

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 84 972

REQUERENTE: ORTHO PHARMACEUTICAL CORPORATION, norte-americana, (Estado New Jersey), com sede em Route 202, Raritan, New Jersey, Estados Unidos da América do Norte.

EPÍGRAFE: "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE TIOÉTERES RELACIONADOS COM LEUCOTRIENO SUBSTITUÍDO, INIBIDORES DE FOSFOLIPASE A₂E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM".

INVENTORES: Michael Paul Wackter e Michael Paul Ferro.

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883. Estados Unidos da América do Norte, em 29 de Maio de 1986, sob o n.º. 867,995.



Memória descritiva referente à patente de invenção de ORTHO PHARMACEUTICAL CORPORATION, norte-americana, (estado: New Jersey), industrial e comercial, com domicílio em Route 202, Raritan, New Jersey, Estados Unidos da América, (inventores: Michael Paul Wackter e Michael Paul Ferro, residentes nos Estados Unidos da América), para "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE TIOÉTERES RELACIONADOS COM LEUCOTRIENO SUBSTITUIDO, INIBIDORES DE FOSFOLIPASE A₂ E COMPOSIÇÕES FARMACEUTICAS QUE OS CONTÊM"

Memória Descritiva

Aspectos Técnicos

A presente invenção refere-se a novos compostos que inibem a actividade hidrolítica da fosfolipase A₂, e os processos para sintetizar esses compostos. Os compostos são farmacologicamente activos no tratamento de estados inflamatórios alérgicos, incluindo a asma.

Antecedentes

Detectaram-se leucotrienos e prostaglandinas nos fluídos e exsudados de reacções inflamatórias e de reacção anafiláticas nos pulmões. Tal como os leucotrienos, as pros-



taglandinas são poderosos vasodilatadores e são importantes mediadores de diversos aspectos da resposta inflamatória.

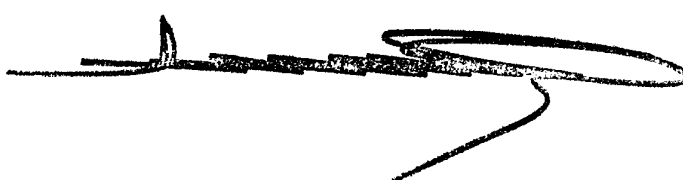
O ácido araquidónico que é o material de partida para a biossíntese de leucotrieno e de prostaglandina, é libertado pelos fosfolípidos da membrana da célula através da activação das fosfolipases celulares e, em particular, da fosfolipase A_2 (também referida como " PA_2 ").

Em consequência, os compostos farmacologicamente activos que inibem a actividade hidrolítica da fosfolipase A_2 podem proporcionar um alívio mais completo dos estados inflamatórios e elérgicos do que os compostos anti-inflamatórios correntemente disponíveis, inibindo a produção de leucotrienos e de prostaglandinas.

Os leucotrienos são peptidolípidos que derivam do ácido araquidónico sendo reconhecidos como substâncias que obrigam à contracção lenta do músculo liso, em particular do músculo liso brônquial (referidas inicialmente como "substâncias de reacção lenta"). Em contraste com a contracção rápida (no espaço de segundos) induzida pela histamina no músculo liso, os leucotrienos necessitam de diversos minutos para produzir o máximo de contracção.

O SRS-A (substância de reacção lenta de anafilaxia) é um leucotrieno que está associado com as inflamações e alergias incluindo a asma. Isolou-se inicialmente a partir de pulmões de porcos da Índia imunologicamente estimulados e sensibilizados com albumina de ovo [Morris e outros, Nature, 285, 104 LTC₄ e LTE₄ são outros poderosos agentes de contracção que actuam sobre o músculo liso brônquial e provocam vasoconstricção, espasmo brônquico e permeabilidade vascular acrescida, associada com asma e outras doenças de hipersensibilidade instantâneas.

O SRS-A liberta-se das células dos mamíferos durante o estado inflamatório ou durante uma reacção



alérgica. O SRS-A excretado pelas células, tal como a histamina, contrai o tecido do músculo liso produzindo respostas inflamatórias e alérgicas, incluindo os ataques de asma. Existe a convicção de que a histamina e o SRS-A desempenham um efeito sinérgico sobre o músculo liso e sobre os vasos sanguíneos, e que ambos os agentes contribuem para a libertação secundária de prostaglandinas.

Os leucotrienos preparam-se in vivo seguindo uma série de reacções que tem início com a conversão do ácido araquidónico pelas lipoxigenases de ácido gordo, em derivados hidro-peroxi, incluindo HPETE (ácido hidro-peroxi-isositetra-enoico) o qual se pode converter em HETE (ácido hidroxi-icositetra-enoico). De modo semelhante, as prostaglandinas preparam-se in vivo após uma série de reacções que se iniciam com a conversão do ácido araquidónico pelas ciclo-oxigenases do ácido gordo, em endoperóxidos de prostaglandina.

Os compostos anti-inflamatórios correntemente disponíveis englobam os corticosteróides e os fármacos anti-inflamatórios não esteroidais. Os corticosteroides produzem com frequência efeitos secundários indesejáveis. Os fármacos não esteroidais que englobam indometacina, naproxen, ibuprofen, tolectina e fenopropen, inibem a síntese de prostaglandina mas não inibem a síntese de leucotrieno.

Deste modo, os compostos que inibem a actividade hidrolítica da fosfolipase A_2 para diminuir a produção de ácido araquidónico e em consequência a produção de leucotrienos e de fosfoglandinas serão benéficos para o tratamento de inflamatões e de alergias. Tais compostos também são úteis para o tratamento de estados que englobam a artrite, psoríase e asma.

Alguns compostos estão descritos na literatura como sendo inibidores eficazes de fosfolipase A_2 celular.

Estão descritos os seguintes compostos quimicamente relacionados. Gleason e outros * descreve a síntese de análogos de 2-Nor-LTD₁, englobando o ácido 4R-hidroxi-5S-cisteinil-glicil-6Z-nonadecenoico, descritos como antagonistas de LTD₄ sobre o tecido do músculo liso da traqueia dos porcos da Índia.

Nota do pé da página:

- * Estado intitulado "2-Nor-Leukotrienes: A Novel Series of Leukotriene Antagonists" apresentado na 186a. Reunião Nacional da "American Chemical Society-Division of Medicinal Chemistry", em Setembro de 1983.



Perchonock e outros * descreveram uma série de compostos análogos de desamino-2-Nor-leucotrieno que antagonizam a contracção induzida por LTD₄ na traqueia de porcos da Índia isolados. O composto análogo mais poderoso descrito foi o ácido 4-hidroxi-5-(2-carboxi-etil-tio)-6Z-nonadecenoico.

Também descreveram * a síntese de compostos de estrutura análoga ao ácido 4R-hidroxi-5S-cisteinil-glicil-6Z-nonadecenoicos e a actividade antagonista de tais compostos naálogos sobre as respostas de contracção induzida por LTD₄ na traqueia de porcos da Índia isolados.

Faz-se referência aos derivados 5S-hidroxi-6R-benzil-tio leucotrieno como inibidores da síntese de leucotrieno e como inibidores de actividade 5-lipoxigenase na Patente Japonesa Nº. J57118555. Os derivados de ácido 5-hidroxi-alcanoico contendo enxofre também são referidos como úteis antagonistas de SRS-A no tratamento de estados alérgicos que incluem a asma (Patente dos Estados Unidos Nº 4 513 005).

Chan e outros descrevem nas Patentes dos Estados Unidos Nº. 4 345084 e 4 500 462 ácidos icosanoicos insaturados e respectivos derivados que inibem a síntese do SRS-A e são úteis como agentes anti-alérgicos, anti-asmáticos e anti-inflamatórios.

Nota de pé de página:

* Estudo apresentado com o título "Synthesis and LTD₄-Antagonist Activity of Desamino-2-Nor-Leucotriene Analogs" na 188a. Reunião Nacional da "American Chemical Society-Division of Medicinal Chemistry, em Agosto de 1984.

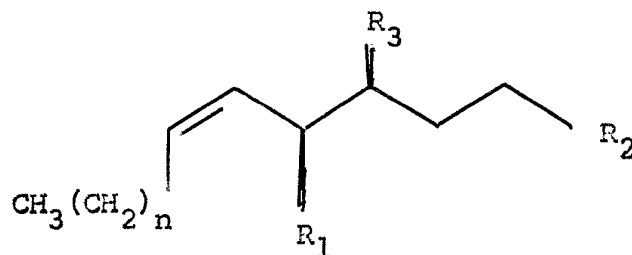


Sumário da Invenção

A presente invenção refere-se a novos compostos, sua utilização e processos para os sintetizar.

Os compostos da presente invenção inibem a actividade hidrolítica de fosfolipase A_2 e são farmacologicamente activos para reduzir a inflamação e para o controlo de respostas alérgicas.

Em particular a invenção refere-se a compostos que possuem estruturas que correspondem à fórmula:

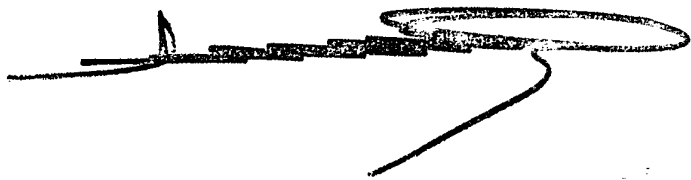


em que R_1 se escolhe entre o grupo constituído por fenil-sulfonylo ou tio-fenilo substituído ou insubstituído, cisteinilo, gluta-tionilo, cisteinil-glicinilo, sulfonil-alquil-acetamido ou tio-alquil-amino inferior substituído ou insubstituído, e por radicais sulfonil-alquil-acetamido ou tio-alquil-acetamido inferior substituído ou insubstituído.

R_2 escolhe-se entre o grupo constituído por (alquil inferior)-hidroxi, (alquil inferior)-tetra-hidro-piraniloxi, (alquil inferior)-carboxi e alquenilo inferior;

R_3 escolhe-se entre o grupo constituído por radicais hidroxi, carbonilo, oximino e alquilo inferior;
e

n é um inteiro compreendido entre 10 e 14.



Também estão contemplados os sais farmacologicamente aceitáveis, esteres, epoxidos e lactonas que correspondem à fórmula anterior.

Em particular, R_1 e R_3 considerados em conjunto podem formar um epoxido, e R_2 e R_3 considerados em conjunto podem formar uma lactona.

Descobriu-se que os compostos que correspondem à fórmula anterior são eficazes para inibir a actividade hidrolítica de fosfolipase A_2 .

Os compostos preferenciais da presente invenção possuem estruturas que correspondem às da fórmula anterior em que R_1 é tio-alquil-acetamido inferior substituído, R_2 é (alquil inferior)-hidroxi, R_3 é hidroxi e n é 11; em que R_1 é gluta-tionilo, R_2 é (alquil inferior)-tetra-hidropiranyl-oxi, R_3 é hidroxi e n é 11; em que R_1 é cisteinilo, R_2 é (alquil inferior)-hidroxi, R_3 é hidroxi e n é 11; e em que R_1 é tio-alquil-acetamido inferior substituído, R_2 é (alquil inferior)-hidroxi, R_3 é oximinio e n é 11.

Conforme se descreve, os compostos anteriores preferenciais são N-acetil-S-6-[5S, 6R]-1,5-di-hidroxi-7(Z)-isosenil-7-(R)-cisteinato de metilo;

di-hidrato de S-6-[5S, 6R]-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidropiranyl-oxi)-7(Z)-isosenil-7-glutathione-trietil-amónio; hemi-hidrato de (5S, 6R)-6-[S-(R)-cisteinil]-7(S)-icosen-1,5-diol; e N-acetil-S-6-[5S, 6S]-1-hidroxi-5-oximinio-7(Z)-isosenil-7-(R)-cisteinato de metilo, respectivamente.

A presente invenção também contempla uma composição de farmaceutica constituída por uma quantidade eficaz de um composto (conforme atrás descrito) disperso num veículo fisiologicamente aceitável. Na prática preferencial a composição farmaceutica que contém o composto é susceptível de inibir a actividade hidrolítica da fosfolipase A_2 e é eficaz



para o tratamento de estados inflamatórios e respostas alérgicas sem os efeitos secundários que normalmente estão associados aos esteroides.

Também se contemplam os processos para reduzir a inflamação e para controlar as respostas alérgicas nos mamíferos. Estes processos consistem na administração a um mamífero de uma composição farmacéutica que contenha, como ingrediente activo, uma quantidade eficaz de um composto (conforme atrás descrito) num veículo fisiologicamente aceitável. É preferencial a administração oral da composição.

Conforme se descreve mais adiante, também estão contemplados os processos para sintetizar os compostos.

A presente invenção proporciona diversos benefícios e vantagens. Um benefício particular da invenção consiste na preparação de compostos farmacologicamente activos que são úteis para o tratamento de estados inflamatórios e de estados alérgicos,

Uma vantagem particular de um dos processos da presente invenção consiste na síntese de compostos de elevada pureza em rendimentos relativamente elevados.

Outro benefício da presente invenção consiste no facto de os compostos farmacologicamente activos aqui descritos serem poderosos inibidores de PA_2 proporcionando deste modo meios adicionais para se estudar esse processo biológico.

Outros benefícios e vantagens da presente invenção tornar-se-ão evidentes para os especialistas na matéria a partir da descrição pormenorizada e dos exemplos que se seguem:

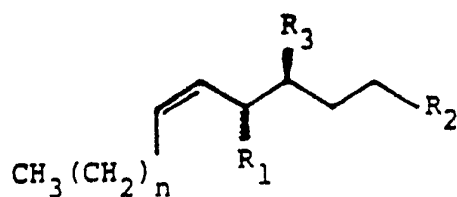
Descrição Pormenorizada da Invenção

Descrevem-se seguidamente novos compostos, composições farmacêuticas que os contêm como ingredientes activo, processos para o tratamento de um mamífero que apresenta um estado inflamatório ou alérgico e processo para sintetizar os compostos referidos.

Em cada composto da presente invenção que possua uma estrutura que corresponda à fórmula anterior, em que R_1 é um radical que contém enxofre, o átomo de enxofre está ligado ao composto (ver Tabela I adiante).

Na Tabela I seguinte apresentam-se exemplos de compostos da presente invenção cujas estruturas estão conforme a fórmula anterior.

TABELA 1



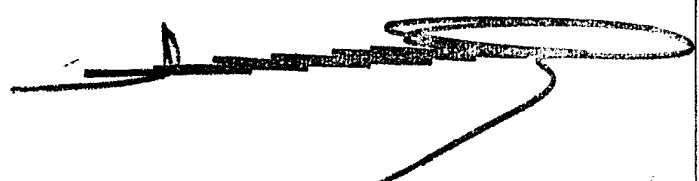
Produto do
exemplo n.º

	R_1	R_2	R_3	n
1(e)	(R_1-R_3) epóxido	$-CH_2CH_2O(C_5H_9O)^*$	---	11
2	$-SCH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
3	$-Glutathionyl$	$-CH_2CH_2O(C_5H_9O)$	$-OH$	11
4	$-Cysteinyl$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
5	$-SCH_2CH_2NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
6	$-SCH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2O(C_5H_9O)$	$-OH$	11
7	$-SCH_2CH(OOCH_3)NH_2$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
8	$-SC_6H_5^{**}$	$-CH_2CH_2O(C_5H_9O)$	$-OH$	11
9	$-para-SC_6H_4Cl^{***}$	$-CH_2CH_2O(C_5H_9O)$	$-OH$	11
10	$-SO_2CH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
11	$-SC_6H_5$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
12	$-para-SC_6H_4Cl$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	11
13	$-SCH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2O(C_5H_9O)$	$=O$	11
14	$-SCH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2OH$	$=NOH$	11
15	$-SCH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2(C_5H_9O)$	$-OH$	13
16	$-SCH_2CH(OOCH_3)NHOOCH_3$	$-CH_2CH_2OH$	$-OH$	13
17	(R_1-R_3) epóxido	$-CH=C(CH_3)_2$	---	11
18	$-SC_6H_5$	$-CH=C(CH_3)_2$	$-(OH)CH_3$	11
19	$-SC_6H_5$	(R_2-R_3) lactona	---	11
20	$-SC_6H_5$	$-CH_2COO^-Na^+$	$-OH$	11

* (C_5H_9O) = tetra-hidro-pirronilo

** C_6H_5 = fenilo

*** C_6H_4Cl = para-cloro-fenilo

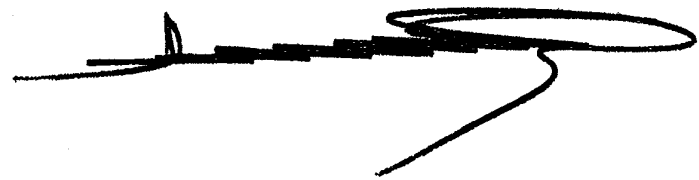


O termo "fenilo" conforme utilizado nesta Memória Descritiva sozinho ou em combinação com outros termos, como "tio-fenilo" e "fenil-sulfonilo" significa grupos hidrocarbonetos aromáticos que podem ser insubstituídos ou substituídos com um ou vários radicais alquilo inferior ou com halogêneos escolhidos entre os átomos cloro, bromo, iodo e fluor.

Conforme utilizado nesta descrição, o termo "alquilo inferior" nas suas diversas formas, significa um hidrocarboneto de cadeia linear ou ramificada que possua entre 1 e 8 átomos de carbono. Por exemplo os radicais alquilo inferior englobam metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, 2-metil-3-butilo, 1-metil-butilo, 2-metil-butilo, neopentilo, *n*-hexilo, 1-metil-pentilo, 3-metil-pentilo, 1-etil-butilo, 2-etil-butilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 1-octilo, 2-octilo e semelhantes. Ao longo desta memória descritiva o termo "inferior" refere-se a "alquilo", salvo quando especificado de outro modo. Deste modo, o termo "tio-alquil-amino inferior", por exemplo, significa uma parte alquilo inferior que possui tiol e amina.

De modo semelhante o termo "alquenilo inferior" refere-se a um hidrocarboneto insaturado de cadeia linear ou ramificada que possua entre 1 e 8 átomos de carbono. Os radicais alquenilo inferior adequados englobam os anteriores radicais alquilo que possuem pelo menos uma dupla ligação carbono-carbono, de preferência uma única ligação carbono-carbono.

O termo "substituído" utilizado relativamente a tio-fenilo ou tio-alquil-amino, por exemplo, significa um grupo fenilo ou alquilo, respectivamente, que engloba um átomo de halogênio escolhido entre bromo, cloro, iodo e fluor ou um grupo -COOR em que R é alquilo inferior mas em que R é preferencialmente metilo.



Também se faz a descrição de uma composição farmacéutica constituída por uma quantidade anti-inflamatória de um composto atrás referido disposta num veículo farmacêuticamente aceitável. A composição engloba uma dose unitária do composto.

Os compostos da presente invenção são susceptíveis de inibir a actividade hidrolítica de fosfolipase. A_2 . Na prática preferencial o composto é susceptível de inibir a actividade hidrolítica de PA_2 com a quantidade de composto presente na composição farmacéutica, quando se introduz essa composição como dose unitária no mamífero adequada.

O termo "dosagem unitária" e os seus equivalentes gramaticais tal como utilizados nesta descrição referem-se a unidades fisicamente discretas adequadas para administração em pacientes humanos e em mamíferos de sangue quente. Cada unidade contém uma quantidade predeterminada eficaz de um ingrediente activo anti-inflamatório ou anti-alérgico, calculada de modo a proporcionar o desejado efeito anti-inflamatório ou anti-alérgico em associação com o necessário veículo fisiologicamente aceitável, por exemplo um diluente.

A especificação para as novas formas de dosagem unitária da presente invenção, são determinadas e directamente dependentes de (a) características únicas do ingrediente activo e (b) limitações inerentes à especialidade de composições de tais ingredientes activos para utilização terapêutica nas pessoas e nos outros mamíferos. Os exemplos de forma de dosagem unitária adequadas de acordo com a presente invenção são as pastilhas, cápsulas, pílulas, sacos de pó, grânulos, bolachas e semelhantes, múltiplos de quaisquer das unidades anteriores, em conjunto com soluções líquidas, suspensões líquidas, elixires e suspensões para aerossol.

Faz-se aqui referência ao facto do ingrediente activo se apresentar em dispersão no veículo. Deste modo, a dispersão formada pode ser uma mistura simples, uma



dispersão sem depósito como no caso de algumas emulsões, ou como dispersão final, uma solução propriamente dita. Em tais composições, o ingrediente activo está normalmente presente numa quantidade de pelo menos 0,5 por cento em peso com base no peso total da composição e no máximo 90% em peso.

A quantidade de ingrediente activo que se administra in vivo depende da idade e do peso do mamífero tratado, do estado particular inflamatório ou alérgico que se pretende tratar, da frequência de administração, e da via de administração. O doseamento pode variar entre 0,001 e 50 miligramas por quilograma de peso do corpo, mais preferencialmente entre 0,01 e 10 miligramas por quilograma de peso do corpo por dia, e ainda mais preferencialmente entre 0,1 e 5 miligramas por quilograma de peso do corpo por dia. A dose para o adulto humano varia entre 100 e 500 miligramas diários, administrados numa dose simples ou divididos em 3 ou 4 doses. As doses para veterinária correspondem às doses humanas sendo as quantidades administradas proporcionais ao peso do animal por comparação com as pessoas adultas.

As doses unitárias administradas oralmente contendo entre 1 e 50 miligramas de composto activo por quilograma de peso do corpo de uma ratazana de laboratório (por exemplo, cerca de 200 gramas cada) são úteis para reduzir os estados inflamatórios e para controlar as reacções alérgicas.

Todavia, deve subentender-se que a quantidade administrada é determinada pelo médico ou veterinário tendo em consideração as circunstâncias relevantes que englobam o estado a ser tratado, o composto que se vai administrar e a via de administração. Por isso, os intervalos de variação das dosagens anteriores não pretendem limitar o âmbito da presente invenção.

Os veículos fisiologicamente toleráveis são bem conhecidos na especialidade, Os veículos líquidos ade-



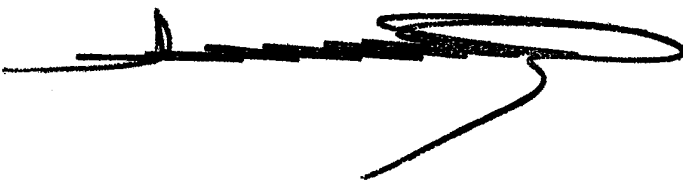
quados englobam as soluções aquosas que não contem materiais em adição ao composto, ou que contém um tampão tal como o fosfato de sódio com um valor de pH fisiológico, uma solução salina ou equivalentes.

As composições líquidas também podem conter fases líquidas em adição ou para exclusão de água.

Os exemplos de tais fases líquidas adicionais são a glicerina e os óleos vegetais incluindo óleo de amendoim e o óleo de semente de algodão.

Os veículos sólidos adequados (diluentes) englobam os materiais normalmente utilizados para a preparação de pílulas ou de pastilhas e incluem o amido de cereal, lactose, fosfato de dicálcio, agentes espessantes tais como goma alcantira e metil-celulose U.S.P. sílica finamente dividida, polivinil pirrolidona, estearato de magnésio e semelhantes. Os agentes anti-oxidantes tais como metil-paraben e metil-paraben podem estar presentes tanto nas composições sólidas como nas composições líquidas, o mesmo sendo verdadeiro para os edulcorantes tais como açúcar de cana, açúcar de beterraba, sacarina de sódio, ciclamato de sódio e o edulcorante dipeptido ester metílico vendido sob o nome comercial "NUTRASWEET" (aspartamo) por G.D. Searle Co. Skokie, IL.

Também se contemplam os processos para reduzir um estado inflamatório e para controlar o estado alérgico no mamífero que apresente um estado inflamatório ou alérgico. O processo consiste em administrar a esses mamíferos uma quantidade eficaz de uma composição farmacêutica que englobe uma dose unitária de um ingrediente activo que seja o composto atrás referido em dispersão num veículo farmacêuticamente aceitável. De preferência, a composição farmacêutica manter-se-á no interior do mamífero até que o composto seja eliminado pelo corpo do mamífero por meios naturais tais como o metabolismo ou a excreção.

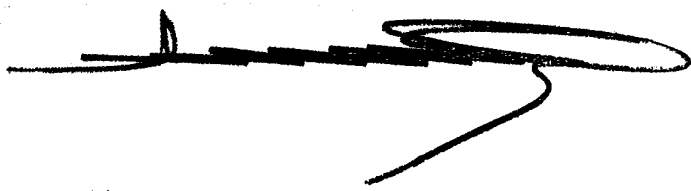


A composição farmacêutica pode administrar-se oralmente, por injeção, por inalação (por exemplo na forma de um aerossol), pó micropulverizado ou uma solução nebulizada), topicamente ou por quaisquer outros meios bem conhecidos na especialidade. Na prática preferencial a composição administra-se como aerossol, oralmente na forma de pastilha, cápsula ou dispersão aquosa, ou topicamente na forma de uma loção, creme ou unguento.

Quando se administra na forma de aerossol, dissolve-se o composto no solvente adequado farmacêuticamente aceitável (por exemplo, álcool etílico, água ou combinações miscíveis de solvente fisiologicamente aceitáveis) e mistura-se com um propulsor farmacêuticamente aceitável. Tais composições para aerossol, embalam-se para utilização em ambientes pressurizados equipados com uma válvula para aerossol adequado para libertar a composição pressurizada. De preferência, a válvula para aerossol é uma válvula regulada que ao ser activada liberta uma dose eficaz predeterminada da composição aerossol.

Uma vez que a composição farmacêutica se pode administrar 3 ou mais vezes por dia (durante um período de 24 horas) o processo para aliviar a inflamação ou para controlar as reacções alérgicas, pode incluir a administração em série da composição farmacêutica num mamífero tratado, durante um dado período de tempo; por exemplo, semanas, meses ou anos. Na prática preferencial a composição farmacêutica administra-se ao mamífero diversas vezes durante um período de cerca de 30 dias.

Um processo para sintetizar os compostos é também outro aspecto da presente invenção. De acordo com uma das características deste processo, faz-se reagir um composto constituído por um ~~trans~~-epóxido com uma configuração 7Z, que corresponde à fórmula anterior (em que R_1 e R_3 considerados em conjunto formam um epóxido) com um tiol substituído. O derivado 5S-hidroxi-6S-tio resultante pode utilizar-se conforme

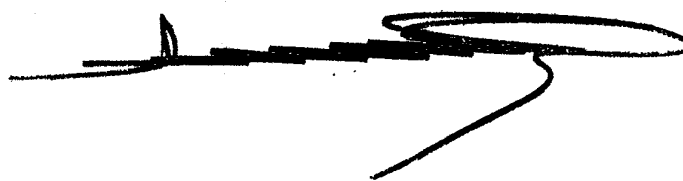

sintetizado ou pode ainda modificar-se por reacção em um reagente adequado, tal como o carbonato de prata para formar um produto em que R_2 e R_3 da fórmula anterior, considerados em conjunto, formam a lactona interna correspondente.

Segundo outro sepecto, oxida-se o derivado anterior, 5S-hidroxi-6S-tio com um reagente adequado, tal como o cloreto de oxalila e DMSO, para formar o derivado correspondente 5-ceto o qual ao reagir com cloridrato de hidroxil-amina proporciona o derivado 5-oximino correspondente.

Os exemplos seguintes ilustram a preparação de diversos compostos de acordo com a presente invenção. A título de sumário, os compostos preferenciais da presente invenção podem preparar-se pelo processo seguinte.

Conforme se indica na seguinte sequência de reacção 1, faz-se a redução de um heptanoato de tetra-hidro-piranilo protegido (THP) - [Composto 1 (a)], com hidreto de di-isobutil-alumínio (DIBAL-H) para proporcionar um álcool alílico [Composto 1 (b), que por sua vez é oxidado em condições suaves (isopropóxido de titânio, L-tartarato de dietilo e hidro-peróxido de t-butilo) para proporcionar o álcool primário trans - epoxi [Composto 1 (c).

A oxidação de Collins [complexo CrO_3 . Piridina] do álcool primário epoxi produz um aldeído epoxi correspondente [Composto 1 (d)], o qual se trata depois com um reagente de Wittig apropriado para formar um epóxidoetilénico [Composto 1 (e)]. Os reagentes de Wittig adequados englobam os brometos de dodecil-trifenil)-fosfónio e o brometo de pentadecil-trifenil-fosfónio. O sal de fosfónia converte-se num radical ileto (Ylide) por tratamento com uma base forte tal como n-butil-lítio. O radical ileto (Ylide) reage com o aldeído epoxi para proporcionar o intermediário trans-epóxido [Composto 1 (e)] com uma configura 7Z.



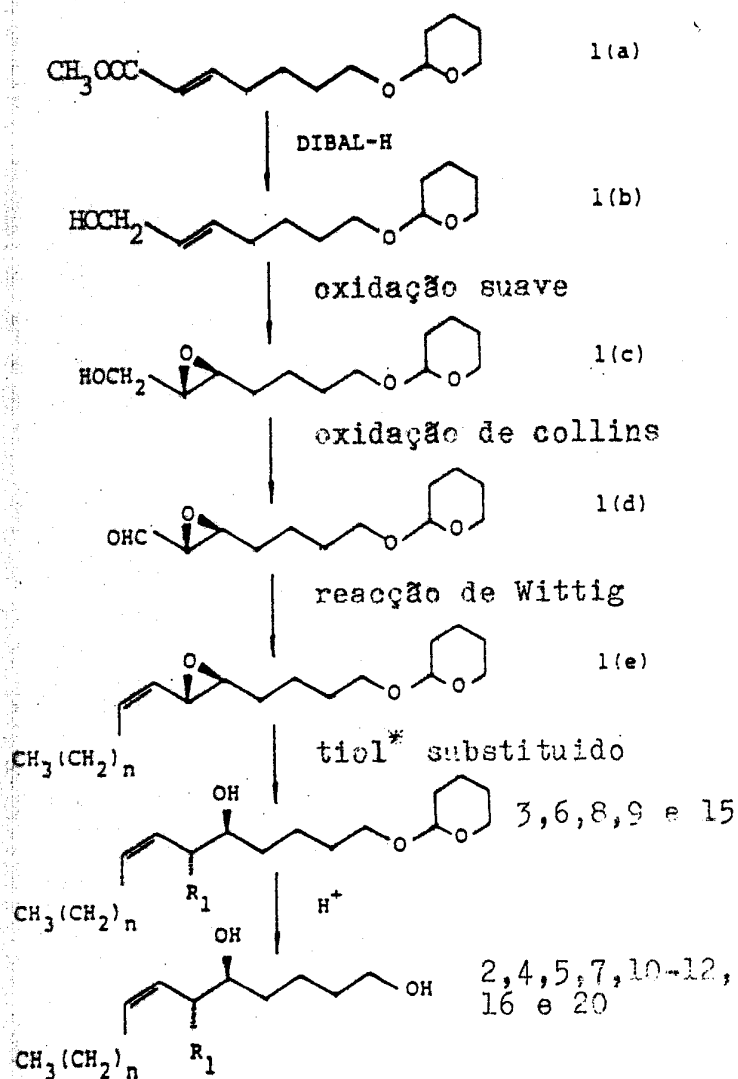
A abertura do epoxido para proporcionar um derivado 5S-hidroxi-6S-tio consegue-se utilizando-se um tiol apropriado substituido, uma mistura de trietil-amina:metanol conforme descrito nos Exemplos 2-9 inclusive.

Nos casos em que R_2 é um grupo hidroxietilo (como no caso dos Compostos 2, 4, 5, 7, 10-12, 14 e 16), pode remover-se o grupo de protecção THP por tratamento com ácido num solvente tal como o metanol.

Para além do grupo de protecção THP, podem utilizar-se outros grupos éter hidrolisáveis convencionais para proteger um grupo hidroxil. Entre os grupos de protecção ester preferenciais englobam-se também os éteres t-butílico e aril-metílico. O éter aril-metílico preferencial é um derivado de benzilo.

ESQUEMA DE REACÇÃO 1

Exemplo nº(s)



* em que R₁ representa o tiol substituído



Tomando como referência o seguinte esquema de reacção 2, nos casos em que R_2 é um grupo hidroxietilo (Compostos 2, 4, 5, 7, 10-12, 14 e 16), podem formar-se as lactonas correspondentes por tratamento do composto de grupo funcional hidroxietilo com o reagente de Fetizon (carbonato de prata em celite).

Por exemplo, trata-se o 1,5-diol (Composto 11) com reagente de Fetizon para proporcionar a lactona (Composto 19). A adição de hidróxido de sódio em tetra-hidrofurano à lactona proporciona o correspondente sal de ácido carboxílico (por exemplo, Composto 20).

Todavia, pode utilizar-se qualquer sal convencional farmacêuticamente aceitável. Entre os sais que se podem preparar estão o sal de metal alcalino que englobam os de lítio, sódio e potássio; os sais de metais alcalino terrosos que englobam os de cálcio e de magnésio; e os de alumínio, zinco e ferro. Também são adequados os sais de amónio ou de amónio substituído incluindo os que se prepararam a partir de (alquil inferior)-aminas tais como tri-etil-amina; hidroxialquil-aminas tais como 2-hidroxietil-amina, tris-(hidroximetil)-amino-metano, bis-(2-hidroxietil)amina e tris-(2-hidroxietil)-amina; ciclo-alquil-aminas tais como biciclo-hexil-amina e bases do tipo piridina tais como piridina, colidina e quinoлина.

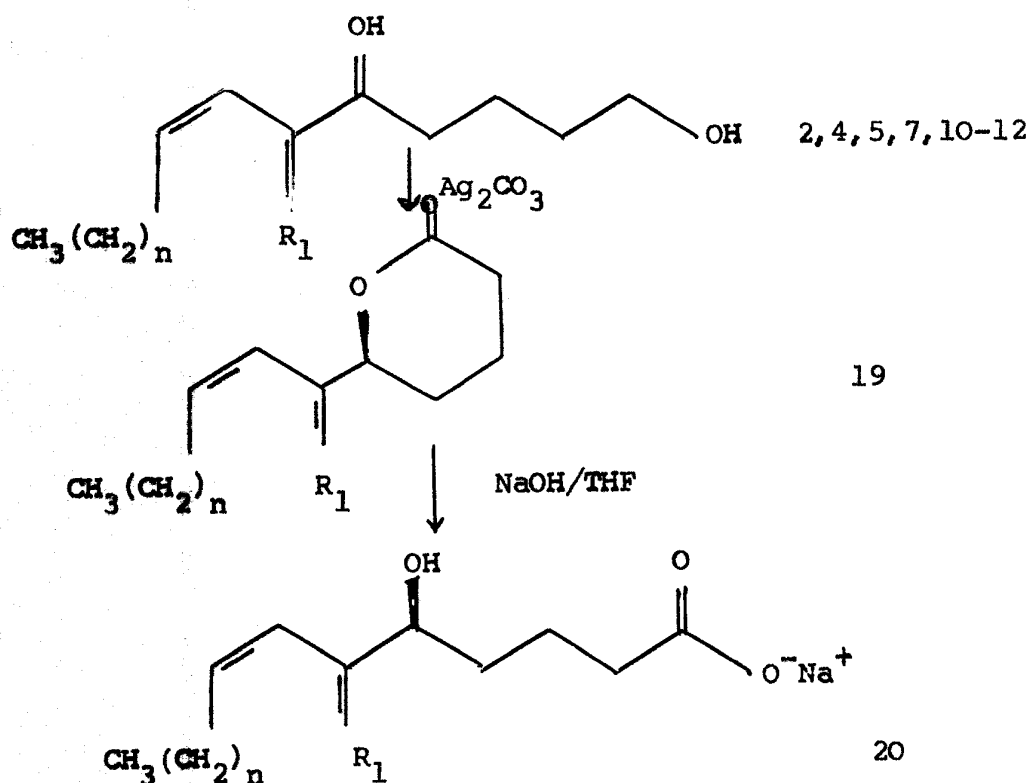
Tais como sais podem formar-se a partir dos compostos da presente invenção que possuem um grupo ácido carboxílico, tratando o ácido por um processo convencional, ou uma base tal como o hidróxido metálico, hidróxido de amónio ou com uma amina.

Uma vez que os compostos da presente invenção podem englobar mais de um grupo de ácido carboxílico, também se contemplam os sais parciais ou os ésteres de alquilo inferior parciais (Compostos nos quais nem todos os grupos funcionais de ácido carboxílico estão na forma de sal ou

de ester), assim como as formas mistas sal/ester.

SEQUENCIA DE REACÇÃO 2

Exemplo Nº (s)

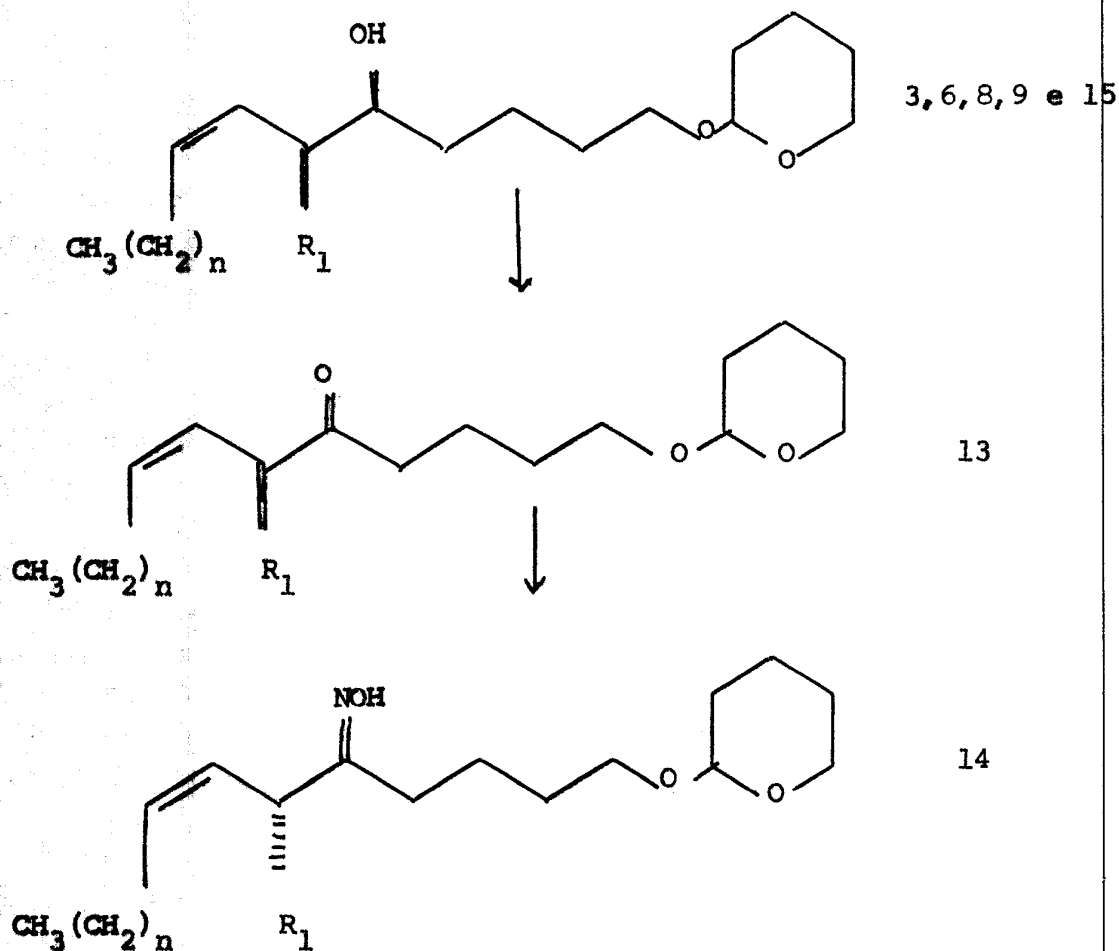


Tomando como referência a seguinte sequência de reacção 3, pode oxidar-se um THP-diol protegido (Composto 3, 5, 8, 9 e 15) para formar a correspondente THP-cetona protegida.

Trata-se o THP - diol protegido (Composto 6) com cloreto de oxalilo/DMSO (dimetil sulfóxido) em cloro de metileno, a uma temperatura reduzida para formar a cetona (Composto 13). A reacção da cetona, sob condições adequadas, com cloridrato de hidroxi-amina proporciona a oxima correspondente (Composto 14).

SEQUENCIA DE REACÇÃO 3

Exemplo Nº(s)



Acabada de descrever a invenção de uma forma geral, pode obter-se um melhor conhecimento tomando como referência diversos exemplos, os quais se incluem apenas para fins ilustrativos e não pretendem ser limitativos da presente invenção.

Na Tabela 1 seguinte apresenta-se uma listagem de diversos compostos que se sintetizam de acordo com o processo da presente invenção. Conforme indicado, o número atribuído a cada composto corresponde ao número de exemplo seguinte que descreve a síntese desse composto.



Conforme se pode verificar, os compostos da presente invenção possuem centros quiral em C_5 e C_6 e, em consequência, existem nas formas estereoisoméricas 5R, 6R; 5S, 6S; 5R, 6S e 5S, 6R,

Também são possíveis outros centros quiral conforme a natureza dos substituintes R_1 , R_2 e R_3 . Contudo, os compostos da presente invenção não se limitam a qualquer forma isomérica particular.

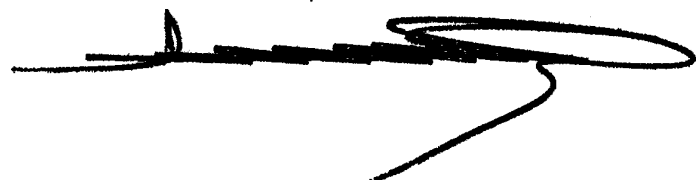
Melhor Processo de Executar a Invenção

Nos exemplos seguintes, os pontos de fusão (p.f.) determinaram-se num equipamento Thomas-Hoover, e os pontos de fusão assinalados não estão corrigidos. Os espectros infravermelhos (IV) registaram-se num espectrofotômetro IR-8 "Beckman Instruments" e exprimem-se em cm^{-1} . Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) para os átomos de hidrogénio obtiveram-se em $CDCl_3$ salvo quando indicado de outro modo, com tetra-metil-silano (TMS) como padrão interno, num espectrómetro Varian T-60A ou num IBM WP-100. Os valores exprimem-se em partes por milhão relativamente a TMS. Os símbolos do hidrogénio sublinhados entre parêntesis estão associados com as posições de ressonância imediatamente anteriores ao parêntesis. Os espectros de massa obtiveram-se com um espectrómetro de massa quadripolar Finnigan 1015D ligado a um cromatógrafo de gás Finnigan 9500 ou num espectrómetro de massa de elevada resolução de focagem dupla Finnigan MAT 8230.

Exemplo 1(a)

Preparação de 7-(2-tetra-piranil-oxi)-2(E)-heptanoato de metilo / Composto 1(a)

A uma solução de 17,98 gramas de 5-hidroxivaleraldeído (176,03mM) em 2,50 ml de tetra-hidrofurano seco (THF) sob uma atmosfera de azoto, adicionaram-se 61,80



gramas de (trifenil-fosforanilideno)-acetato de metilo (184,83mM). Aqueceu-se a mistura de reação ao refluxo durante 4,5 horas e, depois de se arrefecer para a temperatura ambiente concentrou-se in vacuo após se obter uma massa branca. Adicionou-se éter dietílico (500 ml) e hexano (400 ml), e depois arrefeceu-se a mistura para 0°C e manteve-se a esta temperatura durante 1 hora, após o que se filtraram os sólidos e concentrou-se o filtrado in vacuo para proporcionar uma quantidade adicional de precipitado. O precipitado total proporcionou 38,8 gramas de 7-hidroxi-2(E)-heptanoato de metilo (70% puro verificado por RMN). Fez-se a cromatografia de uma porção de heptanoato de metilo (2,0 gramas) (gel de sílica "Merck" 60, 100 gramas) com uma mistura de hexano: éter dietílico 2:1 como eluente para proporcionar 1,38 gramas de 7-hidroxi-2(E)-heptanoato de metilo puro na forma de um líquido incolor límpido (96 %).

A uma solução de 7,0 gramas do heptanoato de metilo cru anterior (30,84 mM) em 300 ml de cloreto de metileno a 0°C, sob uma atmosfera de azoto, adicionaram-se 4,24 ml de di-hidropirano (46,46 mM) e uma quantidade catalítica (1 mg) de mono-hidrato de ácido p-tolueno-sulfônico. Depois de se agitar durante 20 horas, adicionaram-se 0,5 gramas de carbonato de sódio, filtrou-se o sólido, e concentrou-se a mistura de reação in vacuo para proporcionar um líquido castanho límpido. Decorridas 16 horas precipitou-se um sólido, adicionaram-se 100 ml de hexano e filtrou-se a solução e concentrou-se in vacuo para proporcionar 9,11 gramas de 7-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-2(E)-heptanoato de metilo [Composto 1 (a)]. Fez-se a cromatografia de uma porção de 2 gramas do composto 1(a) bruto (gel de sílica da "Merck", 200 gramas) com uma mistura de tri-etil-amina:hexano 1:19 como eluente para proporcionar 1,34 gramas de composto 1(a) na forma de um líquido incolor límpido (82 %).



RMN 1,2-2.0 (multiplete, 10 H,
-OCH₂CH₂CH₂CH= e -OCH₂CH₂CH₂CH₂CH-):
2.0-2,5 (multiplete, 2 H, =CHCH₂CH₂-); 3,1-4,1
(multiplete, 4 H, CH₂CH₂OCHOCH₂-): 3,68
(singleto, 3 H, -COOCH₃); 4.4-4.7 (multiplete, 1 H,
-OCHO); 4.80 (multiplete distorcido, J=15 Hz, J=1 Hz, 1H,
=CHCOOCH₃); 6.96 (triplete, J=15 Hz, J=7 Hz, 1 H,
CH₂CH=).

IV puros: 2950, 2870, 1730 e 1660;

EM; m/e 242 (M⁺), 211, 210 e 101 e 85 (100 %).

Análise calculada para C₁₃H₂₂O₄: C, 64,43; H, 9,15

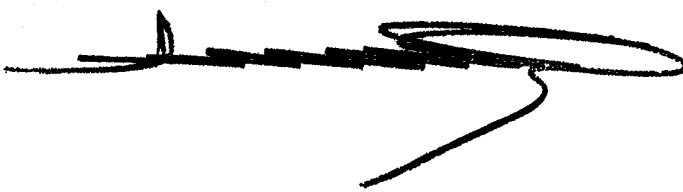
encontrado

C, 63,98; H, 9,05.

Exemplo 1 (b)

Preparação de 7-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-2(E)-heptan-1-ol / Composto 1(b) /

A uma solução de 5,00 gramas (16,71 mM) de Composto 1(a) (82 %) puro verificado por RMN) em 125 ml de cloreto de metileno e a 0°C sob uma atmosfera de azoto adicionaram-se 41,8 ml de hidreto de di-isobutil-alumínio (41,8 mM). Depois de se agitar durante 0,5 horas adicionaram-se à mistura de reação 5,0 ml de metanol em 5,0 ml de cloreto de metileno seguidos por 5,0 ml de uma mistura água:metanol 1:1. Depois de cessar a libertação de gaz, filtrou-se a mistura através de uma amofada de Celite e concentrou-se in vacuo para proporcionar 3,65 g de 7-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-2(E)-hepten-1-ol bruto [Composto 1(b)]. A cromatografia (gel de sílica 60 da Merck 185 gramas) com uma mistura de trietil-amina:acetato de etilo:hexano 1:7:12 como eluente proporcionou 2,60 gramas de composto 1(b) na forma de um líquido incolor límpido (73 %).



RMN: 1.1-2.4 (multiplete, 13 H,
-OCH₂(CH₂)₃CH=, OCH₂(CH₂)₃CH- e -OH);
3.1-4.0 (multiplete, 4 H, -CH₂CH₂OCHOCH₂CH): 3.8-4.3
(multiplete, 2 H, =CHCH₂OH); 4.4-4.7 (multiplete, 1 H,
-OCHO-); 5.4-5.8 (multiplete, 2 H, -CH=CH-),

IV (puro): 3430, 2940, 2880 e 1445.

EM: m/e 214 (M⁺), 196 (M-H₂O), 85 (100 %).

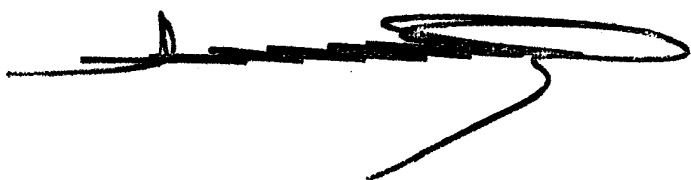
Análise calculada para C₁₂H₂₂O₃: C, 67,25; H, 10,35

Encontrado : C, 67,08; H, 10,40

Exemplo 1(c)

Preparação de (2R, 3S)-7-(2-tetra-hidro-piranil-oxil)-2,3-
-trans-epoxi-heptan-1-ol/Composto 1(c)

Adicionou-se isopropóxido de titânio (IV) (13,25 ml; 44,52 mM) e 9,18 gramas de L-tartarato de (+)-tietilo (44,52 mM), com uma seringa, a 400 ml de cloreto de metileno à temperatura de -20°C sob uma atmosfera de azoto. Decorridos 5 minutos adicionaram-se com uma seringa 9,54 gramas (44,52 mM) de Composto 1(b) seguido por 21,72 ml de hidro-peróxido de terc-butilo 4,1 Molar (M). A mistura de reacção agitou-se a -20°C durante 5 horas, tapou-se e armazenou-se a -10°C durante 16,5 horas. Arrefeceu-se a mistura para -20°C e adicionaram-se 100 ml de uma solução de ácido tartárico a 10% em água com agitação vigorosa. Renovou-se o banho de arrefecimento decorridos 30 minutos, e manteve-se a agitação durante 1 hora. Separaram-se as camadas e lavou-se a camada orgânica com água, secou-se sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo. Diluiu-se o resíduo com 300 ml de éter dietílico e arrefeceu-se para 0°C. Adicionou-se hidróxido de sódio 1N (125 ml), e agitou-se o sistema de duas fases durante 30 minutos. Separaram-se as camadas e lavou-se a camada de éter com uma solução saturada de cloreto de sódio, secou-se sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 8,17 gramas



de 2R, 3S)-7-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-2,3-trans-epoxi-heptan-1-ol bruto (Composto 1(c)) na forma de um óleo amarelo claro. A cromatografia (gel de sílica 60 da Merck, 700 gramas) com uma mistura de trietil-amina:acetato de etilo:hexano 1:6:13 como eluente, proporcionou 4,29 g do composto 1(c) na forma de um óleo amarelo claro e límpido (42 %).

RMN: 1.3-2.1 (multiplete, 12 H,

$\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$ e $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH-}$: 2.2-2.5

(singlete largo, 1 H, $-\text{OH}$): 2.8-3.2 (multiplete, 2 H, epóxido Hs); 3.2-4.2 (multiplete, 6 H, $-\text{CH}_2\text{OCHOCH}_2-$ e $-\text{CH}_2\text{OH}$); 4.5-4.7 (multiplete, 1 H, $-\text{OCHO}$).

IV (puro): 3450 e 1260

EM: m/e 230 e 129

Análise calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_4$: C, 62,58; H, 9,63

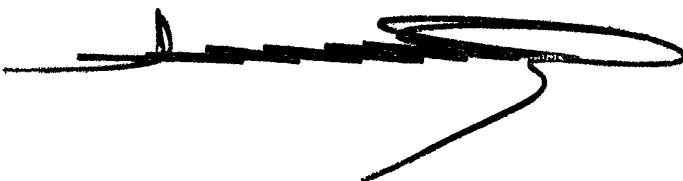
Encontrado

C, 62,43; H, 9,58

Exemplo 1(d)

Preparação do (2R, 3S)-7-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-2,3-trans-epoxi-heptanal / Composto 1(d)

Adicionou-se uma porção simples do trióxido de crômio (4,27 g; 42,73 mM) a uma solução de 6,91 ml de piridina (85,44 mM) em cloreto de metileno. Depois de se agitar durante 15 minutos adicionaram-se 1,64 gramas (7,12 mM) de Composto 1(c) em 10 ml de cloreto de metileno com uma seringa. Manteve-se a agitação durante 30 minutos e decorrido esse tempo filtrou-se a mistura de reação através de uma almofada de Celite e concentrou-se in vacuo. Extraíu-se o resíduo castanho escuro com 100 ml de éter dietílico e filtrou-se através da mesma almofada de Celite. Lavou-se o filtrado com 50 ml de uma solução saturada de sulfato de cobre, com 50 ml de uma solução saturada de cloreto de sódio, secou-se sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou in vacuo para proporcionar 1,20 gramas de (2R, 3S)-7-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-2,3-trans-epoxi-heptanal bruto / Composto 1 (d)


bruto na forma de um óleo amarelo claro límpido. A cromatografia (gel de sílica 60 da Merck, 60 g) com uma mistura de trietil-aminas:acetato de etilo:hexano 1:9:10 como eluente proporcionou 0,95 gramas do composto 1(d) puro na forma de um óleo incolor límpido (58%).

RMN: 1.3-2.1 (multiplete, 12 H.

$\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CHO-}$ e $-\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH-}$): 3.0-4.2

(multiplete, 6 H, $-\text{CH}_2\text{OCHOCH}_2-$ e epoxido Hs): 4.5-4.7

(multiplete, 1 H, $-\text{OCHO}$); 9.03 (doubleto, $J=6$ Hz, 1 H, $-\text{CHO}$).

IV (puro): 2730, 2660 e 1730.

EM: m/e 228 (M^+), 127 e 101.

Análise: calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_4$: C, 63,13; H, 8,83

encontrado

C, 63,04; H, 8,78.

Exemplo 1(e)

Preparação de (5S,6S)-1-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-5,6-trans-epoxi-7(Z)-icoseno / Composto 1(e) /

Com uma seringa adicionou-se N-butil-lítio (3,71 ml; 5,78 mM) a uma solução de 1,33 ml de hexa-metil-di-silazano (6,31 mM) em 50 ml de tetra-hidrofurano seco (THF) a 0°C sob uma atmosfera de azoto. Decorridos 15 minutos adicionaram-se 3,04 gramas de brometo de doçecil-trifenil-fosfonio em pó (5,78 mM) numa porção simples. Decorridos 15 minutos, adicionou-se com uma seringa 1,20 gramas (5,26 mM) do composto 1(d) em 5 ml de THF seco. Manteve-se a agitação durante 1 hora e decorrido esse tempo concentrou-se a mistura de reacção in vacuo para proporcionar 5,62 gramas de (5S-6S)-1-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-5,6-trans-epoxi-7(Z)-icoseno bruto [Composto 1(e)] na forma de um óleo viscoso castanho. A cromatografia (gel de sílica 60 da Merck 500 g) com uma mistura de trietil aminas:Hexano 1:19 como eluente proporcionou 0,97 gramas do composto 1(e) puro na forma de um óleo incolor límpido (47%)

RMN: 0,7-1,0 (triplete, 3 H, $-\text{CH}_3$); 1,0-2,5 (multiplete, 34 H, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$. $-\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_3-$ e $=\text{C}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}$); 2,6-3,0 (multiplete, 1 H, OCHCHC=); 3,0-4,1 (multiplete, 5 H, OCHCHO e $-\text{CH}_2\text{OCHOCH}_2-$); 4,4-4,7 (multiplete, 1 H, $-\text{OCHO}$); 4,7-5,4 (multiplete, 1 H, $-\text{OCHCH=CH}$); 5,68 (triplete, $J=11$ Hz e 7 Hz, 1 H, $-\text{CH=CHCH}_2$).
IV (CHCl_3): 3020 e 1260.
EM: m/e 394 (M^+), 293 e 117 (100%).

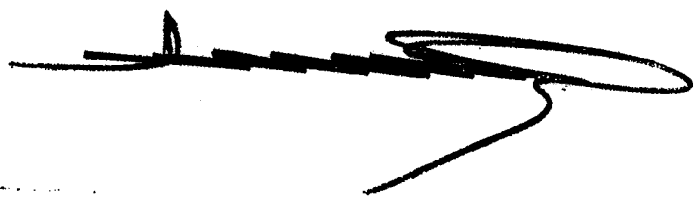
Exemplo 2

Preparação de N-acetil-S-6-[5S, 6S]-1,5-di-hidroxi-7(Z)-icosenil-(R)-cisteinado de metilo (Composto 2)

Adicionou-se éster N-acetil-cisteina-metílico (0,98 gramas; 5,55 mM) e 1,55 ml de trietil-amina (11,10 mM) a uma solução de 1,46 gramas (3,70 mM) no composto 1(e) em 35 ml de metanol na presença de azoto, depois de se agitar durante a noite, concentrou-se a mistura de reacção in vacuo para proporcionar N-acetil-S-6-[5S, 6R]-1,5-di-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-pirani-oxi)-7(Z)-icosenil-(R)-cisteinato de metilo.

Diluiu-se a mistura de reacção com 40 ml de metanol e adicionou-se uma quantidade catalítica (1 mg) de ácido p-tolueno-sulfónico.

Depois de se agitar durante a noite, neutralizou-se a mistura de reacção e secou-se sobre carbonato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo. O resíduo remanescente extraíu-se com cerca de 50 ml de cloreto de metileno, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 2,48 gramas de N-acetil-S-6-[5S-6R]-1,5-di-hidroxi-7(Z)-icosenil-(R)-cisteinato de metilo bruto (Composto 2) na forma de um óleo amarelo límpido. A cromatografia (gel de sílica de 40 μM da Baker, 75 gramas) com uma mistura de meta-



no: cloro de metileno 1:9 como eluente proporcionou 1,78 gramas do composto 2 na forma de um óleo incolor límpido (98,6%).

RMN: 0,88 (triplete, 3 H, $-\text{CH}_3$); 1.0-1.8 (multiplete, 26 H, CH_3 (CH_2)₁₀ CH_2 e $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$); 1,8-2,3 (multiplete, 2 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$); 2.07 (singleto largo, 5 H, $-\text{NHCOCH}_3$ e 2 $-\text{OH}$); 2.88 (doubleto largo, $J=6$ Hz, 2 H, $-\text{SCH}_2\text{CH}-$); 3.3 - 3.9 (multiplete, 4 H, $=\text{CHCHCH}(\text{OH})-$ e $-\text{CH}_2\text{OH}$); 3.75 (singleto, 3 H, $-\text{COOCH}_3$); 4.5-5.0 (multiplete, 1 H, CH_2CHNH); 5.0 - 5.9 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$); 6.2 - 6.8 (multiplete, 1 H, $-\text{CH}-\text{NH}-$).

IV (puro): 3300, 1750 e 1660.

EM: m/e 385.

Análise:

calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{49}\text{NO}_5\text{S}$:	C, 64,02; H, 10,13; N, 2,87
encontrado	C, 63,87; H, 10,20; N, 3,09

Exemplo 3

Preparação do di-hidrato do sal S-6 $\angle$ (5S,6R)-5-hidroxi-1-(2-tetrahidro-piranil-oxi)-7(Z)-icosenil $\angle$ -glutaciona-trietil-amônio (Composto 3)

Um frasco de 500 ml de fundo redondo contendo 0,50 gramas (1,27 mM) de Composto 1(e) em 15 ml de metanol adicionaram-se 1,17 g (3,8 mM) de glutaciona e 1,06 ml (7,60 mM) de trietil-amina. Libertaram-se os gases da mistura de reacção e colocou-se sob uma atmosfera de azoto. De corridos 5 dias, concentrou-se a mistura de reacção in vacuo para proporcionar 1,93 gramas de di-hidrato do sal de S-6- $\angle$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-7(Z)-icosenil $\angle$ -glutaciona-trietil-amônio bruto (composto 3). A cromatografia (gel de sílica de 40 μM da Baker, 80 gramas) com uma mistura de trietil-amina:metano-clorofórmio 1:9:10 como eluente proporcionou 0,94 g do composto 3, p.f. = 140.5 - 143°C (88 %).

RMN (D_2O): 0,85 (triplete, 3 H, $\underline{CH}_3(\underline{CH}_2)_{11}-$); 1,0-2,0 (multiplete, 41 H, $\underline{CH}_3(\underline{CH}_2)_{10}\underline{CH}_2-$, $-\underline{CH}(\underline{OH})(\underline{CH}_2)_3\underline{CH}_2-$, $-\underline{OCH}(\underline{CH}_2)_3\underline{CH}_2\underline{O}-$ e $(\underline{CH}_3\underline{CH}_2)_3\underline{N}^+$); 2,0-2,8 multiplete, 6 H, $-\underline{CH}_2\underline{CH}=\underline{CH}-$ e $-\underline{COCH}_2\underline{CH}_2\underline{CH}-$); 2,8-3,4 (multiplete, 2 H, $-\underline{SCH}_2\underline{CH}-$); 3,17 (quarteto, $J=7.5$ Hz, 6 H, $(\underline{CH}_3\underline{CH}_2)_3\underline{N}^+$); 3,4 - 4,3 (multiplete, 10 H, $-\underline{CHCHCH}(\underline{OH})-$, $2(-\underline{COCHNH}-)$, $-\underline{NHCH}_2\underline{COOH}$ e $-\underline{CH}_2\underline{OCHOCH}_2-$); 4,4 - 4,6 (singlete largo, 1 H, $-\underline{OCHO}-$); 4,67 (singlete, 7 H, $-\underline{CH}(\underline{OH})-$, $2(-\underline{COOH})$, $2(-\underline{NH}-)$ e $-\underline{NH}_2$); 5,0 - 6,2 (multiplete, 2 H, $-\underline{CH}=\underline{CH}-$).

IV ($CHCl_3$): 3300, 1650 e 1520

EM: m/e 368.

Análise:

calculado para $C_{35}H_{63}N_3O_9S.C_6H_{15}N.2H_2O$:

C, 58,68; H, 9,85; N, 6,68

encontrado C, 58,73; H, 9,23; N, 6,50.

Exemplo 4

Preparação do hemi-hidrato de (5S, 6R)-6-[S-(R)-cisteinil]-7-(Z)-icosen-1,5-diol (Composto 4)

A um frasco de 50 ml de fundo redondo contendo 1,36 gramas (3,45 mM) de composto 1 (e) em 25 ml de metanol adicionaram-se 0,46 gramas de cisteína (3,79 mM) e 1,08 ml de trietil-amina (7,75 mM). Eliminaram-se os gases da mistura de reacção e colocou-se sob uma atmosfera de azoto. Decorridos 6 dias, concentrou-se a mistura de reacção in vacuo para proporcionar 6-S[(5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-2piranil-oxi)-7(Z)-icosenil]-cisteína bruta. A cromatografia (gel de sílica de 40 μ M, da Baker, 75 g) com uma mistura de metanolclorofórmio 1:2 como eluente proporcionou 1,31 g do anterior intermediário de cisteína na forma de um sólido ce-roso branco (74 %).

A um frasco de 250 ml de fundo redondo contendo 1,26 g do anterior intermediário de cisteína (2,44 mM)

em 25 ml de metanol adicionaram-se 3,60 ml de uma solução HCL 1N (3,60 mM). Depois de se agitar durante a noite, neutralizou-se a mistura de reação com uma solução NaOH (3,60 ml; 3,60 mM).

Decorrida uma hora concentrou-se a mistura de reação in vacuo. Repartiu-se o resíduo resultante entre clorofórmio e água, secou-se a camada de clorofórmio sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se através de uma almofada de Celite e concentrou-se in vacuo para proporcionar 1,04 gramas de hemi-hidrato de (5S, 6R)-6-[S-(R)-cisteinil]-7(Z)-icosen-1,5-diol puro (Composto 4) na forma de um sólido cristalino branco, p.f. = 140,5 - 143°C (97 %)

Intermediário de cisteína:

RMN: 0,87 (triplete, 3 H,

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$); 1.0 - 1.8 (multiplete, 32 H,

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$ e

$-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{O}-$); 1.8 - 2.4 (multiplete,

2 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-$); 2.7 - 4.2 (multiplete, 8 H,

$-\text{CHCHCH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}_2\text{OCHOCH}_2-$ e $-\text{COOH}$); 4,3 - 4.8

(multiplete, 2 H, $-\text{OCHO}-$ e $\text{H}_2\text{NCHCOOH}$); 4,8 - 6,2

(multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$).

Composto 4: RMN (CDCl_3 e CD_3OD): 0.87

(triplete, 3 H, CH_3CH_2-); 1.0 - 1.8 (multiplete, 26 H,

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2$ e $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2$); 1.8 - 2.4

(multiplete, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$); 2.7 - 3.3 (multiplete, 2 H,

$-\text{CH}_2\text{CH}-$); 3.4 - 4.0 (multiplete, 4 H, $-\text{CHCHCH}(\text{OH})$ e

$-\text{CH}_2\text{OH}$); 4.07 (singleto largo, 5 H, 2 $(-\text{OH})$, $-\text{COOH}$ e

$-\text{NH}_2$); 4.2 - 4.8 (multiplete, 1 H, $\text{H}_2\text{NCHCOOH}$); 5.0 - 6.0

(multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$).

IV (KBr): 3200, 1650 e 1580.

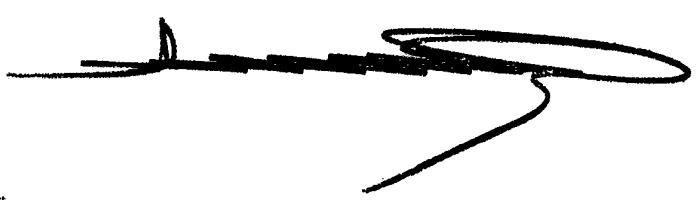
EM: m/e 369, 208, 103 e 85.

Análise;

calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{45}\text{NO}_4\text{S} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$:

encontrado $\text{C}_{62.68}$; H, 10.52; N, 3.18

encontrado $\text{C}_{62.27}$; H, 10.57; N, 3.59.



Exemplo 5

Preparação de N-acetil-S-6 $\angle$ (5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(Z)-icosenil7-cisteamina (Composto 5)

A um frasco de 500 ml de fundo redondo contendo 1,40 gramas (3,55 mM) de Composto 1(e) em 50 ml de metanol adicionaram-se 0,63 gramas de N-acetil-cisteamina (5,32 mM) e 1,48 ml de trietil-amina (10,64 mM). Eliminaram-se os gases da solução e colocou-se sob uma atmosfera de azoto. Depois de se agitar durante a noite à temperatura ambiente, concentrou-se a solução in vacuo para proporcionar 2,06 gramas de N-acetil-S-6 $\angle$ 5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-piranyl-oxi)-7(Z)-icosenil7-cisteamina. A cromatografia (gel de sílica de 40 mM, 80 gramas) com uma mistura de trietil-aminas:acetato de etil:hexano 1:14:5 como eluente proporcionou 1,69 gramas do anterior intermediário de cisteamina na forma de um óleo incolor límpido (93 %).

A um frasco de 500 ml de fundo redondo contendo 1,64 gramas (3,16 mM) do anterior intermediário cisteamida em 40 ml de metanol adicionou-se uma quantidade catalítica (1 mg) de ácido p-tolueno-sulfônico. Depois de se agitar durante a noite, neutralizou-se a mistura de reação com carbonato de sódio, filtrou-se e concentrou-se in vacuo. Extraíu-se o resíduo resultante com cloreto de metileno, filtrou-se através de uma almofada de C lite e concentrou-se in vacuo para proporcionar 1,66 gramas de N-acetil-S-6 $\angle$ (5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(Z)-icosenil7-cisteamina bruta (Composto 5). A cromatografia (gel de sílica de 40 μ M da Baker, 70 gramas) com uma mistura de metanol:clorofórmio 6:94 como eluente proporcionou 1,34 gramas de composto 5 na forma de um óleo incolor límpido, o qual cristalizou a partir de éter dietílico/hexano para proporcionar um sólido cristalino branco, p.f. = 46 - 48°C (98%).


Intermediário de cisteína: RMN: 0,87 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$); 1.0 - 1.5 (multiplete, 20 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$); 1.5 - 1.9 (multiplete, 12 H, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{O}-$ e $-\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{O}$); 1.9 - 2.3 (multiplete, 2 H, $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=$); 1.97 (singlete, 3 H, $-\text{NHCOCH}_3$); 2.4 (singlete largo, 1 H, $-\text{CH}(\text{OH})-$); 2.60 (triplete, $J = 6 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{SCH}_2\text{CH}_2-$); 3.0 - 4.2 (multiplete, 8 H, $=\text{CHCHCH}(\text{OH})-$, $\text{CH}_2\text{OCHOCCH}_2-$ e $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$); 4.4 - 4.7 (multiplete, 1 H, $-\text{OCO}-$); 5.0 - 6.3 (multiplete, 3 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$ e $-\text{NH}-$).

Composto 5 : RMN: 0.90 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$); 1.0 - 1.5 (multiplete, 20 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$); 1.5 - 1.8 (multiplete, 6 H, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2$); 1.8 - 2.3 (multiplete, 3 H, $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=$, e $-\text{CH}_2(\text{OH})$); 2.00 (singlete, 3 H, $-\text{NHCOCH}_3$); 2.4 - 2.8 (singlete largo, 1 H, $-\text{CH}(\text{OH})-$); 2.63 (triplete, $J = 6 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{SCH}_2-\text{CH}_2-$); 3.2 - 3.9 (multiplete, 6 H, $=\text{CH}-\text{CH}-\text{CH}(\text{OH})-$, CH_2OH , e $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$); 5.0 - 6.3 (multiplete, 3 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$ e $-\text{NH}-$).

IV (puro): 3300 ($-\text{NH}-$, $-\text{OH}$), 1660 e 1555.

EM: m/e 327 (M^+-102), 221 e 208.

Análise:

calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{NO}_3\text{S}$: C, 67,08; H, 11,03; N, 3,26

encontrado C, 66,99; H, 11,09; N, 3,24.

Exemplo 6

Preparação de N-acetil-S-6 $\sqrt{}$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-piridinil-oxi)-7(E)-icosenil-(R)-cisteinato de metilo
(Composto 6)

A um frasco de 50 ml de fundo redondo contendo 1,03 grama (2,61 mM) de composto 1(e) em 25 ml de metanol adicionaram-se 0,46 gramas de N-acetil-cisteína (2,61 mM) e 0,73 ml de trietil-amina (5,22 mM). Eliminaram-se os gases da mistura de reação e colocou-se sob uma atmosfera de azoto. Depois de se agitar durante a noite, concentrou-se a



mistura de reacção in vacuo. A cromatografia do produto de reacção (gel de sílica 40 μ m da Baker, 60 gramas) com uma mistura de hexano:acetato de etilo:triethyl-amina 12:7:1 como eluente proporcionou 0,85 gramas de N-acetil-S-6- $\angle$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-piranyl-oxi)-7(2)-icosenil7-(R)-cisteinato de metilo puro (Composto 6) na forma de um óleo amarelo límpido (57 %)

RMN: 0,88 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$);
1.0 - 1.9 (multiplete, 32 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}-$,
 $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{O}$); 1.9 - 2.7
(multiplete, 3 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}-$ e $-\text{CH}(\text{OH})-$); 2.05
(singleto, 3 H, $-\text{NHCOCH}_3$); 2.93 (doubleto, $J = 5 \text{ Hz}$ 2 H,
 $-\text{SCH}_2\text{CH}-$); 3.1 - 4.1 (multiplete, 6 H, $=\text{CHCHCH}(\text{OH})-$ e
 $-\text{CH}_2\text{OCHOCH}_2-$); 3.75 (singleto, 3 H, $-\text{COOCH}_3$); 4,4 - 4.7
(multiplete, 1H, $-\text{CHO}$); 4.7- 5.0 (multiplete, 1 H,
 $-\text{CH}_2\text{CHNH}$); 5.0 - 6.0 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$); 6.1 - 6.5
(multiplete, 1 H, $-\text{NHCO}-$).

IV (puro): 3300, 1745 e 1670.

EM: m/e 488, 385, 342 e 326.

Análise:

calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{57}\text{NO}_6\text{S}$: C, 65,11, H, 10,05; N, 2,45

encontrado: C, 65,18; H, 10,38; N, 2,44

Exemplo 7

Preparação de S-6- $\angle$ (5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(2)-icosenil7-(R)-cisteinato de metilo (Composto 7)

A um frasco de 100 ml de fundo redondo contendo 1,93 g (4,89 mm) de composto 1 (e) em 50 ml de metanol adicionaram-se 1,36 gramas de cloridrato de éster cisteina-
-etílico (7,34 mm) e 3,07 ml de trietil-amina (22,0 mm). Eliminaram-se os gases da mistura de reacção e colocou-se sob uma atmosfera de azoto. Depois de se agitar durante 3.5 dias concentrou-se a mistura de reacção in vacuo. A cromatografia de resíduo (gel de sílica 40 μ m da Baker, 140 g) com uma mistura de clorofórmio:metanol 97:3 como eluente para proporcio-



nar 1,76 gramas de S-6- $\angle$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-
-piranil-oxi)-7(Z)-icosenil $\angle$ -(R)-cisteinato de etilo na forma
de um óleo amarelo límpido (66%).

A uma solução de 1,76 gramas (3,24 mM) do cisteinato anterior em 30 ml de metanol adicionaram-se 4,80 ml de uma solução HCl 1N (4,80 mM). Depois de se agitar durante 18 horas, neutralizou-se a mistura de reação com 4,80 ml de uma solução de hidróxido de sódio 1N (4,80 mM). Depois de se agitar durante 1 hora, concentrou-se a mistura de reação in vacuo. Depois repartiu-se o resíduo entre cloreto de metileno e água. A camada de cloreto de metileno secou-se sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo. Fez-se a cromatografia do resíduo (gel de sílica 40 μ m da Baker, 70 gramas) com uma mistura de metanol;clorofórmio 1:19 como eluente. para proporcionar 1,05 gramas de S-6- $\angle$ (5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(Z)-icosenil $\angle$ -(R)-cisteinato de etilo na forma de um óleo amarelo claro límpido (70 %).

A um frasco de fundo redondo contendo 1,05 gramas (2,28 mM) do anterior intermediário em cisteinato de etilo em 250 ml de metanol adicionaram-se 5,0 ml de uma solução de HCl 1N (5,00 mM). Depois de se agitar durante 2 dias, neutralizou-se a mistura de reação com 5,0 ml de hidróxido de sódio 1 N (5,00 mM) e agitou-se durante 0,5 horas. Concentrou-se a mistura de reação in vacuo. Repartiu-se o resíduo entre cloreto de metileno e água. A solução da camada de cloreto de metileno secou-se sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo, para proporcionar 0,97 gramas de S-6- $\angle$ (5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(Z)-icosenil $\angle$ -(R)-cisteinato de metilo (Composto 7) na forma de um óleo amarelo claro límpido (95 %).

Composto 7: RMN: 0,87 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}-$); 1.1 - 1.8 (multiplete, 26 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$ e $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$); 1.8 - 2.7 (multiplete, 6 H, $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$, $-\text{NH}_2$ e



2 -OH); 2.7 - 3.0 (multiplete, 2 H, -SCH₂CH-); 3.3 - 4.0 (multiplete, 4 H, =CHCHCH(OH)- e -CH₂OH); 3.73 (singleto, 3 H, -COOCH₃); 5.2 - 6.0 (multiplete, 2 H, -CH=CH-).

IV (puro): 3360, 3300 e 1745.

EM: m/e 427, 394 e 342.

Análise:

calculado para C₂₄H₄₇NO₄S: C, 64,67; H, 10,63; N, 3,14
encontrado C, 64,94; H, 10,94; N, 3,06

Exemplo 8

Preparação de 1/4 de hidrato de (5S, 6R)-1-(2-tetra-hidro-piranyl-oxi)-5-hidroxi-6-fenil-tio-7(2)-icoseno (Composto 8)

Adicionou-se tio-fenol (0,30 ml; 2,39 mm) 1,21 ml de trietil-amina (8,67 mm) e 20 ml de metanol a 0,57 gramas (1,44 mm) de Composto 1(e) sob uma atmosfera de azoto. Depois de se agitar durante 24 horas concentrou-se a mistura de reação in vacuo para proporcionar 0,92 gramas de 1/4 de hidrato de (5S, 6R)-1-(2-tetra-hidro-piranyl-oxi)-5-hidroxi-6-fenil-tio-7(2)-icoseno (Composto 8). A cromatografia (gel de sílica 60 da Merk, 75 g) com uma mistura de trietil-amina:hexano 1:9 como eluente, proporcionou 0,67 gramas de composto puro na forma de um óleo incolor límpido (92 %).

RMN: 0,7 - 1,0 (tripleto, 3 H, -CH₃); 1,0 - 2,6 (multiplete, 35 H, OCH₂(CH₂)₃CHO, -OH, -OCH₂(CH₂)₃CH- e =C(CH₂)₁₁CH₃); 3,0 - 4,2 (multiplete, 6 H, -CH₂OCHOCH₂- e -CH₂CH(OH)CH(SC₆H₅)-); 4,4 - 4,7 (multiplete, 1 H, -OCHO-); 5,1 - 5,8 (multiplete, 2 H, -CH=CH-); 7,1 - 7,6 (multiplete, 5 H, aromático Hs).

IV (puro): 3450 e 1120

EM: m/e 504 (M⁺), 403, 318 e 140 (100 %).

Análise: calculado para C₃₁H₅₂O₃S.1/4H₂O: C, 73,10; H, 10,39
encontrado C, 73,16; H, 10,22



Exemplo 9

Preparação de (5S, 6R)-6-(4-cloro-fenil-tio)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-pirani-oxi)-7(Z)-icoseno (Composto 9)

Adicionou-se p-cloro-tio-fenol (0,88 gramas; 6,08 mM) e 1,70 ml de trietil-amina (12,16 mM) a uma solução de 1,60 gramas (4,05 mM) de Composto 1(e) em 40 ml de metanol sob uma atmosfera de azoto. Depois de se agitar durante a noite, concentrou-se a mistura de reacção in vacuo para proporcionar 2,68 gramas de (5S, 6R)-6-(4-cloro-fenil-tio)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-pirani-oxi)-7(Z)-icoseno bruto (Composto 9) na forma de um óleo amarelo claro límpido. A cromatografia (gel de sílica 40 μ M da Baker, 80 gramas) com uma mistura de trietil-aminas:hexano 1:9 como eluente, proporcionou 2,06 g do Composto 9 puro na forma de um óleo incolor (94 %).

RMN: 0,6 - 1,0 (multiplete, 3 H, $(CH_2)_{11}CH_3$):
1,0 - 2,2 (multiplete, 35 H, $=CH(CH_2)_{11}CH_3$,
-CH(OH)(CH₂)₃CH₂O e OCH₂(CH₂)₃CHO); 3,1 - 4,2
(multiplete, 6 H, $=CHCHCH(OH)-$ e $-CH_2OCHOCH_2-$);
4,5 - 4,7 (multiplete, 1 H, -OCHO-); 5,1 - 5,8 (multiplete, 2 H,
 $-CH=CH-$); 7,0 - 7,5 (multiplete, 4 H, aromático H).

IV (puro): 3440 e 1900.

EM: m/e 438, 436 (m-102), 352 e 85 (100 %).

Análise:

Calculado para $C_{31}H_{31}ClO_3S$: C, 69,04; H, 9,53

Encontrado C, 69,15; H, 9,60

Exemplo 10

Preparação de (5S, 6R)-6-[(R)-2-acetil-amino-2-carbo-metoxi-etilsulfonyl]-7(Z)-icosen-1,5-diol (Composto 10)

Adicionou-se OXONA (3,82 gramas; 6,21 mM $KHSO_5$) a uma solução de 1,01 gramas (2,07 mM) do Composto 2 em 15 ml de metanol e 15 ml de água. OXONA é a marca comer-

cial da DuPont Company, Wilmington, DE para um complexo de peroxi-mono-sulfato de potássio.

Depois de se agitar durante a noite, concentrou-se a mistura de reação in vacuo. Diluiu-se o resíduo com cloreto de metileno, lavou-se com água, secou-se sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 0,90 gramas de (5S, 6R)-6-[(R)-2-acetil-amino-2-carbo-metoxi-etil-sulfonil]-7(Z)-icosen-1,5-diol (Composto 10) na forma de um óleo amarelo claro límpido (84 %).

RMN: 0,88 (triplete, 3 H, $(CH_2)_{11} CH_3$); 1.0 - 1.8 (multiplete, 26 H, $=CHCH_2(CH_2)_{10} CH_3$ e $-CH(OH)(CH_2)_3CH_2OH$); 1.8 - 2.4 (multiplete, 2 H, $CH_3(CH_2)_{10}CH_2CH=$); 2.05 (singlete largo, 5 H, $-NHCOCH_3$ e 2 $-OH$); 3.5 - 4.0 (multiplete, 5 H, $-CH(OH)(CH_2)_3CH_2OH$ e $-SO_2CH_2CH-$); 3.77 (singlete, 3 H, $-COOCH_3$); 4.2 - 4.7 (multiplete, 1 H, $=CHCHCH(OH)-$); 4.7 - 5.2 (multiplete, 1 H, $-CH_2CHNH-$); 5.3 - 6.4 (multiplete, 2 H, $-CH=CH$); 6,5 - 7.0 (multiplete, 1 H, $-NH-$).

IV (puro): 3660, 1750, 1665 e 1530.

EM: m/e 417 (M-102), 293, 192 e 145 (100 %).

Análise:

calculado para $C_{26}H_{49}NO_7S$: C, 60,08; H, 9,50; N, 2,70

encontrado C, 60,20; H, 9,43; N, 2,78

Exemplo 11

Preparação de (5S, 6R)-6-fenil-tio-7(Z)-icosen-1,5-diol
(Composto 11)

Adicionou-se uma quantidade catalítica (1mg) de ácido p-tolueno-sulfônico a uma solução de 1,06 gramas (2,10 mM) de Composto 8 em 20 ml de metanol. Depois de se agitar durante 3 horas, neutralizou-se a mistura de reação e secou-se com carbonato de sódio, filtrou-se e concentrou-se


in vacuo. Extraíu-se o resíduo com 50 ml de cloreto de metileno, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 0,95 gramas de (5S, 6R)-6-fenil-tio-7(Z)-icosen-1,5-diol bruto (Composto 11) na forma de um óleo incolor límpido. A cromatografia (gel de sílica 40 μ M da Baker, 30 gramas) com uma mistura de metanol:cloreto de metileno 1:19 como eluente, proporcionou 0,86 gramas de Composto 11 na forma de um óleo incolor límpido (97 %).

RMN: 0,88 (triplete, 3 H, $-\text{CH}_3$); 1.0 - 2.6 (multiplete, 30 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}=\text{e}$ $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$); 3.3 - 4.9 (multiplete, 3 H, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{OH})$); 4.0 (doubleto duplo, J = 4 Hz e 11 Hz, 1 H, $=\text{CHCHCH}(\text{OH})-$); 5.1 - 5.9 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$); 7.1 - 7.6 (multiplete, 5 H, aromático Hs).

IV (puro): 3340 e 1020

EM: m/e 318 (M-102) e 218 (100 %).

Análise:

calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_2\text{S}$: C, 74,23; H, 10,54
encontrado C, 73,92; H, 10,31

Exemplo 12

Preparação de (5S, 6R)-6-(4-cloro-fenil-tio)-7(Z)-icosen-1,5-diol (Composto 12)

Adicionou-se uma quantidade catalítica (1 mg) de ácido p-tolueno-sulfônico a uma solução de 1,20 gramas (2,23 mM) do Composto 9 em 30 ml de metanol. Depois de se agitar durante 3 horas, neutralizou-se a mistura de reação e secou-se com carbonato de sódio, filtrou-se e concentrou-se in vacuo. Extraíu-se o resíduo com 50 ml de cloreto de metileno, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 1,26 gramas de (5S, 6R)-6-(4-clorofenil-tio)-7 (Z)-isosen-1,5-diol bruto (Composto 12) na forma de um óleo incolor límpido. A cromatografia (gel de sílica 40 μ M da Baker, 40 gramas) com uma mistura de metanol:cloreto de metileno 1:19, proporcionou 1,02 gramas do Composto 12 na forma de um óleo incolor límpi-

do (97 %).

RMN: 0,6 - 1.1 (triplete, 3 H, $-\text{CH}_3$); 1.1 - 2.6 (multiplete, 30 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}=\text{e}$ $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{OH}$); 3.3 - 3.9 (multiplete, 3 H, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$); 3.93 (doubleto de doubletos, $J = 4$ e 9 Hz, 1 H, $=\text{CHCHCH}(\text{OH})-$); 4.8 - 6.0 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$); 7.0 - 7.5 (multiplete, 4 H, aromático Hs).

IV (puro); 3360 e 1100.

EM: m/e 354 ($M+2$ - 102 Cl monoisotopico).

352($M-102$), 81 (100%).

Análise:

calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{ClO}_2\text{S}$: C, 68,61; H, 9,52

encontrado C, 68,29; H, 9,64.

Exemplo 13

Preparação de N-acetil-S-6-[(5S, 6R)-1-(2-tetra-hidro-pirani-
nil-oxi)-5-oxo-7(Z)-icosenil]- (R)-cisteinato de metilo (Com-
posto 13)

A um frasco de 50 ml dom fundo redondo contendo 0,68 ml de cloreto de oxalilo (7,77 mM) em 18 ml de cloreto de metileno a -60°C (em banho de clorofórmio/gelo moído seco), sob uma atmosfera de azoto, adicionaram-se 1,20 ml de dimetil-sulfóxido (16,96 mM) em 4 ml de cloreto de metileno. Depois de se agitar durante 2 minutos, adicionaram-se 2,02 gramas (3,53 mM) do Composto 6 em 7 ml de cloreto de metileno numa porção simples. Substituiu-se o banho de arrefecimento para -60°C por um banho de arrefecimento para -12°C (cloreto de sódio e gelo e água). Depois de a temperatura de reacção ter atingido -5°C , manteve-se a agitação durante 15 minutos, e decorrido esse tempo adicionaram-se 4,92 ml de trietil-amina (35,3 mM) gota a gota enquanto se mantinha a temperatura de reacção inferior a -10°C . Formou-se um precipitado branco, Depois de se agitar durante 15 minutos, deixou-se a mistura de reacção aquecer até à temperatura ambiente. Lavou-se a mistura de reacção com 40 ml de água. O produto de



lavagem com água extraíu-se com 35 ml de cloreto de metileno e combinou-se com a solução de reacção. A solução orgânica resultante lavou-se sucessivamente com 20 ml de uma solução de HCL a 1%, 20 ml de uma solução de carbonato de sódio a 5% e com 20 ml de uma solução saturada de cloreto de sódio. Depois secou-se a solução sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 2,26 gramas de N-acetil-S-6-[(5S, 6R)-1-(2-tetra-hidro-piranyl-oxi)-5-oxo-7(2)-icosenil]-R)-cisteinato de metilo bruto (Composto 13), na forma de um óleo amarelo límpido. A cromatografia (gel de sílica 40 μ m da Baker, 90 gramas) com uma mistura de trietil-amina; acetato de etilo:hexano 1:5:14 como eluente, proporcionou 1,35 gramas de composto 13 puro na forma de um óleo amarelo límpido (67 %).

RMN: 0,92 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{-}$); 1.0 - 1.5 (multiplete, 20 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{-}$); 1.4 - 1.9 (multiplete, 10 H, $-\text{COCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{O-}$ e $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{O-}$); 2.05 (singlete, 3 H, $-\text{COCH}_3$); 1.9 - 2.4 (multiplete, 2 H, $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH=}$); 2.4 - 2.8 (multiplete, 2 H, $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{-}$); 2.92 (doubleto, J = 5 Hz, 2 H, $-\text{SCH}_2\text{CH-}$); 3.0 - 4.1 (multiplete, 4 H, $-\text{CH}_2\text{OCHOCH}_2\text{-}$); 3.75 (singlete, 3 H, $-\text{COOCH}_3$); 4.30 (doubleto, J = 9 Hz, 1 H, $=\text{CHCHS-}$); 4.4 - 4.7 (singlete largo, 1 H, $-\text{OCHO-}$); 4.6 - 4.9 (multiplete, 1 H, $-\text{CH}_2\text{CHNH-}$); 5.0 - 6.0 (multiplete, 2 H, $-\text{CH=CH-}$); 6.0 - 6.6 (multiplete, 1 H, $-\text{NHCO-}$).

IV (puro): 3300, 1750, 1670, 1530 e 1030.

EM: m/e 467, 385, 144, 101 e 85 (100 %).

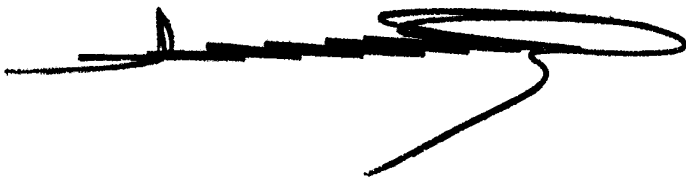
Análise:

calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{55}\text{NO}_6\text{S}$: C, 65,34; H, 9,73; N, 2,46

encontrado C, 65,07; H, 9,96; N, 2,42

Exemplo 14

Preparação de N-acetil-S-6-[(5S, 6R)-1-hidroxi-5-oximino-7(2)-icosenil]-R)-cisteinato de metilo (Composto 14)



A um frasco de 250 ml de fundo redondo contendo 2,11 gramas (3,70 mM) de composto 13 adicionaram-se 0,27 gramas de cloridrato de hidroxilo-amina (3,89 mM) e 50 ml de etanol, Depois de se agitar durante 15 minutos adicionaram-se 0,60 ml de piridina (7,41 mM), e arrefeceu-se a mistura de reacção e concentrou-se in vacuo. O resíduo resultante repartiu-se entre cloreto de metileno e água, Secou-se a camada orgânica sobre sulfato de sódio anidro, filtrou-se e concentrou-se in vacuo para proporcionar 2,01 gramas de N-acetil-S-6- $\angle$ (5S, 6R)-1-hidroxi-5-oximino-7(Z)-icosenil-(R)-cisteinato de metilo bruto (composto 14). A cromatografia (gel de sílica 60 da Merk, 200 gramas) com uma mistura de acetato de etilo:hexano 3:1 como eluente, proporcionou 0.57 gramas do composto 14 puro na forma de um óleo incolor límpido (31%).

RMN: 0,88 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$);
1.0 - 1.5 (multiplete, 20 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$); 1.4 - 1.9 (multiplete, 4 H, $-\text{N}=\text{CCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1.9 - 2.7 (multiplete, 6 H, $-(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=\text{}$, 2 $-\text{OH}$ e $-\text{N}=\text{CCH}_2\text{CH}_2-$); 2.05 (singleto, 3 H, $-\text{NHCOCH}_3$); 2.88 (doubleto largo, $J = 5 \text{ Hz}$, 2 H, $-\text{SCH}_2\text{CH}-$); 3.4 - 3.9 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}_2\text{OH}$); 3.75 (singleto, 3 H, $-\text{COOCH}_3$); 4,42 (doubleto de doubletos, $J = 9 \text{ Hz}$ e 2 Hz , 1 H, $-\text{CH}=\text{CHCH}-$), 4.5 - 5.1 (multiplete, 1 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{NH}-$); 5.1 - 6.0 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$); 6,4 - 6,8 (multiplete, 1 H, $-\text{NH}-$).

IV (puro): 3280, 1745, 1660 e 1540

Mass. m/e 500 (M+), 325, 176, 169, 144 e 85 (100%)

Análise:

calculada para $\text{C}_{26}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$; C, 62,36; H, 9,66; N, 5,60

encontrado C, 62,60; H, 10,01; N, 5,30.

Exemplo 15

Preparação de N-acetil-S-6- $\angle$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-piranil-oxi)-7(Z)-docosenil-(R)-cisteinato de metilo
(Composto 15)



A um frasco de 100 ml de fundo redondo contendo 1,29 ml de hexa-metil-di-silazano (5,78 mM) em 50 mM de tetra-hidrofurano seco a 5°C, adicionaram-se 3,56 ml de n-butil-lítio (5,52 mM). Removeu-se o banho de arrefecimento e decorridos 15 minutos adicionaram-se 3,20 gramas de penta-decil-tri-fenil-fosfónio (5,78 mM) numa porção simples. A mistura de reacção adquiriu uma cor vermelha viva. Decorridos 20 minutos, adicionaram-se gota a gota 1,20 gramas (5,26 mM) do composto 1(d), durante um período de 5 minutos, e a mistura de reacção ficou esse tempo concentrada a solução de reacção in vacuo. Dissolveu-se o resíduo numa mistura de éter dietílico:hexano 1:1, filtrou-se e concentrou-se in vacuo. Acromatografia (gel de sílica (40 µM da Baker, 100 gramas) com uma mistura de trietil-amino:hexano 1:19 como eluente, proporcionou 1,72 gramas de (5S, 6R)-1-(2-tetra-hidro-pirani-oxi)-5,6-trans-epoxi-7(Z)-docoseno na forma de um óleo incolor límpido (77 %).

A um frasco de 500 ml de fundo redondo contendo 1,79 gramas de intermediário do docoseno anterior (4,00 mM) em 50 mililitros de metanol adicionaram-se 0,81 gramas de éster N-acetil-cisteína-metilico (4,60 mM) e 1,39 ml de tri-etil-amina (10,00 mM). Eliminaram-se os gases da mistura de reacção e colocou-se sob uma atmosfera de azoto. Depois de se agitar durante 5 dias, concentrou-se a mistura de reacção in vacuo. Fez-se a cromatografia do resíduo (gel de sílica 40 µM da Baker, 100 gramas) com uma mistura de hexano:acetato de etilo: tri-etil-amina (10:9:1 como eluente, para proporcionar 2,4 gramas do N-acetil-S-6- $\angle$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-pirani-oxi)-7(Z)-docosenil $\angle$ -(R)-cisteinato de metilo (Composto 15) na forma de um óleo incolor límpido (85 %).

~~XXXXXXXXXX~~

Intermediário docoseno: RMN 0,7 - 1,0 (triplete, 3 H, $-\underline{\text{CH}}_3$); 1,0 - 2,5 (multiplete, 38 H, $\text{CH}_3(\underline{\text{CH}}_2)_{13}\underline{\text{CH}}=$, $-\underline{\text{CH}}(\underline{\text{CH}}_2)_3\underline{\text{CH}}_2\text{O}-$ e $-\text{OCH}(\underline{\text{CH}}_2)_3\underline{\text{CH}}_2\text{O}$); 2,6 - 3,0 (multiplete, 1 H, $=\underline{\text{CHCH}}\underline{\text{OCH}}-$); 3,0 - 4,1 (multiplete, 5 H, $=\underline{\text{CHCH}}\underline{\text{OCH}}-$ e $-\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{OCHO}}-\underline{\text{CH}}_2-$); 4,4 - 4,7 (multiplete, 1 H $-\underline{\text{OCHO}}-$); 4,7 - 5,4 (multiplete, 1H, $-\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CHCH}}-$); 5,68 (triplete, J = 11 Hz e 7 Hz, 1 H, $-\underline{\text{CH}}_3\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-$).

Composto 15: RMN: 0,85 (triplete, 3 H, $\underline{\text{CH}}_3(\underline{\text{CH}}_2)_{13}-$); 1,0 - 1,5 (multiplete, 24 H, $\underline{\text{CH}}_3(\underline{\text{CH}}_2)_{12}\underline{\text{CH}}_2-$); 1,4 - 1,8 (multiplete, 12 H, $-\underline{\text{CH}}(\underline{\text{OH}})(\underline{\text{CH}}_2)_3\underline{\text{CH}}_2-$ e $-\text{OCH}\underline{\text{OCH}}_2(\underline{\text{CH}}_2)_3$); 1,8 - 2,5 (multiplete, 3 H, $-\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-$ e $-\underline{\text{CH}}(\underline{\text{OH}})-$); 2,03 (singlete, 3 H, $-\text{NHCO}\underline{\text{CH}}_3$); 2,92 (doubleto, J = 5 Hz, 2 H, $-\underline{\text{SCH}}_2\underline{\text{CH}}-$); 3,1 - 4,1 (multiplete, 6 H, $=\underline{\text{CHCH}}\underline{\text{CH}}(\underline{\text{OH}})-$ e $-\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{OCHOCH}}_2-$); 3,72 (singlete, 3 H, $-\text{COO}\underline{\text{CH}}_3$); 4,4 - 4,7 (multiplete, 1 H, $-\underline{\text{OCHO}}-$); 4,7 - 5,1 (multiplete, 1 H, $-\underline{\text{CH}}_2\underline{\text{CHNH}}-$); 5,2 - 6,9 (multiplete, 2 H, $-\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-$); 6,30 (doubleto largo, J = 9 Hz 1 H, $-\underline{\text{NH}}-$).

IV (puro): 3300, 1750 e 1665.

EM: m/e 413, 370, 354, 321 e 236.

Análise:

calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{61}\text{NO}_6$: C, 66,07; H, 10,25; N, 2,34

encontrado C, 65,88; H, 10,16; N, 2,38

Exemplo 16

Preparação de N-acetil-S-6[5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(Z)-doco-
senil-7-(R)-cisteinato de metilo (Composto 16)

A um frasco de 100 ml de fundo redondo contendo 1,38 gramas de cisteinato do exemplo 15 (2,30 mM) em 25 ml de metanol adiciona-se 1 mg de ácido p-tolueno sulfônico. Depois de se agitar durante 6 dias, concentrou-se a mistura de reacção in vacuo.

A cromatografia (gel de sílica 40 μM da Baker, 55 gramas) de resíduo com uma mistura de metanol:cloro-

~~CONFIDENTIAL~~

roformio 1:19 como eluente proporcionou 1,15 gramas de N-acetil-S-6- γ -(5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(E)-docosenil-(R)-cisteinato de metilo (Composto 16) na forma de um óleo incolor límpido (97 %).

RMN: 0,87 (triplete 3 H, CH_3 (CH_2)₁₃-); 1.0 - 1.8 (multiplete, 32 H, CH_3 (CH_2)₁₂ CH_2 - e -CH(OH) (CH_2)₃ CH_2 OH); 1.8 - 2.3 (multiplete, 2 H, - $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$ -); 2.05 (singleto, 3 H, -NHCO CH_3); 2,33 (singleto, 2 H, 2 -OH); 2,90 (doubleto largo, J = 5 Hz, 2 H, -SCH₂CH); 3.4 - 3.9 (multiplete, 4 H, -CHCHCH(OH)- e -CH₂OH); 3.75 (singleto, 3 H, -COOCH₃); 4.6 - 5.1 (multiplete, 1 H, -CH₂-CH-NH-); 5,1 - 6.0 (multiplete, 2 H, -CH=CH-); 6.2 - 6.7 (multiplete, 1 H, -NH-).

IV (puro): 3300, 1750, 1660 e 1540.

EM: m/e 413, 370, 354, 321 e 236.

Análise:

calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{53}\text{NO}_5\text{S}$: C, 65,20; H, 10,36; N, 2,72
encontrado C, 64,81; H, 10,25; N, 3,00

Exemplo 17

Preparação de mono-hidrato de (6S, 7S)-2,6-dimetil-6,7-trans-etoxi-henicososa-2,8-(E)-dieno (Composto 17)

Tratou-se uma solução de 1,68 ml de di-isopropil-amina (12 mM) em 125 ml de tetra-hidrofurano com 6,41 ml de n-butil-lítio (1,56 M, 10,0 mM), à temperatura ambiente. Decorridos 10 minutos, adicionou-se 5,43 gramas de brometo de tri-decil-trifenil-fosfônio (10,3 mM) numa porção simples. A solução vermelha resultante arrefeceu-se para -70°C e adicionaram-se 1,68 gramas (10,0 mM) de (2R,2S)-3,7-dimetil-6-eno-2,3-trans-epoxi-octanal dissolvidos em 5 ml de THF. Agitou-se a mistura de reacção durante 1 hora a -70°C e depois deixou-se aquecer até à temperatura ambiente e agitou-se durante 40 minutos. Concentrou-se a mistura in vacuo e lavou-se o resíduo diversas vezes com porções de 50 ml de hexano. Os produtos de lavagem combinados concentraram-se para proporcio-

nar um óleo amarelo claro que continha algum material sólido (2,13 g).

A cromatografia do produto bruto em gel de sílica 60 da Merk (200 gramas) e eluição com uma mistura de hexano:éter dietílico:tri-etil-amina (8:2:1 proporcionou 1,83 gramas de mono-hidrato de (6S,-7S)-2,6-dimetil-6,7-trans-epoxi-henicososa-2,8-(Z)-dieno (Composto 17) na forma de um líquido muito claro (55 %).

RMN: 0,90 (triplete, 3 H, CH_3CH_2): 1.30 (singlete largo, 25 H, 6- CH_3 , 5- CH_2 e $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}$):

1.60 e 1.70 (singlete largo, 6 H, $\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$: 1.8 - 2.2 (multiplete, 4 H, 10- CH_2 e 4- CH_2), 3,40 (doubleto, J = 7 Hz, 1H, J = 7 Hz, $\text{C}_7\text{-H}$); 5,1 (triplete largo, J = 5 Hz, 1 H, $\text{C}_3\text{-H}$); 5.1 - 6.0 (multiplete, 2 H, $\text{C}_8\text{-H}$ e $\text{C}_9\text{-H}$).

IV (CHCl_3): 2530, 2860 e 1460.

EM: m/e 334 (M^+), 291, 265, 109 (100 %).

$[\alpha]_D^{22}$ (alcohol etílico) = + 24.5°.

Análise:

calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{42}\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 73,34; H, 12,58

encontrado C, 78,21; H, 12,00

Exemplo 18

Preparação de hemi-hidrato de (6S, 7R)-2,6-dimetil-6-hidroxi-7-fenil-tia-henicososa-2,8-(Z)-dieno (Composto 18)

Tratou-se uma solução de 1,00 gramas (3,0 mM) de composto 17 em 30 ml de metanol contendo 2,50 ml de trietil-amina (18 mM) com 0,95 ml de tio-fenol (9,0 mM) à temperatura ambiente. Eliminaram-se os gases da mistura e agitou-se durante a noite e depois concentrou-se até se obter um óleo viscoso (1,90 gramas). Fez-se a cromatografia do produto bruto sobre 175 gramas de gel de sílica 60 da Merk e eluiu-se com uma mistura de hexano:etil dietílico 9:1 para proporcionar 1,32 gramas de hemi-hidrato de (6S, 7R)-2,6-dimetil-6-hidroxi-7-fenil-tia-henicososa-2,8-(Z)-dieno (Composto

18) na forma de um óleo viscoso amarelo claro (99 %).

RMN: 0,85 (triplete, 3 H, $-\text{CH}_3$); 0,9 - 1,4 (singlete largo, 6 H, $\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$); 1,8 - 2,4 (multiplete, 4 H, $10-\text{CH}_2$ e $4-\text{CH}_2$); 3,95 (doubleto complexo, $J = 10$ Hz, 1 H, C_7-H); 5,15 (triplete largo, $J = 5$ Hz, 1 H, C_3-H); 5,50 (doubleto de doubletos, $J = 10$ Hz e 7,5 Hz, C_8-H e C_9-H); 7,0 - 7,6 (multiplete, 5 H, aromático H).

IV (CHCl_3): 3450-3650, 2920 e 2850

EM: m/e NO M^+ , 354, 334, 318, 291, 218 (100 %),

185 e 155;

$[\alpha]_D^{26} (\text{CHCl}_3) = +52,8^\circ$

Análise:

calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{SO} \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$: C, 76,76; H, 10,89

encontrado

C, 76,76; H, 10,19.

Exemplo 19

Preparação de lactona do ácido (5S, 6R)-5-hidroxi-6-fenil-tio-7(Z)-icosenoico (Composto 19)

Adicionou-se benzeno (500 ml) a 92,8 gramas de reagente de Fetizon (carbonato de prata em Celite: carbonato de prata 148,5 mg) num frasco de 1 l de fundo redondo protegido da luz. Aqueceu-se a mistura de reacção para se remover a água residual da reacção por destilação azeotrópica com benzeno. Recolheu-se o destilado até aos 80°C . Adicionou-se à mistura de reacção o composto 11 (4,16 gramas; 9,90 mm) em 25 mililitros de benzeno. Depois de se agitar ao refluxo durante 24 horas, deixou-se a mistura de reacção arrefecer até à temperatura ambiente, filtrou-se através de uma almofada de sílica e concentrou-se in vacuo para proporcionar 4,19 gramas de lactona do ácido (5S, 6R)-5-hidroxi-6-fenil-tio-7(Z)-icosenoico bruto (Composto 19). A cromatografia (gel de sílica 60 da Merk, malha 70-230, 200 gramas) com uma mistura de acetato de etilo:hexano (de 1:9 até 1:3) como eluente, proporcionou 1,43 gramas de Composto 19 na forma de um óleo ama-

relo claro límpido (35 %).

RMN: 0,87 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$);

0,9 - 1,6 (multiplete, 20 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$); 1,6 - 2,3

(multiplete, 6 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=$ e

$-\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{COO}$); 2,3 - 2,7 (multiplete, 2 H,

$-\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{COO}$); 5,2 - 5,7 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$);

7,1 - 7,6 (multiplete, 5 H, aromático H).

IV (puro): 1750 e 1240.

EM: m/e 416 (M^+), 307 e 317 (100 %).

Análise:

calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_2\text{S}$: C, 74,95; H, 9,68

encontrado C, 75,27; H, 9,69.

Exemplo 20

Preparação de hemi-hidrato de (5S, 6R)-5-hidroxi-6-fenil-
-tio-7(Z)-icosenoato de sódio (Composto 20)

A 1,06 gramas (2,55 mm) de Composto 19 adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio 1N (2,55 ml; 2,55 mm), 5,0 ml de água destilada e 1,0 ml de tetra-hidrofurano. Depois de se agitar durante 1 hora à temperatura ambiente, a mistura de reação tornou-se homogênea e diluiu-se com 15 mililitros de água. Removeu-se o THF por destilação. A liofilização da solução aquosa remanescente, proporcionou 1,14 gramas de hemi-hidrato de (5S, 6R)-5-hidroxi-6-fenil-tio-7(Z)-icosenoato de sódio (Composto 20) na forma de um sólido branco (98 %), p.f. = 216 - 217,5°C (a descoloração começou a 190°C).

RMN: 0,88 (triplete, 3 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}-$);

0,9 - 1,5 (multiplete, 24 H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2-$ e

$-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2-$); 1,5 - 2,0 (multiplete, 3 H,

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{CH}=$ e $-\text{OH}$); 2,0 - 2,5 (multiplete, 2 H,

$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$); 3,5 - 4,2 (multiplete, 2 H,

$=\text{CHCHCH}(\text{OH})-$); 5,0 - 5,7 (multiplete, 2 H, $-\text{CH}=\text{CH}-$); 7,0 - 7,6

(multiplete, 5 H, aromático H).

IV (NBr): 3400 (-OH) e 1560 (C=O).

Análise:

calculado para $C_{26}H_{41}O_3Na \cdot 1/2 H_2O$: C, 67,06; H, 9,09
encontrado C, 66,77; H, 8,85

Resultados

O procedimento seguinte é uma modificação do ensaio de Fosfolipase que foi descrito pela primeira vez por Costentino e outros., Prostaglandins, 22, 309 (1981) e é o processo utilizado aqui para determinar actividade de fosfolipase A_2 no estômago das ratas e no pâncreas dos suínos.

Diluiu-se uma suspensão de fosfolipase A_2 (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO) com 25 milimol (mM) de um tampão Tris-HCl contendo 1 mM de clorato de cálcio até se obter uma concentração final de 10 miligramas de proteínas por mililitros (mL). A cada tubo de ensaio adicionam-se alíquotas de 0,1 mL (7,1 unidades) da suspensão de enzima. Adicionam-se os compostos de ensaio em alíquotas de 0,01 mL em dimetil-sulfóxido ou metanol e ajusta-se o volume para 0,15 mL com o tampão. Efectua-se uma incubação prévia a 37°C durante 5 minutos. Para dar início à reacção, adicionam-se a cada tubo 0,01 microcuries (0,179 nanomol) de 2-araquidionil-(1- ^{14}C)-1-palmitoil-fosfatidil-colina (New England Nuclear, Boston, MA), incluindo também os 3 tubos neutros que não contêm qualquer enzima, e efectua-se a incubação durante 10 minutos a 37°C. Para-se a reacção com a adição de 0,07 mililitros HCl 1N a cada tubo. Os tubos neutros de controlo e cada concentração do composto de ensaio experimentam-se em triplicado.

As misturas de reacção extraem-se com acetato de etilo e a fase orgânica e aquosa separam-se por centrifugação de baixa velocidade. Seca-se a fase orgânica sob uma atmosfera de azoto e depois faz-se nova suspensão em 0,01 mililitros de acetato de etilo. Adiciona-se a cada tubo de ensaio ácido araquidónico (50 microgramas em 0,01 mL de metanol)



como veículo e como padrão. Espalhou-se toda a mistura em pratos de cromatografia de camada fina em gel de sílica G que se desenvolveram no sistema solvente de acetato de etilo: ácido acético (99:1 em volume). As áreas contendo o substrato de fosfolípido que não reagiu (a origem) e o ácido araquidônico não esterificados (próximo da frente de solvente) removeram-se para frascos de cintilação separados. Adicionaram-se a cada frasco 10 ml de Aquasol-2 (American Cyanamid Co., Wayne, NJ), e contou-se a radioatividade por espectrometria de cintilação líquida.

Os dados calcularam-se como proporção percentual de ácido araquidônico não esterificado relativamente à radioatividade total recuperada. A potência de um composto determina-se preferencialmente pelo seu valor IC_{50} (a concentração necessária para inibir a reação em 50%). Todavia, na ausência de um estudo de inibição extensivo é normal apresentar a potência de um composto como a percentagem de inibição de actividade hidrolítica para uma concentração particular do composto.

A Tabela 2 seguinte apresenta a percentagem de inibição da actividade hidrolítica de fosfolipase A_2 obtida a partir de amostras de tecido de estômago de ratana e de pâncreas de suíno com os compostos 2, 3, 4 e 14.

Composto 2 : N-acetil-S-6- $\angle$ (5S, 6R)-1,5-di-hidroxi-7(E)-icosenil $\angle$ -(R)-cisteinato de metilo.

Composto 3 : di-hidrato do sal de S-6- $\angle$ (5S, 6R)-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidro-piranyl-oxi)-7(E)-icosenil $\angle$ -glutathione-trietil-amónio.

Composto 4 : hemi-hidrato de (5S, 6R)-6- $\angle$ S-(R)-cisteinil $\angle$ -7(E)-icosen-1,5-diol

Composto 14 : N-acetil-S-6- $\angle$ (5S, 6R)-1-hidroxi-5-oximino-7(E)-icosenil $\angle$ -(R)-cisteinato de metilo.

Tabela 2

*
Inibição percentual de Actividade Hidrolítica de

Composto	Fosfolipase A ₂ de estômago de Ratazana	Fosfolipase A ₂ de Pancreas de Suino
2	50 por cento (IC ₅₀) a 6.5×10^{-6} molar (M)	62, 86 e 68 por cento** a 10^{-5} molar (M)
3	55 e 57 por cento a 10^{-4} M	
4	40 e 48 por cento a 10^{-4} M	
14	58 por cento a 10^{-4} M	72 e 73 por cento a 10^{-4} M

* A inibição percentual da fosfolipase A₂ identificada, com um composto particular, determina-se de acordo com o procedimento seguinte

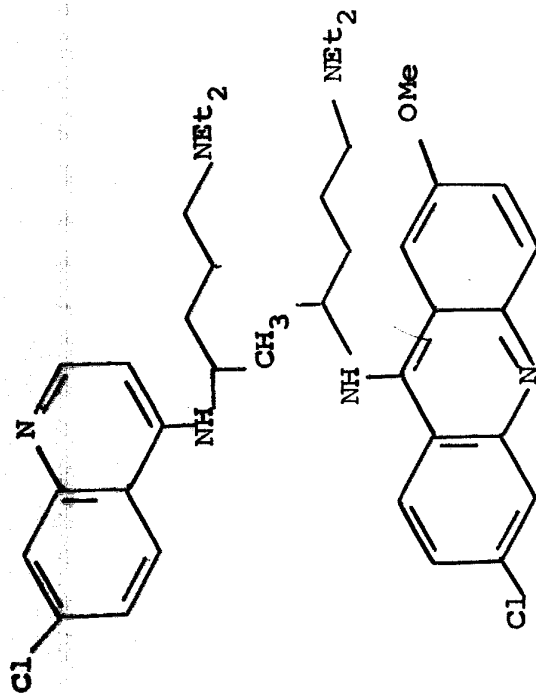
** Apresentam-se os resultados de três experiências independentes

Os compostos que geralmente se utilizam como padrões para comparar as actividades de potenciais inibidores de FA₂ apresentam-se a seguir com os correspondentes valores IC₅₀ extraídos da literatura para cada composto e para a fonte particular FA₂.

Composto
padrão

estrutura

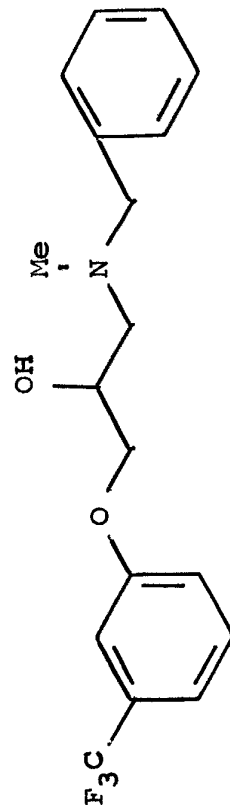
IC₅₀
1.25x10⁻⁴ M PA₂ de estômago
de Ratazana



cloroquina

Mepacrina

2.4x10⁻⁴ M
(PA₂ de pancreas do Porco)



U-100 29A

1.6x10⁻⁴ M
(PA₂ de pancreas do Porco)
4.1x10⁻⁴ M
(PA₂ de veneno de cobra)
4.9x10⁻⁴ M
(PA₂ de veneno de abelha)



A comparação da actividade do composto 2, por exemplo, com as actividades referidas para cada um dos compostos "padrão" anteriores mostra que o Composto 2 é um inibidor de actividade de PA_2 mais poderoso do que os compostos que normalmente se utilizam como padrões.

Também se estudaram os efeitos do composto 2 numa experiência de edema de orelha de rato para proporcionar uma medida de actividade anti-inflamatório tópica.

A actividade anti-inflamatória tópica de um composto determina-se pela sua capacidade para inibir uma inflamação induzida experimentalmente na orelha do rato. Administra-se óleo de Cróton ou acetato de 12-O-tetra-decanoil-forbol em acetona sobre a parte dorsal de uma orelha do rato. Decorridas 5 ou 6 horas sacrificam-se os ratos, remove-se uma secção de cada orelha com um perfurador de cortiça de 7 mm e pesa-se numa balança electrónica. Determina-se a diferença em peso entre as orelhas tratadas e não tratadas. Os compostos cuja actividade anti-inflamatória se pretende avaliar incorporaram-se na mistura irritante do óleo de Cróton ou aplicam-se no veículo apropriado.

Observou-se a inibição percentual para as doses seguintes.

Composto 2 (microgramas)	<u>Inibição percentual</u>	
	<u>Rato nº 1</u>	<u>Rato nº 2</u>
50	33	68
100	53	72
200	62	82
400	75	80

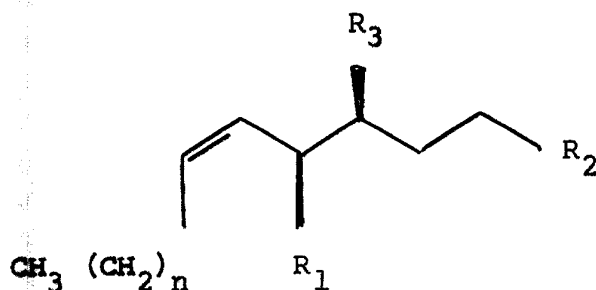
Fez-se a descrição da presente invenção relativamente a diversos aspectos preferenciais. Contudo, deve subentender-se que se podem fazer inúmeras modificações e variações da matéria que se abordou sem afastamento do âmbito da invenção aqui descrita.



REIVINDICAÇÕES

- 1ª -

Processo para a preparação de um composto de fórmula

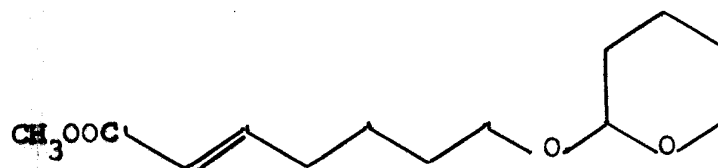


em que R₁ é escolhido no grupo que consiste em radicais tio-fenilo substituído ou insubstituído, fenil-sulfonilo substituído ou insubstituído, cisteinilo, glutationilo, cisteinil-glicinilo, tio-alquilamino inferior substituído ou insubstituído, sulfonil-alquilamino substituído ou insubstituído, tio-alquilacetamido inferior substituído ou insubstituído e sulfonil-alquil-acetamido substituído ou insubstituído;

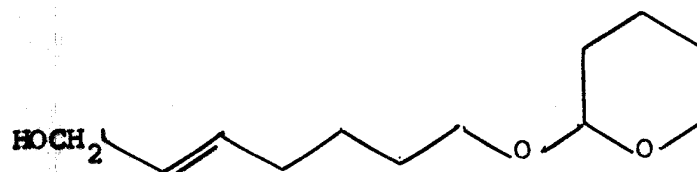
R₂ é seleccionado de entre o grupo que consiste em radicais alquil-hidróxi, alquil inferior-hidróxi, alquil inferior-tetra-hidro-piranióxi, alquil inferior-carboxi e alquenilo inferior;

R₃ é seleccionado de entre o grupo que consiste em radicais hidróxi compreendido entre cerca de 10 e cerca de 14; e dos sais, ésteres, epóxidos e lactonas internas correspondentes farmacologicamente aceitáveis em que R₁ e R₃ considerados em conjunto formam um grupo epóxi ou em que R₂ e R₃ considerados em conjunto formam uma lactona,

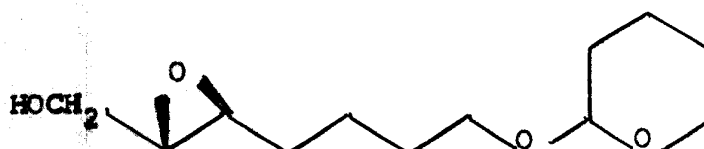
caracterizado por se fazer reagir um composto da fórmula



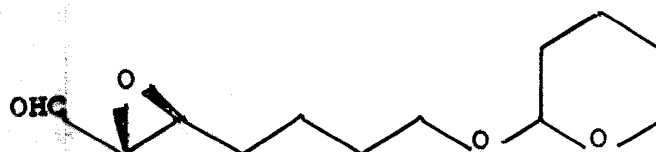
com um agente redutor para formar um álcool alílico da fórmula



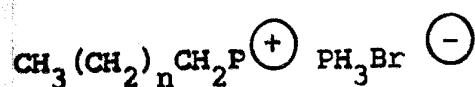
fazer-se reagir o álcool alílico com um primeiro agente oxidante para formar o álcool trans epóxi da fórmula



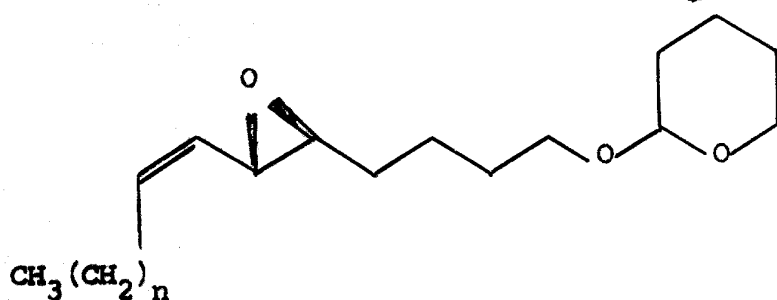
fazer-se reagir o álcool epóxi com um segundo agente oxidante [dipiridina óxido de crômio (VI)] para formar um aldeído epóxido da fórmula



tratar-se o aldeído epóxido com um reagente de Wittig da fórmula



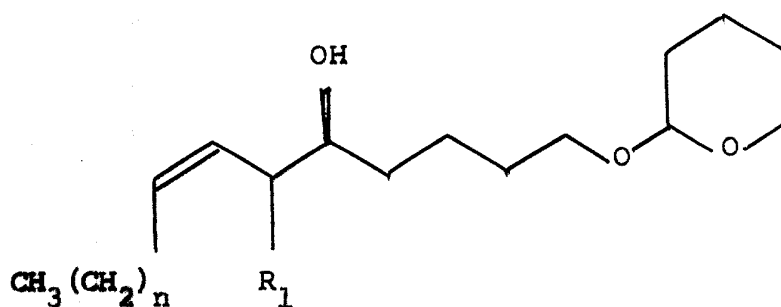
para formar um epóxido etilénico da fórmula



fazer-se reagir o epóxido com um tiol da fórmula



para formar um derivado tiol de fórmula

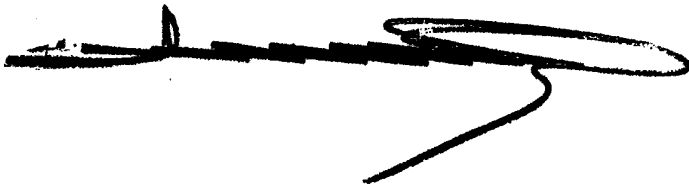


e fazer-se reagir o produto formado com um ácido em que R₁ é escolhido do grupo que consiste em tiofenilo, tiofenilo substituído, fenil-sulfonilo, fenil-sulfonilo substituído, cisteínilo, glutatiónilo, cisteínil-glicínilo, tio-alquilamino, tio-alquilamino substituído, sulfonil-alquilamino, sulfonilalquilamino substituído, tio-alquilacetamido, tio-acetamido substituído, sulfonil-alquilacetamido, e sulfonil-alquilacetamido substituído;

R₃ é seleccionado de entre hidróxi, carbonilo, oximino, e alquile inferior;

R₂ é alquil inferior-hidroxi, alquil inferior-tetra-hidropirani-
loxi, alquil inferior-carboxi e alqueno inferior;

e n é um número inteiro entre 10 e 14.


- 2ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o agente redutor ser hidreto de di-iso-butilalumínio.

- 3ª -

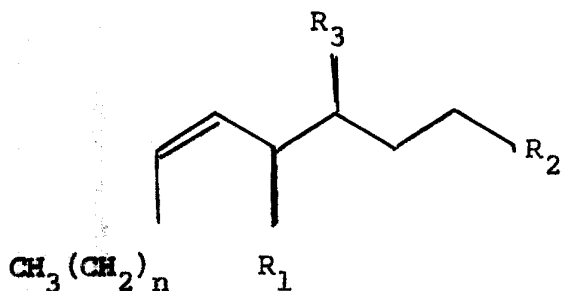
Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o primeiro agente oxidante ser reagente de Sharpless e o segundo agente oxidante ser complexo de Piridina.

- 4ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o reagente de Wittig ser brometo de dodecil-trifenil-fosfônio.

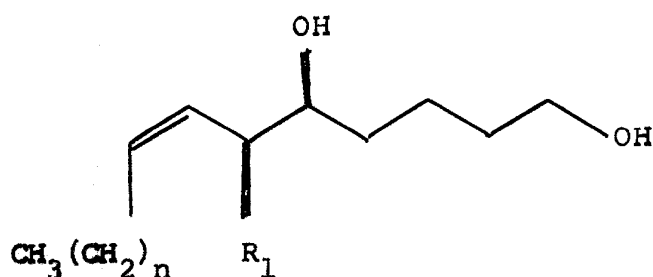
- 5ª -

Processo para a preparação de um composto de fórmula

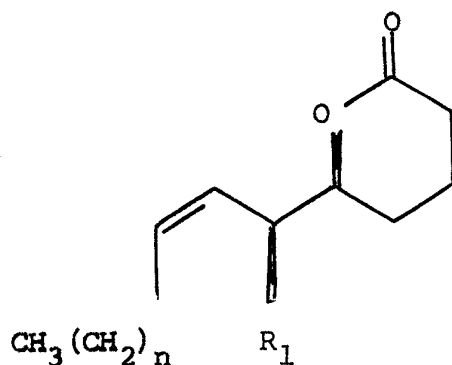


em que R_2 é $-\text{CH}_2\text{COOH}$ ou $-\text{CH}_2\text{COO}^-$; R_3 é hidróxi e R_1 é escolhido no grupo que consiste em tiofenilo, tiofenilo substituído, fenil-sulfonilo substituído, fenil-sulfonilo, cisteí-

nilo, glutationilo, cisteínil-glicinilo, tio-alquilamino, tio-alquilamino substituído, sulfonilalquilamino, sulfonilalquilamino substituído, tioalquilacetamido, tio-acetamido substituído, sulfonil-alquilacetamido e sulfonil-alquilacetamido; caracterizado por se fazer reagir um composto da fórmula



com carbonato de prata para formar uma lactona da fórmula



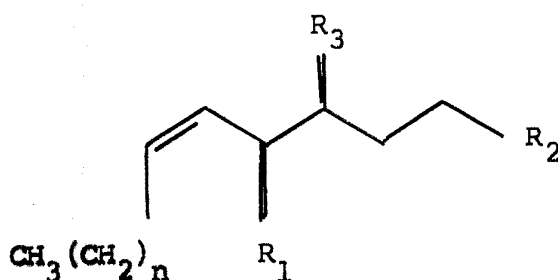
fazer-se reagir a lactona com uma base para formar o sal correspondente e tratar-se o sal com ácido para formar o ácido livre.

- 62 -

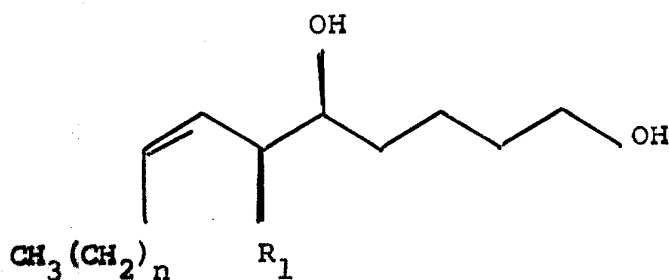
Processo de acordo com a reivindicação 5, caracterizado por a base ser hidróxido de sódio e o ácido ser ácido clorídrico.

- 58 -

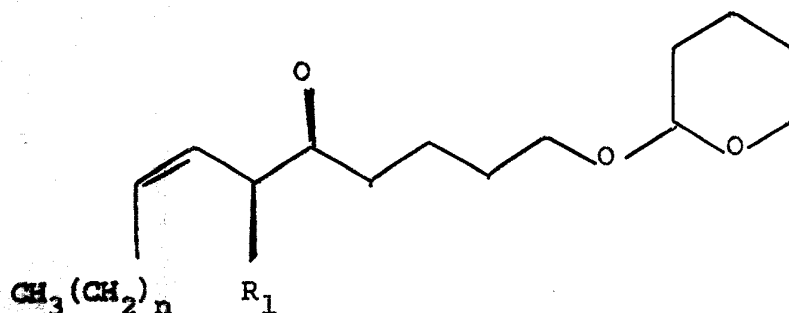
Processo para a preparação de um composto de fórmula



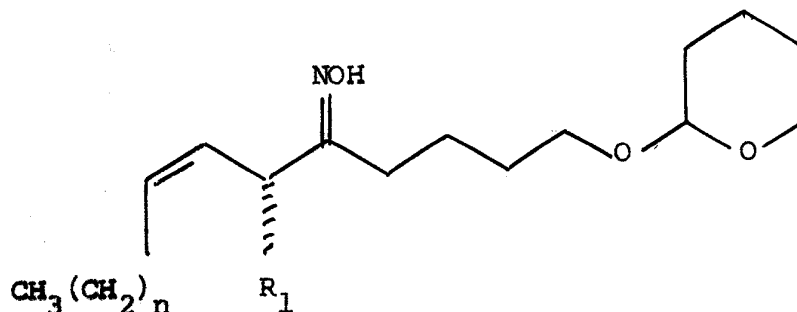
em que R_1 é escolhido no grupo que consiste em tiofenilo, tiofenilo substituído, fenil-sulfonilo, fenil-sulfonilo substituído, cisteínilo, glutatiónilo. cisteínil-glicínilo tio-alquilamino, tio-alquilamino substituído, sulfonilalquilamino, sulfonilalquilamino substituído, tio-alquilacetamido, tio-acetamido substituído, sulfonilalquilacetamido e sulfonilalquilacetamido substituído;
 R_3 é oximino e R_2 é tetra-hidropiranióxi e alquil inferior-hidróxi, caracterizado por se fazer reagir um composto de fórmula



com um agente oxidante para formar uma cetona da fórmula



fazer-se reagir a cetona com cloridrato de hidroxilamino para se formar uma oxima da fórmula



e tratar-se o produto formado com ácido.

- 8ª -

Processo de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por o ácido ser o ácido p-tolueno-sulfônico.

- 9ª -

Processo de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por o agente oxidante ser cloreto de oxalilo/DMSO.

- 10ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_1 ser tio-alquil inferior-acetamido, R_2 ser alquil-inferior-hidroxi, R_3 ser hidróxi e n ser 11.

- 11ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R, ser glutationilo, R_2 ser alquil in-

- 60 -



ferior-tetra-hidropirani-loxi, R_3 ser hidróxi e n ser 11.

- 12ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_1 ser cisteínilo, R_2 ser alquil inferior-hidróxi, R_3 ser hidróxi e n ser 11.

- 13ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_1 ser tio-alquil inferior-acetamido, R_2 ser alquil inferior-hidroxil, R_3 ser oximino e n ser 11.

- 14ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_1 ser para-clorotiofenilo.

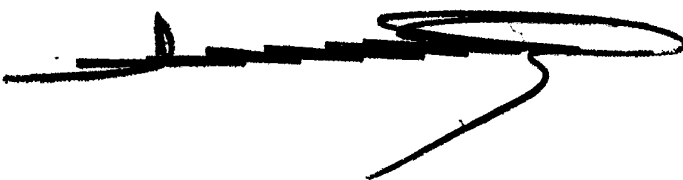
- 15ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_1 ser $\text{CH}_2\text{CH}(\text{COOCH}_3)\text{NHCOCH}_3$.

- 16ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_2 ser 2-hidroxil-etil.

- 61 -



- 17ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_2 ser (2-tetra-hidropirani-oxi)etilo.

- 18ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por R_3 ser hidróxi.

- 19ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por N ser 11 ou 13.

- 20ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se obter N-acetil-S-6-[5S,6R]-1,5-di-hidroxi-7(Z)-eicosenil-(R)-cisteinato de metilo.

- 21ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se obter o di-hidrato de 5,6-[5S,6R]-5-hidroxi-1-(2-tetra-hidropirani-oxi)-7(Z)-eicosenil/glutathiona-trietil-amônio.

- 22ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se obter o hemi-hidrato de (5S,6R)-6-[S-(R)-cisteínil]-7(Z)-eicosen-1,5-diol.

- 62 -

- 23ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se obter N-acetil-S-6- $\angle$ 5S,6R)-1-hidroxi-5-oximino-7(Z)-eicosenil-7-(R)-cisteinato de metilo.

- 24ª -

Processo para a preparação de uma composição farmacêutica caracterizado por se incorporar como ingrediente activo uma quantidade anti-inflamatória de um composto de fórmula I quando preparado de acordo com as reivindicações 1, 5 e 7 em associação com um veículo farmacêuticamente aceitável.

A requerente declara que o primeiro pedido desta patente foi depositado nos Estados Unidos da América em 29 de Maio de 1986, sob o número de série 867,995.

Lisboa, 29 de Maio de 1987

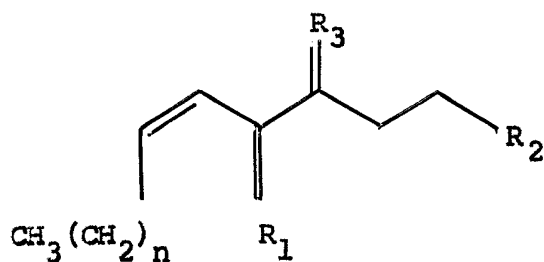
O APLICANTE DA PATENTE INDUSTRIAL



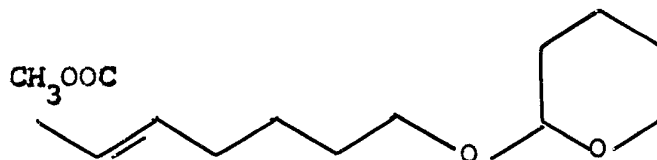
RESUMO

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE TIOÉTERES RELACIONADOS COM LEUCOTRIENO SUBSTITUÍDO, INIBIDORES DE FOSFOLIPASE A₂ E COMPOSIÇÕES FARMACEUTICAS QUE OS CONTÊM"

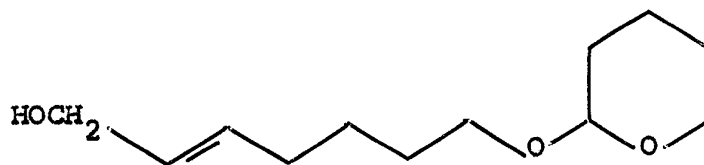
A invenção refere-se a um processo para a preparação de um composto de fórmula



que compreende fazer-se reagir um composto da fórmula



com um agente redutor para formar um álcool alílico da fórmula



fazer-se reagir o álcool alílico com um primeiro agente oxidante para formar o álcool trans epoxi da fórmula