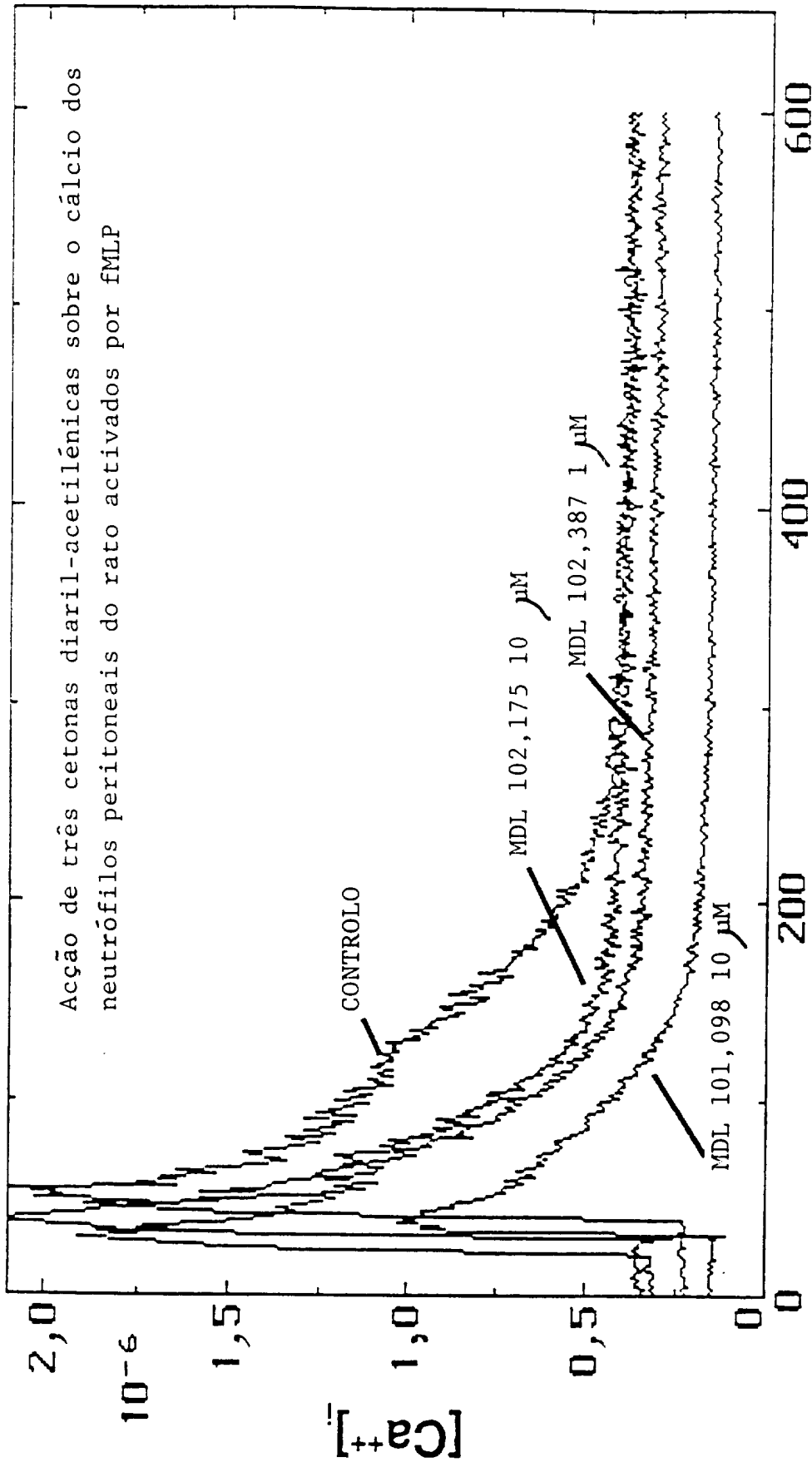
Estimularam-se LPMN de rato, onde previamente se acumulou Fura-2 com fMLF e seguiram-se os níveis de cálcio intracelular (Figura 1). O fMLF, um péptido quimiotáctico, produziu uma resposta bifásica com um primeiro pico que atingiu um máximo cerca de 30 segundos e um segundo pico que atingiu o máximo cerca de 100 segundos após emissão do estímulo peptídico.

A resposta bifásica é consistente com as observadas por Korchak et al., (1986) para neutrófilos humanos, nos quais o pico da resposta corresponde a uma libertação precoce de cálcio intrace-

4.

lular, tal como a que seria produzida a partir de uma resposta com LTB_4 . A segunda fase da resposta, correspondente ao segundo pico, cerca de 100 segundos após a estimulação, está associada a um influxo do cálcio extracelular, característico de uma resposta induzida por Concanoalina A. A resposta bifásica é interpretada pelos entendidos na matéria como correspondendo a primeira fase à libertação de cálcio intracelular e a segunda fase ao influxo de cálcio extracelular.

Apré-incubação de LPMN com MDL 102, 175, MDL 102,387 ou MDL 101,098, nas concentrações indicadas, mostrada na Figura 1, originou a supressão selectiva, dependente da concentração, da segunda onda das variações do cálcio intracelular. A inibição do segundo pico da resposta por compostos de fórmula geral (1), tal como é representada pelas actividades de MDL 102,175, MDL 102,387 e MDL 101,098 pode ser interpretada como a inibição da captação de cálcio pelos LPMN tratados. No entanto, a concentrações elevadas ($>100 \mu M$), os compostos começam a afectar a primeira fase (dados não apresentados). A resposta de controlo, onde não se incluem compostos de fórmula geral (1) nos estímulos dos fMLF apresenta a resposta bifásica observada.



Tempo (segundos)

Handwritten signature

4.

Exemplo 11

Acção dos compostos sobre a libertação da enzima de LPMN
de rato e sobre a produção de anião superóxido

Isolaram-se LPMN de rato em SSHE contendo Ca^{2+} . Tal como se resume nos Quadros apresentados seguidamente, o estímulo dos LPMN de rato com fMLP, na presença de citocalasina B ou com zimosan oposonizado ou com ionomicina origina a libertação de mieloperoxidase (fMLF/MPO, OZ/MPO e ION/MPO; colunas 2, 4 e 6, respectivamente). A adição de MDL 102,175 ou MDL 101,098 demonstra uma inibição dose-dependente em ambas as respostas, às concentrações dadas. Similarmente, AMF e OZ resulta em uma produção de anião superóxido, a qual é inibida de um modo dose-dependente pela adição MDL 102,175 ou MDL 101,098 (AMF/ASO e OZ/ASO; colunas 8 e 10, respectivamente). Estes dados são também consistentes com o facto de que é possível observar se os LPMN de rato foram privados de cálcio extracelular (dados não apresentados)

4.

ACÇÃO DOS ESTIMULOS SOBRE A INIBIÇÃO
DOS PMN MPO E ASO DE RATO PELO MDL 102,175

1 CONC (μ M) MDL 102,175	2 FMLF/MPO	3 SEM	4 OZ/MPO	5 SEM	6 ION/MPO	7 SEM	8 AMF/ASO	9 SEM	10 OZ/ASO	11 SEM
100	113,1	2,3	117,8	2,6	83,4	14,3	100,0	2,6	89,8	4,3
30	104,5	2,4	106,7	2,4	20,5	8,6	77,7	9,2	75,7	2,1
10	70,6	6,2	78,5	7,9	21,3	6,3	49,7	12,7	44,1	5,8
3	27,9	8,0	26,6	5,2	1,5	8,7	13,5	8,2	15,4	4,3
1	12,6	7,8	16,9	7,3	0,8	2,2	-20,2	11,3	-15,0	6,2

SEM é o erro-padrão da média dos ensaios numerados a anteriores

ACÇÃO DOS ESTIMULOS SOBRE A INIBIÇÃO
DOS PMN MPO E SOA DE RATO PELO MDL 101,098

1 CONC (μ M) MDL 102,175	2 FMLF/MPO	3 SEM	4 OZ/MPO	5 SEM	6 ION/MPO	7 SEM	8 AMF/ASO	9 SEM	10 OZ/ASO	11 SEM
100	96,2	1,8	97,2	4,5	88,4	4,1	97,2	2,3	115,0	10,1
30	80,0	9,0	92,2	1,1	12,7	2,7	70,0	10,3	61,5	8,3
10	34,9	5,7	48,7	8,6	5,7	2,5	29,1	5,8	20,3	5,0
3	7,5	6,1	14,7	7,7	0,0	1,3	-4,3	10,6	-7,5	6,6
1	2,9	4,4	5,4	10,9	-2,8	0,7	-30,7	7,9	-18,0	3,9

SEM é o erro-padrão da média dos ensaios numerados a anteriores.

Exemplo 12

Edema da orelha do ratinho induzido pelo óleo de mostarda

Dividiram-se em grupos formados ao acaso ratinhos CD-1 machos fornecidos por Charles River, pesando 30 a 60 gramas. Trinta ou 60 minutos antes da aplicação de 20 μ l de óleo de mostarda (isotiocianato a 10% em acetona) na orelha direita, trataram-se os ratinhos por via intra-peritoneal ou oral, respectivamente. Decorridos 30 minutos, sacrificaram-se os ratinhos e fez-se em cada orelha uma biópsia com um punção circular com 8 milímetros de diâmetro e pesou-se. A diferença entre os pesos da orelha esquerda (controlo) e da orelha direita (tratada) foi expressa em percentagem de aumento. Os resultados do Ensaio do Edema da Orelha do Ratinho Induzido pelo Oleo de Mostarda podem ser observados no Quadro seguinte.

EDEMA DO OUVIDO DO RATINHO
INDUZIDO POR OLEO DE MOSTARDA

<u>COMPOSTO</u>	<u>DOSE (mg/Kg)</u>	<u>VIA</u>	<u>INIBIÇÃO (%)</u>
MDL 101,098	100	i.p.	68,2 \pm 5,8
	30		56,8 \pm 6,4
	10		38,6 \pm 13,1
MDL 101,098	100	oral	43,9 \pm 15,6
	30		6,4 \pm 27,7
	10		38,5 \pm 34,9

<u>COMPOSTO</u>	<u>DOSE (mg/Kg)</u>	<u>VIA</u>	<u>INIBIÇÃO (%)</u>
MDL 102,175	100	i.p.	68,2±5,8
	30		56,8±6,4
	10		38,6±13,1
MDL 102,175	100	oral	43,9±15,6
	30		6,4±27,7
	10		38,5±34,9

Exemplo 13

Edema da Pata do Rato Induzido Pela Carragenina

Utilizaram-se ratos machos Sprague-Dawley de Charles River pesando 90 a 100 g. Induziu-se a inflamação na pata traseira esquerda, com 0,05 cm³ de uma solução de carragenina a 1%, injectada na superfície plantar da pata. A pata traseira direita foi injectada com um volume igual de soro fisiológico. Administraram-se os fármacos por via oral ou intraperitoneal (1 cm³/100 gramas) uma hora antes da injeção na pata. Três horas após a injeção de carragenina mediu-se a diferença entre o volume da pata de controlo e o da pata inflamada. Cada pata foi imersa em uma cavidade de mercúrio registando-se o volume deslocado. As patas foram mergulhadas uniformemente no mercúrio até à linha de implantação do pelo. Utilizou-se um transdutor da pressão venosa, acoplado a um registador, para medir os pequenos volumes de mercúrio desloca-



dos. A medida de cada grupo consiste na média de quatro ratos, cada um com três medições separadas. Os resultados do ensaio do Edema da Pata do Rato Induzido pela Carragenina, podem ser observados no Quadro seguinte.

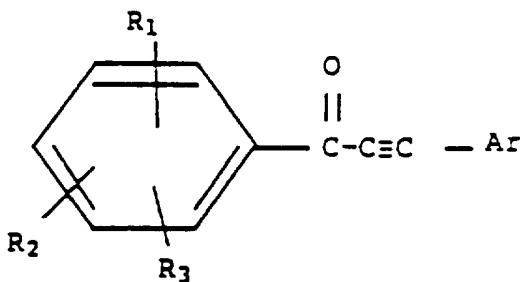
EDEMA DA PATA DO RATO INDUZIDO
PELA CARRAGENINA

<u>COMPOSTO</u>	<u>VIA</u>	<u>INIBIÇÃO (%)</u>
MDL 101,098	p.o	42,4
MDL 102,175	p.o	19,8
MDL 101,098	i.p.	64,8
MDL 102,175	i.p.	73,2

4.

R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1.- Processo para a preparação de compostos de fórmula geral

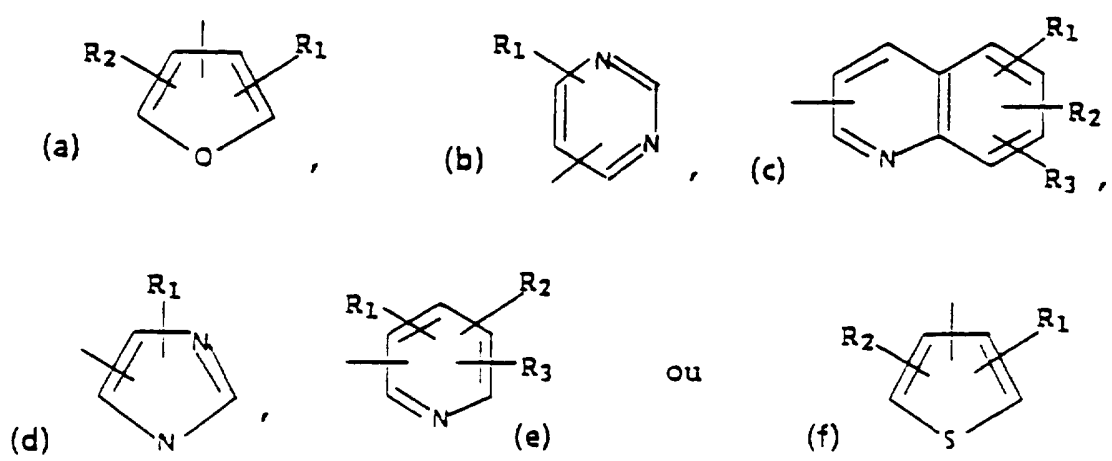


(1)

4

na qual

R_1 , R_2 e R_3 representam, cada um, independentemente, um átomo de hidrogênio ou de halogênio, um grupo alquilo C_{1-6} ou alcoxi C_{1-6} ou um grupo de fórmula geral $-N(Y_1)(Y_2)$ ou $X_z-(Q)-(CH_2)_n-O-$ em que Y_1 e Y_2 representam, cada um, independentemente, um átomo de hidrogênio ou um grupo alquilo C_{1-6} ; Q representa um grupo fenilo ou naftilo; n representa zero ou o número inteiro 1; X representa um grupo alcoxi C_{1-6} ou um grupo de fórmula geral $-N(Y_1)(Y_2)$; e z representa zero ou o número inteiro de 1 ou 2; e Ar representa um grupo de fórmula geral

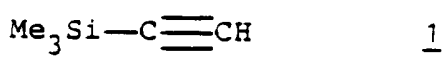


ou dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico,

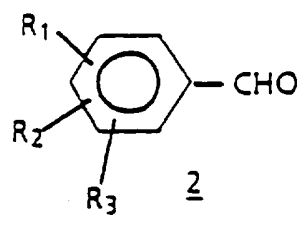
caracterizado pelo facto de:

1)

(a) se fazer reagir um composto de fórmula

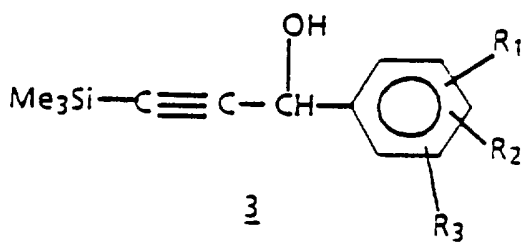


com uma base não nucleofílica como, por exemplo, hexametildissilazano de lítio no seio de um dissolvente aprótico apropriado para se obter um acetileto de lítio e de se fazer reagir esse acetileto com um composto de fórmula geral



na qual

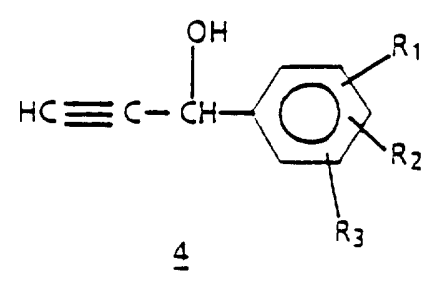
R_1 , R_2 e R_3 têm os significados definidos antes, para se obter um composto de fórmula geral



na qual

R_1 , R_2 e R_3 têm os significados definidos antes, (b) se remover o grupo trimetilsililo do composto resultante de fórmula geral 3 para se obter um composto de fórmula geral

4.



na qual

R₁, R₂ e R₃ têm os significados definidos antes,

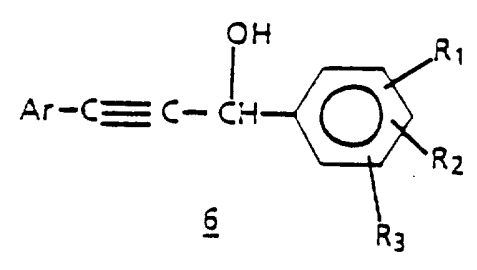
(c) se acoplar o composto resultante de fórmula geral 4 com um composto de fórmula geral



na qual

A_r e X têm os significados definidos antes,

na presença de um catalisador de acoplamento, no seio de um dissolvente alcalino apropriado, conjuntamente com uma quantidade catalítica de iodeto de cobre (I), para se obter um composto de fórmula geral



na qual

R₁, R₂, R₃ e A₃ têm os significados definidos antes; e

(d) se oxidar o composto resultante de fórmula geral 6; ou

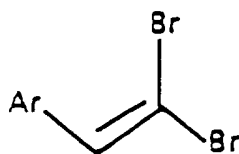
2)

(a) se fazer reagir um composto de fórmula geral



na qual

Ar tem os significados definidos antes, com tetrabrometo de carbono e trifenilfosfina, no seio de um dissolvente aprótico apropriado para se obter um composto de fórmula geral

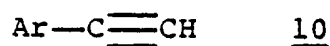


9

na qual

Ar tem os significados definidos antes,

(b) se fazer reagir o composto resultante de fórmula geral 9 com uma base não nucleófila, no seio de um dissolvente aprótico para se obter um composto de fórmula geral



na qual

Ar tem os significados definidos antes,

(c) se fazer reagir o composto resultante de fórmula

geral 10 com uma base não nucleofílica para se obter o correspondente acetilido de lítio e de se fazer reagir este último com um composto de fórmula geral 2 para se obter um composto de fórmula geral 6; e

(d) se oxidar o composto resultante de fórmula geral 6.

2.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-(4-dimetilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

3.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-fenil-3-(4-piridinil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

4.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-fenil-3-(3-piridinil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

5.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-piridinil)-2-propino-1-

L.

-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

6.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-fenil-3-(2-imidazolil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

7.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-fenil-3-(tiofen-2-il)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

8.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-fenil-3-(2-furanil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

9.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-pirimidinil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

10.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para

a preparação de 1-(4-dietilaminofenil)-3-(4-quinolinil)-2-propino-1-ona, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

11.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas apropriadas para o tratamento de doenças dependentes do cálcio presente nos leucócitos ou nas plaquetas como, por exemplo, doenças imunitárias tais como artrite reumatóide ou vasculite imunitária ou doenças inflamatórias tais como dermatoses neutrófilas ou doenças cardiovasculares tais como enfarte de miocárdio, caracterizado pelo facto de se misturar uma quantidade eficaz sob o ponto de vista terapêutico, de um composto de fórmula geral (1) preparado pelo processo de acordo com as reivindicações 1 a 10, com acção inibidora da captação do cálcio nos leucócitos ou nas plaquetas. ou de um seu sal aceitável em farmácia com um veículo aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

12.- Método para o tratamento de doenças dependentes do cálcio presente nos leucócitos ou nas plaquetas como, por exemplo, doenças imunitárias tais como artrite reumatóide ou vasculite imunitária ou doenças inflamatórias tais como dermatoses neutrófilas ou doenças cardiovasculares tais como enfarte de miocárdio, caracterizado pelo facto de se administrar, dia-

1/1.

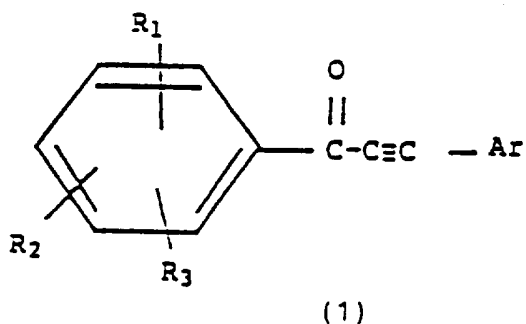
riamente, a um doente uma quantidade eficaz sob o ponto de vista terapêutico, compreendida entre 0,1 e 100 mg/Kg do peso do corpo desse doente, de um composto de fórmula geral (1) preparado pelo processo de acordo com as reivindicações 1 a 11 com acção inibidora da captação do cálcio nos leucócitos ou nas plaquetas, ou de um seu sal.

Taylor

R E S U M O

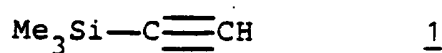
"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS DERIVADOS DE 1-FENIL-3-ARIL-
-2-PROPINO-1-ONA E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM"

Descreve-se um processo para a preparação de compos-
tos de fórmula geral



ou dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico
que consiste, por exemplo,

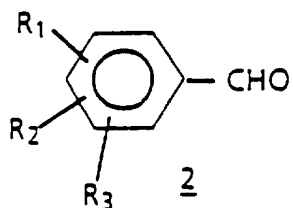
(a) em fazer reagir um composto de fórmula



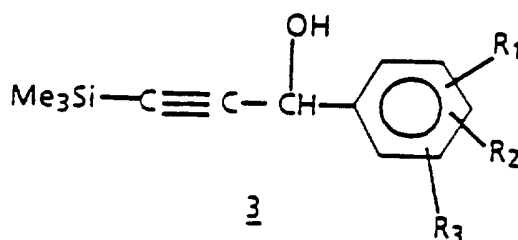
com uma base não nucleófila, no seio de um dissolvente aprótico,
para se obter um acetileno de lítio e em fazer reagir esse

4

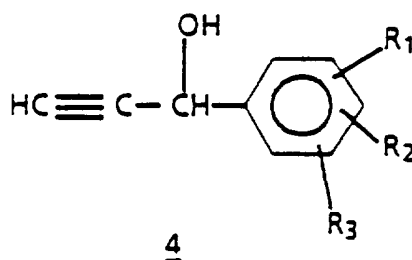
acetileno com um composto de fórmula geral



para se obter um composto de fórmula geral



(b) em remover o grupo trimetilsililo do composto resultante de fórmula geral 3 para se obter um composto de fórmula geral



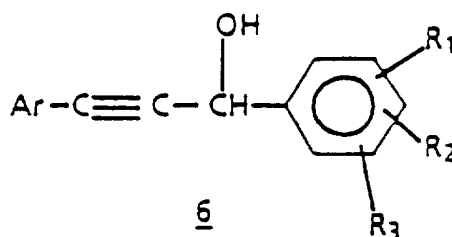
(c) em acoplar o composto resultante de fórmula geral 4 com um composto de fórmula geral



na presença de um catalisador de acoplamento no seio de um dis-

4.

solvente alcalino conjuntamente com uma quantidade catalítica de iodeto de ferro (I) para se obter um composto de fórmula geral



e

(d) em oxidar o composto resultante de fórmula geral 6.

Estes compostos, que inibem a captação do cálcio nos leucócitos ou nas plaquetas, são utilizáveis no tratamento de doenças dependentes do cálcio presente nesses elementos do sangue como, por exemplo, doenças imunitárias tais como artrite reumatóide ou vasculite imunitária ou doenças inflamatórias tais como dermatoses neutrofilas ou doenças cardiovasculares tais como enfarte de miocárdio.