INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) *Número de Publicação:* **PT 792875 E**

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07D255/02 A C07D257/02 B
C07D273/02 B C07D273/08 B
C07D273/00 B C07D285/00 B

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

(22) *Data de depósito:* 1997.02.26

(30) *Prioridade:* 1996.02.27 US 12365
1996.02.27 US 12375
1996.08.30 US 25080

(43) *Data de publicação do pedido:*
1997.09.03

(45) *Data e BPI da concessão:*
2001.05.09

(73) *Titular(es):*
ELI LILLY AND COMPANY
LILLY CORPORATE CENTER INDIANAPOLIS, IN 46285 US

WAYNE STATE UNIVERSITY
4012 FACULTY ADMINISTRATION BUILDING DETROIT, MI 48202
US

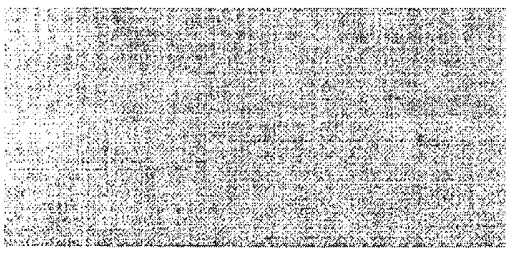
(72) *Inventor(es):*
CHUAN SHIN US
JULIAN STANLEY KROIN US
BRYAN HURST NORMAN US

(74) *Mandatário(s):*
ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VITOR CORDON, N° 14 - 3° 1200 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* DERIVADOS DA CRIPTOFICINA E A SUA UTILIZAÇÃO COMO AGENTES ANTI-MICROTÚBULOS

(57) *Resumo:*

DERIVADOS DA CRIPTOFICINA E A SUA UTILIZAÇÃO COMO AGENTES ANTI-MICROTÚBULOS



DESCRIÇÃO

"DERIVADOS DA CRIPTOFICINA E A SUA UTILIZAÇÃO COMO AGENTES ANTI-MICROTÚBULOS"

Este invento relaciona-se com novos compostos derivados da criptoficina, úteis como agentes anti-microtúbulos.

As doenças neoplásicas, caracterizadas pela proliferação de células não sujeitas ao controle normal do crescimento celular, são a maior causa de morte em indivíduos humanos e outros mamíferos. A experiência clínica sobre a quimioterapia do cancro demonstrou que eram desejáveis novos e mais efectivos fármacos para o tratamento de tais doenças. Tal experiência clínica demonstrou também que, fármacos que desfaçam o sistema de microtúbulos do citoesqueleto podem ser efectivo na inibição da proliferação das células neoplásicas.

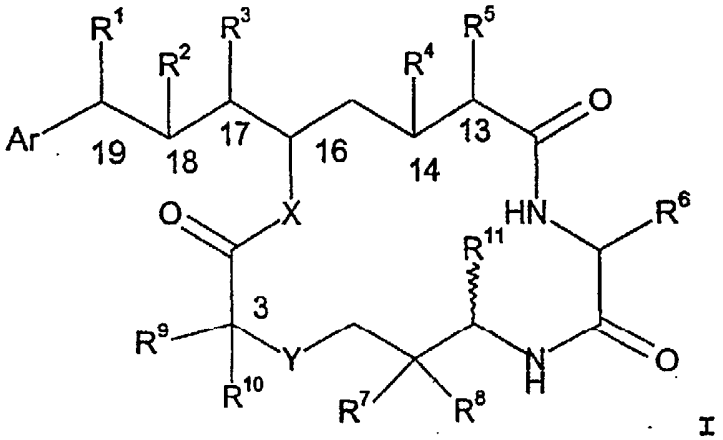
O sistema microtubular das células eucariotas é um componente maioritário do citoesqueleto e é um sistema de formação dinâmicas; isto é, os heterodímeros da tubulina são polimerizados para formar microtúbulos. Os microtúbulos têm um papel central na regulação da arquitectura das células, seu metabolismo e divisão. O estado dinâmico dos microtúbulos é crítico para a sua função normal. No que diz respeito à divisão celular, a tubulina é polimerizada em microtúbulos que formam o eixo mitótico. Os microtúbulos são depois despolimerizados, quando a utilidade do eixo mitótico foi cumprida. Deste modo, os agentes que perturbam a polimerização ou despolimerização dos microtúbulos, e desse modo inibem a mitose, compreendem os mais efectivos agentes da quimioterapia do cancro em uso clínico.

Adicionalmente, tais agentes que têm a propriedade de interferir com o sistema de microtúbulos, podem ser úteis para fins de investigação.

Certos derivados de criptoficina são conhecidos da literatura nas Patentes U.S. N° 4.946.835, 4.845.085, 4.845.086 e 4.868.208; contudo, compostos contendo uma maior estabilidade metabólica e uma maior duração de acção, são desejáveis para a maioria dos fins farmacêuticos. Os requerentes descobriram agora novos compostos que apresentam a tal desejada maior estabilidade metabólica, assim como a capacidade para desagregarem o sistema de microtúbulos. Tais compostos podem ser preparados utilizando métodos totalmente sintéticos e são assim bem apropriados para desenvolvimento como agentes farmaceuticamente úteis.

WO 95/17093 divulga derivados da criptoficina, úteis para a inibição da proliferação de células hiper-proliferativas com fenótipos resistentes aos fármacos e para o tratamento da neoplasia.

O invento presentemente reivindicado proporciona novos compostos derivados da criptoficina da Fórmula I



I

em que

Ar é seleccionado de um grupo consistindo de fenilo e um grupo aromático substituído simples;

R^1 é seleccionado de um grupo consistindo de halogénio, SH, amino, monoalquilamino, dialquilamino, trialquilamónio, sulfato ou fosfato;

R^2 é OH ou SH; ou

R^1 e R^2 podem ser ligados juntamente com os grupos C_{18} ou C_{19} para formarem um anel epóxido, um anel aziridina, um anel epi-sulfureto, um anel sulfato ou um anel monoalquilfosfato; ou

R^1 e R^2 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{18} e C_{19};

R^3 é um grupo alquilo inferior;

R^4 é H;

R^5 é H;

R^4 e R^5 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{13} e C_{14};

R^6 é seleccionado de um grupo consistindo de benzilo, hidroxi-benzilo, halo-hidroxibenzilo, di-halo-hidroxibenzilo e benzilo substituído em que um dos substituintes é um átomo de halogénio e um dos substituintes é um grupo OR^{12} em que é um alquilo inferior;

R^7 é H ou um grupo alquilo inferior;

R^8 é H ou um grupo alquilo inferior;

R^7 e R^8 podem ser opcionalmente juntos para formar um anel ciclopropilo;

R^9 é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo inferior, um alquil (C_1-C_3)-arilo e arilo;

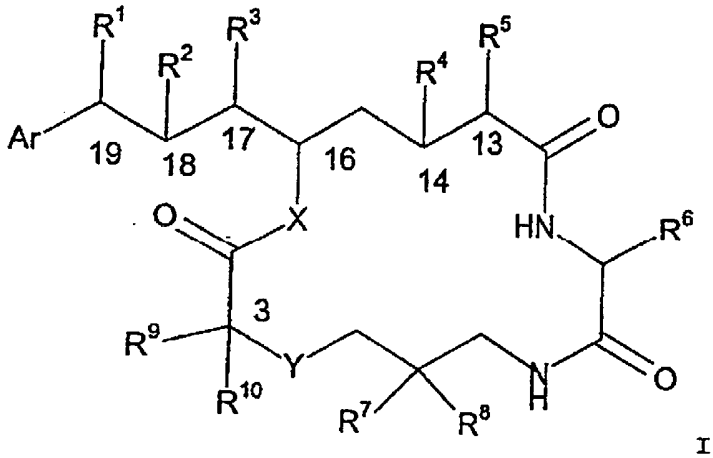
R^{10} é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo inferior, um alquil (C_1-C_3)-arilo e arilo;

R^{11} é seleccionado de um grupo consistindo de um grupo alquilo de simples, fenilo substituído, benzilo, e benzilo substituído;

X é O, NH ou alquilamino;

Y é C, O, NH, S, SO, SO_2, ou alquilamino; ou um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

O invento presentemente reivindicado proporciona novos compostos derivados da criptoficina da Fórmula III



III

em que:

Ar é seleccionado de um grupo consistindo de fenilo e um grupo aromático substituído simples;

R^1 é seleccionado de um grupo consistindo de halogénio, SH, amino, monoalquilamino, dialquilamino, trialquilamónio, sulfato ou fosfato;

R^2 é OH ou SH; ou

R^1 e R^2 podem ser ligados juntamente com os grupos C_{18} ou C_{19} para formarem um anel epóxido, um anel aziridina, um anel epi-sulfureto, um anel sulfato ou um anel monoalquilfosfato; ou

R^1 e R^2 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{18} e C_{19};

R^3 é um grupo alquilo inferior;

R^4 é H;

R^5 é H;

R^4 e R^5 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{13} e C_{14};

R^6 é seleccionado de um grupo consistindo de benzilo, hidroxibenzilo, halo-hidroxibenzilo, di-halo-hidroxibenzilobenzilo e benzilo substituído em que um dos substituintes é um átomo de halogénio e um dos substituintes é um grupo OR^{12} em que é um alquilo inferior;

R^7 é H ou um grupo alquilo inferior;

R^8 é H ou um grupo alquilo inferior;

R^7 e R^8 podem ser opcionalmente juntos para formar um anel ciclopropilo;

R^9 é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo inferior, um alquil (C_1-C_3)-arilo e arilo;

R^{10} é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo inferior, um alquil (C_1-C_3)-arilo e arilo;

X é O, NH ou alquilamino;

Y é C, O, NH, S, SO, SO_2, ou alquilamino; ou

um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

O presente invento proporciona formulações farmacêuticas, contendo compostos para serem utilizados num método para desagregação de um sistema de microtúbulos, pela utilização de uma quantidade efectiva de um composto da Fórmula I ou Fórmula III, compostos para utilização num método para inibição da proliferação de células de mamíferos, compreendendo uma quantidade efectiva de um composto da Fórmula I ou Fórmula III e compostos para utilização num método para tratamento da neoplasia num mamífero, compreendendo a administração de uma quantidade efectiva de um composto da Fórmula I ou Fórmula III.

Como é aqui utilizado, o termo "alquilo simples" será referido a alquilos de C_1-C_7 em que a cadeia do alquilo pode ser saturada, insaturada, ramificada ou linear. Exemplos incluem metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, propenilo, sec-butilo, n-pentilo, iso-butilo, terc-butilo, sec-butilo, grupos butilo metilados, pentilo, terc-pentilo, sec-pentilo e grupos pentilo metilados.

Como é aqui utilizado, o termo "fenilo substituído" será referido como um grupo fenilo com de um até três substituintes que podem ser seleccionados independentemente de um grupo consistindo em alquilos simples, Cl, Br, F, e I.

Como é aqui utilizado, o termo "benzilo substituído" será referido como um grupo benzilo com de um até três substituintes que podem ser seleccionados independentemente de um grupo consistindo em alquilos simples, Cl, Br, F, e I.

Como é aqui utilizado, o termo "grupo alquilo inferior" significa um grupo alquilo de 1 a 5 átomos de carbono e inclui cadeias de hidrocarbonetos lineares ou ramificadas que incluem, por exemplo, metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, terc-butilo, grupos butilo metilados, pentilo, terc-pentilo, sec-pentilo e grupos pentilo metilados. Como é aqui utilizado, o termo "alqueno substituido alilicamente" significa qualquer alqueno contendo uma cadeia de desde um a sete átomos de carbono que nela contenha uma substituinte alquilo.

Como é aqui utilizado, o termo "anel epóxido" significa um anel de três átomos cuja estrutura básica compreende dois átomos de carbono e um átomo de oxigénio. Como é aqui utilizado, o termo "anel aziridina" significa um

anel de três átomos cuja estrutura básica compreende dois átomos de carbono e um átomo de azoto. Como é aqui utilizado, o termo "anel sulfureto" significa um anel de três átomos cuja estrutura básica compreende dois átomos de carbono e um átomo de enxofre. Como é aqui utilizado, o termo "anel epi-sulfureto" significa um anel de três átomos cuja estrutura básica compreende dois átomos de carbono e um átomo de enxofre. Como é aqui utilizado, o termo "grupo sulfato" significa um anel de cinco átomos consistindo duma cuja estrutura básica de carbono-carbono-oxigénio-enxofre-oxigénio e dois átomos adicionais de oxigénio, ligados ao átomo de enxofre. Como é aqui utilizado, o termo "anel monoalquilfosfato" significa um anel de cinco átomos consistindo duma estrutura básica de carbono-carbono-oxigénio-fósforo-oxigénio e dois átomos adicionais de oxigénio ligados ao átomo de fósforo, um dos quais possui um grupo alquilo inferior.

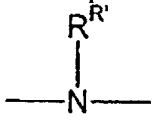
Como é aqui utilizado, o termo "grupo aromático substituído simples" refere-se a um grupo fenílico substituído por um único grupo, seleccionado de um grupo consistindo de halogénio e um alquilo inferior.

Como é aqui utilizado, o termo "arilo" significa um grupo arilo ou naftilo.

O termo "alquil C_1-C_3-arilo " representa um substituinte alquil (C_1-C_3)-arilo em que o grupo alquilo é linear, tal como benzilo, feniletilo, 3-fenilpropilo ou fenil-t-butilo; ou ramificado. O bloco alquilarilo está ligado à cadeia fundamental através do grupo alquilo.

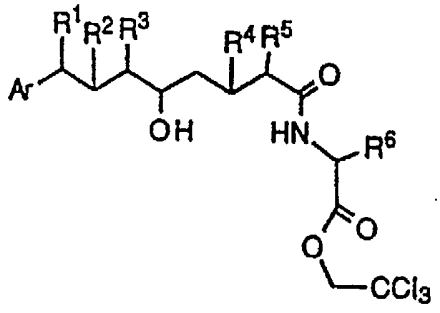
Como é aqui utilizado, o termo "alquilamino" tem o significado usual. Assim, a frase refere-se a ligações N-$R^{R'}$ em que $R^{R'}$ é um alquilo C_1-C_3. Quando o grupo alquilamino se localiza no interior de um anel, como no caso

em que "X" e/ou "Y" é um alquilamino, então tal grupo alquilamino pode ser representado pelo esquema:



Como é aqui utilizado, o termo "halogénio" refere-se àqueles membros do grupo da Tabela Periódica conhecidos historicamente como halogénios. Os métodos de halogenação incluem a adição de ácidos halídricos, substituição a temperaturas elevadas, foto-halogenação, etc., sendo tais métodos bem conhecidos pelos especialistas na arte.

Como é aqui utilizado, o termo "cripto A-B-OCH_2CCl_3" ou "ester de tricloroetilo de criptoficina - A-B" significará um composto da fórmula:



Como é aqui utilizado, o termo "mamífero" será atribuído à classe dos Mamíferos dos vertebrados superiores. O termo "mamífero" inclui a espécie humana. O termo "tratamento", tal como é utilizado aqui, inclui a profilaxia da condição médica referida ou melhoramento ou eliminação de tal condição, logo que ela é detectada. As criptoficinas aqui reivindicadas podem ser úteis para fins de medicina veterinária, tal como para o tratamento de um paciente humano.

Algumas das características preferidas deste invento são mostradas na tabela seguinte, de que as características podem ser seleccionadas independentemente, para proporcionar os modelos de realização preferidos deste invento.

A) R^8 é etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo ou isopentilo;

B) R^7 é etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo ou isopentilo;

C) R^7 é H, R^8 é metilo, R^3 é metilo e X e Y não são os dois O;

D) R^3 é etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, pentilo ou isopentilo;

E) R^9 é metilo, etilo, propilo, butilo, isobutilo, pentilo ou isopentilo;

F) R^{10} é metilo, etilo, propilo, butilo, isobutilo, pentilo ou isopentilo;

G) um derivado da criptoficina em que, pelo menos um dos grupos seleccionado do grupo consistindo de C-3, C-6, C-7, C-16, C-17 e C-18 tem estereoquímica R (de acordo com a numeração descrita na Reivindicação 1, ver abaixo);

H) um derivado da criptoficina em que, pelo menos um dos grupos seleccionado do grupo consistindo de C-3, C-6, C-7, C-10, C-16, C-17 e C-18 tem estereoquímica S (de acordo com a numeração descrita na Reivindicação 1, ver abaixo);

I) Ar é fenilo com um substituinte seleccionado de um grupo consistindo de hidrogénio, halogénio e alquilo simples;

J) Um composto em que o substituinte C-7 tem uma configuração R;

K) Um composto em que o substituinte C-7 tem uma configuração S;

L) R^7 e R^8 são os dois H;

M) R^7 e R^8 são, cada um deles, seleccionado de hidrogénio ou OH;

N) R^{11} é um alquilo simples;

O) R é seleccionado de um grupo consistindo de metilo, etilo, n-propilo e fenilo;

P) R^1 e R^2 formam um anel epóxido;

Q) X e Y são ambos O;

R) R^4 e R^5 formam uma ligação dupla;

S) R^6 é um benzilo substituído em que um substituinte é um halogénio e outro é um grupo OR^{12} em que R^{12} é um alquilo inferior;

T) Um composto da Fórmula I é utilizado para a desagregação de um sistema de microtobulina;

U) Um composto da Fórmula I é utilizado como agente anti-neoplásico;

V) Um composto da Fórmula III é utilizado para o tratamento de cancro num mamífero;

W) Um composto em que Y é seleccionado de um grupo consistindo de O, NH, S, SO e SO_2;

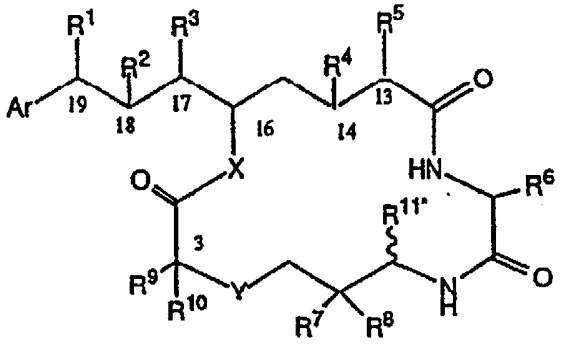
X) Um composto em que Y é C, R^7, R^8, R^9 e R^{10} são, cada um deles hidrogénio; e R^1 e R^2 formam um epóxido;

Y) Y é O ou S;

Z) Y é seleccionado de S, SO e SO_2; e

Z1) R^{10} é hidrogénio;

Exemplos de alguns dos compostos preferidos neste invento, incluem:



Em que Ar é fenilo, R^1 e R^2 são ligados para formar um anel triangular derivado de epóxido; R^3 é metilo, R^4 e R^5 são juntos para formar uma ligação dupla, R^6 é um clorometoxibenzilo, R^{10} é hidrogénio e as variáveis remanescentes são como ilustrado na seguinte tabela:

X	Y	R^9	R^7	R^8	R^{11*}
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	hidrogénio
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	metilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	benzilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	fenilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	p-clorofenilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	etilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	m-metil-benzilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	p-metil-fenilo
O	O	isobutilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		hidrogénio
O	O	isobutilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		metilo
O	O	benzilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		benzilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	hidrogénio
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	metilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	benzilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	fenilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	p-cloro-fenilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	etilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	m-metil-benzilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	p-metil-fenilo

X	Y	R^9	R^7	R^8	R^{11*}
O	C	benzilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		hidrogénio
O	C	benzilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		metilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	hidrogénio
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	metilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	benzilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	fenilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	p-cloro-fenilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	etilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	m-metil-benzilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	p-metil-fenilo
O	C	isobutilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		hidrogénio
O	C	isobutilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		metilo
NH	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	hidrogénio
NH	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	metilo
NCH_3	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	benzilo
NH	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	fenilo
NH	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	p-cloro-fenilo
NH	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	etilo
NH	O	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	m-metil-benzilo
NH	C	isobutilo	hidrogénio	hidrogénio	p-metil-fenilo
NH	O	isobutilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		hidrogénio

X	Y	R^9	R^7	R^8	R^{11*}
NH	C	isobutilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		metilo
NH	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	hidrogénio
O	SO	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	metilo
O	S	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	benzilo
O	SO_2	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	fenilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	p-cloro-fenilo
O	NH	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	etilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	m-metil-benzilo
O	C	benzilo	hidrogénio	hidrogénio	p-metil-fenilo
O	C	benzilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		hidrogénio
O	C	benzilo	R^7 e R^8 formam um ciclopropilo		metilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	hidrogénio
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	metilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	benzilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	fenilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	p-clorofenilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	etilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	m-metil-benzilo
O	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	p-metil-fenilo
O	O	isobutilo	hidrogénio	metilo	hidrogénio
O	O	isobutilo	hidrogénio	metilo	metilo
O	O	benzilo	metilo	hidrogénio	benzilo
O	C	benzilo	metilo	metilo	hidrogénio
O	C	benzilo	metilo	hidrogénio	metilo

X	Y	R^9	R^7	R^8	R^{11*}
O	C	benzilo	hidrogénio	metilo	benzilo
O	C	benzilo	metilo	hidrogénio	fenilo
O	C	benzilo	metilo	hidrogénio	p-cloro-fenilo
O	C	benzilo	metilo	metilo	etilo
O	C	benzilo	metilo	hidrogénio	m-metil-benzilo
O	C	benzilo	hidrogénio	metilo	p-metil-fenilo
O	C	benzilo	metilo	metilo	hidrogénio
O	C	benzilo	metilo	metilo	metilo
O	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	hidrogénio
O	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	metilo
O	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	benzilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	metilo	fenilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	metilo	p-cloro-fenilo
O	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	etilo
O	C	isobutilo	hidrogénio	metilo	m-metil-benzilo
O	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	p-metil-fenilo
O	C	isobutilo	metilo	metilo	hidrogénio
O	C	isobutilo	metilo	metilo	metilo
NH	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	hidrogénio
NH	C	isobutilo	hidrogénio	metilo	metilo
NCH_3	O	isobutilo	hidrogénio	metilo	benzilo
NH	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	fenilo
NH	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	p-cloro-fenilo
NH	C	isobutilo	metilo	hidrogénio	etilo
NH	O	isobutilo	metilo	hidrogénio	m-metil-benzilo
NH	C	isobutilo	hidrogénio	metilo	p-metil-fenilo
NH	O	isobutilo	metilo	metilo	hidrogénio

X	Y	R^9	R^7	R^8	R^{11*}
NH	C	isobutilo	metilo	metilo	metilo
NH	C	benzilo	metilo	hidrogénio	hidrogénio
O	SO	benzilo	hidrogénio	metilo	metilo
O	S	benzilo	hidrogénio	metilo	benzilo
O	SO_2	benzilo	metilo	hidrogénio	fenilo
O	C	benzilo	hidrogénio	metilo	p-clorofenilo
O	NH	benzilo	hidrogénio	metilo	etilo
O	C	benzilo	hidrogénio	metilo	m-metil-benzilo
O	C	benzilo	hidrogénio	metilo	p-metil-benzilo
O	C	benzilo	metilo	metilo	hidrogénio
O	C	benzilo	metilo	metilo	metilo

O presente invento proporciona compostos para utilização em métodos para aliviar condições patológicas causadas pela proliferação de células de mamíferos, compreendendo a administração a um paciente de uma quantidade efectiva de uma composição farmacêutica ou veterinária, descrita aqui para inibir a proliferação das células. Num modelo de realização preferido deste invento, o método compreende ainda a administração ao paciente de, pelo menos, uma terapia adicional dirigida ao alívio da condição patológica. Num modelo de realização preferido deste invento, a condição patológica é caracterizada pela formação de neoplasmas. Num modelo de realização preferido deste invento, os neoplasmas são seleccionados de um grupo consistindo de células mamárias, células pequenas dos pulmões, células não-pequenas dos pulmões, colorectais, da leucemia, do melanoma, do adenocarcinoma pancreático, do sistema nervoso central (SNC), dos ovários, da próstata, do sarcoma dos tecidos moles ou do osso, da cabeça e pescoço, gástricas o que inclui o pâncreas e o esófago, do estômago, do mielanoma, da bexiga, renais, neuroendócrinas o que inclui neoplasmas da tiroide e da não doença de Hodgkin e da doença de Hodgkin.

Como é aqui utilizado, "neoplástico" refere-se a um neoplasma, que é um crescimento anormal, ocorrendo tal crescimento devido a uma proliferação de células que não estão sujeitas às limitações normais de crescimento. Como é aqui utilizado, "agente anti-neoplástico" é qualquer composto, mistura, co-mistura ou mescla que inibe, elimina, retarda ou faz retardar o fenótipo neoplástico da célula.

Agentes anti-mitóticos ou tóxicos podem ser classificados em três grupos com base no seu mecanismo molecular de acção. O primeiro grupo consiste de agentes, incluindo colchinina e colcemida, que inibem a formação dos microtúbulos devido a sequestrarem a tubulina. O segundo grupo, que inclui a vinblastina e a vincristina, induz a formação dos agregados para-cristalinos da tubulina: a vinblastina e a vincristina são fármacos anti-cancro bem conhecidos: a sua acção de desagregar os eixos mitóticos dos micro-túbulos inibe de preferência as células hiper-proliferativas. O terceiro grupo consiste de agentes, que incluem o taxol, que promovem a polimerização da tubulina e assim, estabilizam os microtúbulos.

A manifestação por muitas células tumorais, da resistência a fármacos e do fenótipo da resistência a multi-fármacos e o modo de acção, clinicamente provado, de agentes anti-microtúbulos contra células neoplásicas, necessita do desenvolvimento de agentes anti-microtúbulos, que sejam citotóxicos contra células neoplásicas não resistentes a fármacos, assim como agentes citotóxicos contra células neoplásicas com o fenótipo da resistência a fármacos.

A quimioterapia, operações cirúrgicas, terapia por radiação, terapia por modificadores de resposta biológica e imunoterapia, são métodos

correntemente utilizados no tratamento do cancro. Cada método de terapia tem as suas indicações específicas, que são conhecidas dos especialistas na arte, e um ou todos estes métodos podem ser empregues numa tentativa de se conseguir a destruição total das células neoplásicas. Adicionalmente, a quimioterapia de combinação, quimioterapias utilizando composto da Fórmula I e III, em combinação com outros agentes anti-neoplásicos, é também proporcionada pelo presente invento já que a terapia de combinação é geralmente mais efectiva que a utilização de um simples agente anti-neoplásico. Assim, um outro aspecto do presente invento proporciona composições contendo uma quantidade terapeuticamente efectiva de, pelo menos, um composto da Fórmula I ou Fórmula III, incluindo os seus sais de adição não tóxicos, os quais são utilizados para proporcionar os benefícios acima descritos.

Tais composições podem ser proporcionadas juntamente com veículos, diluentes, adjuvantes e excipientes, líquidos, géis ou sólidos, fisiologicamente toleráveis. Tais veículos, adjuvantes e excipientes podem ser encontrados na *U.S. Pharmacopeia*, Vol. **XXII** e no National Formulary, Vol **XVII**, *U.S. Pharmacopeia Convention*, Inc. Rockville, MD (1989).

Modos adicionais de tratamento são proporcionados na AHFS Drug Information, 1993 e. Pelo "American Hospital Formulary Service", pag. 522-660. Cada uma destas referências é bem conhecida e facilmente acessível ao especialista treinado.

O presente invento inclui ainda a directiva de que as composições farmacêuticas empregues para tratamento de doenças neoplásicas, contenham pelo menos um composto da Fórmula I ou Fórmula III e, pelo menos, um agente adicional neoplásico. Os agentes anti-neoplásicos, que podem ser utilizados em combinação com os compostos da Fórmula I ou Fórmula III, incluem aqueles

descritos no Merck Index, 11, pag. 16-17, Merck & Co., Inc. (1989). O Merck Index é reconhecido internacionalmente e facilmente acessível aos especialistas na arte.

Num modelo de realização adicional deste invento, os agentes anti-neoplásicos podem ser anti-metabolitos que podem incluir aqueles seleccionados do grupo consistindo de metotrexato, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, citosina, arabionosido, hidroxiureia e 2-clorodesoxiadenosina. Noutro modelo de realização do presente invento, os agentes anti-neoplásicos escolhidos são agentes alquilantes, que podem incluir aqueles seleccionados de um grupo consistindo em ciclofosfamida, mefalan, busulfan, paraplatina, cloroambucil e mostarda de azoto. Noutro modelo de realização, os agentes anti-neoplásicos são alcalóides de plantas, que podem incluir aqueles seleccionados de um grupo consistindo de vincristina, vinblastina, taxol e etoposido. Num outro modelo de realização, os agentes anti-neoplásicos contemplados são antibióticos que podem incluir aqueles seleccionados de um grupo consistindo de doxorubicina, daunorubicina, mitomicina C, e bleomicina. Num outro modelo de realização, os agentes anti-neoplásicos contemplados são hormonas que podem incluir aqueles seleccionadas de um grupo consistindo de calusterona, diomostavolona, propionato, epitiostanol, mepitiostano, testolactona, tamoxifen, fosfato de poliestradiol, acetato de megesterol, flutamida, nilutamida e trilotano.

Num outro modelo de realização, os agentes anti-neoplásicos contemplados incluem enzimas que podem incluir aqueles seleccionadas de um grupo consistindo de derivados de L-asparginase e aminoacridina tais como, mas não limitados a amsacridina. Agentes anti-neoplásicos adicionais incluem aqueles proporcionados por Skeel, Roland T., "Antineoplastic Drugs and Biological Response Modifier: Classification, Use and Toxicity of Clinical Useful Agents" Handbook of Cancer Chemotherapy (3rd ed.), Little Brown & Co. (1991).

Estes compostos e composições podem ser administrados a mamíferos para utilização veterinária. Por exemplo, animais domésticos podem ser tratados duma maneira muito semelhante ao paciente humano num hospital. Em geral, a dosagem requerida para ter efeito terapêutico irá variar de acordo com o tipo de utilização, modo de administração, assim como os requerimentos particulares de cada hospedeiro individual. Tipicamente, os doseamentos irão variar entre cerca de 0,001 a 1000 mg/kg, e mais usualmente, entre 0,01 a 10 mg/kg do peso do corpo do hospedeiro. Alternativamente, as dosagens incluídas nestas gamas, podem ser administradas por infusão contínua durante períodos de tempo longos, usualmente excedendo 24 horas, até que os benefícios terapêuticos desejados sejam obtidos. Na verdade, a dosagem dos fármacos, assim como a sua via de administração, deve ser seleccionada na base da sua efectividade relativa, toxicidade relativa, características de crescimento do tumor e efeito dos compostos da Fórmula I e Fórmula III no ciclo celular, farmacocinética dos fármacos, e idade, sexo, condição física dos pacientes e seus tratamentos anteriores.

O composto da Fórmula I ou da Fórmula III, com ou sem agentes anti-neoplásicos adicionais, pode ser formulado em composições terapêuticas na sua forma natural ou no seus sais. Sais não tóxicos farmaceuticamente aceitáveis, incluem sais de bases de adição, os quais podem ser derivados de bases inorgânicas tais como, por exemplo, hidróxidos de sódio, potássio, amónio, cálcio ou férricos, e tais bases orgânicas como a isopropilamina, trimetilamina, 2-etilamina, 2-etilamino-etanol, histidina, procaína e semelhantes. Tais sais podem ser também formados, como sais de ácidos de adição com quaisquer grupos catiónicos livres e serão geralmente formados com ácidos inorgânicos como, por exemplo, os ácidos clorídrico ou fosfórico, ou ácidos orgânicos como os ácidos acético, oxálico, tartárico, mandélico e semelhantes. Excipientes adicionais que

favoreçam o invento são encontrados pelo especialista especializado em, por exemplo, *U.S. Pharmacopeia*.

A aplicabilidade de veículos específicos, para inclusão numa dada composição terapêutica, depende da via de administração preferida. Por exemplo, as composições anti-neoplásicas podem ser formuladas para formulação oral. Tais composições são preparadas tipicamente como soluções líquidas, ou suspensões, ou em formas sólidas. As formulações orais incluem usualmente tais aditivos ou aglutinantes, enchimentos, veículos, conservantes, agentes estabilizantes, emulsificantes, tampões, manitol, lactose, amido, estearato de magnésio, sacarinato de sódio, celulose, carbonato de magnésio e semelhantes. Estas composições podem tomar a forma de soluções, suspensões, comprimidos, pílulas, cápsulas, formulações de libertação controlada, ou pós e contém tipicamente de 1% a 95% do ingrediente activo. Mais preferivelmente, a composição contém de cerca de 2% a cerca de 70% do ingrediente activo.

As composições do presente invento podem ser preparadas como injectáveis, quer como soluções líquidas, suspensões ou emulsões; formas sólidas adequadas para dissolução ou suspensão num líquido, antes da injecção. Tais injectáveis podem ser administradas subcutaneamente, intravenosamente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intratecal ou intrapleuralmente. O ingrediente ou ingredientes activos são muitas vezes misturados com diluentes, veículos, ou excipientes os quais são toleráveis fisiologicamente e compatíveis com o ingrediente activo(s).

Diluentes e excipientes adequados são, por exemplo, a água, solução salina, dextrose, glicerol ou semelhantes e combinações destes. Em adição e se desejado, as composições podem conter quantidades pequenas de substâncias auxiliares, tais como agentes solubilizantes ou emulsificantes e agentes estabilizantes ou tampões de pH.

O invento ainda proporciona compostos da Fórmula I ou Fórmula III, para serem utilizados como inibidores da proliferação de células de mamíferos, pelo contacto entre essas células com um composto da Fórmula I ou Fórmula III numa quantidade suficiente para inibir a proliferação das células de mamíferos. Um modelo de realização preferido é um método para inibir a proliferação de células hiper-proliferativas de mamíferos. Para os fins deste invento "células hiper-proliferativas de mamíferos" são células de mamíferos que não são sujeitas às limitações características do crescimento (por exemplo, a morte programada de células). Um outro modelo de realização preferido é aquele em que a célula mamífera é humana. O invento ainda proporciona o contacto da célula de mamífero com, pelo menos um composto da Fórmula I ou Fórmula III e pelo menos um outro agente anti-neoplásico. Os tipos de agentes anti-neoplásicos contemplados são discutidos acima.

O invento ainda providência compostos da Fórmula I ou Fórmula III para serem utilizados como inibidores da proliferação de células hiper-proliferativas com fenótipos resistentes aos fármacos, incluindo aquelas com fenótipos multi-resistentes aos fármacos. Um modelo de realização preferido é aquele em que a célula mamífera é humana. O invento ainda proporciona o contacto de um composto da Fórmula I ou Fórmula III e pelo menos um outro agente anti-neoplásico adicional, discutidos acima.

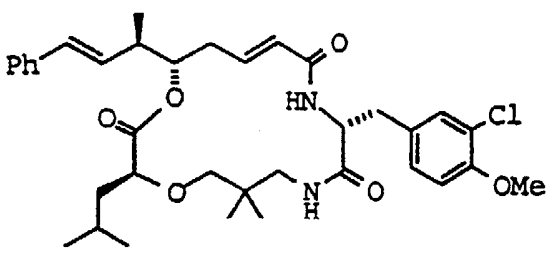
O invento providência um método para aliviar as condições patológicas causadas pela hiperproliferação de células de mamíferos, por exemplo, neoplasia, pela administração a um paciente de uma quantidade efectiva de uma composição farmacêutica contendo compostos da Fórmula I ou Fórmula III para inibir a proliferação de células hiper-proliferativas. Um invento preferido é aquele em que as células de mamíferos são humanas. O invento

ainda proporciona o contacto da Fórmula I ou Fórmula III e , pelo menos, um agente anti-neoplásico adicional, discutido acima.

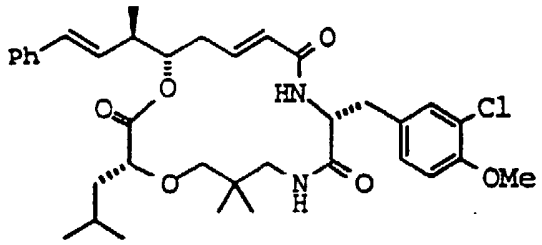
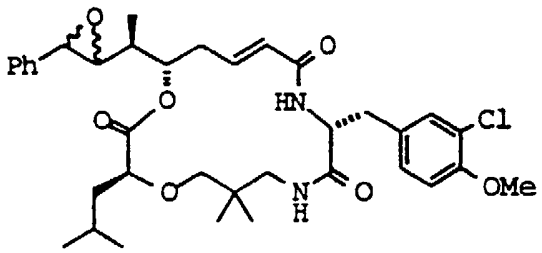
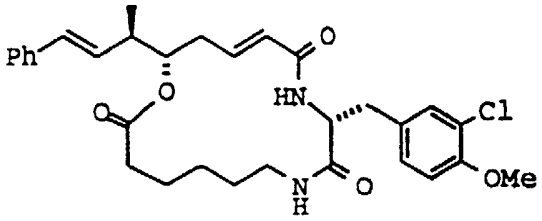
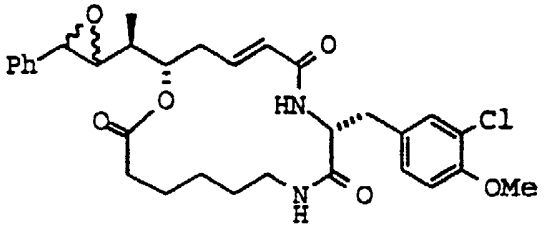
O invento proporciona um método para aliviar condições patológicas causadas pela hiper-proliferação de células de mamíferos, como por exemplo, a neoplasia, pela administração a um paciente de uma quantidade efectiva de uma composição farmacêutica contendo compostos da Fórmula I ou Fórmula III para inibir a proliferação de células hiper-proliferativas. Como é aqui utilizado, a "condição patológica", refere-se a qualquer patologia que derive da proliferação de células de mamíferos que não estão sujeitas às limitações normais de crescimento. Tal proliferação de células pode ser devida a neoplasmas, como discutido acima.

Num outro modelo de realização preferido, as células neoplásicas são humanas. O presente invento divulga métodos de aliviar tais condições patológicas, utilizando um composto da Fórmula I ou Fórmula III em combinação com outras terapias, assim como outros agentes anti-neoplásicos.

A eficácia dos compostos reivindicados pode ser analisada, utilizando métodos padrão bem conhecidos dos especialistas treinados. Um desses tais estudos proporcionou os seguintes resultados:



GC3
$\underline{IC_{50}\ (\mu M)}$
0,31

	GC3 IC_{50} (μM)
	3,75
	0,0033
	0,37
	0,020

Faz-se a despistagem dos compostos para concentrações de inibição mínima contra a KB (uma linha de células do carcinoma da naso-faringe humana) e LoVo (uma linha de células do adenocarcinoma colorectal humano).

A análise de Corbett, veja-se Corbett, T.H. et. al. Citotoxic Anticancer Drugs: Models and Concepts for drug Discovery and Development, pp. 35-87, Kluwer Academic Publishers: Norwell, 1992. Veja-se também Kluwer

Academic Publishers: Norwell, 1992. Veja-se também Valeriote et al.Discovery and Delopment of Anti-cancer agents; Kluwer Academic Publishers, Norwell, 1993.

Os mais activos compostos são ainda avaliados no que respeita à toxicidade contra quatro linhas de células diferentes, por exemplo uma leucemia murina, um tumor sólido murino, um tumor sólido humano e um fibroblasto de baixa malignidade, utilizando a análise de Corbett.

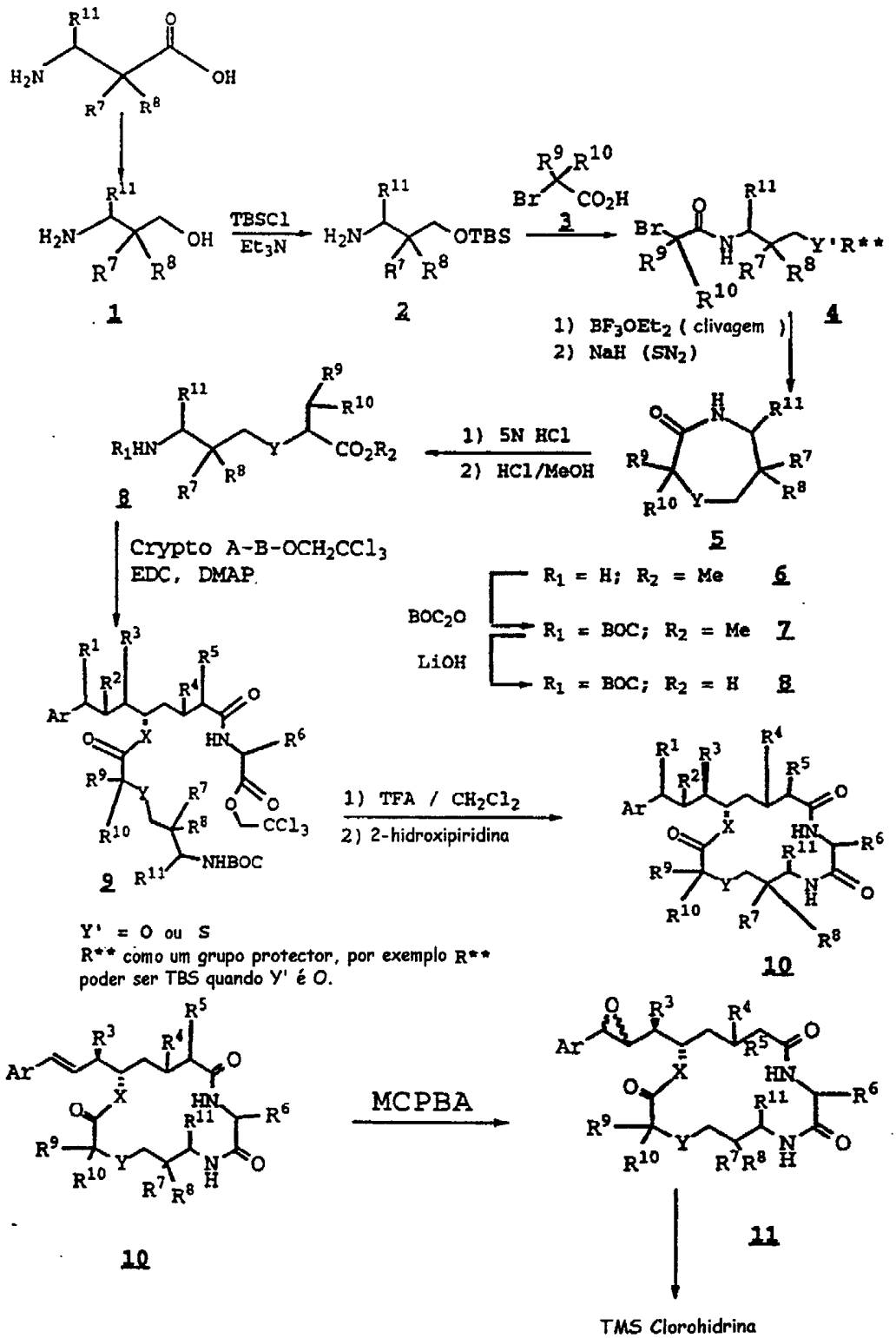
Os compostos são analisados ainda contra uma vasta gama de tumores humanos e murinos implantados em ratos, incluindo tumores resistentes a drogas.

A es (T/C) (significando a carga de tumor média em animais tratados versus a carga de tumor média em animais não tratados). Os valores de T/C que são menos de 42% são considerados activos pelos padrões do "National Cancer Institute"; valores de T/C que são menores de 10% são considerados ter uma actividade excelente e uma potencial actividade clínica pelos padrões do "National Cancer Institute".

A análise dos compostos da Fórmula I e Fórmula III sugere que os compostos podem ser úteis nos métodos de tratamento descritos aqui. Adicionalmente os compostos serão úteis para a desagregação do sistema microtubular.

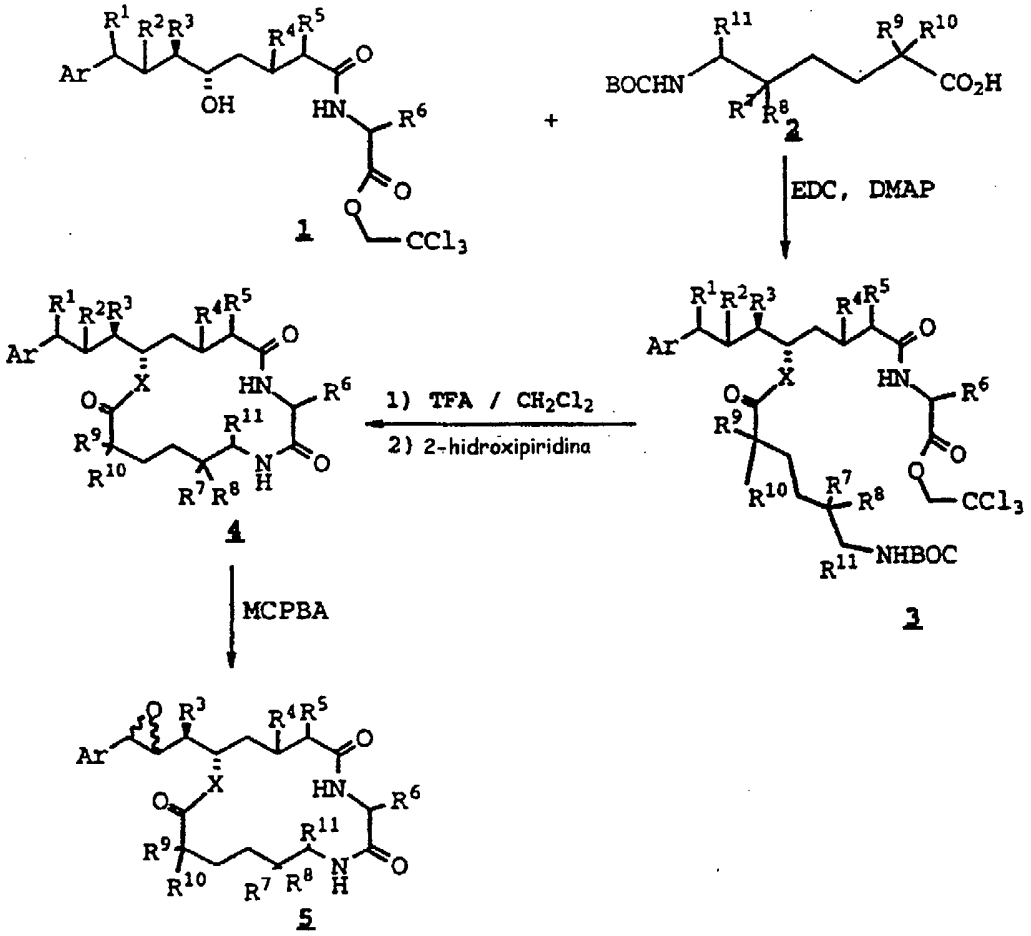
Os compostos deste invento podem ser preparados como ilustrado nos seguintes esquemas:

Esquema 1



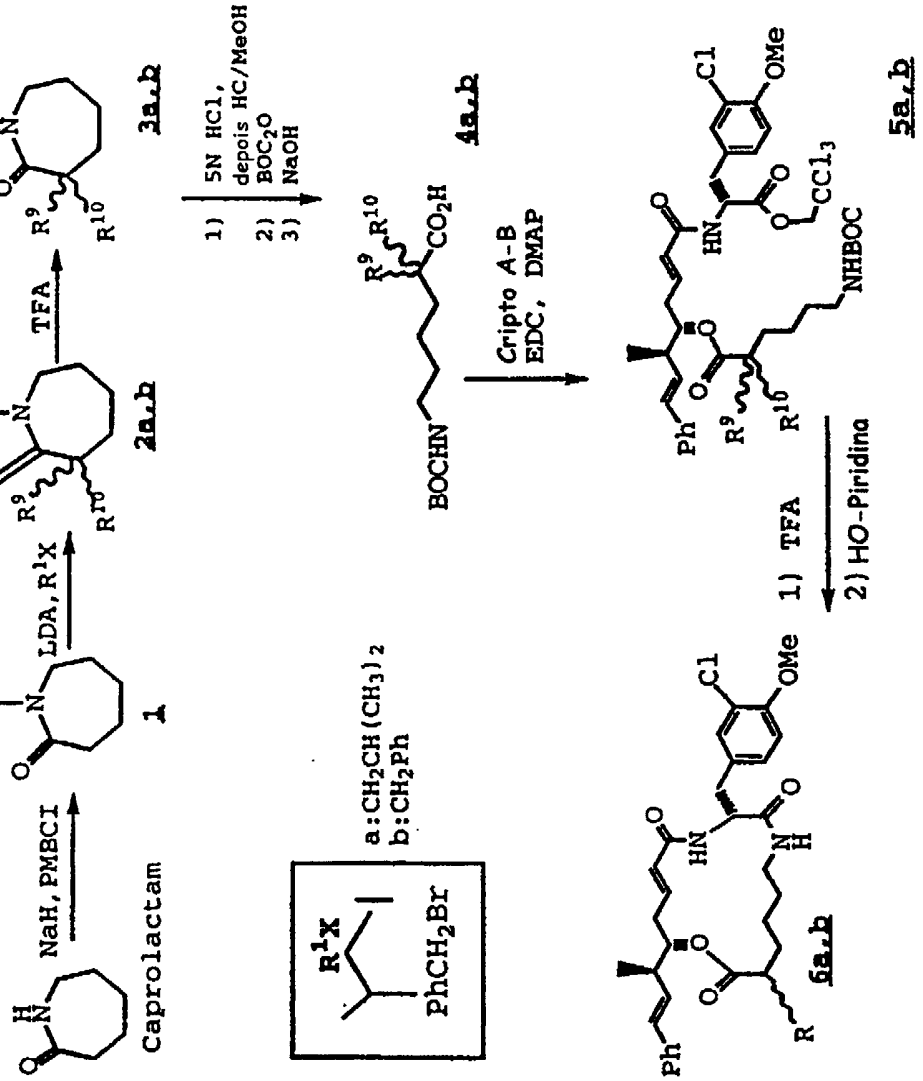
Y' = O ou S
R** como um grupo protector, por exemplo R** poder ser TBS quando Y' é O.

Esquema 2

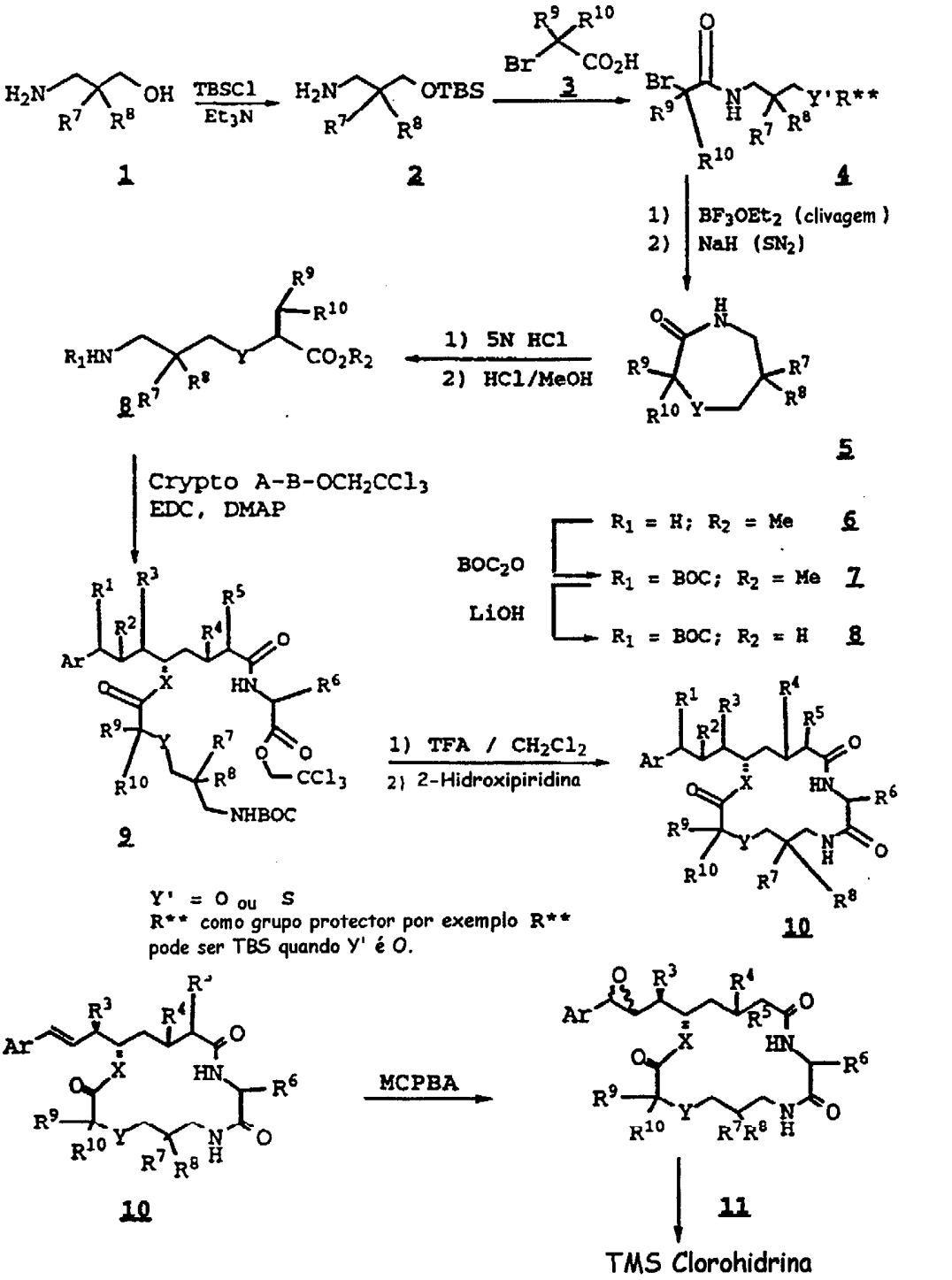


Esquema 3

Ácidos Aminocaproicos Substituídos

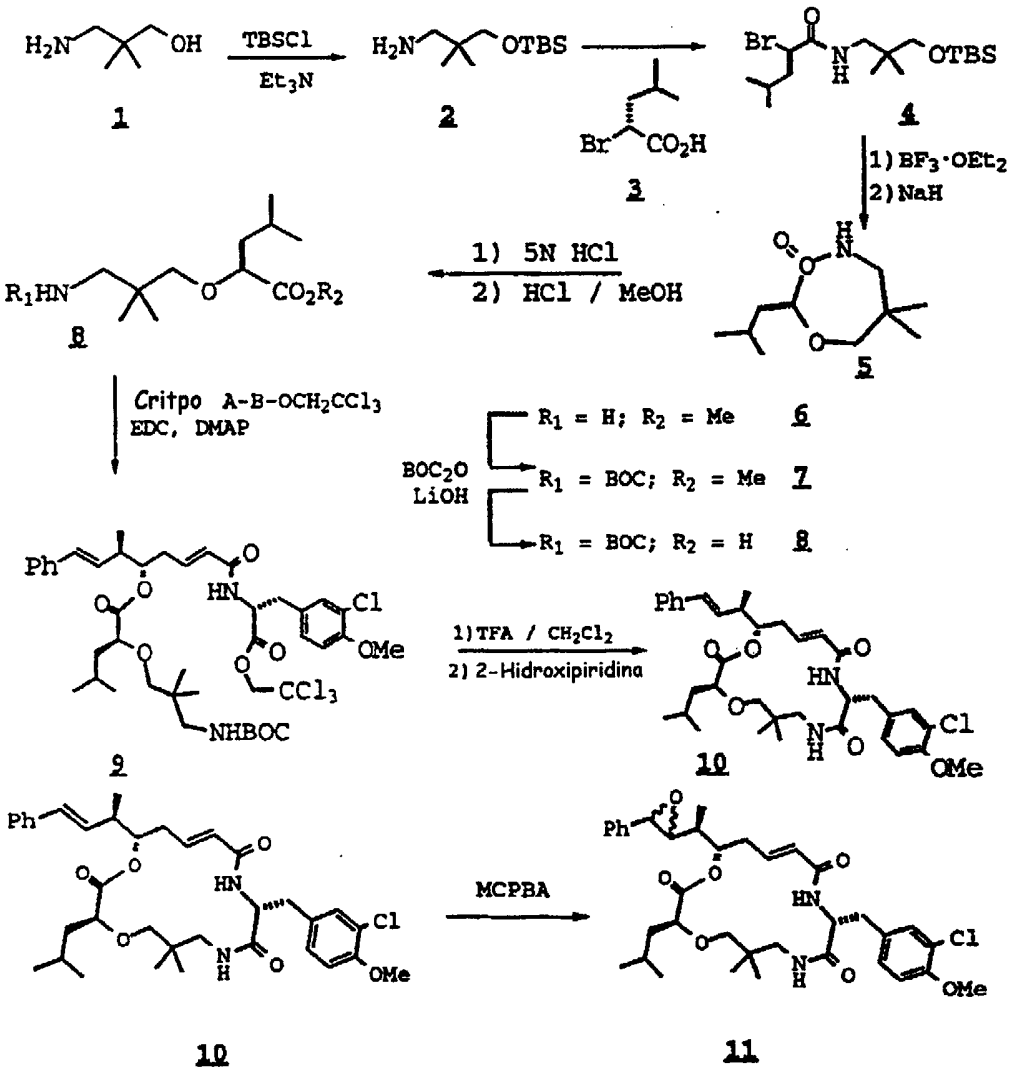


Esquema 4

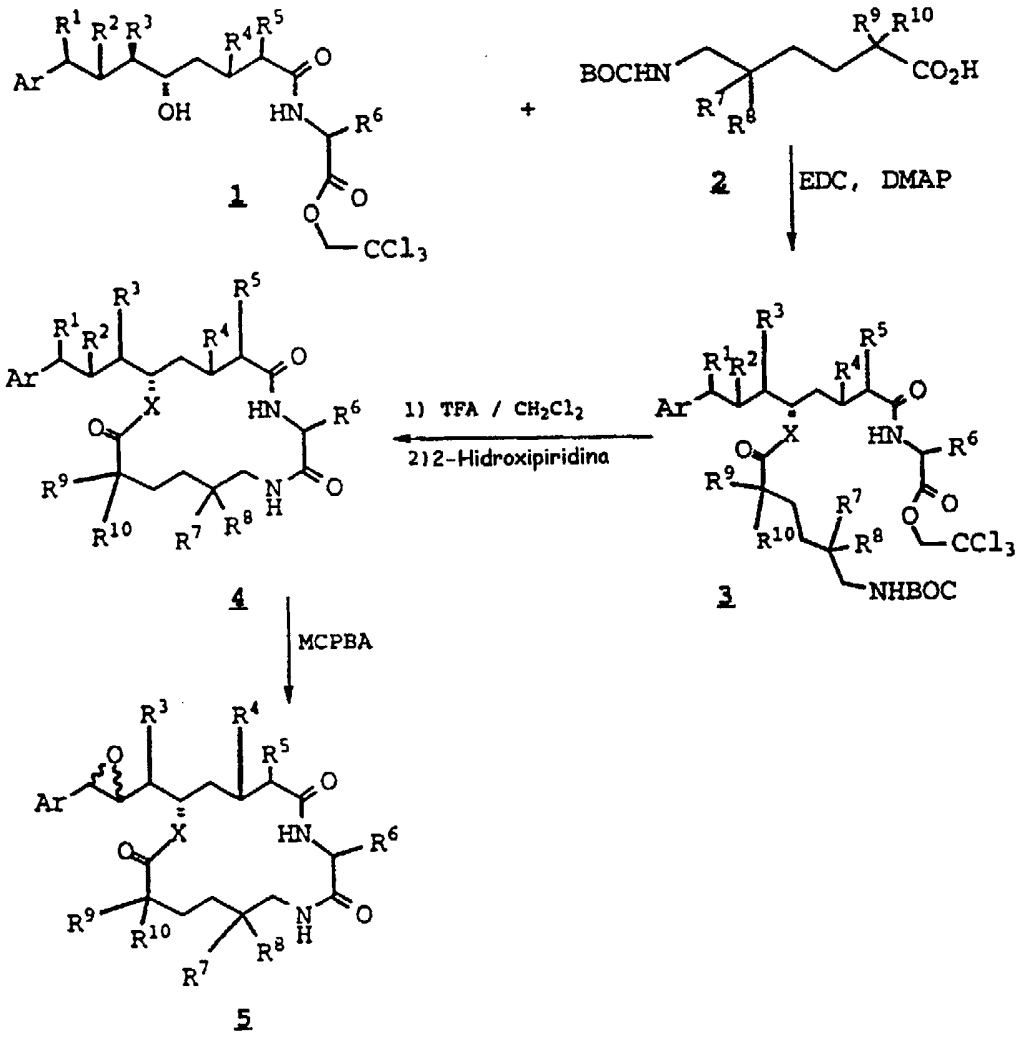


Y' = O ou S
R** como grupo protector por exemplo R** pode ser TBS quando Y' é O.

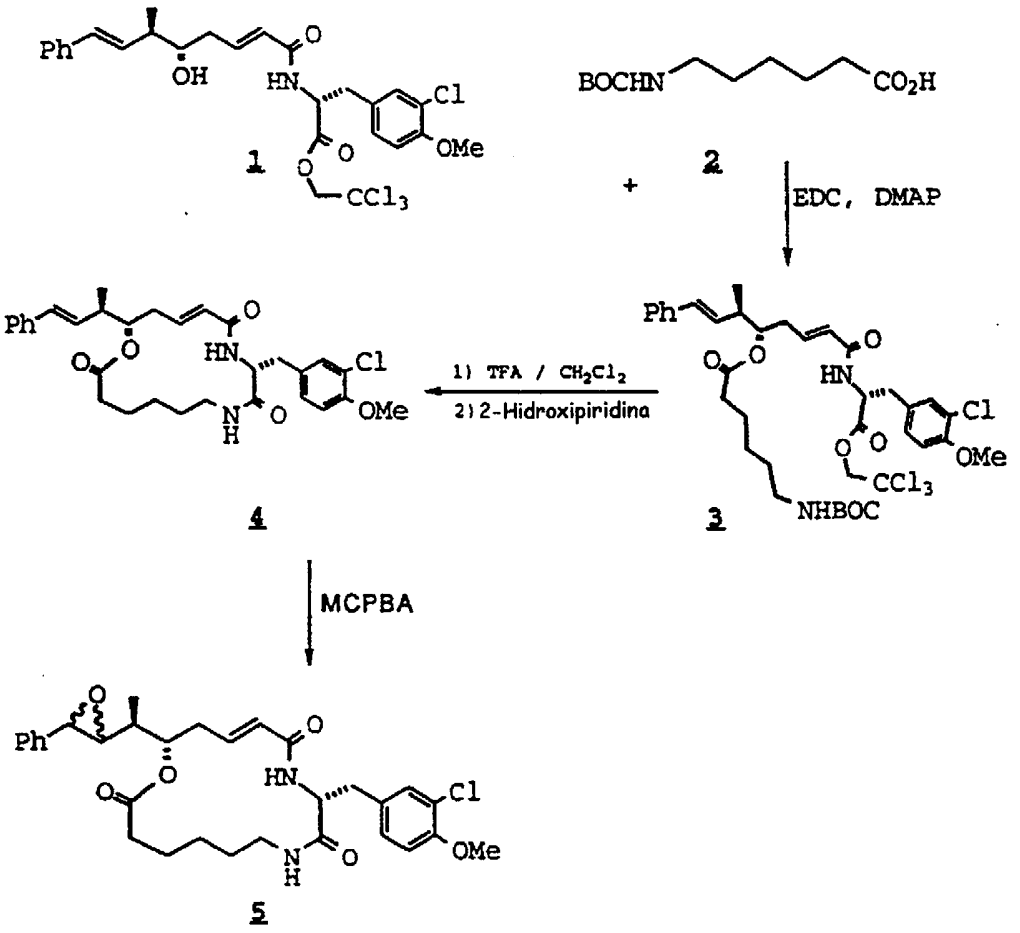
Esquema 4A


TBSCl
Et3N
1) BF3·OEt2
2) NaH
1) 5N HCl
2) HCl / MeOH
Critpo A-B-OCH2CCl3
EDC, DMAP
R1 = H; R2 = Me 6
BOC2O
LiOH
R1 = BOC; R2 = Me 7
R1 = BOC; R2 = H 8
1) TFA / CH2Cl2
2) 2-Hidroxipiridina
MCPBA

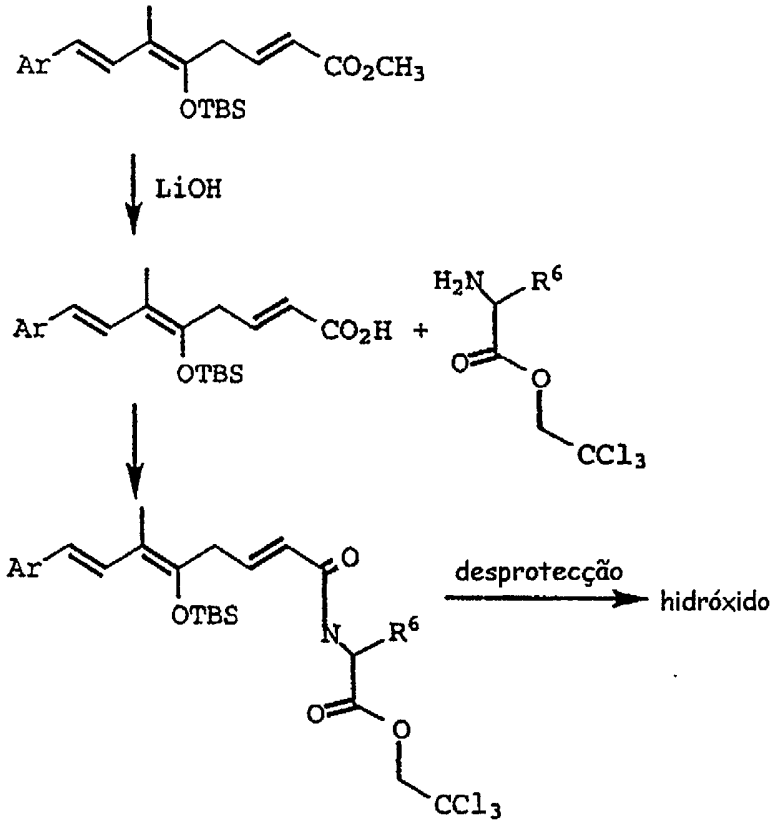
Esquema 5



Esquema 5A



O éster de cripto-A-B-tricloroetilo pode ser preparado segundo a informação existente na literatura; contudo, o método seguinte é proporcionado para conveniência do técnico:



O técnico pode utilizar materiais de partida e reagentes apropriados para preparar os compostos desejados, servindo-se conselhos contidos nos esquemas anteriores e dos exemplos seguintes.

Para maior ilustração do invento, são proporcionados os seguintes exemplos:

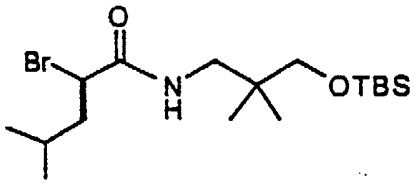
Preparação 1



2

Uma solução contendo 10,0 g (96,9 mmol) de 2,2-dimetil-3-amino-1-propanol e 16,2 ml (116 mmol) de trietilamina em 250 ml de CH_2Cl_2 foi agitada a 0°C. A esta solução fora adicionados 474 mg (4mol. %) de dimetilaminopiridina (a ser referida daqui em diante como "DMAP") e 16,1 g (107 mmol) de cloreto de tert-butildimetilsililo (TBSCl). A reacção foi deixada atingir os 25°C num período de 1 hora e agitada a esta temperatura num período adicional de 18 h. A reacção foi concentrada no vácuo e dissolvida em 150 ml de acetato de etilo. A solução orgânica foi lavada três vezes com uma solução aquosa de bicarbonato de sódio, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo para originar 15,0 g de um óleo amarelo claro, que foi caracterizado como **2**. Esp. Massa (FD^+) m/e 218 ($M+1^+$).

Preparação 2

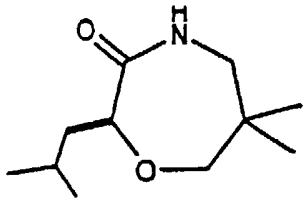


4

Uma solução de 3,25 g (16,7 mmol) de ácido[1] (R)-2-brom-4-metilpentanoico em 200 ml de CH_2CH_2 foi agitada a 0°C ao mesmo tempo que estavam a ser adicionados 2,25 g (16,7 mmol) de hidroxibenzotriazole (HOBt), seguido pela adição de 3,19 g (16,7 mmol) de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodi-imida (EDC). A mistura da reacção foi agitada durante 1,5 h a 0°C, depois do qual foi adicionada, gota a gota, uma solução de 3,62 g (16,7 mmol) do amino-álcool protegido **2** em 25 ml de CH_2CH_2, durante 5 min. A mistura da reacção foi agitada durante 2 h adicionais a 0°C e vertida em 200 ml de uma solução saturada de bicarbonato de sódio aquoso. A fase orgânica foi lavada duas

vezes com bicarbonato de sódio aquoso e duas vezes com salmoura. A solução orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada a vácuo para originar 4,90 g (74 %) de um óleo claro, que foi caracterizado como **4**. Esp. de Massa (FD^+) m/e 394, 396 ($M+1^+$).

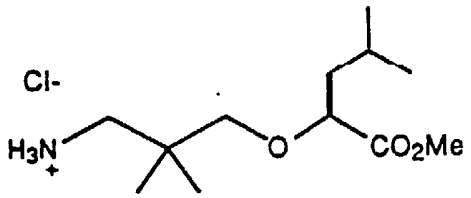
Preparação 3



5

A uma solução contendo 1,00 g (2,54 mmol) da amida protegida **4** em 20 ml de diclorometano a 0°C, foram adicionados 0,34 ml de etarato de trifluoreto de boro (BF_3-OEt_2) e a reacção foi aquecida a 25°C. Depois de agitação por uma hora a 25°C, foram adicionados 0,34 ml adicionais de etarato de trifluoreto de boro e a reacção agitada por mais uma hora. a 25°C. A mistura da reacção foi vertida em 100 ml de água, e diluída em 50 ml de diclorometano adicionais. A fase orgânica foi lavada duas vezes com bicarbonato de sódio aquoso, seca sobre sulfato de sódio e concentrada a vácuo para originar 560 mg (79%) do bromo-álcool intermediário. Uma solução contendo 500 mg (1,78 mmol) deste material em 10 ml de tetra-hidrofurano anidro (THF) foi adicionada a uma suspensão de 86 mg (2,14 mmol) de hidreto de sódio (60 % em óleo mineral) a -78°C. A reacção foi deixada aquecer a 25°C durante 1 hora e parada com HCl 1N. A fase orgânica foi separada, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. Este material cru foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica, utilizando acetato de etilo como eluente, para originar 185 mg (52 %) de um óleo límpido, o qual foi caracterizado como **5**. Esp. de Massa (FD^+) m/e 199 (M^+).

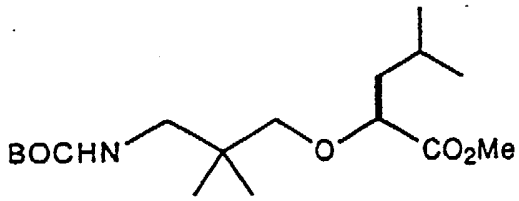
Preparação 4



6

Uma suspensão de 1,69 g (8,48 mmol) da lactama 5 em 20 ml de HCl 5 N, foi aquecida a refluxo durante 2 horas, arrefecida a 25°C e concentrada no vácuo até à secura. O resíduo resultante foi dissolvido em 200 ml de HCl metanólico e agitado durante 24 horas a 25°C e concentrado no vácuo para originar 2,20 g (97 %) de um sólido amorfo branco, que foi caracterizado como 6. Esp. de Massa (FD^+) m/e 232 ($M+1^+$).

Preparação 5

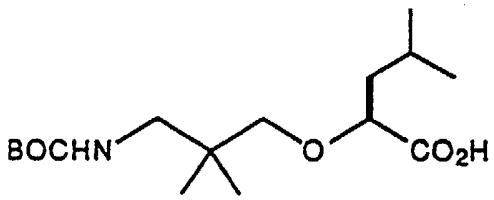


7

Uma solução de 1,66 g (6,20 mmol) do sal de HCl 6 foi dissolvida em 100 ml de diclorometano e agitada a 25°C em simultâneo à adição, gota a gota, de 1,03 ml (7,44 mmol) de trietilamina, seguida da adição de 1,62 g (7,44 mmol) de dicarbonato de di-terc-butilo (BOC_2O). A reacção foi agitada a 25°C durante 2 horas, diluída com 200 ml de acetato de etilo e lavado duas vezes com HCl 1N. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada em vácuo para originar o produto cru 7, o qual foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica, utilizando 50% de hexano-acetato de etilo como eluente. A

fracção maioritária foi concentrada no vácuo para originar 1,80 g (88 %) de um óleo claro, que foi caracterizado como 7. Esp. de Massa (FD^+) m/e 331 ($M+1^+$).

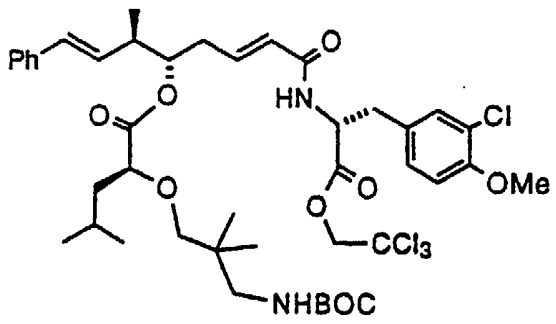
Preparação 6



8

A uma solução de 1,00 g (3,02 mmol) de 7 em 10 ml de THF/água a 50%, foram adicionados 253 mg (6,04 mmol) de hidrato de hidróxido de lítio a 25°C. A reacção foi agitada durante 1 hora a 25°C, vertida em HCl 1N e extraída com acetato de etilo. Os extractos orgânico foram secos e concentrados no vácuo para originar 905 mg (94 %) de um sólido amorfo de cor branca, que foi caracterizado como 8. Esp. de Massa (FD^+) m/e 318 ($M+1^+$).

Preparação 7

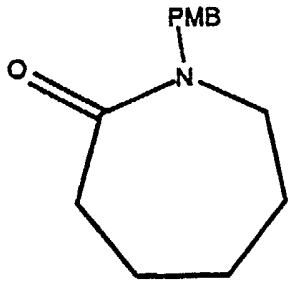


9

A uma solução de 323 mg (1,02 mmol) de 8 em 20 ml de diclorometano, foram adicionados 195 mg (1,02 mmol) de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodi-imida (EDC), seguido por 10 mg de dimetilaminopiridina (conhecida daqui para a frente como "DMAP"). A mistura

da reacção foi agitada a 25°C durante 30 min., depois dos quais foram adicionados 500 mg (0,848 mmol) do éster de tricloroetilo de criptoficina A-B. A mistura da reacção foi agitada durante mais 15 min., lavada com HCl 1N, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. O material cru foi purificado por cromatografia de "flash", utilizando acetato de etilo/hexano a 25% como eluente. A fracção maioritária foi concentrada no vácuo para originar 451 mg (67%) de um sólido amorfo branco, que foi caracterizado como **9**. Esp. de Massa (FD^+) m/e 886 ($M+1^+$).

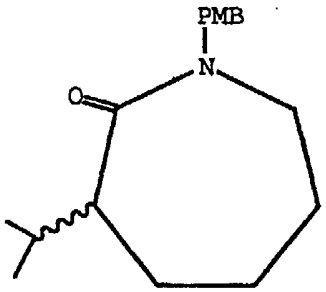
Preparação 8



1'

Uma amostra de 3,36 g de hidreto de sódio (60% em óleo, 0,084 moles) foi adicionada a uma solução de 7,91 g (0,07 moles) de e-Caprolactama em 220 ml de dimetilformamida e agitada durante 30 min. Foram adicionados de 13,34 ml (0,098 moles) de cloreto de p-metoxibenzoilo e a mistura da reacção foi agitada durante 18 horas. A mistura da reacção foi vertida em 200 ml de HCl 1N e extraída duas vezes com acetato de etilo. A fase orgânica foi lavada com água, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo para originar 18,4 g (100%) de um óleo amarelo, o qual foi caracterizado como **1'**. ($CDCl_3$, 300 MHz) d 1,2-1,9 (séries de m, 6H); 2,6 (m, 2H); 3,2-3,4 (m, H-2); 3,8 (s, 3H, CH_3); 4,5 (s, 2H); 6,8-7,0 (m, 2H); 7,15-7,4 (m, 2H).

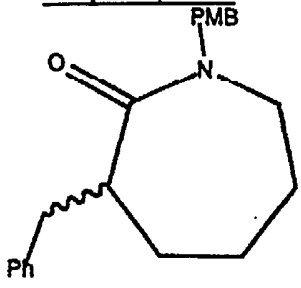
Preparação 9



2'a

A uma solução de 4,33 g (31 mmol) de di-isopropilamina em 120 ml de tetra-hidrofurano, numa temperatura de banho de gelo, foram adicionados 19,3 ml (31 mmol) de butillítio (1,6 M em hexanos). Depois de 15 min., a mistura da reacção foi arrefecida a -70°C e foi adicionada uma solução 6,0 g (26 mmol) da lactama protegida **1'** em 20 ml de tetra-hidrofurano. Depois de 25 min., a -70°C, foram adicionados 3,55 ml (31 mmol) de 1-iodo-2-metilpropano e a mistura da reacção deixada atingir a temperatura de 25°C. Depois de 3 h, foram adicionados 300 ml de HCl 1,0 N e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo para originar 9,0 g (100%) de um óleo pálido que foi caracterizado como **2' a**. ($CDCl_3$, 300 MHz) d 0,9 (d, J = 6,6 Hz, 6H); 1,2-1,95 (séries de multipletes, 9H); 2,55 (m, 1H); 3,1-3,24 (m, 1H); 3,45 (m, 1H); 3,79 (s, 3H, CH_3); 4,45 (d, J = 14,5 Hz,1H); 4,6 (d, J = 14,4 Hz, 1H); 6,84 (d, J = 8,3 Hz, 1H); 7,2 (d, J = 8,4 Hz,1H).

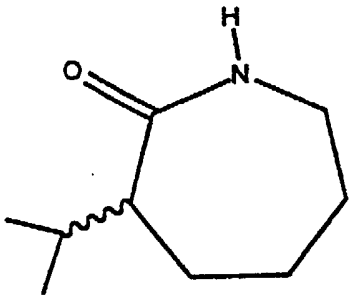
Preparação 10



2'b

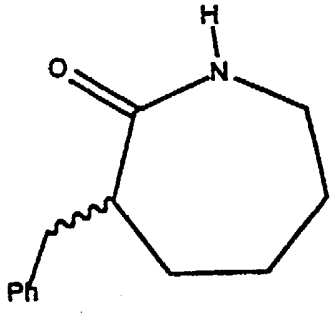
A uma solução de 4,33 g (31 mmol) de di-isopropilamina em 120 ml de tetra-hidrofurano, a uma temperatura de banho de gelo, foram adicionados 19,3 ml (31 mmol) de butil-lítio (1,6 M em hexanos). Depois de 15 min. a mistura da reacção foi arrefecida a-70°C e foi adicionada uma solução de 6,0 g (26 mmol) da lactama protegida **1'** em 20 ml de tetra-hidrofurano. Depois de 25 min. a -70°C foram adicionados 3,67 ml (31 mmol) de brometo de benzilo e a reacção deixada atingir os 25°C. Depois de 3 horas, foram adicionados 300 ml de HCl 1.0 N e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada a vácuo para originar 8,9 g (100 %) de um óleo pálido que foi caracterizado como **2'b**. Esp. Massa (FD^+) m/e 323 (M^+).

Preparação 11



3'a

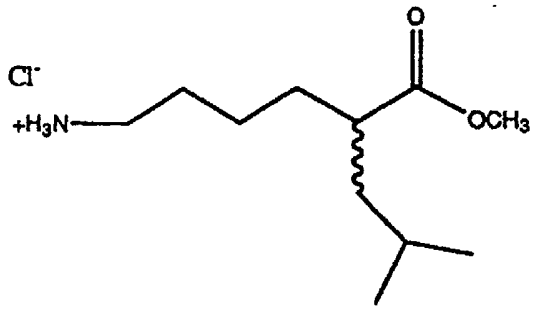
Preparação 12



3'b

O composto **3'b** foi preparado substancialmente de acordo com o método de preparação de **3'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 203 (M^+).

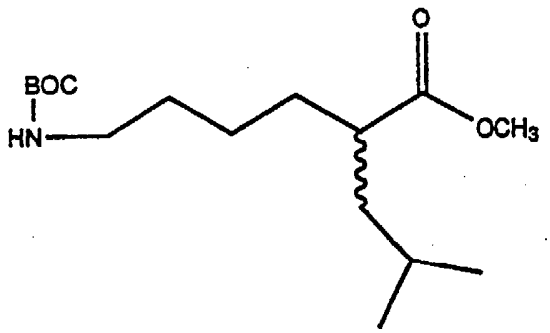
Preparação 13



4'

Uma suspensão de 0,3 g (1,8 mmol) da lactama desbloqueada **3'a** (Preparação 11) em 8,0 ml de HCl 5 N foi posta a refluxo durante 4 horas. A mistura da reacção foi concentrada a um resíduo no vácuo. O resíduo foi dissolvido em 25 ml de HCl metanólico e agitado durante 18 horas a 25 ° C e concentrado no vácuo para originar 0,28 g (42%) de um sólido amorfo branco, o qual foi caracterizado como **4'b**. ($CDCl_3$, 300 MHz) d 0,95 (m, H); 1,2-1,8 (séries de multipletes, 10H); 2,94 (m, 2H); 3,68 (m, 3H, CH_3); 4,9 (m, 3H).

Preparação 14

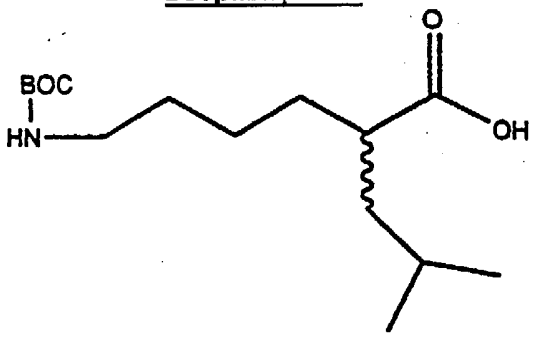


5'

A uma solução de 0,57g (2,4 mmol) de **4'** (Preparação 13) em 10 ml de diclorometano, foram adicionados 0,4 ml (2,9 mmol) de trietilamina

seguidos de 0,63 g (2,9 mmol) de di-terc-butildicarbonato. A mistura da reacção foi agitada durante 18 h a 25°C, diluída com 50 ml de acetato de etilo e lavada primeiro comHCl 1N seguida de bicarbonato de sódio e seca sobre sulfato de sódio. A solução foi concentrada no vácuo originando um resíduo que foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica, utilizando hexano/acetato de etilo 6:1 como eluente, para originar 0,44 g (56%) de um óleo claro o qual foi caracterizado como **5'**. Esp. Massa (FD^+) m/e 302 (M^+).

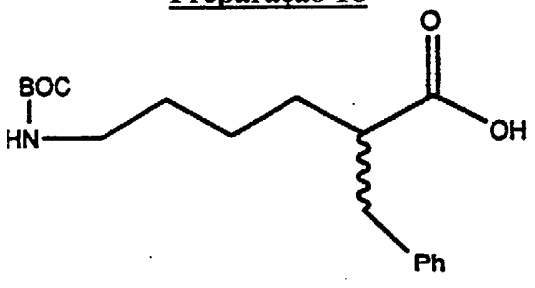
Preparação 15



6'a

A uma solução de 0,44 g (1,46 mmol) de **5'** (Preparação 14) foi dissolvida e, 20 ml de metanol e 20 ml de hidróxido de sódio 2N e posto em refluxo durante 2 horas. O metanol foi removido por vácuo e a fase aquosa foi acidificada com ácido clorídrico e extraída com acetato de etilo. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo para originar 0,55 g (100%) de um óleo que foi caracterizado como **6'**.Esp. Massa (FD^+) m/e 288 (M^+).

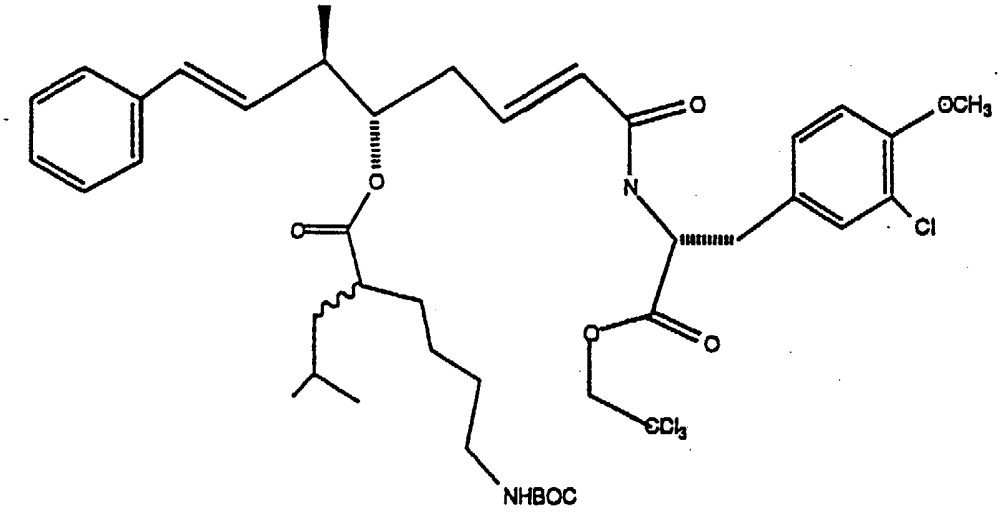
Preparação 16



6'b

O composto **6'b** foi preparado substancialmente de acordo com o método de preparação de **6'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 321 (M^+).

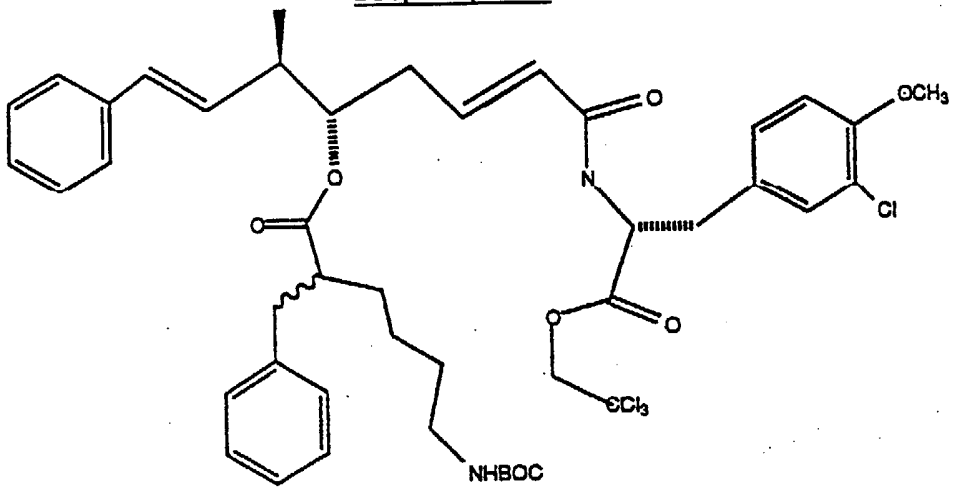
Preparação 17



7'a

A uma solução de 0,27 g (0,94 mmol) de **6'a** (Preparação 15) em 10 ml de diclorometano foram adicionados 0,162 g (0,85 mmol) de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodi-imida (EDC), seguida de 10 mg de dimetilamino-piridina. A reacção foi agitada a 26°C durante 30 minutos depois dos quais foram adicionados 0,498 g (0,85 mmol) de éster de tricloroetilo de criptoficina A-B. A mistura da reacção foi posta em refluxo durante 24 horas, depois das quais o solvente foi removido no vácuo e o resíduo foi dissolvido em acetato de etilo e lavado com HCl 1N, seguido de bicarbonato de sódio e finalmente de salmoura. O solvente foi removido por vácuo para originar um resíduo que foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica, utilizando hexano-acetato de etilo 2:1 como eluente, para originar 0,28 g (35 %) de um resíduo branco que foi caracterizado como **7'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 858 (M^+).

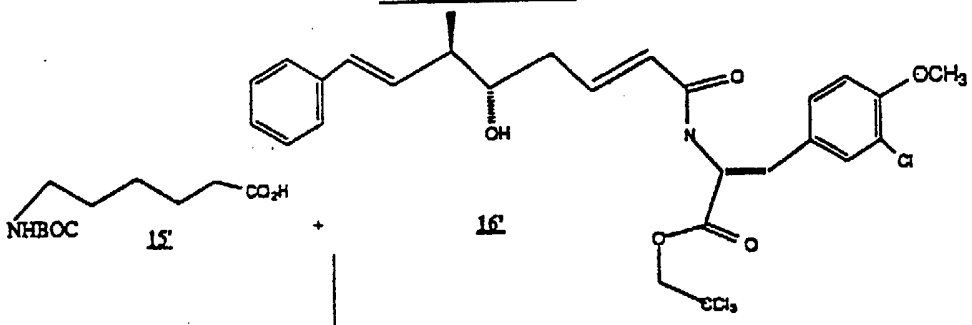
Preparação 18

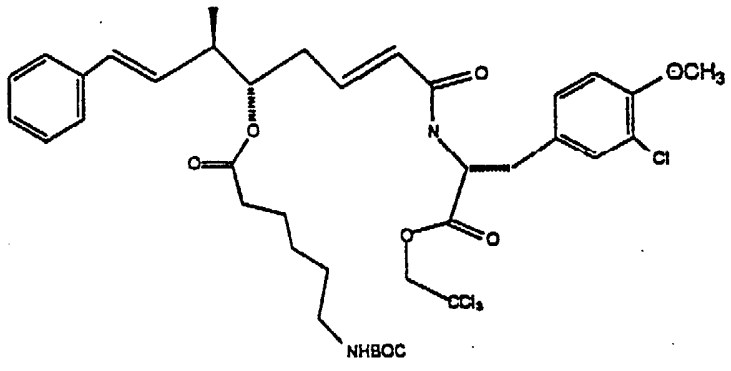


7'b

7'b foi preparado substancialmente de acordo com o método de preparação de 7'a. Esp. Massa (FD^+) m/e 892 (M^+).

Preparação 19

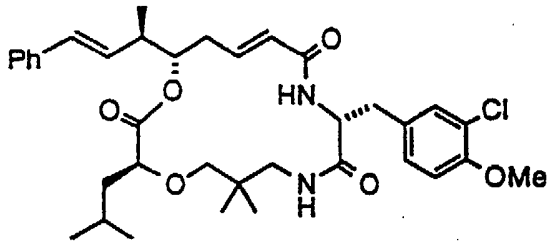




17'

A uma solução de 341 mg (1,47 mmol) de Ácido 6-BOC-aminocaproico (**15'**) em 25 ml de diclorometano foram adicionados 283 mg (1,47 mmol) de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodi-imida (EDC), seguida de 10 mg (quantidade catalítica) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) a 25 0C. A mistura da reacção foi agitada a 25°C durante 30 minutos e foram adicionados 290 mg (0,492 mmol) de éster de tricloroetilo de criptoficina A-B (**16'**). A mistura da reacção foi agitada durante 15 min. adicionais, lavada com HCl 1N, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. O material cru foi purificado por cromatografia de "flash" utilizando acetato de etilo/hexano a 25% como eluente. A fracção maioritária foi concentrada no vácuo para originar 205 mg (52%) de um sólido amorfo branco, que foi caracterizado como **17'**. Esp. Massa (FD^+) m/e 802 (M^+).

Exemplo 1

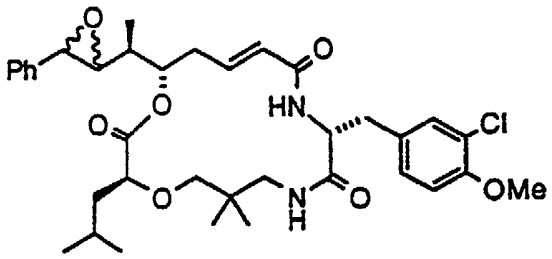


10

A uma solução de 426 mg (0,537 mmol) de **9** (Preparação 7) em 5 ml de diclorometano foram adicionados 2 ml de ácido trifluoroacético (TFA). A mistura da reacção foi agitada a 25°C durante 30 minutos, depois do que foi vertida em 25 ml duma solução saturada de bicarbonato de sódio aquoso. Foram adicionados 25 ml adicionais de diclorometano e a fase orgânica foi lavada com NaOH 1N, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. Este material cru foi dissolvido em 10 ml de tolueno e agitado a 25°C ao esmo tempo que 255 mg (2,68 mmol) de 2-hidroxipiridina foram adicionados. A mistura da reacção foi

agitada a 25°C durante 18 horas. A mistura da reacção foi diluída com 50 ml de acetato de etilo e a fase orgânica foi lavada duas vezes com HCl 1N, duas vezes com salmoura e duas vezes com uma solução de bicarbonato de sódio. A solução orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. O material cru foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica, utilizando acetato de etilo/hexano a 50% como eluente. Foram recolhidas duas fracções que correspondiam aos epímeros do centro da substituição do isobutilo, adjacente ao grupo éter. A fracção maioritária foi concentrada no vácuo para originar 106 mg (31%) de um sólido amorfo, o qual foi caracterizado como **10**. Esp. Massa (FD^+) m/e 638 (M^+).

Exemplo 2

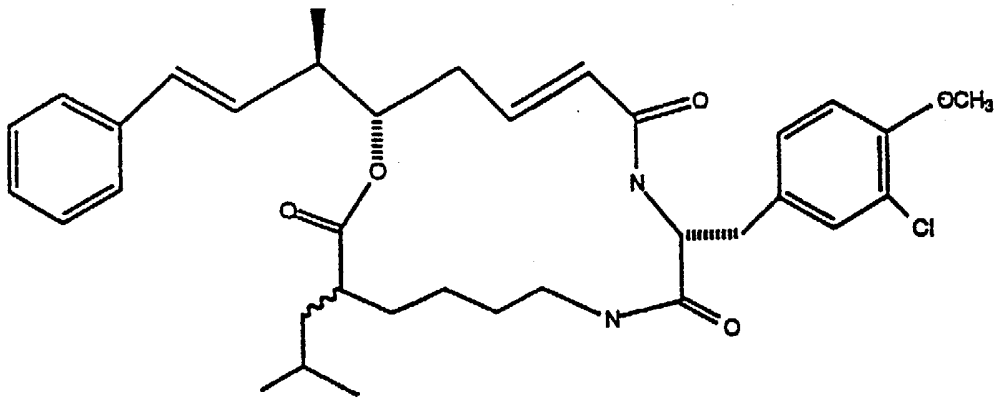


11

A uma solução contendo 47 mg (0,074 mmol) de **10** (Exemplo 1) em 10 ml de diclorometano foi adicionado 22,3 mg (0,11 mmol) de 85% de ácido m-cloroperbenzoico (mCPBA). A mistura da reacção foi agitada a 25°C e monitorizada por HPLC (fase reversa, C_{18}, 70% de acetonitrilo/água). Depois de 5 h, a reacção tornou-se mais lenta e foram adicionados mais 44 mg de mCPBA. A mistura da reacção foi agitada a 25°C por mais 12 horas ao fim dos quais foi completada. A mistura da reacção foi diluída com 25 ml de diclorometano e lavada duas vezes com uma solução saturada de meta-bisulfito de sódio e com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca e concentrada no vácuo para originar 38 mg (79%) de um sólido amorfo

branco, que foi caracterizado como uma mistura a 2:1 de epóxidos diastereoisoméricos de **11**. HPLC (fase reversa, C_{18}, 70% de acetonitrilo/água, isocrático, 1,0 ml/min.). Tempos de Retenção: Isómero maioritário: 9,58 min. Isómero minoritário: 10,28 min.

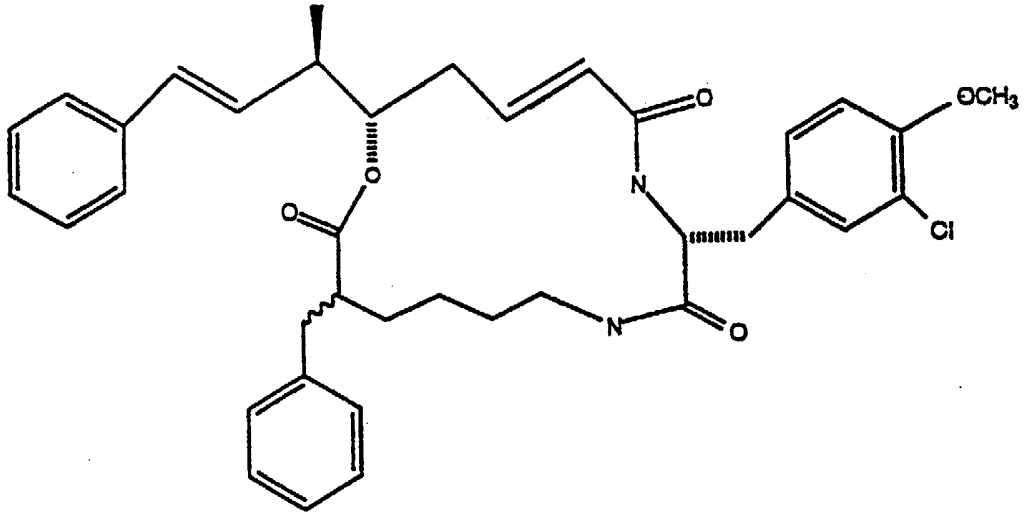
Exemplo 3



8'a

Uma solução de 0,11 g (0,128 mmol) de **7'** (Preparação 17) e 2,0 ml de ácido trifluoroacético em 2,0 ml de diclorometano, foi agitada a 25°C durante 45 min. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo foi dissolvido em 20 ml de diclorometano, lavado com uma solução de bicarbonato de sódio e seco sobre sulfato de sódio. Depois do solvente ter sido removido no vácuo, o resíduo foi dissolvido em 10 ml de tolueno e foram adicionados 0,061 g (0,64 mmol) de 2-hidroxipiridina. Depois de agitação durante 18 h a 25°C, o solvente foi removido a vácuo, o resíduo dissolvido em acetato de etilo e lavado com HCl 1N, a seguir com uma solução de bicarbonato de sódio, a seguir com salmoura e seco sobre sulfato de sódio. O solvente foi removido no vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica, utilizando como eluente uma mistura de hexano/acetato de etilo 1:1, para originar 0,032 g (41%) de um resíduo branco, o qual foi caracterizado como **8'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 609 (M^+).

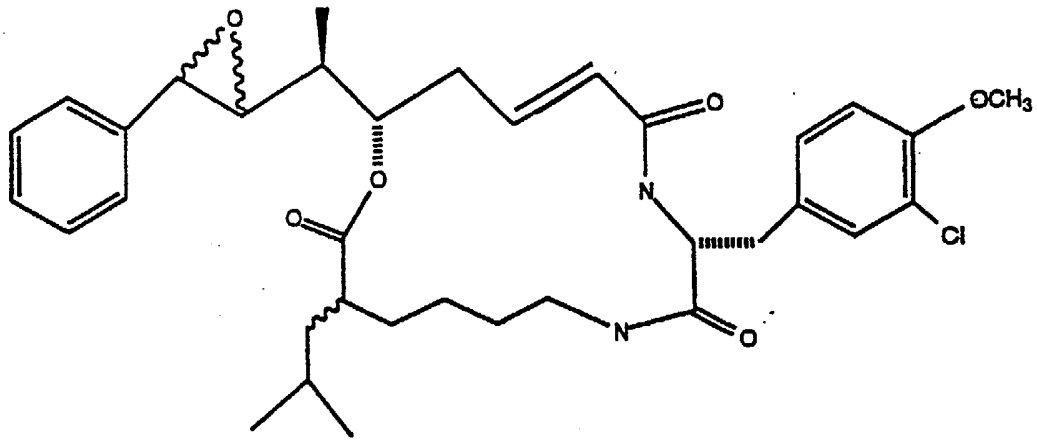
Exemplo 4



8'b

8'b foi preparado de acordo com o método para a preparação de **8'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 642 (M^+).

Exemplo 5

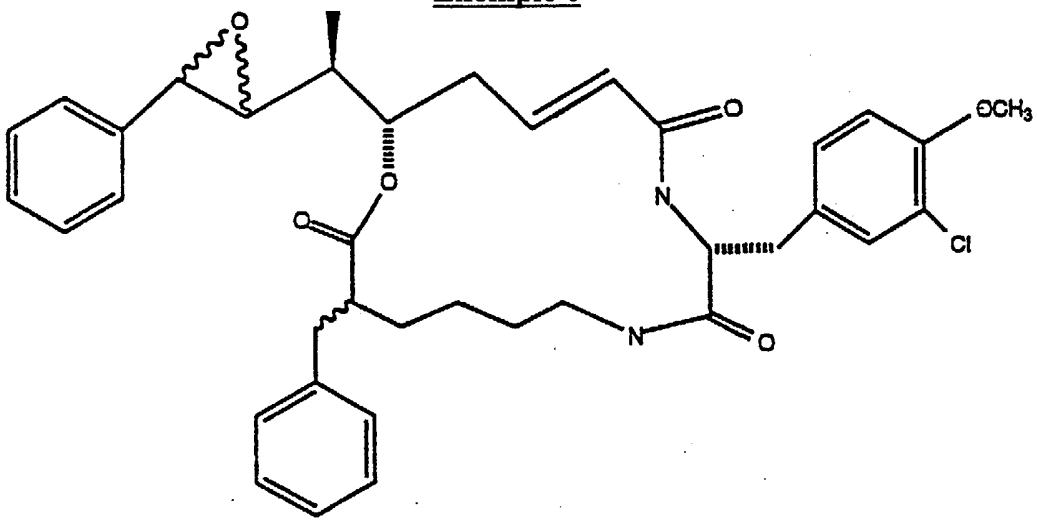


9'a

A uma solução contendo 26 mg (0,043 mmol) de **8'a** (Exemplo 3) em 5,0 ml de diclorometano foram adicionados 8,1 mg (0,047 mmol) de ácido m-cloroperbenzoico. A reacção foi agitada durante 18 horas a 25°C e monitorizada por HPLC (fase reversa, C18, acetonitrilo/água a 70%). Foram adicionados 8,1 mg (0,047 mmol) adicionais de ácido m-cloroperbenzoico e a

mistura da reacção foi agitada por mais 18 horas. A mistura da reacção foi diluída com 10 ml de diclorometano e lavada com uma solução de bisulfito de sódio seguida duma solução de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo para originar 27 mg (100%) de um resíduo branco que foi caracterizado como uma mistura de epóxidos diastereoméricos de **9'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 624 (M^+).

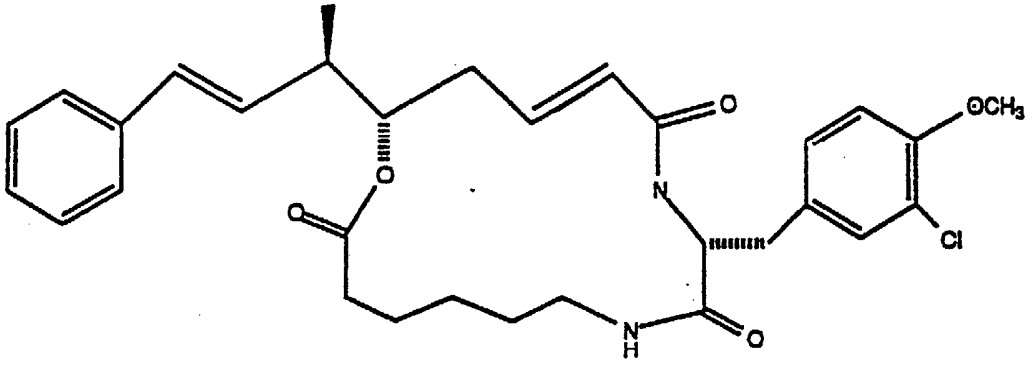
Exemplo 6



9'b

9'b foi preparado substancialmente de acordo com o método para a preparação de **9'a**. Esp. Massa (FD^+) m/e 658 (M^+).

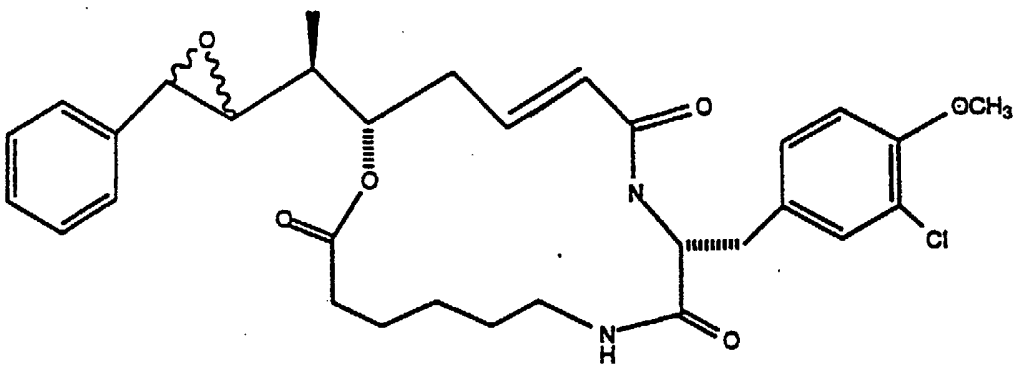
Exemplo 7



18'

A uma solução de 97 mg (0,121 mmol) de 17' (Preparação 19) em 5 ml de diclorometano, foram adicionados 2 ml de ácido trifluoroacético (TFA). A mistura da reacção foi agitada a 25°C durante 30 min., depois do que foi vertida em 25 ml de uma solução saturada de bicarbonato de sódio. Foram adicionados 25 ml de diclorometano adicionais e a fase orgânica foi lavada com NaOH 1N, seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. Este material em cru foi dissolvido em 10 ml de tolueno e agitado a 25°C à medida que 58 mg (0,605 mmol) de 2-hidroxipiridina foram adicionados. A mistura da reacção foi agitada a 25°C durante 18 horas. A mistura da reacção foi diluída com 50 ml de acetato de etilo e a fase orgânica lavada duas vezes com HCl 1N, duas vezes com salmoura e duas vezes com uma solução saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada no vácuo. O material cru foi purificado por cromatografia de "flash" em gel de sílica utilizando acetato de etilo/hexano a 50%. A fracção maioritária foi concentrada no vácuo para originar 28 mg (43%) de um sólido amorfo branco, o qual foi caracterizado como 18'. Esp. Massa (FD^+) m/e 552 (M^+). HPLC (fase reversa, C_{18}, 70% de acetonitrilo/água, isocrático, 1,0 ml/min.). Tempos de Retenção: 6,35 min.

Exemplo 8



19'

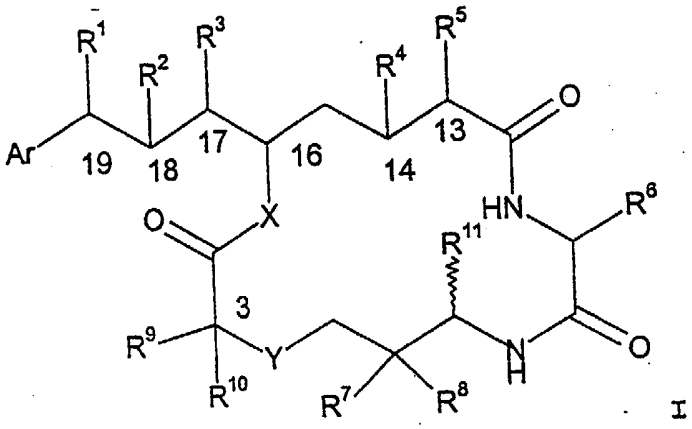
A uma solução de 23 mg (0,043 mmol) de **18'a** (Exemplo 7) em 5 ml de diclorometano, foram adicionados 20,8 mg (0,103 mmol) de ácido m-cloroperbenzoico (mCPBA). A mistura da reacção foi agitada a 25°C e monitorizada por HPLC (fase reversa, C18, acetonitrilo/água a 70%). Após cerca de 15 h, a reacção foi completada. A mistura da reacção foi diluída com 25 ml de diclorometano e lavada duas vezes com uma solução saturada de meta-bisulfito de sódio. A fase orgânica foi seca e concentrada no vácuo para originar 15 mg (62%) de um resíduo amorfo branco que foi caracterizado como uma mistura de epóxidos diastereoméricos (razão determinada por RMN) de **19'**. HPLC (fase reversa, C_{18}, 70% de acetonitrilo/água, isocrático, 1,0 ml/min.). Tempo de Retenção: 4,82 min. (os isómeros foram coincidentes).

Lisboa, 10 de Maio de 2001

ALBERTO CANELAS
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto da Fórmula I



I

em que

Ar é seleccionado de um grupo consistindo de fenilo ou de fenilo substituído com um único grupo, seleccionado de um grupo constituído de halogénio e alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^1 é seleccionado de um grupo consistindo de halogénio, SH, amino, monoalquilamino (C_1-C_3), dialquilamino (C_1-C_3), trialquilamónio (C_1-C_3), sulfato ou fosfato;

R^2 é OH ou SH; ou

R^1 e R^2 podem ser ligados para formarem um anel epóxido, um anel aziridina, um anel epi-sulfureto, um anel sulfato ou um anel de cinco membros, tendo uma estrutura básica consistindo em carbono-carbono-oxigénio-fósforo-

oxigénio com dois átomos de oxigénio ligados ao átomo de fósforo, um dos quais se liga a um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos; ou

R^1 e R^2 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{18} e C_{19};

R^3 é um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^4 é H;

R^5 é H;

R^4 e R^5 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{13} e C_{14};

R^6 é benzilo, hidroxibenzilo, halo-hidroxibenzilo, di-halo-hidroxi-benzilobenzilo ou benzilo substituído, em que um dos substituintes é um átomo de halogénio e um dos substituintes é um grupo OR^{12} em que R^{12}é um alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^7 é H ou um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^8 é H ou um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos;

ou R^7 e R^8 podem ser opcionalmente juntos para formar um anel ciclopropilo;

R^9 é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo

de desde um a cinco carbonos, um alquilarilo (C_1-C_3) e arilo em que arilo significa fenilo ou naftilo;

R^{10} é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos, um alquilarilo (C_1-C_3) e arilo, em que arilo significa fenilo ou naftilo;

R^{11} é um grupo alquilo (C_1-C_7) em que o alquilo pode ser saturado, insaturado, de cadeia linear ou ramificada, um grupo fenilo com de um a três substituintes que podem ser seleccionados independentemente de alquilo (C_1-C_7) em que o alquilo pode ser saturado, insaturado, de cadeia linear ou ramificada, Cl, Br, F e I, benzilo, e um grupo benzilo substituído com de um a três substituintes que podem ser seleccionados independentemente de alquilo (C_1-C_7) em que o alquilo pode ser saturado, insaturado, de cadeia linear ou ramificada, Cl, Br, F e I;

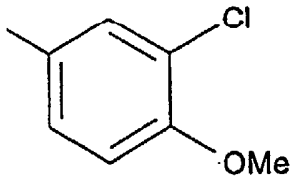
X é O, NH ou alquilamino (C_1-C_3);

Y é C, O, NH, S, SO, SO_2, ou alquilamino (C_1-C_3); ou um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

2. Um composto como reivindicado pela Reivindicação 1, em que Y é O.

3. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 2, em que X é O.

4. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 3, em que R^6 da fórmula:



5. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 4, em que R^8 e R^7 são ambos metilo.

6. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 5, em que R^9 é isobutilo e R^{10} é hidrogénio.

7. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 6, em que R^{11} é um grupo alquilo (C_1-C_4).

8. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 6, em que R^{11} é fenilo.

9. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 8, em que R^1 e R^2 formam um grupo epóxido.

10. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 9, em que Y é C.

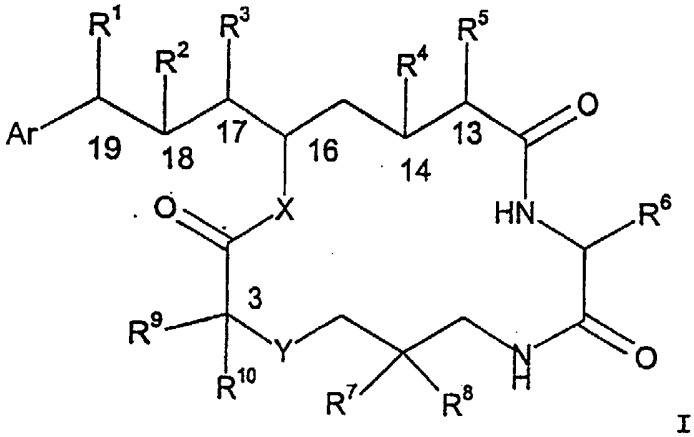
11. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 11, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso como produto farmacêutico.

12. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 11, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso como desagregador de microtúbulos.

13. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 1 a 11, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso no tratamento de um neoplasma.

14. Uma formulação farmacêutica compreendendo como ingrediente activo, um composto como reivindicado em qualquer das Reivindicações 1 a 11, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, associado com um ou mais excipientes ou veículos para esse fim.

15. Um composto da Fórmula III



III

em que:

Ar é fenilo ou fenilo substituído com um único grupo, seleccionado de um grupo constituído de halogénio e alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^1 é seleccionado de um grupo consistindo de halogénio, SH, amino, monoalquilamino (C_1-C_3), dialquilamino (C_1-C_3), trialquilamónio (C_1-C_3), sulfato ou fosfato;

R^2 é OH ou SH; ou

R^1 e R^2 podem ser ligados juntamente com os grupos C_{18} ou C_{19} para formarem um anel epóxido, um anel aziridina, um anel epi-sulfureto, um anel sulfato ou um anel de cinco membros, tendo uma estrutura básica consistindo em carbono-carbono-oxigénio-fósforo-oxigénio com dois átomos de oxigénio ligados ao átomo de fósforo, um dos quais se liga a um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos; ou

R^1 e R^2 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{18} e C_{19};

R^3 é um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^4 é H;

R^5 é H;

R^4 e R^5 podem ser juntos para formar uma segunda ligação entre os átomos C_{13} e C_{14};

R^6 é benzilo, hidroxibenzilo, halo-hidroxibenzilo, di-halo-hidroxibenzilobenzilo ou benzilo substituído em que um dos substituintes é um átomo de halogénio e um dos substituintes é um grupo OR^{12} em que R^{12} é um alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^7 é H ou um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos;

R^8 é H ou um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos;

ou R^7 e R^8 podem ser opcionalmente juntos para formar um anel ciclopropilo;

R^9 é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos, um alquilarilo (C_1-C_3) e arilo em que arilo significa fenilo ou naftilo;

R^{10} é seleccionado de um grupo consistindo de H, um grupo alquilo de desde um a cinco carbonos, um alquilarilo (C_1-C_3) e arilo em que arilo significa fenilo ou naftilo;

X é O, NH ou alquilamino (C_1-C_3);

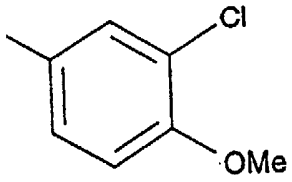
Y é C, O, NH, S, SO, SO_2, ou alquilamino (C_1-C_3); ou

um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

16. Um composto como reivindicado pela Reivindicação 15, em que Y é O.

17. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 16, em que X é O.

18. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 17, em que R^6 da fórmula:



19. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 18, em que R^6 e R^7 são ambos metilo.

20. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 19, em que R^9 é isobutilo e R^{10} é hidrogénio.

21. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 20, em que R^1 e R^2 formam um grupo epóxido.

22. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 21, em que Y é C.

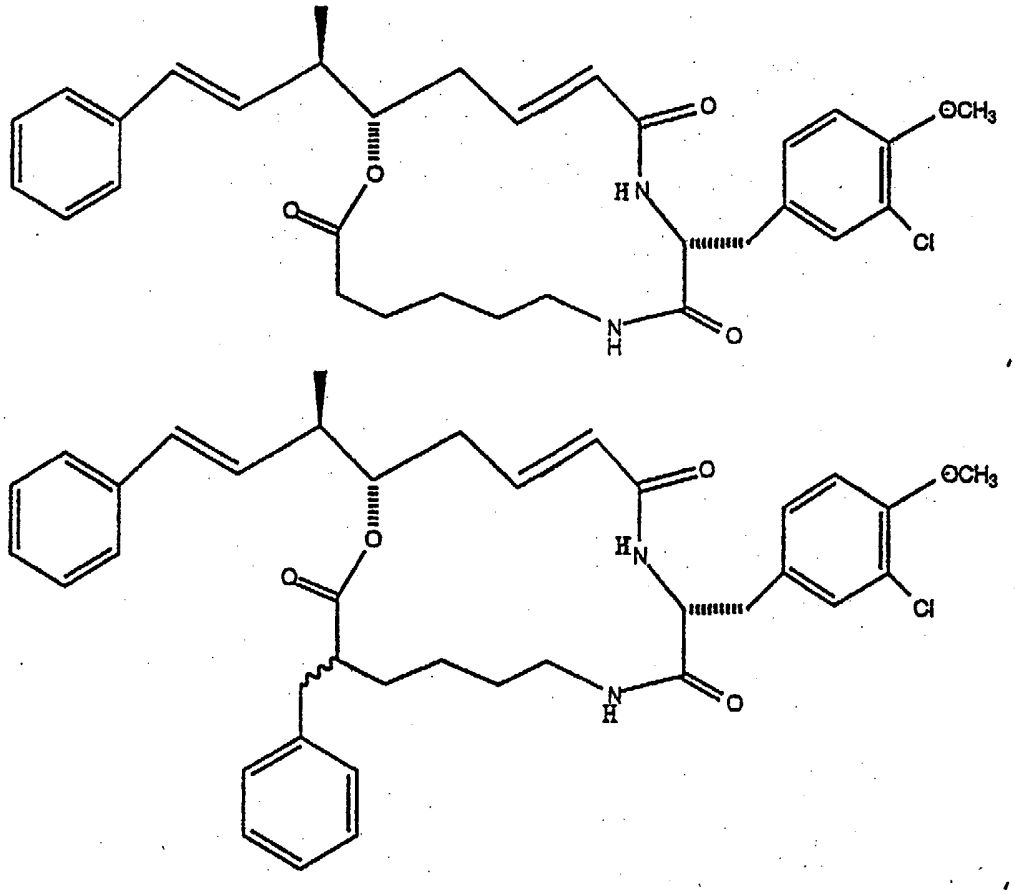
23. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 22, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso como produto farmacêutico.

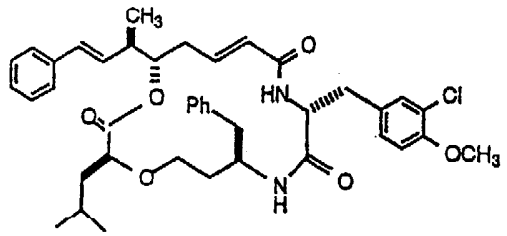
24. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 22, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso como desagregador de microtúbulos.

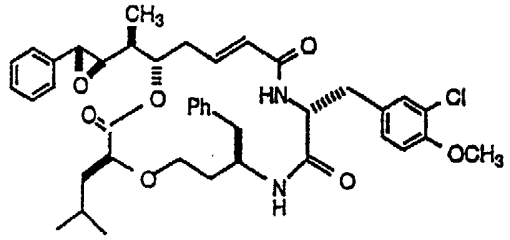
25. Um composto como reivindicado pelas Reivindicação 15 a 22, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso no tratamento de um neoplasma.

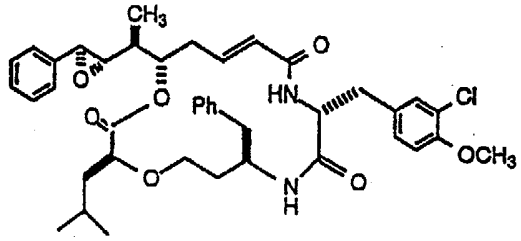
26. Uma formulação farmacêutica compreendendo como ingrediente activo, um composto como reivindicado em qualquer das Reivindicações 15 a 22, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, associado com um ou mais excipientes ou veículos para esse fim.

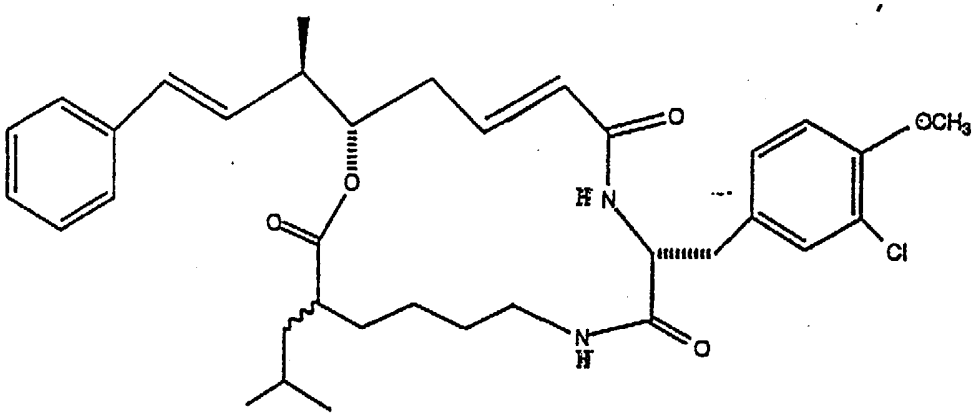
27. Um composto seleccionado do grupo consistindo de:

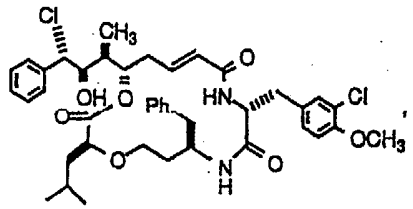


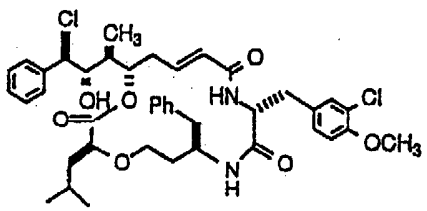


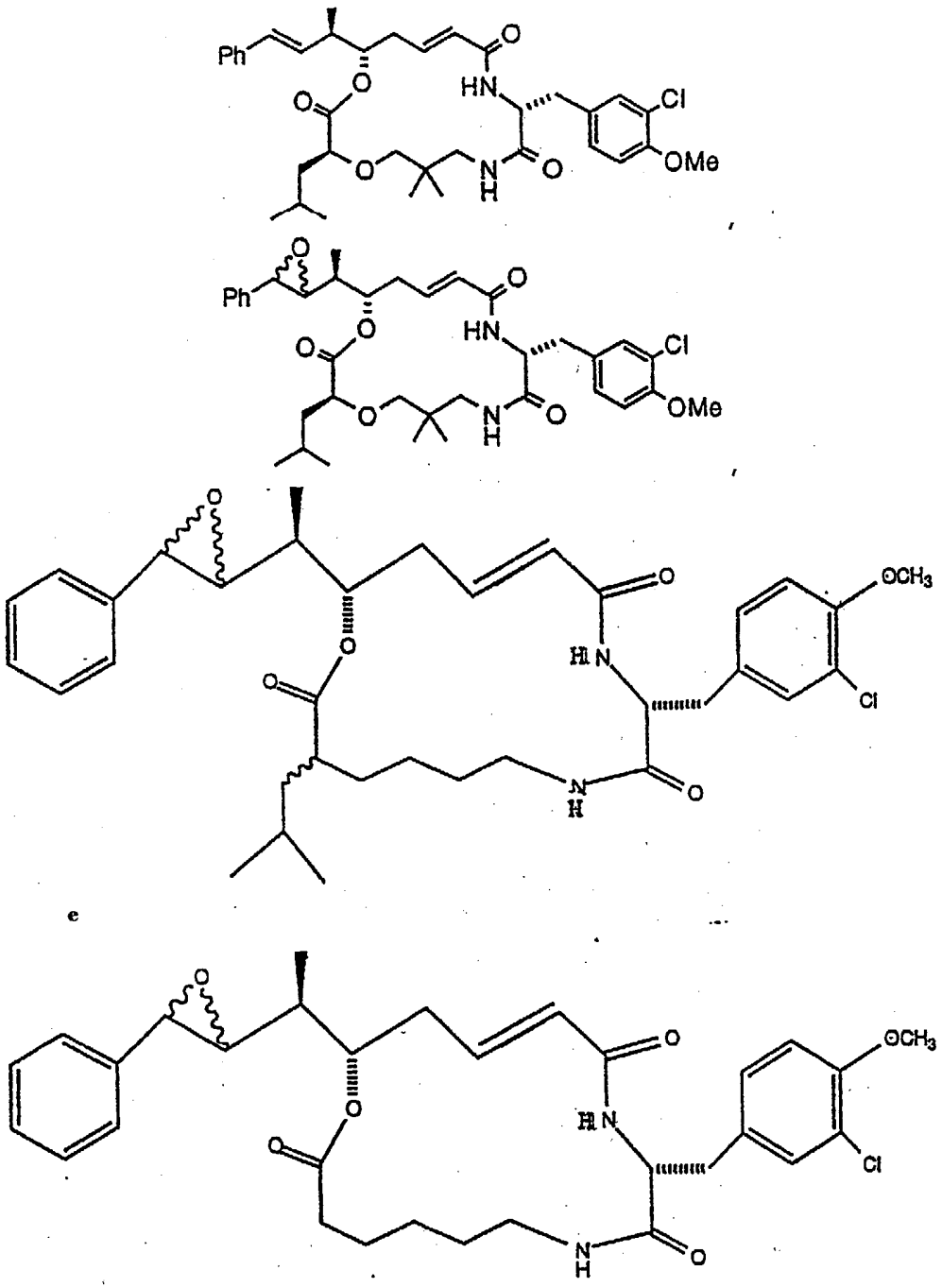












Lisboa, 10 de Maio de 2001

ALBERTO CANELAS
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA