

(11) *Número de Publicação:* **PT 820428 E**

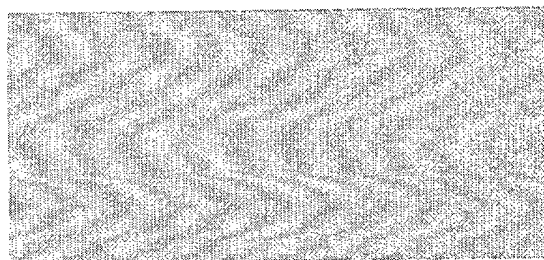
(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07C059/305 A C07C059/353 B
C07C059/315 B C07D257/04 B
A61K031/19 B

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de depósito: 1996.02.05	(73) Titular(es): WARNER-LAMBERT COMPANY 201 TABOR ROAD, MORRIS PLAINS NEW JERSEY 07950 US
(30) Prioridade: 1995.03.24 US 409780	
(43) Data de publicação do pedido: 1998.01.28	(72) Inventor(es): ALAN ROBERT SALTIEL US CHARLES LARRY BISGAIER US PAUL LEROY CREGER US SHERRIE RAE TAFURI US
(45) Data e BPI da concessão: 2000.05.10	(74) Mandatário(s): JOSÉ LUÍS FAZENDA ARNAUT DUARTE RUA DO PATROCÍNIO, 94 1350 LISBOA PT

(54) Epígrafe: ÉSTERES DIALQUÍLICOS QUE CONTÊM GRUPOS CARBOXI OU TETRAZOL TERMINAIS

(57) Resumo:



f L A

DESCRIÇÃO

"ÉSTERES DIALQUÍLICOS QUE CONTÊM GRUPOS CARBOXI OU TETRAZOL TERMINAIS"

CAMPO DA INVENÇÃO

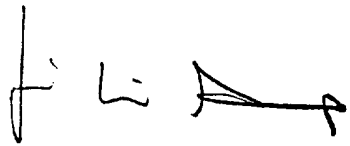
A presente invenção refere-se a compostos que são ésteres dialquílicos que possuem grupos carboxi ou tetrazol terminais. Os compostos são úteis para fazer baixar o nível de determinados lípidos plásmicos nos animais, incluindo o Lp(a), os triglicéridos, o colesterol de LMBD (o mesmo que VLDL) e o colesterol de LBD (o mesmo que LDL), e para fazer aumentar outros, tais como o colesterol de LAD (o mesmo que HDL).

Os compostos são eficazes para evitar e para tratar doenças vasculares e diabetes, por exemplo, aumentando a sensibilidade à insulina.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

As doenças vasculares, tais como a doença cardíaca coronária, os colapsos, a restenose e a doença vascular periférica continuam a ser a causa principal de morte e de incapacidade para a vida activa em todo o mundo. Anualmente morrem 1,5 milhões de pessoas só nos Estados Unidos da América do Norte em consequência de enfartes do miocárdio provocados por um colapso cardíaco congestivo. Embora as dietas alimentares e o estilo de vida possam acelerar o momento do início das doenças vasculares, a predisposição genética que origina a dislipidemia constitui um factor significativo em termos de óbitos e incapacidades permanentes para a vida activa, resultantes de acidentes vasculares. O termo "dislipidemia" designa níveis anormais de lipoproteínas no plasma sanguíneo.

Há diversos factores de risco que têm sido associados ao aumento do risco de ocorrência de doenças vasculares. Entre tais factores estão as dislipidemias com níveis elevados de lipoproteínas de baixa densidade (LBD) e com baixos níveis de lipoproteínas de alta den-



sidade (LAD). É frequente utilizar o quociente entre o colesterol de LAD e o colesterol de LBD para avaliar o risco de ocorrência de uma doença vascular. É aconselhável que a proporção entre os tipos de colesterol LAD/LBD seja elevada. Os compostos que aumentam esta razão podem ser do tipo que faz baixar os LBD ou do tipo que faz aumentar os LAD ou do tipo que intervém nestas duas variações, sendo por isso benéficos. Estudos recentes vieram comprovar que são prejudiciais os níveis elevados de uma forma modificada de LBD, designada por lipoproteína(a), Lp(a).

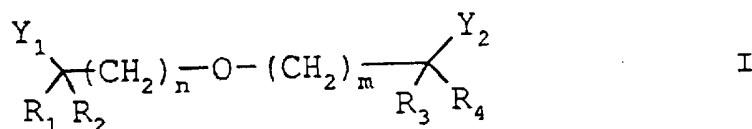
Suspeita-se que o colesterol Lp(a) seja indesejável, uma vez que os níveis elevados de Lp(a) têm sido associados ao desenvolvimento de patologias, tais como aterosclerose, doença cardíaca coronária, enfarte do miocárdio, colapsos, enfarte cerebral e restenose a seguir a uma angioplastia por meio de balão. Com efeito, presume-se que a Lp(a) seja um excelente elemento de diagnóstico para um possível colapso. Em consequência, uma concentração elevada de colesterol na forma de Lp(a) constitui um dos principais factores de risco que levam à morte em consequência de uma doença cardíaca.

Descobriu-se agora que há determinados éteres que são eficazes para fazer baixar as concentrações de Lp(a) no plasma. Assim, a presente invenção proporciona um método para fazer baixar os níveis de Lp(a) no plasma, o qual consiste em administrar um éter dialcanóico ou um éster correspondente. Estes tipos de compostos ainda não foram utilizados até ao momento presente no tratamento de doenças vasculares. Por exemplo, a patente de invenção norte-americana nº 3 320 079 descreve o composto 3,3'-oxibis-(ácido 2,2-dimetilpropiónico) como agente plastificante. A patente de invenção norte-americana nº 3 930 024 descreve um conjunto de alcanodióis sobre os quais se afirma que fazem baixar os triglicéridos do soro. A patente de invenção norte-americana nº 3 674 836 descreve ácidos fenoxialcanóicos sobre os quais se afirma que reduzem os triglicéridos. A patente de invenção norte-americana nº 4 711 896 descreve determinados ácidos α - ω -dicarboxílicos sobre os quais se afirma que fazem baixar os níveis de lípidos.

Constitui um objecto da presente invenção proporcionar um conjunto de éteres dialquílicos substituídos por carboxi que são eficazes para fazer baixar a Lp(a) do plasma. Constitui outro objecto da invenção proporcionar formulações farmacêuticas que contenham os referidos compostos e proporcionar também um método para tratar doenças vasculares utilizando tais compostos.

DESCRIÇÃO ABREVIADA DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona novas substâncias químicas caracterizadas como sendo éteres dialquílicos substituídos por carboxi ou tetrazol e seus sais e ésteres correspondentes. Mais particularmente, a invenção proporciona compostos que satisfazem à fórmula estrutural I



em que

cada um dos símbolos n e m representa independentemente um número inteiro compreendido entre 2 e 9;

cada um dos símbolos R₁, R₂, R₃ e R₄ representa independentemente um grupo alquilo (C₁-C₆), alcenilo (C₂-C₆), alquinilo (C₂-C₆), podendo os substituintes R₁ e R₂ conjuntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados e os substituintes R₃ e R₄ conjuntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados completar um anel carbocíclico que possua entre 3 e 6 átomos de carbono;

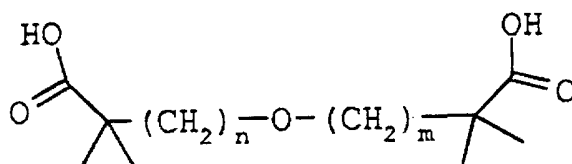
cada um dos símbolos Y₁ e Y₂ representa independentemente um grupo COOH, CHO, tetrazol e COOR₅ em que o símbolo R₅ representa um grupo alquilo (C₁-C₆), alcenilo (C₂-C₆) ou alquinilo (C₂-C₆);

e em que os grupos alquilo, alcenilo e alquinilo podem ser substituídos com um ou dois substituintes seleccionados entre átomos de hidrogénio ou grupos hidroxil, alcoxi (C₁-C₆) e fenilo.

Os compostos preferidos da presente invenção satisfazem à fórmula estrutural anteriormente definida em que os símbolos n e m representam o mesmo número inteiro e em que cada um dos símbolos R₁, R₂, R₃ e R₄ representa um grupo alquilo.

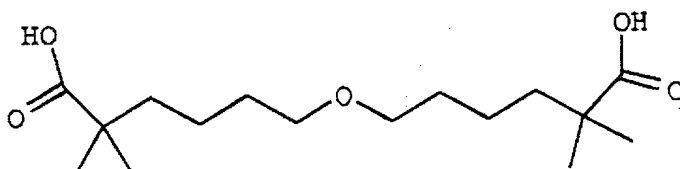
São também preferidos os compostos em que cada um dos símbolos Y_1 e Y_2 representa independentemente um grupo COOH ou COOR_5 em que o símbolo R_5 representa um grupo alquilo.

Os compostos de máxima preferência da presente invenção satisfazem à fórmula estrutural



em que cada um dos os símbolos n e m representa um número inteiro seleccionado entre 1, 2, 3, 4 ou 5, sendo de forma ideal 4 ou 5.

Um composto especialmente preferido é aquele que satisfaz à fórmula estrutural



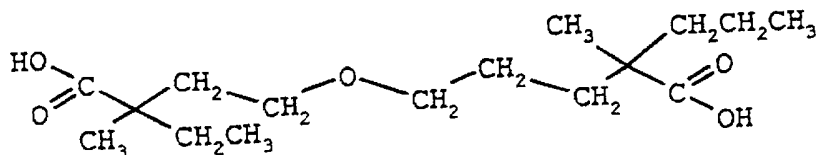
A invenção também proporciona os sais de ácidos aqui previstos que sejam farmacêuticamente aceitáveis.

De acordo com outro dos seus aspectos, a presente invenção proporciona formulações farmacêuticas que contenham um composto de fórmula estrutural I conjuntamente com um veículo, um diluente ou um excipiente aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

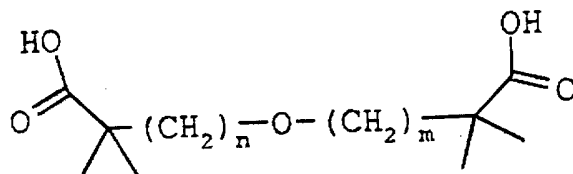
A invenção proporciona também métodos para tratar doenças vasculares, tais como a doença vascular periférica, a doença cardíaca coronária, colapsos e restenose. A invenção proporciona métodos para fazer baixar a Lp(a) , os triglicéridos do plasma, o colesterol de lipoproteínas de muito baixa densidade (LMBD), o colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LBD) e a apolipoproteína B. Além disso, a presente invenção proporciona também um método para aumentar no plasma o teor em colesterol de lipoproteínas de alta densidade (LAD), de apolipoproteínas A-I e de apolipoproteínas E. A invenção proporciona ainda um método para tratar e evitar diabetes *mellitus* não dependentes da insulina, graças a um aumento da sensibilidade à insulina, mediante a administração de um composto de fórmula estrutural I.

DESCRIÇÃO MINUCIOSA DA INVENÇÃO

Os compostos da presente invenção serão designados por ácidos e ésteres alcanóicos. Por exemplo, o composto de fórmula estrutural



irá receber a designação de ácido pentanóico, especificamente ácido 2-metil-2-n-propil-5-(3-metil-3-hidroxi-carbonil)-pentoxi-pentanóico. Conforme se referiu antes, os compostos preferidos são aqueles em que os símbolos n e m na fórmula estrutural I representam o mesmo número inteiro e os símbolos R_1 , R_2 , R_3 e R_4 representam todos eles o mesmo grupo alquilo. No caso de os dois símbolos Y_1 e Y_2 representarem simultaneamente grupos carboxi, então os compostos irão receber a designação de ácidos oxibis-alcanóicos. Por exemplo, um composto preferido de fórmula estrutural



em que os símbolos n e m representam simultaneamente o número 4, pode ser designado por ácido 6,6'-oxibis(2,2-dimetil-hexanóico).

Na fórmula estrutural I os símbolos R_1 , R_2 , R_3 e R_4 compreendem no seu conjunto os grupos "alquilo(C_1 - C_6)", designando este termo os grupos metilo, etilo, isopropilo, terc-butilo, n-hexilo e 2-metil-pentilo. Cada grupo alquilo pode der substituído com um átomo de halogénio ou com um grupo hidroxil, alcoxi(C_1 - C_6) e fenilo. O termo "halogénio" designa os átomos de cloro, bromo e iodo. O termo "alcoxi(C_1 - C_6)" designa um grupo alquilo(C_1 - C_6) ligado através de um átomo de oxigénio, por exemplo, um grupo etoxi, isopropoxi, n-hexiloxi e outros. Os grupos alquilo substituídos mais vulgares são os grupos clorometilo, 3-hidroxi-hexilo, 4-fenilbutilo, 2-iodopentilo, isopropoxi-metilo e não só.

Os substituintes R_1 , R_2 , R_3 e R_4 também podem compreender no seu conjunto grupos alcenilo(C_2 - C_6) e grupos alcenilo substituídos e

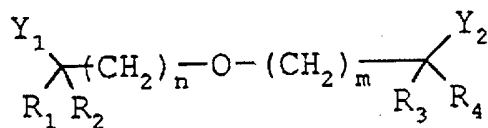
ainda grupos alquinilo (C_2-C_6) e grupos alquinilo substituídos. Como exemplos típicos refere-se os grupos vinilo, 2-propenilo, 3-cloro-4-hexenilo, 2-fenil-3-pentenilo, etinilo, 2-metoxi-etienilo, 2-bromo-etinilo, 6-fenil-3-hexinilo e não só.

Os substituintes R_1 e R_2 podem combinar-se com o átomo de carbono ao qual estão ligados para completarem um anel carbocíclico, tal como um anel ciclopropilo, ciclobutilo, ciclo-hexilo e ciclopentilo. De igual modo, os substituintes R_3 e R_4 podem ser considerados em conjunto com o átomo de carbono ao qual estão ligados para completarem um anel carbocíclico (C_3-C_6), tal como um anel ciclopropilo, ciclo-hexilo e outros que tais.

Cada um dos símbolos Y_1 e Y_2 na fórmula estrutural I representa independentemente um grupo $COOR_5$ em que o símbolo R_5 representa um grupo alquilo, alcenilo ou alquinilo ou um grupo alquilo, alcenilo ou alquinilo substituído. Estes grupos foram ilustrados *supra* a propósito dos substituintes R_1 , R_2 , R_3 e R_4 .

Os compostos da invenção que possuam pelo menos um grupo ácido carboxílico (isto é, um dos símbolos Y_1 e Y_2 representa um grupo $COOH$) formam facilmente sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico ao reagirem com bases orgânicas ou inorgânicas. As bases típicas vulgarmente utilizadas para a formação de sais são seleccionadas entre hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, carbonato de sódio, trietilamina, piridina, amónia e não só.

Os compostos típicos proporcionados pela presente invenção são os a seguir indicados:

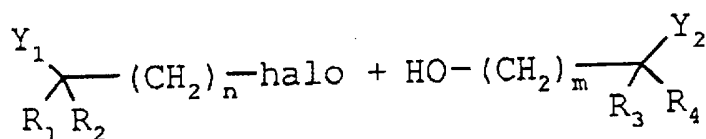


f L A

n	m	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Y ₁	Y ₂
2	3	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	COOH	COOH
3	3	CH ₃	CH ₃	Et	Et	COOCH ₃	COOH
2	4	Et	<u>i</u> -Pr	Et	Et	COOH	COOCH ₃
3	4	3-cloropropilo	CH ₃	CH ₃	2-hidroxietilo	COOH	CHO
4	4	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	COOH	COOH
4	4	Et	Et	Et	Et	COO ⁻ Na ⁺	COO ⁻ Na ⁺
4	4	Et	CH ₃	<u>n</u> -Bu	<u>n</u> -Bu	COOH	COOCH ₃
4	4	HOCH ₂	HOCH ₂	HOCH ₂	HOCH ₂	COOEt	COOEt
4	4	nPr	nPr	nPr	nPr	tetrazolilo	CHO
4	4					COOH	COOH
							
4	4			CH ₃	CH ₃	CHO	CHO
4	4	fenilmetilo	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CHO	CHO
4	5	CH ₃	CH ₃	Et	Et	COOH	CHO
4	5	Et	iPr	iPr	Et	COOH	COOH
2	5	n-hexilo	n-hexilo	n-hexilo	n-hexilo	COOH	COOH
2	6	iBu	iBu	nPr	nPr	COO ⁻ K ⁺	COO ⁻ K ⁺
3	6	CH ₃	CH ₃	Et	Et	COOH	COOH
3	7	HOCH ₂	ClCH ₂	BrCH ₂	ICH ₂	COOH	COOH
4	7	n-pentilo	n-pentilo	CH ₃ OCH ₂ -	CH ₃ OCH ₂ -	COO ⁻ Et ₃ N ⁺	COOH
4	8	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CHO	COOH
4	9	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	COOn-hexilo	COOEt
5	8	Et	Et	Et	Et	tetrazolilo	tetrazolilo
9	9	Et	Et	ClCH ₂	fenilmetilo	COOH	COOH

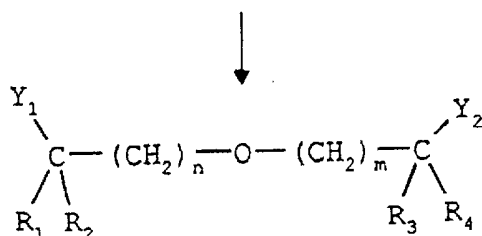
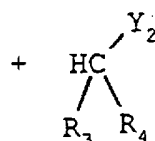
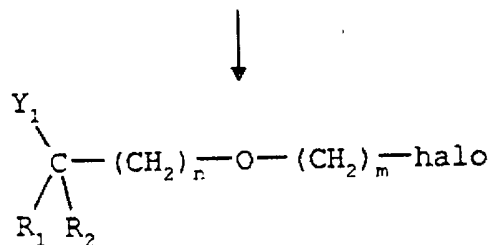
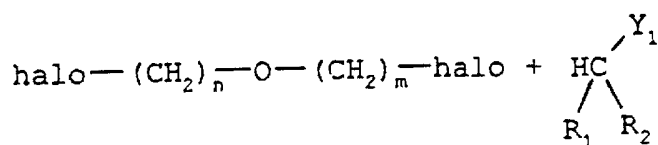
Os compostos da presente invenção são preparados utilizando metodologias bem conhecidas no campo da química orgânica. De acordo com um processo típico de síntese, faz-se reagir um halogeneto de alquilo substituído por carboxi com um alanol substituído por carboxi na presença de uma base para que tenha lugar uma condensação, assim se obtendo o composto da invenção. São utilizados ésteres carboxílicos típicos, assim se obtendo os compostos da invenção em que qualquer dos símbolos Y₁ e Y₂ representa um grupo de fórmula geral COOR₅. Uma saponificação simples converte um ou os dois grupos éster em ácido livre, sempre que desejado. A reacção de condensação anteriormente referida é ilustrada do modo seguinte:

f L A

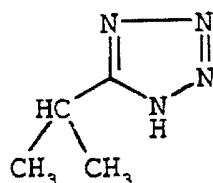


em que o radical halo é um átomo de bromo, cloro, iodo ou semelhante, e cada um dos símbolos Y_1 e Y_2 representa preferencialmente um grupo de fórmula geral $COOR_5$, embora a reacção também decorra igualmente bem se qualquer dos símbolos Y_1 e Y_2 representar independentemente um grupo tetrazolilo ou CHO. A reacção efectua-se geralmente fazendo reagir em primeiro lugar o alcanol com uma quantidade aproximadamente equimolar de uma base, tal como o hidreto de sódio ou o sódio metálico, geralmente num solvente orgânico não reactivo, seleccionado entre benzeno, tolueno, xileno, tetra-hidrofurano e outros que tais. Isto vai produzir a forma oxidada do alcanol que reage depois facilmente com uma quantidade equimolar de um halogeneto de alquilo para se obter um composto da invenção. De um modo geral, a reacção fica quase completa ao fim de um período compreendido entre cerca de 2 horas e cerca de 10 horas quando efectuada a uma temperatura elevada, compreendida entre cerca de 50°C e cerca de 120°C. O composto da invenção é facilmente isolado por simples remoção do solvente da reacção, por exemplo, por evaporação. Se necessário, é possível purificar o produto por métodos vulgares, tais como a cristalização a partir de solventes tais como os seleccionados entre acetato de etilo, benzeno, hexano e outros que tais, ou por cromatografia, por exemplo, sobre suportes sólidos, tais como o gel de sílica.

Há um método alternativo para a preparação dos compostos da invenção, o qual implica que um éter dialquílico halo-substituído reaja com um composto α, α -disubstituído seleccionado entre ácido acético ou éster, etanal ou metil-tetrazol. Tal reacção é ilustrada pelo esquema seguinte:



O processo descrito antes é utilizado preferencialmente para a preparação de compostos da invenção em que os substituintes R_1 e R_2 são respectivamente iguais aos substituintes R_3 e R_4 e em que os substituintes Y_1 e Y_2 são iguais. Em tal caso, o éter dialquílico substituído por átomos de halogénio vai reagir com dois equivalentes, ou mais, do derivado de ácido acético ou de tetrazol, por exemplo, um composto que satisfaça à fórmula estrutural



A reacção efectua-se geralmente num solvente comum seleccionado entre tetra-hidrofurano, dioxano, éter dietílico ou semelhantes, e na presença de uma base seleccionada entre hidreto de sódio, sódio metálico, butil-lítio ou semelhantes. De um modo geral, a reacção fica completa ao fim de um período compreendido entre cerca de 2 horas e cerca de 10 horas quando efectuada a uma temperatura compreendida entre cerca de 0°C e cerca de 50°C . O produto obtido,

que é um composto da invenção, é facilmente isolado eliminando o solvente da reacção e é possível realizar uma purificação complementar recorrendo a métodos vulgares, se desejado, incluindo a cromatografia, a cristalização e não só.

Por vezes, pode ser desejável proteger alguns grupos reactivos com radicais orgânicos removíveis de modo a impedir reacções secundárias indesejadas. Por exemplo, os grupos hidroxí e carboxi livres podem ser protegidos com radicais que eliminem a sua capacidade para participarem nas reacções químicas que têm lugar, nos casos em que esses radicais possam ser facilmente removidos, sempre que desejado, para assim se regenerar o grupo carboxi ou hidroxí livre. Os grupos típicos de protecção do hidroxí e carboxi e os métodos para o seu acoplamento e subsequente remoção foram exaustivamente descritos por Greene e Wirts em "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª Ed., John Wiley & Sons, Inc., Nova Iorque, NI, 1991. Por exemplo, os grupos hidroxí são facilmente protegidos por conversão num grupo o-benzilo, sendo facilmente clivados, quando desejado, por hidrogenólise. Os grupos carboxi são convertidos geralmente em ésteres, por exemplo, ésteres para-nitrobenzílicos ou ésteres 2,2,2-tricloroetílicos. Tais grupos éster são facilmente hidrolisados, quando desejado, para proporcionar o grupo carboxi livre.

Conforme se disse antes, os ácidos carboxílicos da presente invenção formam facilmente sais por reacção com uma base inorgânica ou com uma base orgânica. Os sais preferidos são os sais inorgânicos obtidos com bases, tais como as seleccionadas entre hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de cálcio e não só. As bases orgânicas típicas são a trietilamina, a piridina, a metilamina e outras idênticas.

Os exemplos pormenorizados seguintes ilustram melhor a síntese dos compostos da presente invenção. Tais exemplos são apresentados apenas a título ilustrativo e não são de forma alguma limitativos.

EXEMPLO 1

6,6'-Oxibis(ácido 2,2-dimetil-hexanóico)

A uma solução agitada de hidreto de sódio (28 g de uma suspensão a 60% em óleo mineral, 700 mmol) em 600 mL de tetra-hidrofurano anidro que continha 61 g (600 mmol) de diisopropilamina acrescentou-se 52,9 g (600 mmol) de ácido isobutírico. Agitou-se a mistura de reacção a 24°C durante 30 minutos e depois arrefeceu-se para 0°C num banho de gelo/acetona. À solução fria acrescentou-se 286 mL de uma solução 2,1 M de n-butil-lítio (600 mmol) e agitou-se a mistura a 0°C durante 1 hora. À mistura de reacção fria e agitada acrescentou-se gota a gota 59,7 g (297 mmol) de éter 4,4'-diclorobutílico durante 15 minutos. Aqueceu-se a mistura até à temperatura de 24°C e agitou-se durante 48 horas. Diluiu-se a mistura de reacção adicionando-lhe 600 mL de água. Separou-se a camada aquosa, lavou-se com 200 mL de éter dietílico e depois acidificou-se para pH 5,0 (vermelho do congo) por adição de cerca de 150 mL de ácido clorídrico 6 N. Extraiu-se a solução ácida aquosa três vezes com porções de 300 mL de éter dietílico. Efectuou-se a combinação dos extractos etéreos, lavou-se com salmoura, secou-se sobre MgSO₄ e removeu-se o solvente por evaporação sob pressão reduzida para se obter o produto com o aspecto de um óleo. Destilou-se esse óleo a 160°C e à pressão de 3 mm Hg para se obter 66,7 g de 6,6'-oxibis-(ácido 2,2-dimetil-hexanóico), p.f. 49-51°C.

Análise calcd. para C₁₆H₃₀O₅:

C, 63,47; H, 9,88

Encontrado: C, 63,75; H, 10,00.

EXEMPLOS 2 A 9

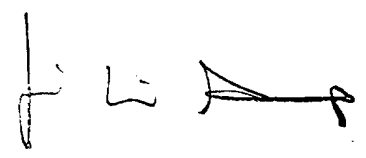
Utilizando o procedimento geral descrito no Exemplo 1 foi possível preparar os compostos a seguir indicados:

7,7'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-heptanóico),

5,5'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-pentanóico),

4,4'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-butanóico),

8,8'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-octanóico),


2,2-dimetil-5-(4-metil-5-etoxycarbonil-pentiloxi)-pentanoato de etilo,

2,2-dimetil-6-(5-metil-5-etoxycarbonil-hexiloxi)-hexanoato de etilo,

2,2-dimetil-8-(7-metil-7-metoxycarbonil-octiloxi)-octanoato de metilo e

ácido 7-(4-metil-4-hidroxycarbonil-pentiloxi)-2,2-dimetil-5-heptanóico.

Conforme referido antes, os éteres dialquílicos da presente invenção são úteis para tratar e evitar doenças vasculares, tais como a doença cardíaca coronária, colapsos, restenose e outras que tais, devido à sua capacidade para fazerem diminuir no plasma os níveis de colesterol de lipoproteínas ricas em triglicéridos, tais como as LBD, e para fazerem aumentar os níveis de colesterol de LAD. Os compostos são particularmente eficazes para fazerem baixar os níveis de Lp(a) e também para fazerem aumentar os níveis de colesterol de LAD.

Determinou-se a capacidade dos derivados éteres dialquílicos de fórmula estrutural I para fazerem baixar a Lp(a) e para fazerem aumentar os níveis de colesterol de LAD em estudos realizados *in vivo*, conforme é do conhecimento dos especialistas na matéria. Os estudos foram efectuados com ratos e realizados em conformidade com o protocolo a seguir descrito.

Foram utilizados ratos da estirpe Sprague Dawley (machos com 100-200 g), obtidos em 'Charles River Laboratories', tendo sido colocados 3 a 6 ratos em cada gaiola, aos quais foi permitido alimentarem-se com a ração alimentar 'Purina' e beberem água *ad libitum*, em compartimentos de temperatura controlada, em ciclos diários de 12 horas de luz/escuridão, tendo as lâmpadas sido acendidas às 6 horas da manhã. Administrou-se aos ratos diariamente, entre as 6 e as 9 horas da manhã, os compostos de ensaio, por alimentação forçada, dissolvidos ou em suspensão no veículo que continha Tween-20 a 0,2% mais carboximetil-celulose a 1,5% (em água) ou então apenas com o veículo referido. O volume do veículo era correspondente a 0,25% do

peso corporal e utilizou-se 'gemfibrozil' (100 mg/kg/dia) como agente de referência para todos os estudos. Os compostos testados foram administrados até doses de 100 mg/kg/dia durante um período de 7 a 14 dias. Os ratos que não estavam em jejum foram sacrificados por inalação de éter, pesados, sangrados a partir do coração e submetidos a hepaticotomia para se lhes determinar o peso dos respectivos fígados. Transferiu-se o sangue para tubos de ensaio que continham EDTA para se isolar o plasma. Verteu-se directamente nesse tubos de ensaio o sangue de macacos cinomolgos para se isolar o soro e o plasma.

Os macacos cinomolgos machos (*macaca fascicularis*) foram obtidos em 'Charles River Laboratories' (Wilmington, MA) e alojados e alimentados individualmente com uma dieta diária constituída por 20 biscoitos de ração normal para macaco (Ralston Purina, St. Louis, MO) e com frutos (uma banana e 12 bagos de uva). Os macacos foram previamente condicionados em dispositivos básicos de confinamento de primatas (Primate Products, Woodside, CA) e foram-lhes também implantadas válvulas de acesso vascular (Norfolk Medical Products, Skokie, IL) para a obtenção de amostras de sangue. Os efeitos do composto do Exemplo 1 foram estudados segundo um protocolo de doses cada vez maiores. Ao longo de um período de três semanas foram obtidas 3 amostras de sangue basal para estudo prévio, retiradas dos macacos enclausurados, através das válvulas de acesso vascular. Para os estudos com o composto do Exemplo 1 os macacos foram imobilizados e administrou-se-lhes diariamente, por alimentação forçada, doses de 3 mg/kg (1ª semana), 10 mg/kg (2ª semana) e 30 mg/kg (3ª semana) constituídas pelo composto do Exemplo 1 em suspensão num veículo que continha Tween-20 a 0,2% mais carboximetil-celulose a 1,5%, entre as 5 e as 7 da manhã. Durante o período do estudo, as amostras semanais de sangue foram colhidas 24 horas após a administração das correspondentes doses aos animais em jejum. Foram ainda obtidas outras amostras de sangue, retiradas de macacos em jejum, decorrida uma semana após ter cessado o tratamento com o composto do Exemplo 1. O consumo de alimentos e o comportamento observado afiguraram-se normais durante todo o estudo.

f l A

As amostras de plasma dos macacos foram conservadas em gelo, divididas em aliquotas que foram transferidas para diversos tubos de ensaio de microcentrifugadora e imediatamente congeladas e guardadas a -70°C . As amostras de soro foram guardadas a 4°C antes de efectuada a análise para pesquisa de albumina ou de enzimas específicas do soro, conforme adiante descrito.

Análise das Amostras

Procedeu-se à determinação dos triglicéridos, utilizando para tal um estojo comercialmente disponível (Triglicinct2, Sclavo, Siena, Itália ou Triglyceride G, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.; Osaka, Japão). Determinou-se por via enzimática a totalidade dos colesteróis do plasma, conforme descrito por Allain, et al., Clin. Chem., 20:470-474 (1974). Procedeu-se à determinação dos perfis lipoproteínicos do colesterol total do plasma por análise directa à saída de uma coluna de cromatografia em gel de elevado rendimento carregada com 'Superose 6' (CGER) efectuada num aparelho "Rainin HPLC" (ver Kieft, et al., J. Lipid Res., 32:859-866 (1991)). Determinou-se o colesterol lipoproteínico a partir da avaliação do colesterol total e da distribuição do colesterol em valor percentual da área, conforme determinado por CGER.

Determinou-se quantitativamente as apolipoproteínas A-I e E no plasma intacto, por imuno-electroforese com um só anticorpo (pistas de precipitação em forma de V invertido), em conformidade com o método de Laurell, et al., Methods Enzymol, 73:339-369 (1981), utilizando para tal anticorpos gerados num coelho em presença de apo A-I e numa cabra em presença de apo E do rato (cedido pelo Dr. Patrick Tso, LSU Medical Center, Shreveport, LA). Efectuou-se a diluição das amostras de plasma com ureia 4M, 'Trinton X-100' a 1%, 'Tricine' 12 mM, Tris 40 mM, lactato de cálcio 0,6 mM e azida de sódio a 0,01% a pH 8,2 e realizou-se a incubação durante 60 minutos à temperatura de 52°C antes da imuno-electroforese. Foram feitas diluições adequadas de plasma de rato para se determinar se as apolipoproteínas estavam no domínio de variação linear da experiência. A imuno-electroforese

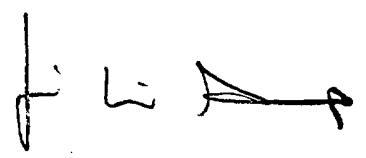
foi feita sobre uma película de 'GelBond' (Cat 53748, FMC Bioproducts, Rockland, ME) contendo quer 4% de anti-soro de coelho anti-apo A-I de rato quer 2% de anti-soro de cabra anti-apo E de rato em meio de agarose a 1%, polietileno-glicol 6000 a 2% em 'Tricine' 24 mM, Tris 80 mM e lactato de cálcio 1,2 mM. Procedeu-se à determinação da altura do V invertido sobre geles de amido contrastados a negro. Para a análise dos dados atribuiu-se arbitrariamente o valor de 100 às apolipoproteínas no plasma dos animais dos grupos de contraprova.

Efectuou-se a avaliação da apo B do rato em placas de microtitulação, com modificações ligeiras do método descrito por Rifai, et al., Clin. Chem., 32:957-961 (1986), isto é, um método imunoturbidométrico em que são utilizados anticorpos contra apo B de murganho, criados em ovelhas, que vão interagir com a apo B do rato. As amostras retiradas dos animais experimentais (5, 10, 20 e 30 μ L) ou uma amostra padrão de plasma misturado dos diversos ratos (0-50 μ L) foram combinadas com ureia 2M, 10% de soro de ovelha anti-apo de murganho, polietileno-glicol 8000 a 1,6% (concentrações finais) num volume total de 200 μ L de soluto salino tamponado com fosfato. Determinou-se a turbidez (DO = 340 nm) inicialmente e após uma incubação de um dia para o outro à temperatura ambiente, utilizando para tal um espectrofotómetro de absorvência de 96 cavidades de modelo 'Totertek Multiscan MCC/340MK II' (Flow Laboratories). Utilizou-se uma diluição adequada de plasma (normalmente 10 μ L) de rato para se determinar a apo B no intervalo de variação linear da experiência. Para a análise dos dados efectuou-se uma comparação entre os níveis da apo B no plasma dos animais tratados com o fármaco e o correspondente nível obtido no grupo de contraprova que foi arbitrariamente regulado para 100 em cada experiência.

Os níveis de Lp(a) nos macacos foram avaliados com um estojo de EISLE (o mesmo que ELISA) comercialmente disponível para determinação da Lp(a) (Apo-Tek Lp(a) Elisa Test System, Organon Teknika, Biotechnology Research Institute) concebido para a detecção da Lp(a) humana. Quantifica-se a Lp(a) por meio de uma técnica em sanduíche em que a apo(a) capturada pelo anti-apo(a) (placas de microtitulação

recobertas) é determinada pela sua associação com a apo B por meio de um anticorpo solúvel ligado enzimaticamente. As curvas padrão geradas com plasma humano e com plasma do macaco cinomolgo apresentaram-se paralelas, sugerindo tal facto que este ensaio poderia ser utilizado para efectuar medições quantitativas da Lp(a) do macaco cinomolgo. Foram realizadas medições de Lp(a) para todos os plasmas dos macacos cinomolgos, num ensaio singular realizado em triplicado com amostras descongeladas apenas uma vez.

Nos ratos alimentados com a ração de dieta efectuou-se uma comparação entre o produto 'gemfibrozil' e o composto do exemplo 1 no que diz respeito ao seu potencial para afectarem um conjunto de parâmetros dos lípidos. Estes valores representam os dados obtidos em diversos estudos independentes efectuados durante 1 semana e os resultados de um único estudo com a duração de 2 semanas (N = 8 ratos/grupo). Os dados de cada estudo foram normalizados, tomando como referencial os valores obtidos com os ratos tratados apenas com veículo e utilizados em cada estudo. O composto 'gemfibrozil' (100 mg/kg/dia) não teve nenhum efeito sobre a apo A-I do plasma que aumentou sobretudo para as doses mais elevadas do composto do exemplo 1. A apo E aumentou apenas ligeiramente com o produto 'gemfibrozil', mas aumentou nitidamente, segundo uma forma dependente da dose, com o composto do exemplo 1. Estes dados estão bastante influenciados pelos estudos com a duração de 1 semana (1 semana, N = 30; 2 semanas, N = 8) e por isso não reflectem o aumento nítido de apo E no plasma, observado com o produto 'gemfibrozil' no estudo de 2 semanas. Tanto o produto 'gemfibrozil' como o composto do exemplo 1 reduziram significativamente a apo B. Estas alterações das apolipoproteínas também podem ser avaliadas pelos quocientes entre apo E e apo B ou entre apo A-I e apo B. Os parâmetros dos lípidos do plasma, incluindo o colesterol total, o colesterol lipoproteínico e os triglicéridos também foram afectados de forma favorável pelo composto do exemplo 1 (figura 2). O colesterol total do plasma diminui ligeiramente por acção do produto 'gemfibrozil' à razão de 100 mg/kg, mas aumentou de uma forma dependente da dose por acção



do composto do exemplo 1. Este efeito reflectiu-se principalmente no aumento do colesterol de LAD. Tanto o produto 'gemfibrozil' como o composto do exemplo 1 fizeram baixar os teores em colesterol de LMBD e colesterol de LBD. Estes efeitos podem ser avaliados pelo quociente entre o colesterol de LAD e o colesterol de LMBD mais o colesterol de LBD, tendo em conta que 100 mg de produto 'gemfibrozil' fizeram aumentar este quociente para um nível semelhante ao conseguido com 10 mg de composto do exemplo 1 (1 a 2 vezes), ao passo que níveis mais elevados (30-100 mg) de composto do exemplo 1 fizeram aumentar ainda mais esta proporção que chegou a atingir um valor 8 ou 9 vezes superior com a concentração mais elevada que foi testada. Tanto o produto 'gemfibrozil' como composto do exemplo 1 fizeram baixar o teor de triglicéridos no plasma.

Recorreu-se à cromatografia em gel de elevado rendimento (CGER) para caracterizar os perfis do colesterol lipoproteínico nos ratos (figura 3) e nos macacos cinomolgos tratados com o composto do exemplo 1 (figura 4). A figura 3 ilustra os perfis do colesterol lipoproteínico obtidos com ratos (8/grupo) tratados apenas com veículo, tratados com o produto 'gemfibrozil' à razão de 100 mg/kg/dia ou com o composto do exemplo 1, durante 2 semanas, à razão de 1, 3, 10, 30 ou 100 mg/kg/dia. Cada perfil corresponde a um único rato. Todos os perfis estão traçados na mesma escala e o perfil do primeiro rato do grupo de contraprova (perfil obscurecido) está sobreposto em frente de cada grupo de tratamento para efeitos de comparação. Os perfis obtidos com o grupo tratado com o produto 'gemfibrozil' à razão de 100 mg/kg/dia foram semelhantes aos obtidos com o composto do exemplo 1 à razão de 3 a 10 mg/kg/dia. Para as doses de tratamento com o composto do exemplo 1, os efeitos sobre o colesterol lipoproteínico são ainda mais exagerados, incluindo a atenuação dos teores em colesterol de LMBD e colesterol de LBD e o aumento do teor em colesterol de LAD.

Recorreu-se também à CGER para caracterizar os perfis do colesterol lipoproteínico nos três macacos cinomolgos (machos) antes, durante e após o tratamento com o composto do exemplo 1. Os animais

f L A

foram previamente seleccionados de modo a representarem animais com proporções elevadas, médias ou baixas entre colesterol de LBD e colesterol de LAD. Os três perfis basais obtidos para cada macaco foram essencialmente idênticos e por tal motivo os dados foram agrupados e serviram para calcular os valores médios para se obter um perfil basal representativo. O tratamento de uma semana com o composto do exemplo 1 à razão de 3 mg/kg/dia não afectou os perfis do colesterol lipoproteínico. No entanto, o tratamento com o composto do exemplo 1 à razão de 10 mg/kg/dia durante 2 semanas e à razão de 30 mg/kg/dia durante 3 semanas fez diminuir progressivamente os teores em colesterol de LMBS, colesterol de LBD e colesterol de LAD, os quais começaram a regressar aos níveis de contraprova em dois dos três macacos ao fim de um período de depuração de 1 semana.

Nos primatas, o teor em colesterol de Lp(a) contribui para fazer subir o patamar do teor máximo em LBD. Com tratamentos progressivos, o valor máximo de LBD passa a ser mais simétrico, reflectindo possivelmente uma diminuição em Lp(a). Assim sendo, mediu-se directamente o teor em Lp(a), em conformidade com o protocolo de EISLE (figura 5). A avaliação quantitativa directa do teor em Lp(a) demonstrou a existência de uma redução dos níveis de Lp(a) de forma dependente da dose, tendo sido alcançadas reduções de 62%, 83% e 89% (média de $78\% \pm 8\%$) com o composto do exemplo 1 na dose de 30 mg/kg, independentemente dos níveis basais nos 3 macacos (figura 5). Ao fim de um período de depuração de uma semana, o teor em Lp(a) aproximou-se ou excedeu os níveis do pré-tratamento

Ao contrário dos ratos, em que o teor em LAD é nitidamente elevado durante o tratamento com o composto do exemplo 1, observou-se com este composto uma diminuição no teor de colesterol de LDA no macaco cinomolgo. A redução do teor em LDA no macaco cinomolgo pode reflectir eventualmente o nível elevado de proteína de transferência do éster colesterílico (PTEC) nesta espécie. O plasma do rato tem fraca ou mesmo nenhuma actividade de PTEC (o mesmo que CETP). Assim sendo, os níveis elevados de PTEC podem acelerar o ritmo de transferência de colesterol de LAD para o de LBD e precursores de

f L A

LBD, daí resultando uma diminuição dos níveis de colesterol de LAD. A análise dos níveis de actividade da PTEC nos coelhos e no conjunto de primatas demonstrou que o níveis de PTEC no plasma de macacos cinomolgos são nitidamente superiores (10 a 20 vezes) aos dos seres humanos (figura 6). Assim sendo, um resultado previsível no tratamento de seres humanos com o composto da presente invenção é a diminuição dos teores em colesterol de LMBD, colesterol de LBD e colesterol de Lp(a) e um aumento do teor em colesterol de LAD.

As figuras 1 a 6 mostram os resultados da avaliação biológica dos compostos da invenção. Os resultados são apresentados para o composto preferencial do exemplo 1. A figura 1 mostra a estrutura do composto preferencial do exemplo 1 e identifica-o como sendo o composto 'PD 72953' que é o termo utilizado em algumas das figuras para designar o composto do exemplo 1. O agente de referência é o produto 'gemfibrozil', por vezes designado por "CI-719" nas figuras.

A figura 2 mostra os efeitos do composto do exemplo 1 quando administrado aos ratos através da ração alimentar. Foram utilizados ratos (machos) da estirpe Sprague Dawley que foram doseados por via oral diariamente com veículo constituído por carboximetil-celulose/Tween, com o produto 'gemfibrozil' ou com o composto do exemplo 1, segundo as concentrações indicadas, entre as 6 e as 9 horas da manhã, durante 7 dias. Numa das experiências efectuou-se o tratamento de 8 ratos no grupo de contraprova, 8 ratos no grupo tratado com o produto 'gemfibrozil' e 8 ratos em cada um dos grupos tratados com o composto do exemplo 1, com as doses de 1, 3, 10, 30 e 100 mg/kg/dia, durante 14 dias. Deixou-se que os animais se alimentassem e bebessem água *ad libitum*, tendo sido depois sacrificados por inalação de éter aproximadamente 12 horas após a administração da última dose. Determinou-se por via enzimática os triglicéridos e o colesterol total. Foram também determinados os perfis quantitativos de lipoproteínas por cromatografia em gel de elevado rendimento (CGER). As áreas dos picos obtidos por CGER (ver a figura 3, por exemplo) mais os dados referentes ao colesterol total do plasma foram utilizados para se determinar o colesterol nas fracções de lipoproteínas.

f L A

Efectuou-se a determinação das apolipoproteínas A-I e E por imuno-electroforese. Determinou-se a apolipoproteína B por um método imuno-turbidométrico. Na experiência de 14 dias determinou-se a actividade da carnitina-aciltransferase hepática como valor indicativo da actividade da enzima peroxissômica. Esta metodologia foi descrita por Krause, et al., Pharmacol. Res., 29:345-357 (1994). Estes dados permitem concluir que o composto do exemplo 1 induz um aumento desta actividade de forma dependente da dose, possuindo uma activação semelhante à que se observa com o produto 'gemfibrozil' na dose de 100 mg/kg/dia. Os dados representam a média $\pm$ D.P. para os valores determinados, tendo por referência o grupo de contraprova, em nove experiências independentes.

Os ratos foram tratados conforme anteriormente descrito a propósito da figura 2. Submeteu-se o plasma a CGER para se determinar a distribuição de colesterol entre lipoproteínas. Todos os perfis para cada grupo de 8 ratos foram traçados na mesma escala intergrupo e intragrupos. Sobrepos-se um perfil de referência do primeiro rato do grupo de contraprova a cada grupo de tratamento de 8 ratos.

Foi utilizado o método de CGER para analisar os perfis de colesterol lipoproteínico em 10 μ L de plasma retirado de 3 macacos cinomolgos (macacos 90-98, 90-122, 90-182) antes e durante o tratamento com o composto do exemplo 1 e após um período de depuração de uma semana. Durante os períodos semanais de tratamento com doses cada vez maiores, o composto do exemplo 1 foi administrado, segundo as doses indicadas, por alimentação oral forçada num veículo constituído por carboximetil-celulose/Tween, entre as 5 e as 6 horas da manhã, aos animais em jejum. Foram efectuadas colheitas de sangue nas datas indicadas, antes da administração das diversas doses e em jejum. Os animais foram alimentados diariamente com 20 biscoitos de ração normal para macacos, 12 bagos de uva e 1 banana. Os perfis das três amostras basais para cada macaco foram praticamente idênticos e por tal motivo fez-se uma média dos três perfis de cada macaco para se obter um perfil representativo. Faz-se observar que o pico de LBD é reduzido e mais simétrico à medida que o tratamento vai evoluindo, sugerindo uma redução da Lp(a).

f l A

Determinou-se o teor em Lp(a) com um estojo de EISLE comercialmente disponível. As amostras de plasma de cada extracção de sangue foram divididas em aliquotas de pequenos volumes (100 µL) e congeladas a -70°C. Determinou-se o teor em Lp(a) para todas as amostras de plasma na mesma experiência. Os dados indicados na figura 5 representam os níveis absoluto (painel superior) e relativo por referência ao basal (painel inferior) de Lp(a) para os três macacos, correspondentes à figura 4.

Determinou-se a actividade de proteína de transferência do éster colesterílico (PTEC), conforme ilustrado na figura 6, em diversas espécies de primatas e em coelhos alimentados com ração alimentar e com colesterol. Determinou-se a actividade da PTEC no plasma total, mediante a determinação da velocidade de transferência de um análogo sintético e fluorescente do éster colesterílico contido em micro-emulsões, em conformidade com o método de Biasgaier, et al., Lipid Res., 34:1625-1634 (1993).

Para se comparar a eficácia relativa do composto do exemplo 1 com a de outros compostos da presente invenção, fez-se uma experiência com a duração de uma semana com ratos alimentados com ração alimentar. Foram utilizados ratos (machos) da estirpe Sprague Dawley aos quais se administrou por via oral veículo constituído por carboximetil-celulose/Tween ou os compostos da invenção indicados na figura 7 (ver o esquema indicado na figura para saber as estruturas) à razão de 30 mg/kg/dia, entre as 6 e as 9 horas da manhã, durante 7 dias. Permitiu-se que os animais comessem e bebessem água *ad libitum*, tendo sido sacrificados por inalação de éter aproximadamente 12 horas depois da última dose. Os triglicéridos do plasma, o colesterol total do plasma, a distribuição do colesterol entre lipoproteínas e o teor em apolipoproteínas foram determinados conforme descrito antes.

A figura 7 ilustra os resultados obtidos na experiência descrita *supra*. A figura mostra que o composto preferido do exemplo 1 faz baixar de forma extraordinária os triglicéridos do plasma e o colesterol de LMBD e faz aumentar o colesterol de LAD.

Também se comprovou que os éteres dialquílicos faziam aumentar a sensibilidade à insulina, sendo por isso úteis para aumentar a

f l A

utilização de glicose em animais diabéticos ou para tratar diabetes, em particular no caso de diabetes *mellitus* não dependentes da insulina. Os compostos da invenção foram avaliados em conformidade com um ensaio convencional em que foram utilizados adipócitos 3T3-L1 que reagem particularmente à insulina, isto é, a incorporação de açúcar pode ser activada intensamente 15 a 20 vezes pela insulina. A metodologia utilizada na experiência foi descrita minuciosamente por Frost et al., J. Biol. Chem, 260:2646-2652 (1985).

Dito de forma concreta, as células de fibroblastos 3T3-L1 foram obtidas na colecção americana de culturas tipo (American Type Culture Collection - ATCC, Rockville, MD). As células cresceram até à confluência e diferenciaram-se em adipócitos. No dia 0, as células confluentes foram tratadas com insulina 167 nM, dexametasona 0,25 µM e isobutil-metil-xantina de metilo 0,5 M em meio de Eagle modificado por Dulbecco (MEMD) contendo 10% de soro fetal de bovino (SFB). Decorridos 2 dias trocou-se os meios por MEMD contendo insulina 167 nM e 10% de SFB. Os meios foram depois substituídos por MEMD a 10% e trocados dia sim dia não, até ao momento da colheita. Os compostos experimentais, solubilizados em dimetil-sulfóxido, foram incorporados nos meios no dia 0 e repostos em cada substituição dos meios. Estimou-se a diferenciação avaliando visualmente a acumulação de gotículas de gordura nas células. Mediu-se o transporte da glicose quantificando a incorporação de [¹⁴C]-desoxiglicose nas células diferenciadas ao 9º dia, em conformidade com a metodologia descrita por Sandouk, et al., Endocrinology, 133:352-359 (1993).

A figura 8 mostra os resultados da avaliação celular para compostos representativos da invenção. Estimou-se o transporte de glicose aos níveis basais como medida indicadora da expressão do transportador da glicose Glut 1 nestes adipócitos criados em cultura. Como composto de referência incorporou-se também o produto troglitazona que é um composto que tem vindo a ser utilizado clinicamente como agente para aumentar a utilização da glicose em animais e seres humanos (exaustivamente descrito no exemplo 2 da patente de invenção norte-americana nº 4 572 912), tendo originado um aumento

f L A

de 70% no transporte da glicose nestas células, à concentração de 5 μ M. Esta actividade da substância troglitazona é predictiva das suas acções de sensibilização à insulina. Dos compostos da invenção testados, qualquer dos compostos do exemplo 1 e do exemplo 2 produziu um aumento nítido na actividade de transporte da glicose, induzindo o composto do exemplo 2 uma estimulação 2 vezes superior. Os compostos da invenção foram avaliados a 100 μ M.

Conforme se pode concluir pelos dados anteriores, os éteres dialquílicos da presente invenção são eficazes para fazer baixar os teores em Lp(a), triglicéridos, apolipoproteína B, colesterol de LMBD e colesterol de LBD. Os compostos também servem para fazer aumentar os teores em apolipoproteínas A-I, apolipoproteína E, colesterol de LAD e a razão LAD/(LMBD + LBD). Assim, os compostos são úteis para tratar e evitar doenças vasculares e diabetes mellitus não dependentes da insulina. Uma outra variante da presente invenção é um método para tratar e evitar doenças vasculares e diabetes, o qual consiste em administrar a um mamífero que necessite de tratamento uma quantidade eficaz de um composto de fórmula estrutural I. A expressão "quantidade eficaz" designa a dose necessária para tratar ou evitar doenças vasculares ou diabetes num mamífero. Os compostos serão administrados normalmente em doses compreendidas entre cerca de 50 mg/dia e cerca de 5000 mg/dia e mais geralmente compreendidas entre cerca de 50 mg/dia e cerca de 2000 mg/dia. O regime de dosagem vulgarmente praticado compreende a administração de uma quantidade compreendida entre cerca de 50 mg e cerca de 300 mg, 1 a 4 vezes por dia. Estes mesmos níveis de dosagem também irão ser utilizados para tratar e evitar doenças vasculares e ainda para fazer baixar especificamente os níveis de Lp(a) no plasma e para fazer aumentar os níveis de colesterol de LAD no plasma e para o tratamento e prevenção de diabetes.

Uma outra variante da presente invenção diz respeito às formulações farmacêuticas que incorporem um composto de fórmula estrutural I conjuntamente com um excipiente, um veículo ou um diluente aceitável sob o ponto de vista farmacêutico. Os compostos

podem ser formulados convenientemente para administração oral ou parentérica, sendo preferível a administração por via oral. Os veículos e excipientes farmacêuticos típicos, utilizados nas formulações para administração oral, são seleccionados entre lactose, sacarose, amidos, tais como amido de milho e o amido de batata, derivados de celulose, tais como metil-celulose e etil-celulose, gelatinas, talco, óleos, tais como os óleos vegetais, o óleo de sésamo e o óleo de sementes de algodão e também os glicóis, tais como o polietileno-glicol. As preparações para administração oral irão ser tipicamente comprimidos, cápsulas, emulsões, soluções e não só. Também é possível utilizar formulações de libertação controlada, por exemplo, recorrendo a uma matriz polimérica ou a uma bomba osmótica ou dispositivos idênticos. As formulações típicas irão conter entre cerca de 5% e cerca de 95% em peso do éter dialquílico administrado com o excipiente ou veículo. É possível incorporar nessas formulações agentes aromatizantes tais como o aroma de cereja e o aroma de laranja,.

Para efeitos de administração parentérica é possível formular os compostos da invenção com diluentes, tais como solutos salinos isotónicos, soluções aquosas de glicose a 5%, e não só, para uma administração conveniente por via intramuscular ou intravenosa. Os compostos ainda podem ser formulados com ceras e geles, assumindo a forma de supositórios. Os compostos da invenção também são perfeitamente adequados para administração por via transdermal, podendo então ser formulados com agentes indutores da penetração e outros que tais, sob a forma de emplastos. O exemplo seguinte ilustra melhor as formulações típicas proporcionadas pela presente invenção.

EXEMPLO 10

Ingrediente	Quantidade
Ácido 2,2-dimetil-6-(3-metil-3-hidroxi-carbonil- -butiloxi)-hexanóico	1000 g
Lactose	960 g
Estearato de magnésio	40 g

f L A

Mistura-se os ingredientes homogeneamente e com a mistura obtida procede-se ao enchimento de cápsulas de gelatina dura nº 4. Em cada cápsula são introduzidos 200 mg da mistura obtida que contém 100 mg de éter dialquílico activo. As cápsulas irão ser administradas a um ser humano adulto à razão de 1 a 3 por dia para fazer baixar o teor em Lp(a) no plasma.

EXEMPLO 11

Ingrediente	Quantidade
Ácido 2,2-dimetil-6-(6-metil-6-etoxi-carbonil-heptiloxi)-hexanóico	3000 g
Lactose	750 g
Amido de milho	300 g
Gelatina	120 g
Água	1000 cm ³
Estearato de magnésio	20 g

Mistura-se homogeneamente o éter dialquílico, a lactose e 150 g do amido de milho com uma solução da gelatina em água. A granulação húmida assim obtida é joeirada, seca e novamente joeirada. Os grânulos secos assim obtidos são misturados uniformemente com o estearato de magnésio e com o amido de milho restante e depois comprime-se esta mistura por forma a que sejam produzidos comprimidos de 698 mg, utilizando para tal punções côncavos normalizados de calibre 15/32 de polegada. Cada comprimido contém 500 mg do éter dialquílico.

EXEMPLO 12

Ingrediente	Quantidade
6,6'-Oxibis(ácido 2,2-dimetil-hexanóico)	4,0 g
Monoestearato de polioxietileno-sorbitano	0,1 cm ³
Carboximetil-celulose de sódio	0,3 g
Silicato complexo de alumínio e magnésio	0,5 g
Açúcar	10 g

f l A

Glicerina	2 cm ³
Benzoato de sódio	0,5 g
Citrato de sódio	0,2 g
Corante vermelho farmaceuticamente aceitável	1 mg
Aroma de cereja	0,02 cm ³
Água destilada qs até	100 cm ³

O monoestearato de polioxietileno-sorbitano pode ser um produto tal como o polissorbato 60 ou o 'Tween 60'. O silicato complexo de alumínio e magnésio é um agente formador de gel. É possível utilizar um produto tal como 'Veegum H.V.'. Esta substância é hidratada de um dia para o outro em 10 cm³ de água destilada. Prepara-se uma mistura a partir do monoestearato de polioxietileno-sorbitano, aroma artificial de cereja, 30 cm³ de água destilada e ainda com o éter dialquílico, fazendo-a passar através de um homogeneizador. Sob agitação vigorosa acrescenta-se o açúcar, a glicerina, o citrato de sódio, o benzoato de sódio e a carboximetil-celulose de sódio, seguindo-se a adição do silicato complexo de alumínio e magnésio hidratado e de uma solução do corante vermelho em 2 cm³ de água. Efectua-se a homogeneização da suspensão resultante, ajusta-se para pH 5,0 com ácido cítrico e diluiu-se até se obter o volume final de 6 cm³ utilizando a água destilada necessária. Uma unidade de dosagem oral de 55 cm³ desta suspensão contém 200 mg do éter dialquílico. Se desejado, o corante vermelho e o aroma artificial de cereja podem ser suprimidos ou substituídos por outros agentes corantes e aromatizantes. Uma variante preferencial da presente invenção consiste em utilizar os éteres dialquílicos para evitar e tratar diabetes *mellitus* não dependentes da insulina e os estados de saúde anteriores a tal situação.

Os diabetes *mellitus* não dependentes da insulina (DMNDI), também designados por diabetes de tipo II, são a forma de diabetes *mellitus* que ocorre predominantemente nos adultos em que há uma produção adequada de insulina para os fins necessários, se bem que haja uma defeito na utilização e no metabolismo, por acção mediada

f L A

pela insulina, da glicose nos tecidos periféricos. Os DMNDI declarados caracterizam-se por três anomalias metabólicas importantes: resistência à eliminação da glicose por acção mediada pela insulina, diminuição da secreção da insulina estimulada pelos nutrientes e produção excessiva de glicose pelo fígado.

Presume-se que nas pessoas afectadas por DMNDI as suas células B deixam de ser capazes de manter uma secreção suficiente de insulina para compensar a resistência à insulina. Os mecanismos responsáveis por esta insuficiência das células B ainda não foram identificados, mas podem estar relacionados eventualmente com as solicitações crónicas que as células B enfrentam devido à resistência periférica à insulina e/ou aos efeitos da hiperglicemia que dificultam a actividade das células B. Essa incapacidade das células B também pode ter lugar enquanto defeito independente e inerente em indivíduos "pré-diabéticos".

Os DMNDI desenvolvem-se frequentemente em determinadas populações de risco, por exemplo, numa população de indivíduos com a síndrome do ovário policístico (SOPC). A SOPC é a disfunção endócrina mais vulgar nas mulheres em idade reprodutiva. Esta síndrome caracteriza-se por um hiperandrogenismo e por uma secreção desorganizada de gonadotropina que dá origem a uma oligoovulação ou a uma anovulação.

A SOPC está associada a uma profunda resistência à insulina, resultante de uma importante hiperinsulinemia. Em consequência da sua resistência à insulina, as mulheres que padeçam de SOPC constituem um grupo onde é maior o risco de aparecerem os DMNDI. O hirsutismo, o acne e a alopecia, vulgarmente observáveis em mulheres com a SOPC, são manifestações clínicas de hiperandrogenismo. As perturbações menstruais e a infertilidade são o resultado de disfunções ovulatórias relacionadas com a secreção desordenada de gonadotropina. A existência de androgénio em excesso, provavelmente devido a uma conversão eventual de androgénios em estrogénio, também desempenha um papel importante na libertação desordenada de gonadotropina aquando da SOPC.

f L A

Os DMNDI também se desenvolvem numa população de risco de indivíduos com diabetes mellitus gestacionais (DMG). A gravidez está normalmente associada a uma resistência progressiva à eliminação da glicose por acção mediada pela insulina. Com efeito, a sensibilidade à insulina durante a fase final da gravidez é menor do que a que se observa em todos os outros estados fisiológicos. Presume-se que a resistência à insulina seja mediada em grande parte pelos efeitos das hormonas circulantes, tais como o lactogénio placentar, a progesterona e o cortisol, hormonas estas que se encontram com teores elevados durante a gravidez. Em virtude da resistência à insulina, a resposta das células B pancreáticas à glicose aumenta normalmente quase 3 vezes nas fases avançadas da gravidez, resposta esta que serve para minimizar o efeito da resistência à insulina sobre os níveis da glicose circulante. Assim, a gravidez constitui um importante "teste de stress" sobre a capacidade das células B para compensarem a resistência à insulina.

Outras populações que presumivelmente constituem grupos de risco em termos de desenvolvimento de DMNDI, são as pessoas com a Síndrome X; as pessoas com hiperinsulinemia concomitante; as pessoas com resistência à insulina, caracterizada por uma hiperinsulinemia e por uma incapacidade para responderem à insulina exógena; e ainda as pessoas com níveis anormais de insulina e/ou evidência de doenças relacionadas com a glicose, que estejam associadas com um excesso de substâncias circulantes, tais como glucocorticóides, hormona do crescimento, catecolaminas, glucagona, hormona da paratiróide e ainda no caso de outros estados relacionados com a resistência à insulina.

A incapacidade para tratar os DMNDI pode ser mortal devido à ocorrência de doenças cardiovasculares e também pode dar origem a outras complicações diabéticas, tais como retinopatia, nefropatia e neuropatia periférica. Durante muitos anos, o tratamento de DMNDI consistiu num programa cujo objectivo era o de fazer baixar os níveis de açúcar no sangue combinadamente com uma dieta e exercício físico. Em alternativa, o tratamento de DMNDI requeria a utilização

de agentes hipoglicémicos ingeridos por via oral, tais como sulfonilureias por si sós ou em combinação com injeções de insulina.

Em qualquer dos casos, aquilo que se pretende é um método para tratar populações de risco, tais como as que padeçam de SOPC e DMG, com o intuito de se evitar ou retardar o começo de DMNDI, assim se conseguindo uma mitigação dos sintomas, melhorando a qualidade de vida, evitando complicações agudas e de longo prazo, reduzindo a mortalidade e tratando as doenças associadas a tudo isto nas populações em risco de virem a contrariar DMNDI. Os métodos que visam a utilização dos compostos aqui descritos para o tratamento de populações de risco que padeçam de SOPC e DMG, com a finalidade de se evitar ou retardar o começo de DMNDI, conforme aqui explicado, satisfazem tais objectivos.

Lisboa, 28 de Junho de 2000

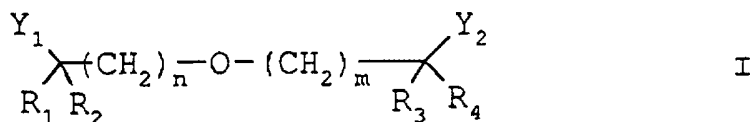
O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

h - A

f L A

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula estrutural



em que

cada um dos símbolos n e m representa independentemente um número inteiro compreendido entre 2 e 9;

cada um dos símbolos R₁, R₂, R₃ e R₄ representa independentemente um grupo alquilo(C₁-C₆), alcenilo(C₂-C₆), alquinilo(C₂-C₆), podendo os substituintes R₁ e R₂ conjuntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados e os substituintes R₃ e R₄ conjuntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados completar um anel carbocíclico que possua entre 3 e 6 átomos de carbono;

cada um dos símbolos Y₁ e Y₂ representa independentemente um grupo COOH, CHO, tetrazol e COOR₅ em que o símbolo R₅ representa um grupo alquilo(C₁-C₆), alcenilo(C₂-C₆) ou alquinilo(C₂-C₆);

e em que os grupos alquilo, alcenilo e alquinilo podem ser substituídos com um ou dois substituintes seleccionados entre átomos de hidrogénio ou grupos hidroxil, alcoxi(C₁-C₆) e fenilo, e seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que cada um dos símbolos R₁, R₂, R₃ e R₄ representa um grupo alquilo(C₁-C₆).
3. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que cada um dos símbolos Y₁ e Y₂ representa independentemente um grupo COOH ou COOR₅.
4. Composto de acordo com a reivindicação 3, em que cada um dos símbolos Y₁ e Y₂ representa independentemente um grupo COOH ou COOR₅ e o símbolo R₅ representa um grupo alquilo(C₁-C₆).

f L A

5. Composto de acordo com a reivindicação 4, em que cada um dos símbolos R_1 , R_2 , R_3 e R_4 representa o mesmo grupo alquila e os símbolos Y_1 e Y_2 representam ambos o grupo COOH .
6. Composto de acordo com a reivindicação 5, em que cada um dos símbolos R_1 , R_2 , R_3 e R_4 representa um grupo metila.
7. Composto de acordo com a reivindicação 6, em que os símbolos n e m representam o mesmo número inteiro.
8. Composto de acordo com a reivindicação 7, em que os símbolos n e m representam ambos o número 4.
9. Composto de acordo com a reivindicação 8, o qual é 6,6'-oxibis-(ácido 2,2-dimetil-hexanóico).
10. Composto de acordo com a reivindicação 7, em que os símbolos n e m representam ambos números seleccionados entre 2, 3, 5 ou 6.
11. Composto de acordo com a reivindicação 10, o qual é:
4,4'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-butanóico);
5,5'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-pentanóico);
7,7'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-heptanóico); ou
8,8'-oxibis(ácido 2,2-dimetil-octanóico).
12. Composto de acordo com a reivindicação 7, em que os símbolos Y_1 e Y_2 representam ambos um grupo COOR_5 .
13. Composto de acordo com a reivindicação 12, em que o símbolo R_5 representa um grupo metila.
14. Composto de acordo com a reivindicação 13, o qual é 2,2-dimetil-8-(7-metil-7-metoxicarbonil-octiloxi)-octanoato de metila.

f l A

15. Composto de acordo com a reivindicação 12, em que o símbolo R_5 representa o grupo etilo.
16. Composto de acordo com a reivindicação 15, o qual é 2,2-dimetil-5-(4-metil-7-etoxicarbonil-pentiloxi)-pentanoato de etilo ou 2,2-dimetil-6-(5-metil-5-etoxicarbonil-hexiloxi)-hexanoato de etilo.
17. Formulação farmacêutica que incorpora um composto de acordo com a reivindicação 1 conjuntamente com um diluente, um veículo ou um excipiente aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.
18. Formulação farmacêutica que incorpora um composto de acordo com a reivindicação 17, a qual incorpora um composto em que cada um dos símbolos Y_1 e Y_2 representa independentemente um grupo COOH ou COOR_5 em que o símbolo R_5 representa um grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$).
19. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 18, a qual incorpora um composto em que cada um dos símbolos R_1 , R_2 , R_3 e R_4 representa um grupo metilo.
20. Formulação de acordo com a reivindicação 19, a qual incorpora um composto em que os símbolos n e m representam o mesmo número inteiro.
21. Formulação de acordo com a reivindicação 20, a qual incorpora um composto em que os símbolos n e m representam ambos o número 4.
22. Formulação de acordo com a reivindicação 20, a qual incorpora o composto 6,6'-oxibis-(ácido 2,2-dimetil-hexanóico).
23. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer baixar o teor de Lp(a) no plasma.

f. l. A

24. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para evitar ou tratar doenças vasculares.
25. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer aumentar o teor de colesterol de LAD no plasma.
26. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer baixar o teor em triglicéridos no plasma.
27. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para evitar ou tratar diabetes *mellitus* não dependentes da insulina.
28. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer baixar o teor em colesterol de LBD.
29. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer baixar o teor em colesterol de LMBD.
30. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer baixar o teor de apolipoproteínas B.
31. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer aumentar o teor de apolipoproteínas A-I no plasma.

32. Utilização de um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16 para a preparação de uma composição farmacêutica para fazer aumentar o teor de apolipoproteínas E no plasma.

Lisboa, 28 de Junho de 2000

O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

L. A.

f l A

FIG-1

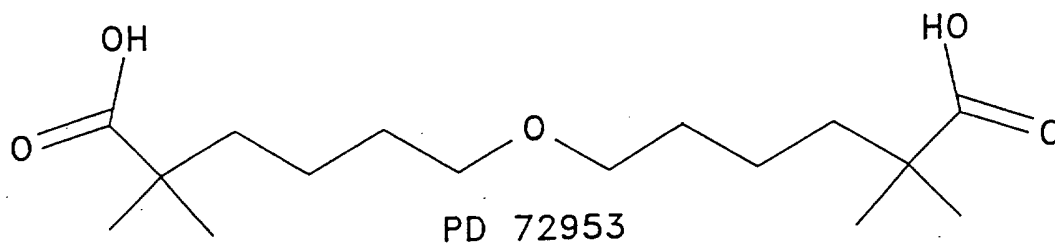
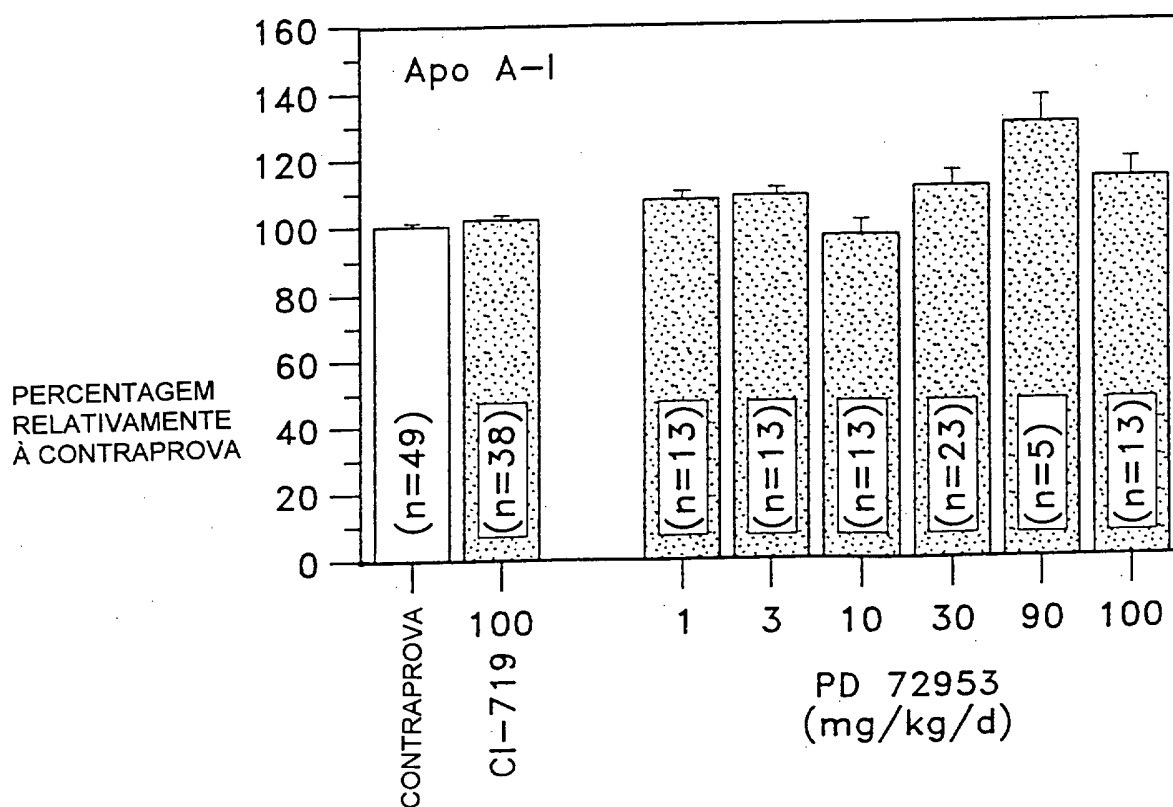


FIG-2A



f L A

FIG-2B

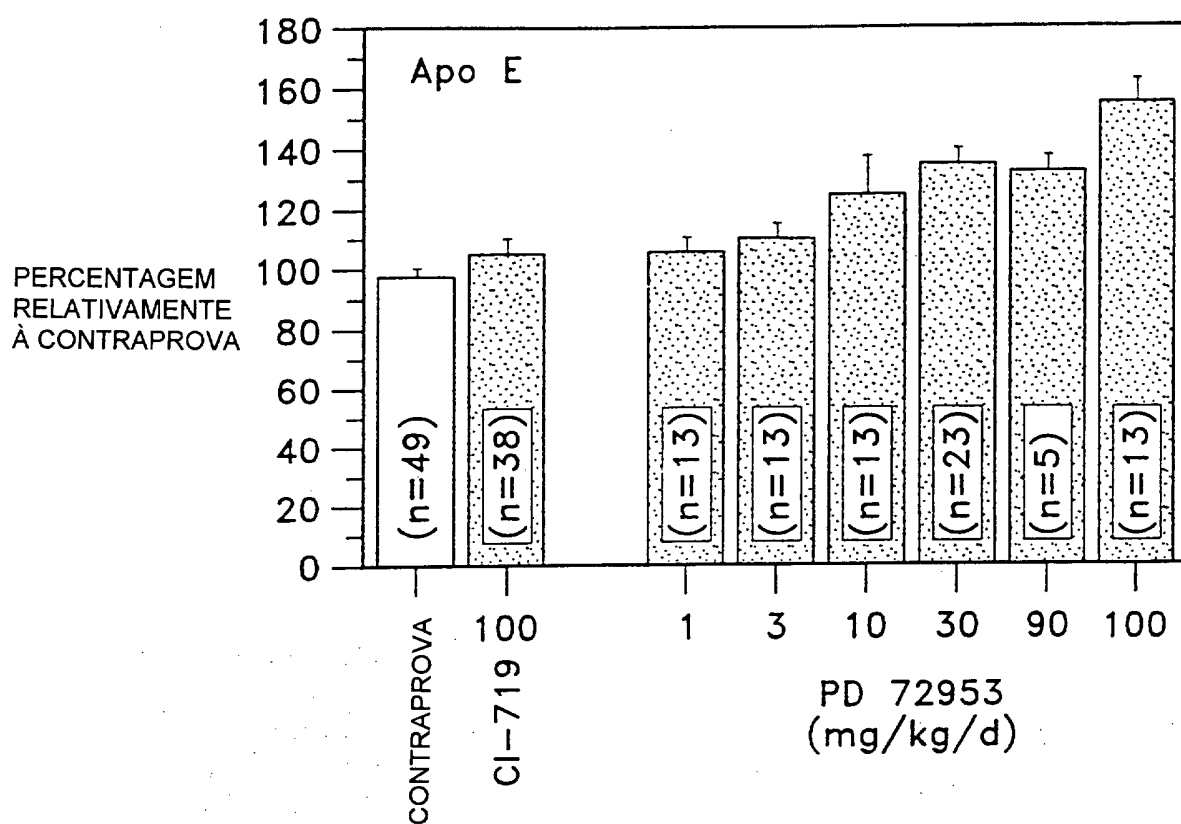
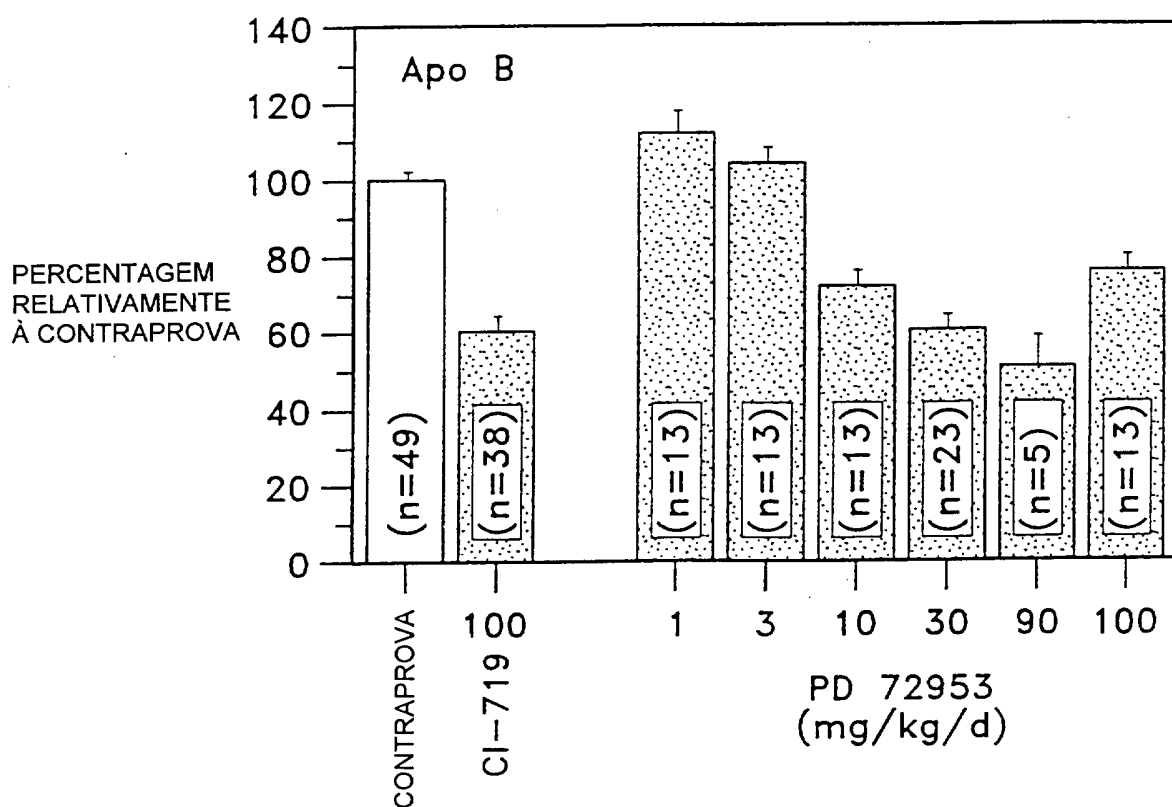


FIG-2C



f l i

FIG-2D

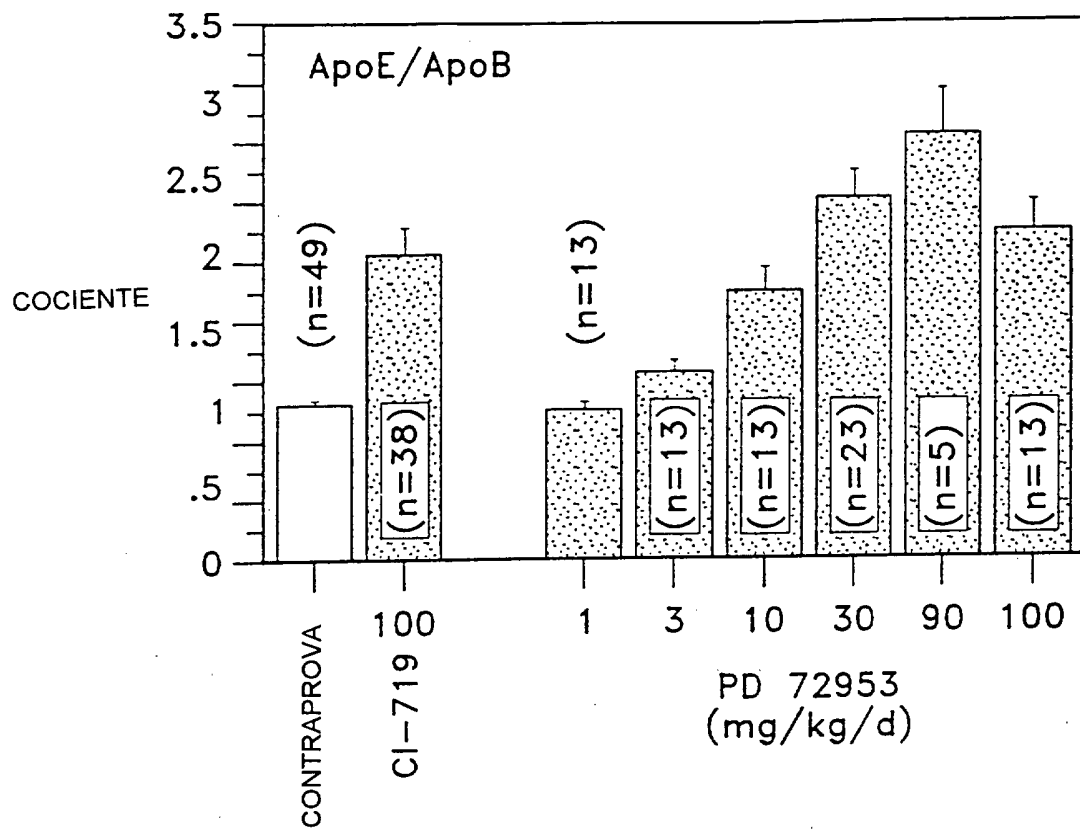
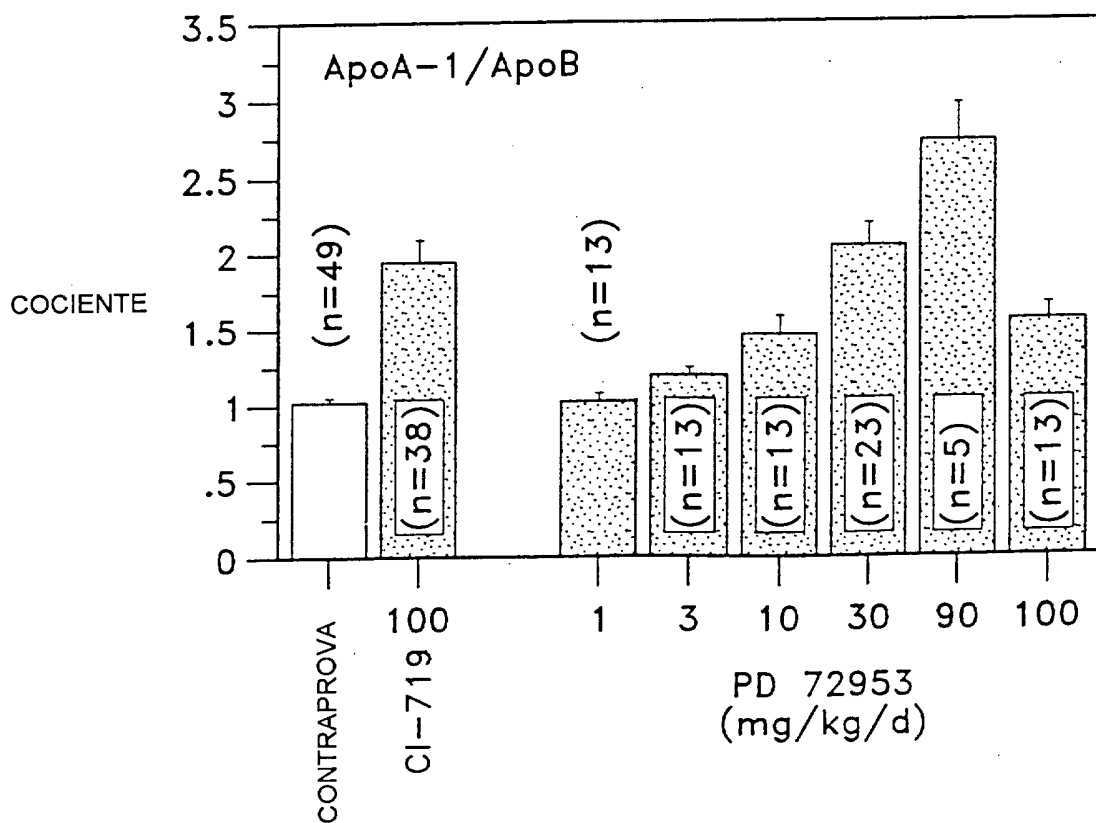


FIG-2E



4/23

f l A

FIG-2F

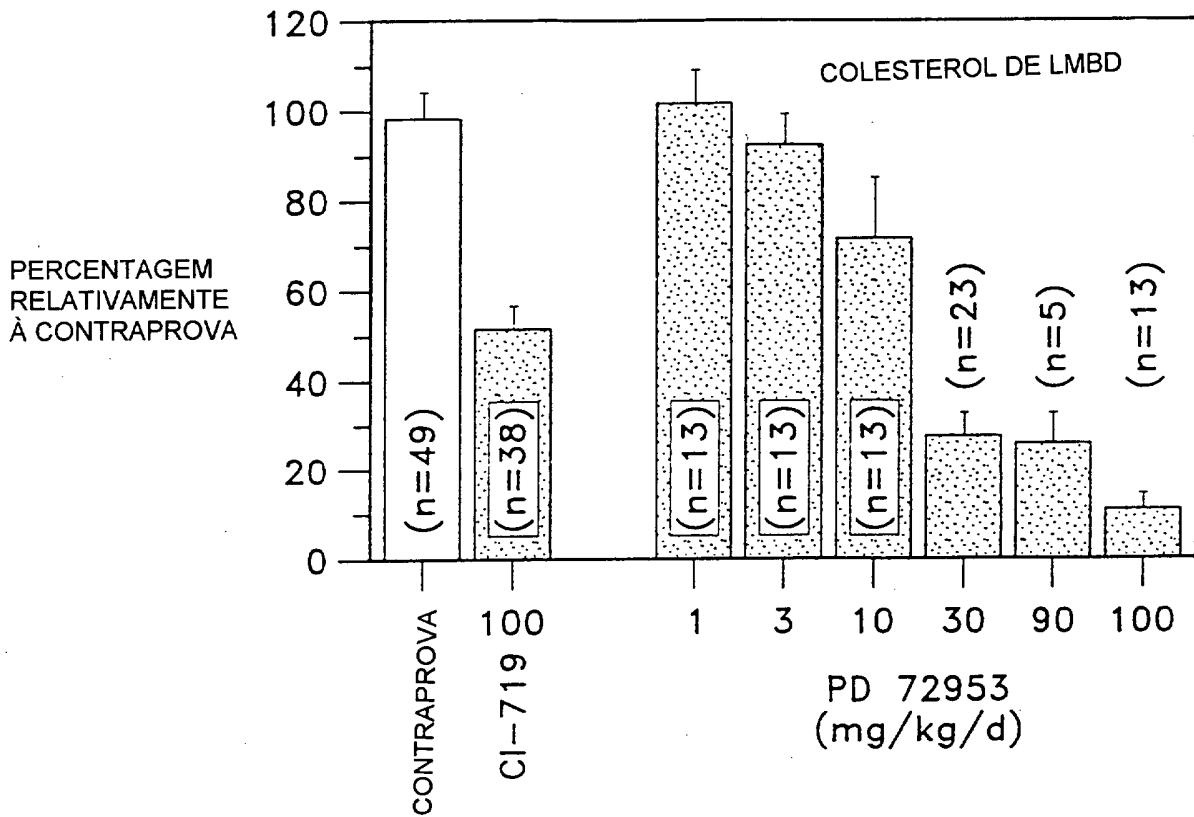
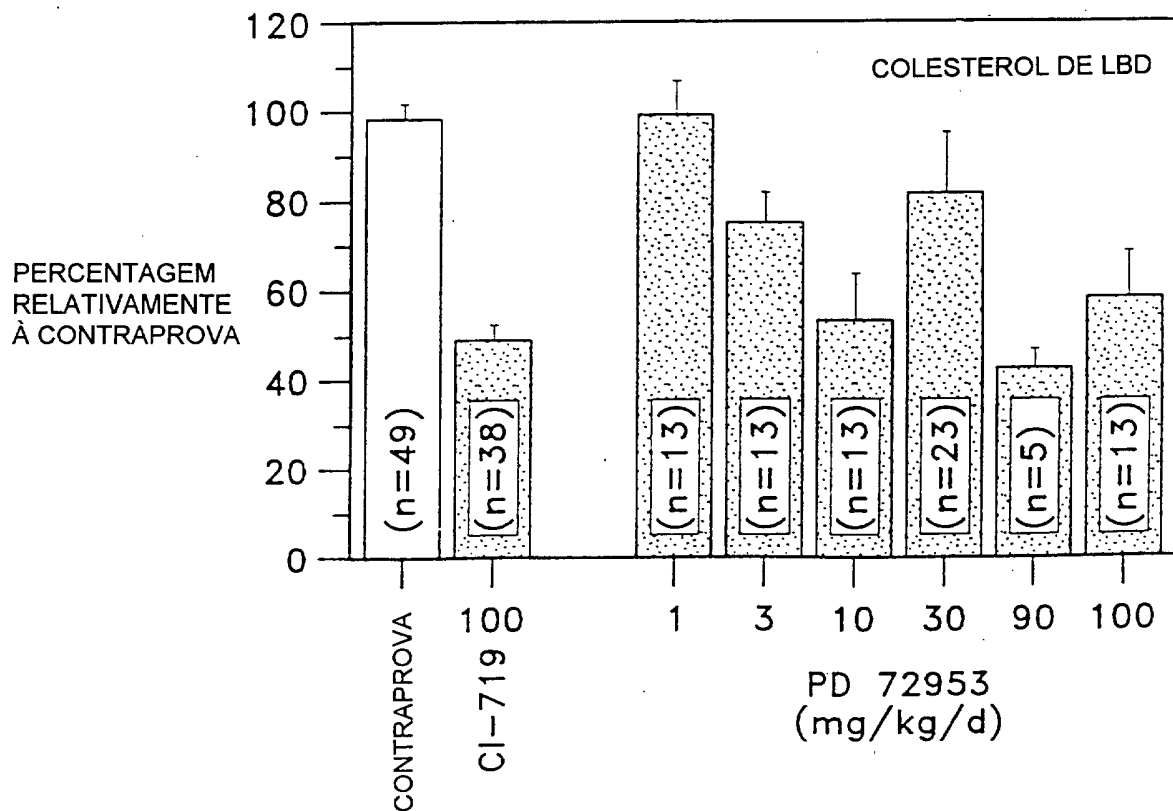


FIG-2G



5/23

f L A

FIG-2H

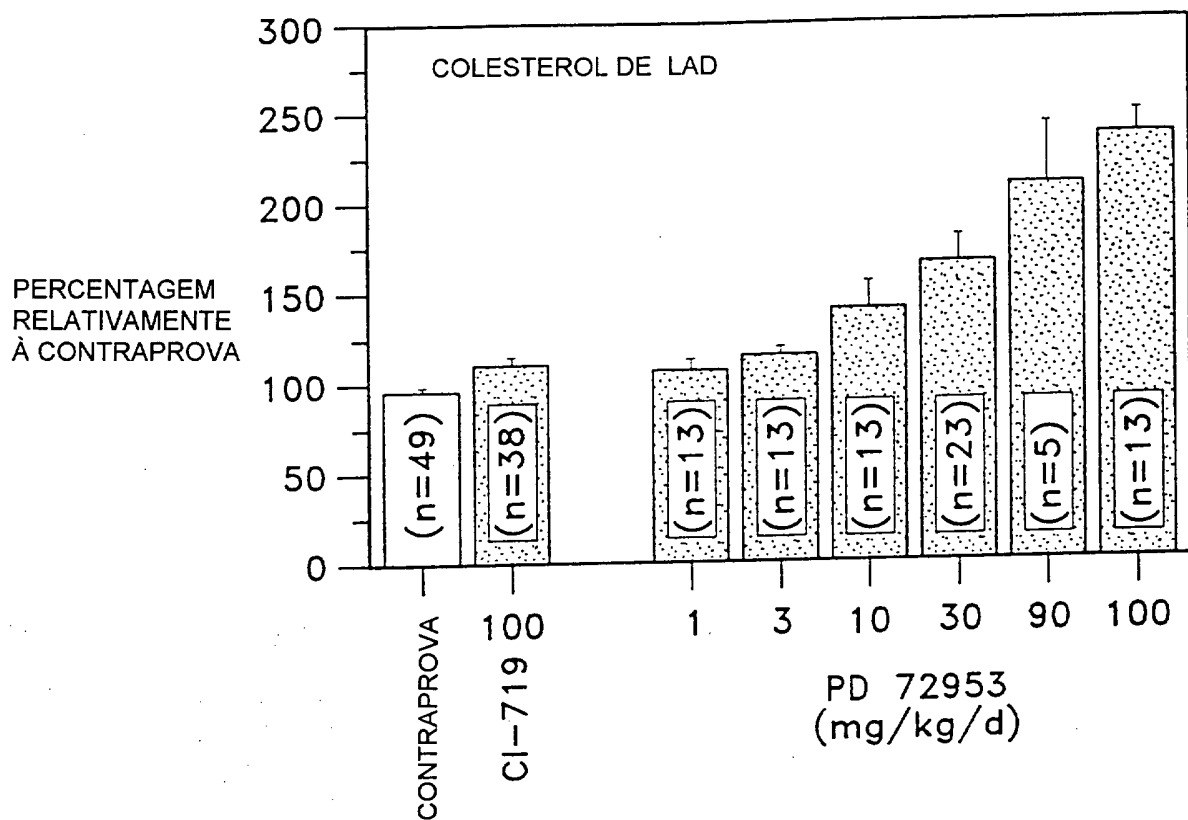
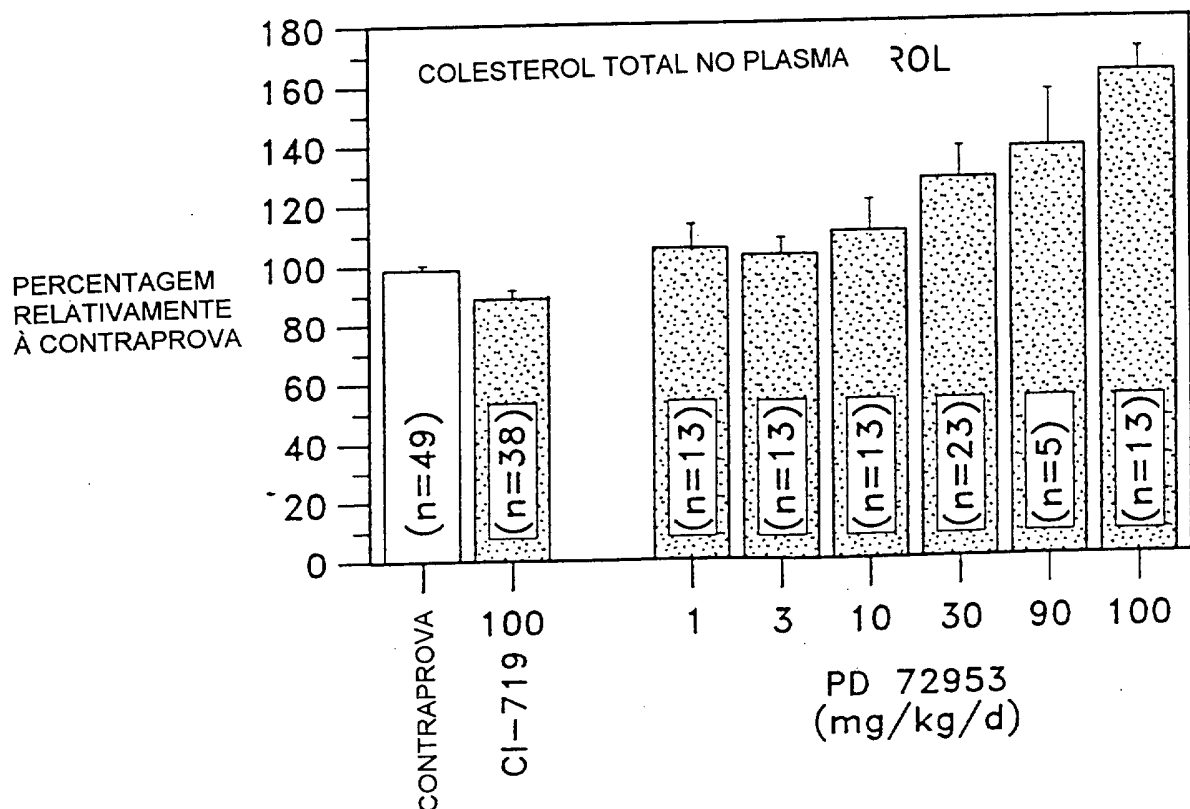


FIG-2I



6/23

f L A

FIG-2J

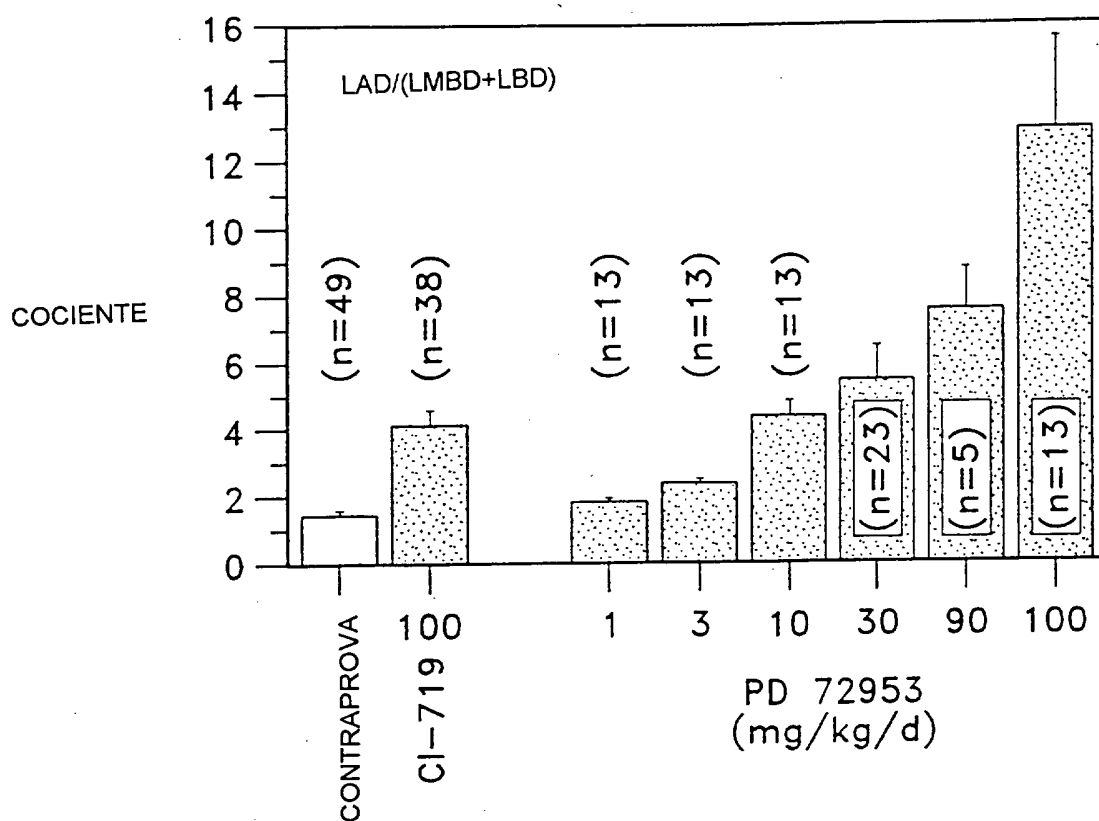


FIG-2K

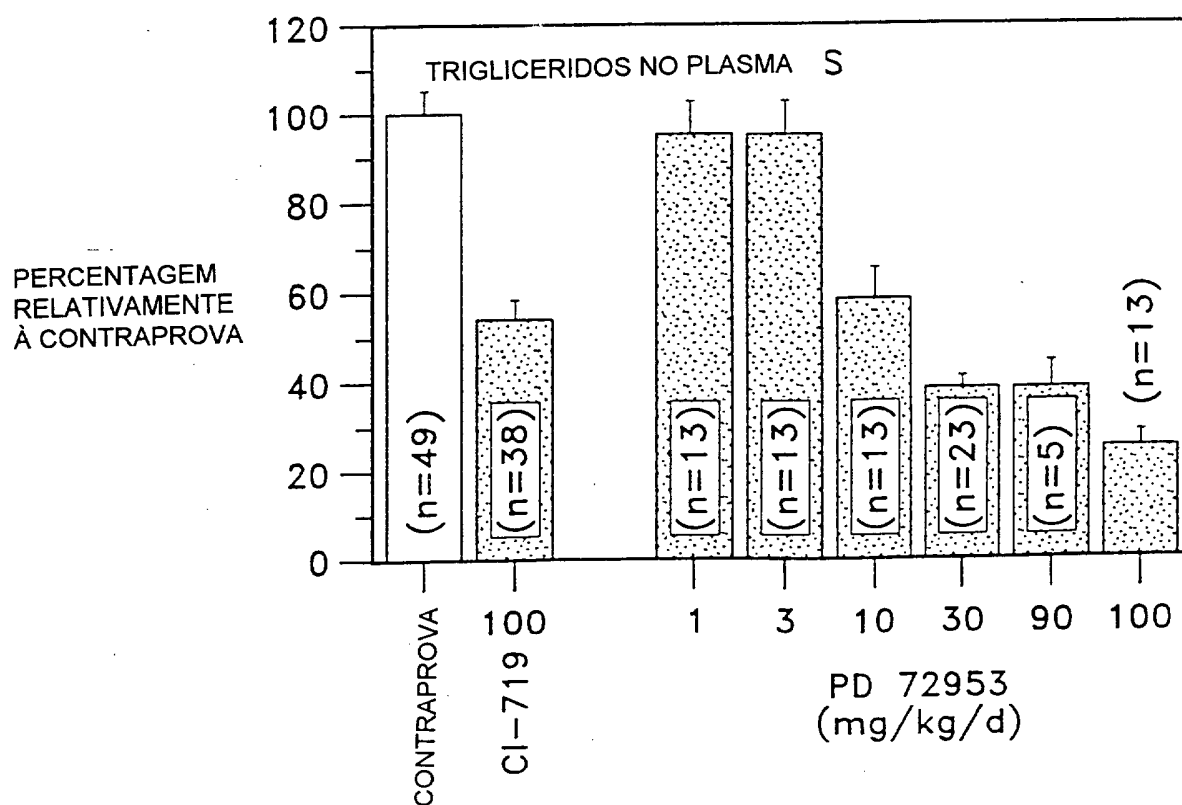


FIG-2L

7/23

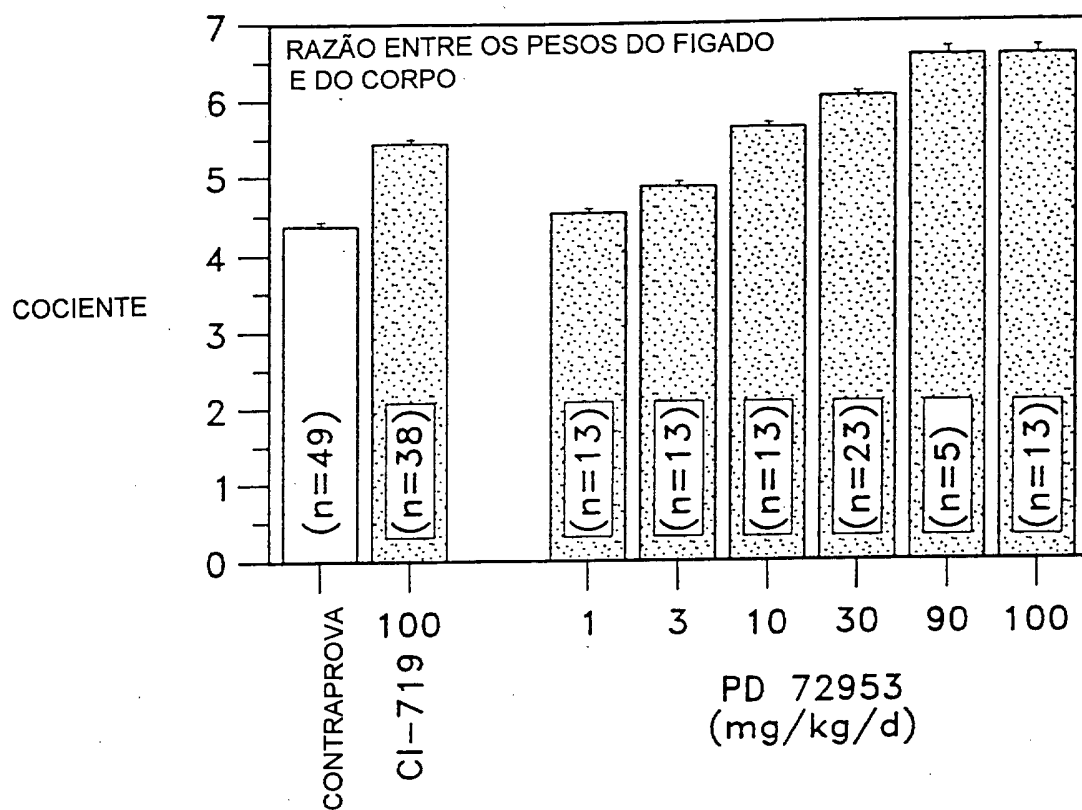
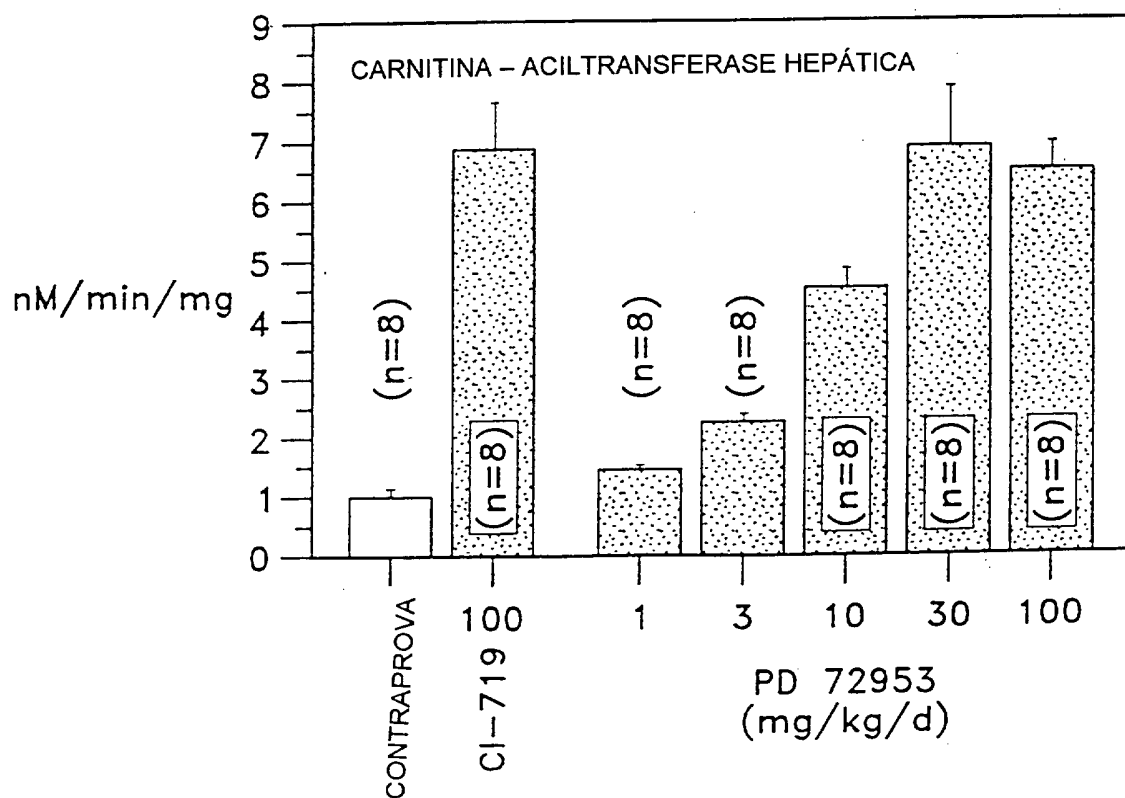


FIG-2M



8/23

f l a

FIG-3

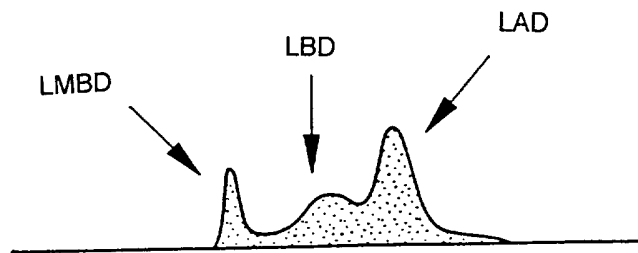


FIG-3A

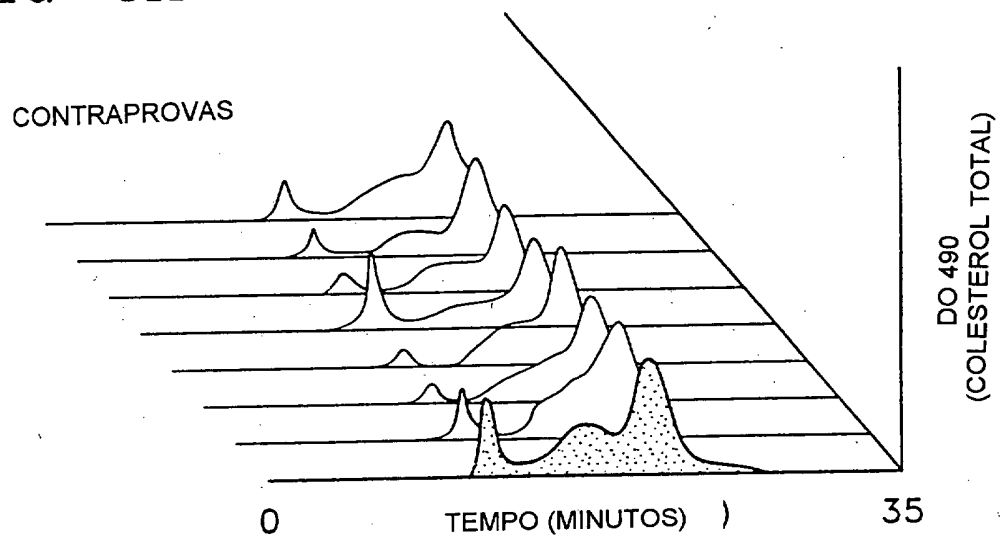
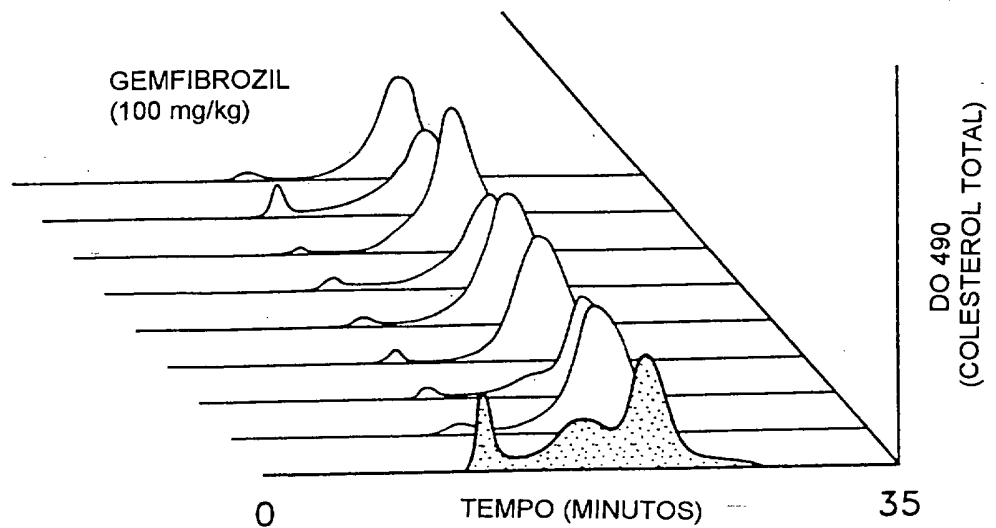


FIG-3B



9/23

f l A

FIG-3C

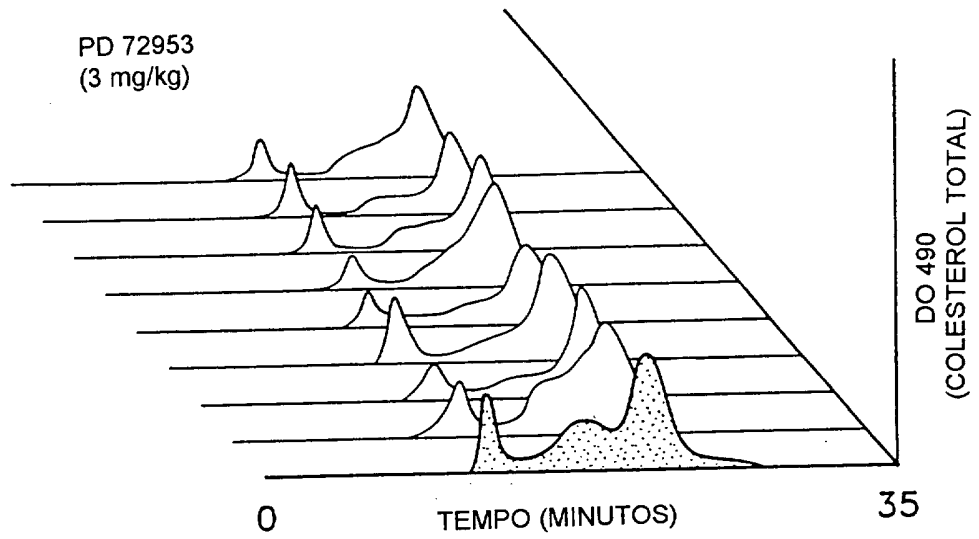
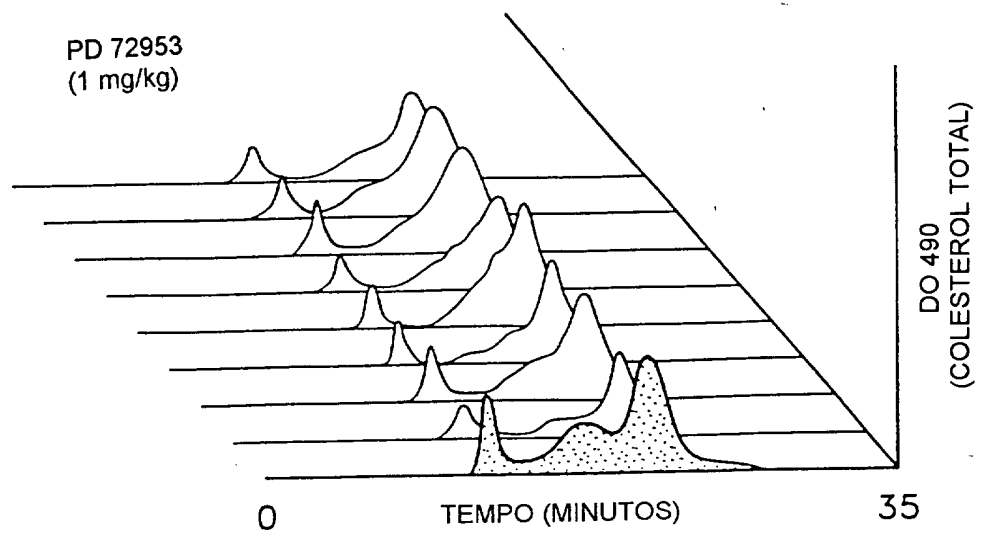


FIG-3D



10/23

f l A

FIG-3E

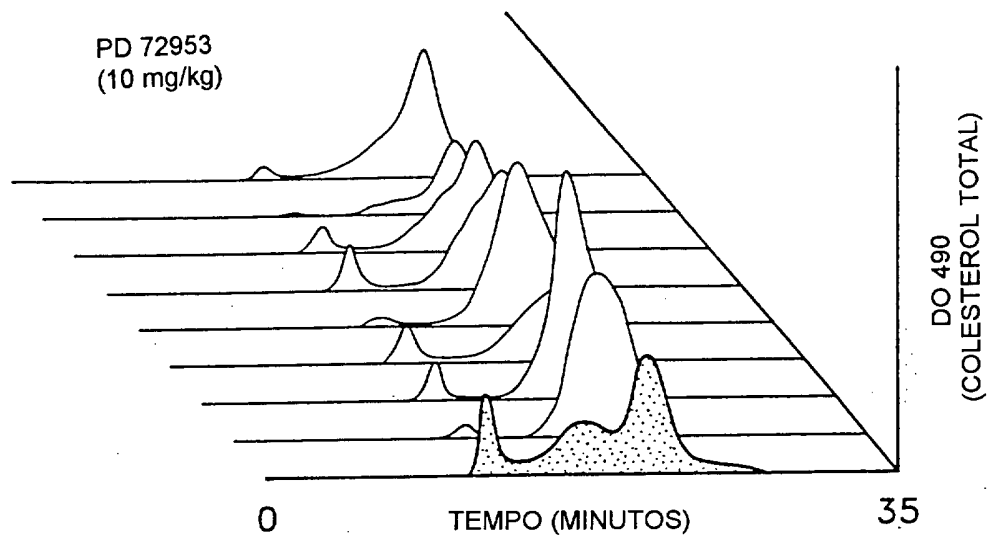
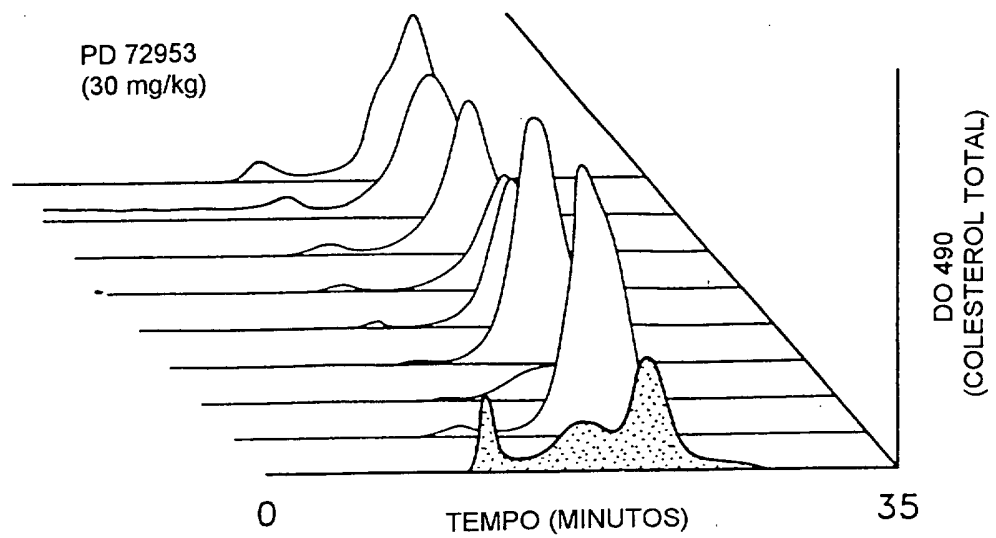


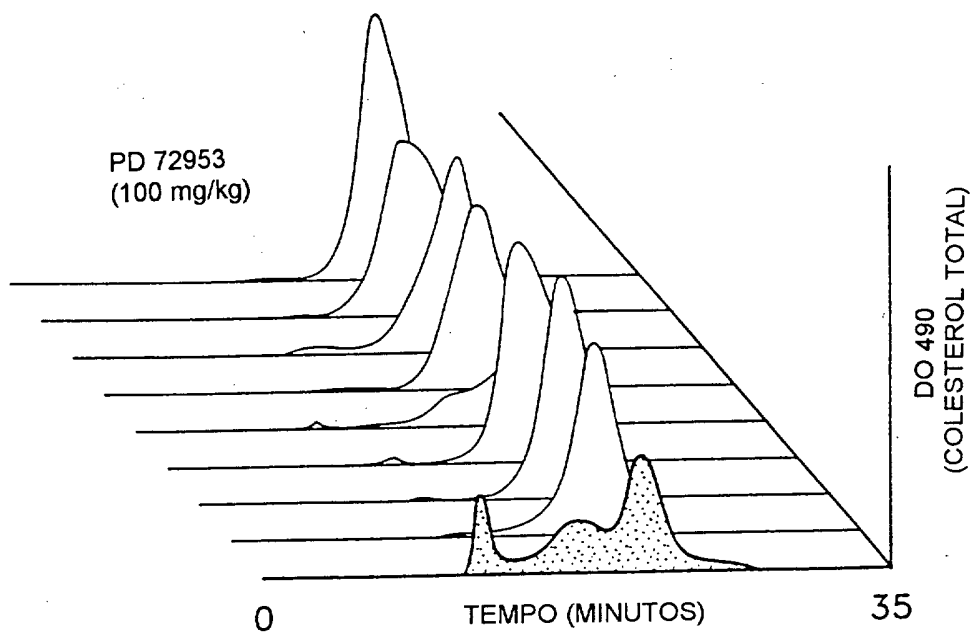
FIG-3F



f. l. A

11/23

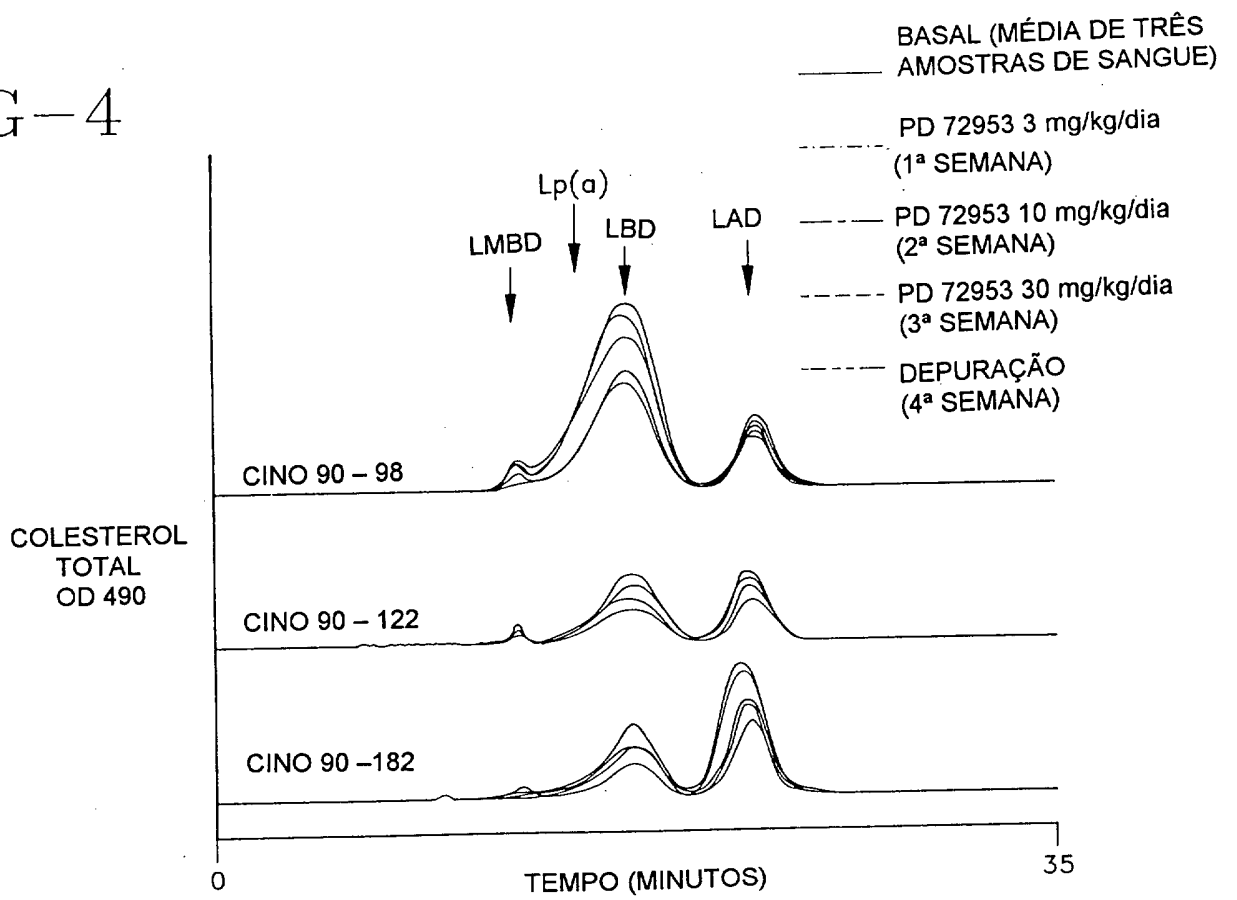
FIG-3G



f l a

12/23

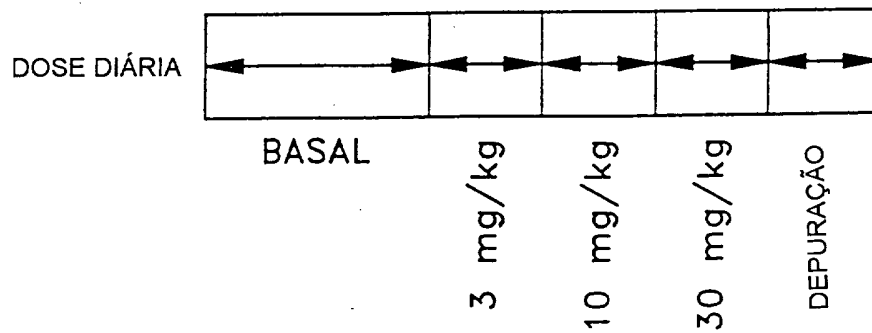
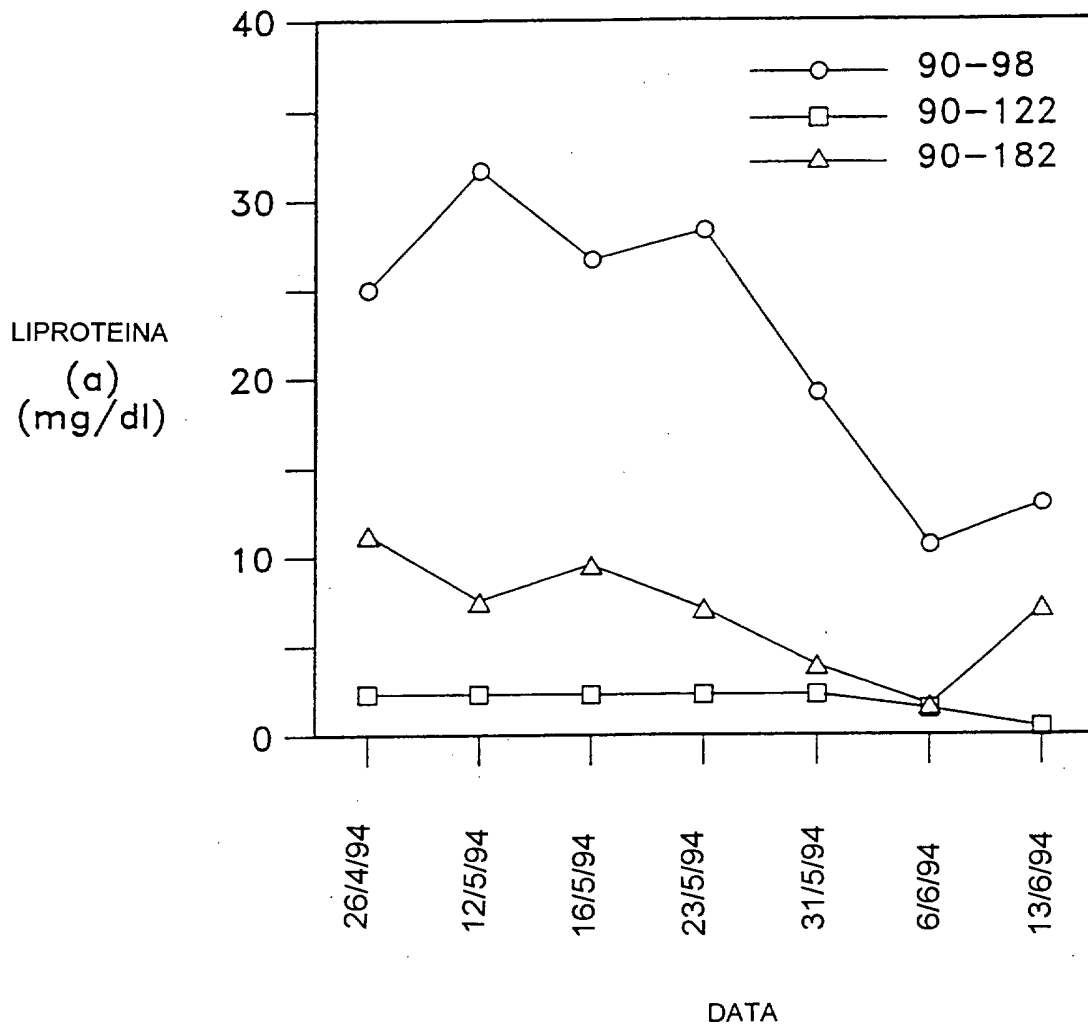
FIG-4



13/23

f. L. A.

FIG-5A



14/23

f l A

FIG-5B

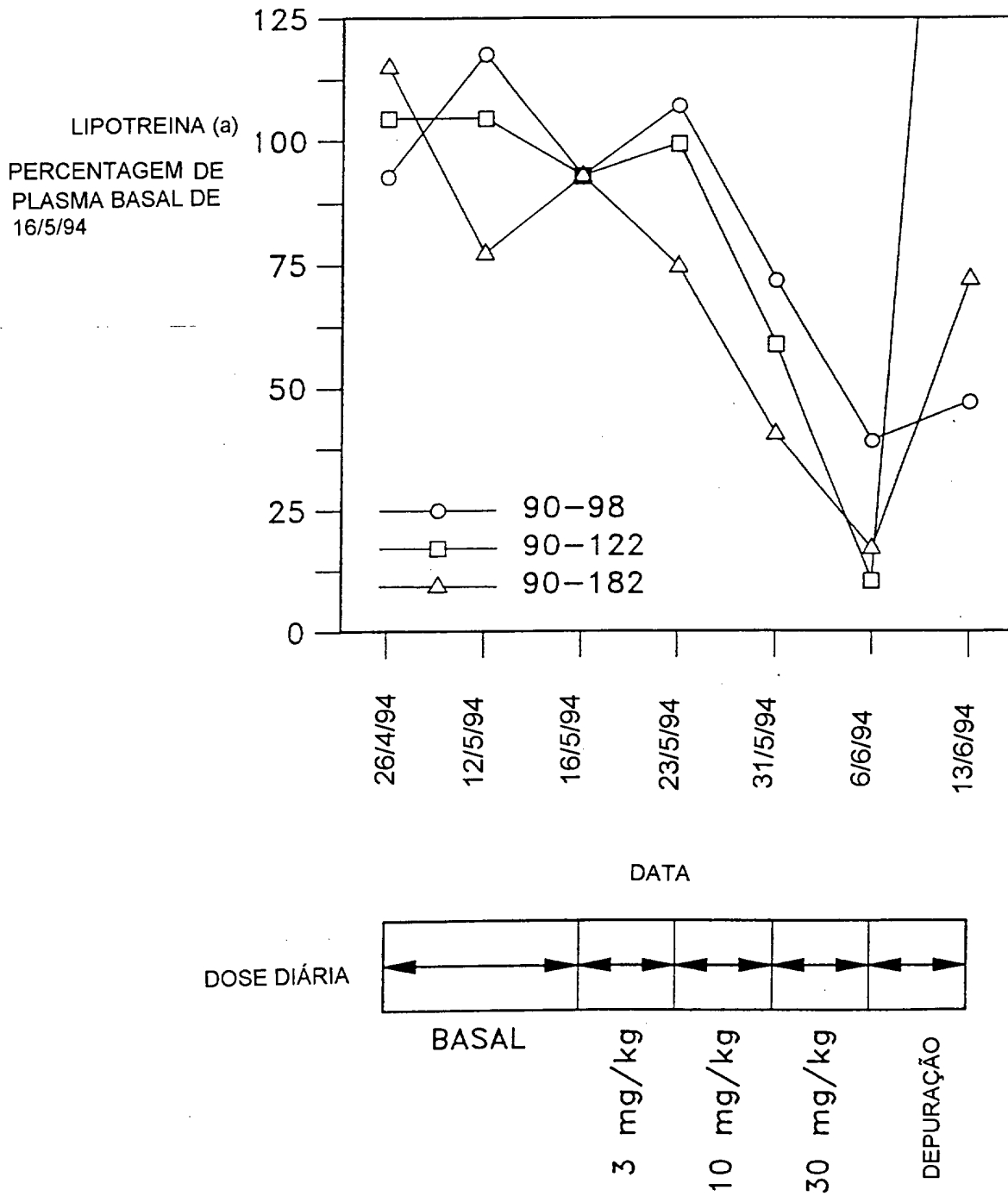
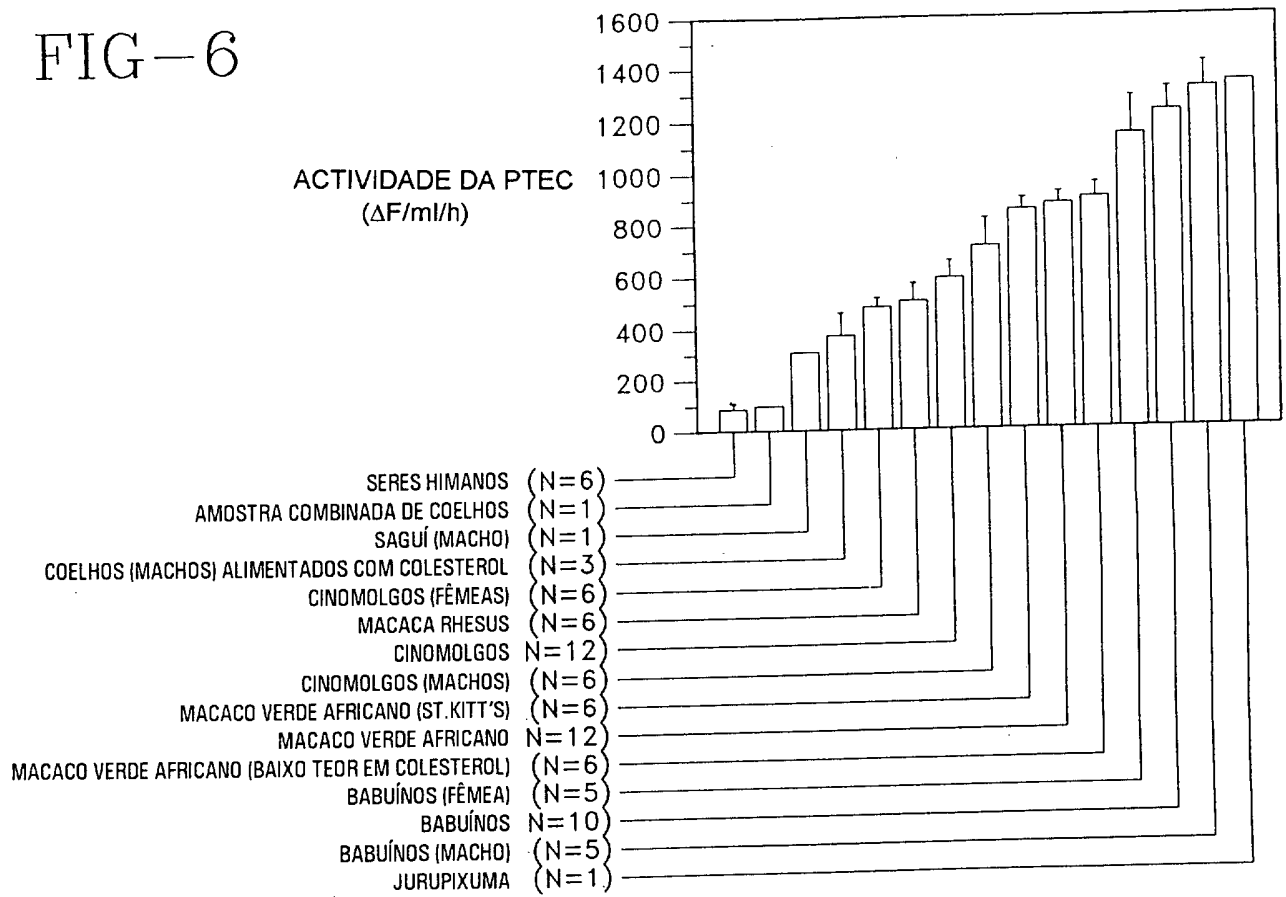


FIG-6

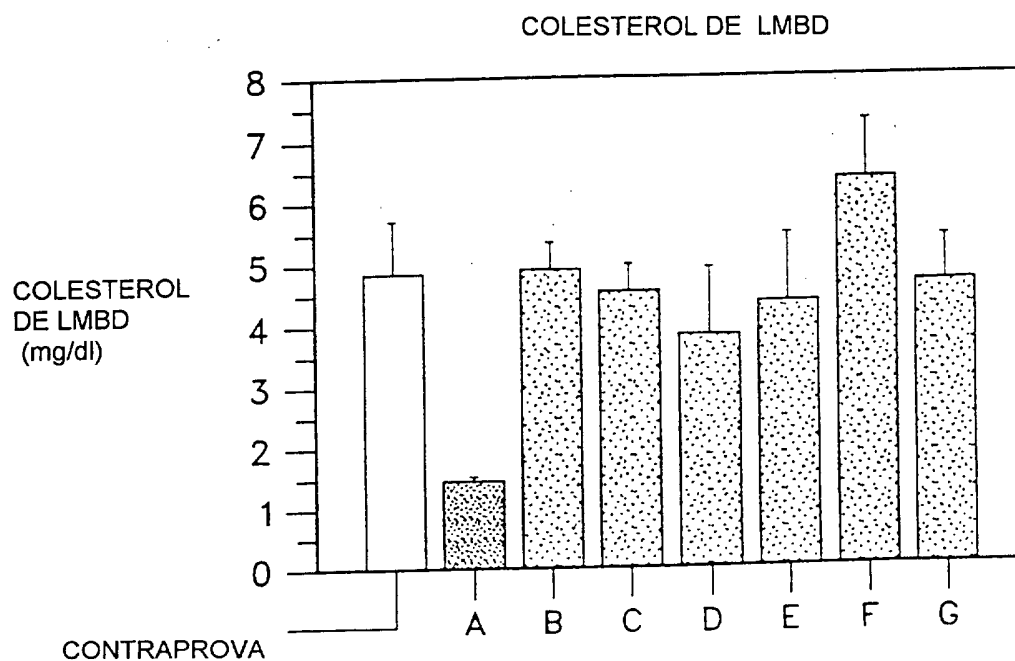


f L A

FIG-7A

$ \begin{array}{c} Y_1 \quad \quad \quad Y_2 \\ \diagdown \quad \diagup \quad \quad \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{---} (CH_2)_n \text{---} O \text{---} (CH_2)_m \text{---} \end{array} $							
EXEMPLO	1	4	6	7	2	9	8
NA FIGURA	A	B	C	D	E	F	G
n	4	2	3	4	5	3	6
m	4	2	3	4	5	5	6
Y ₁	COOH	COOH	COOEt	COOEt	COOH	COOH	COOCH ₃
Y ₂	COOH	COOH	COOEt	COOEt	COOH	COOH	COOCH ₃

FIG-7B



17/23

17/23

FIG-7C

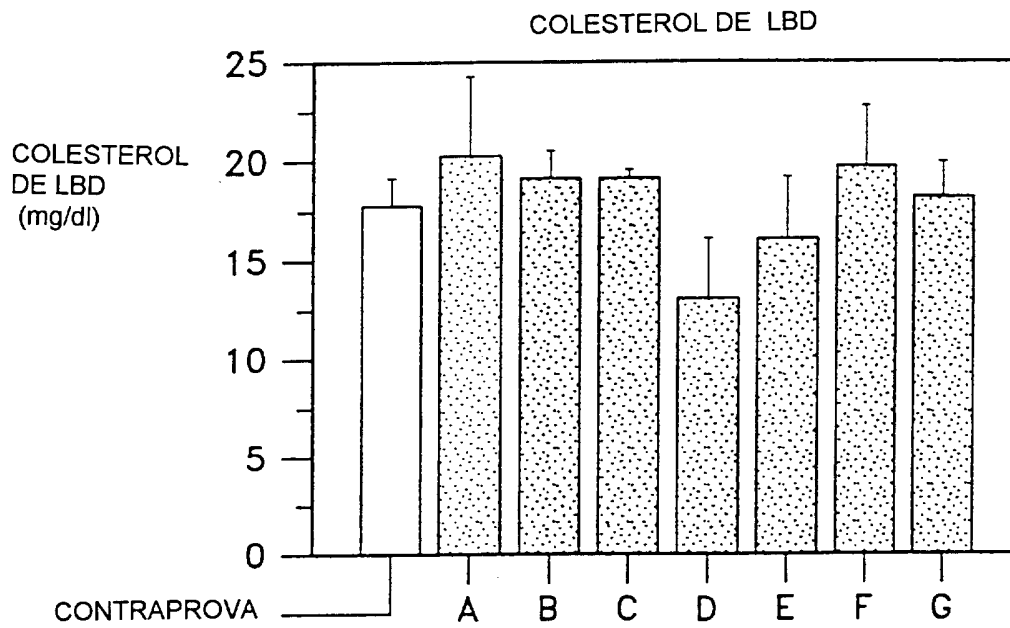
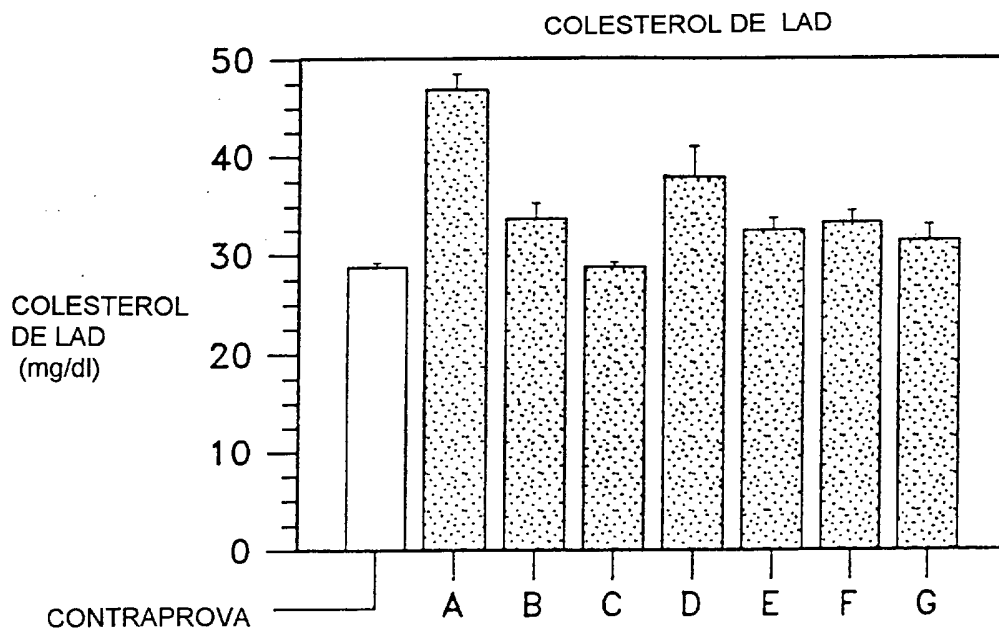


FIG-7D



18/23

f l A

FIG-7E

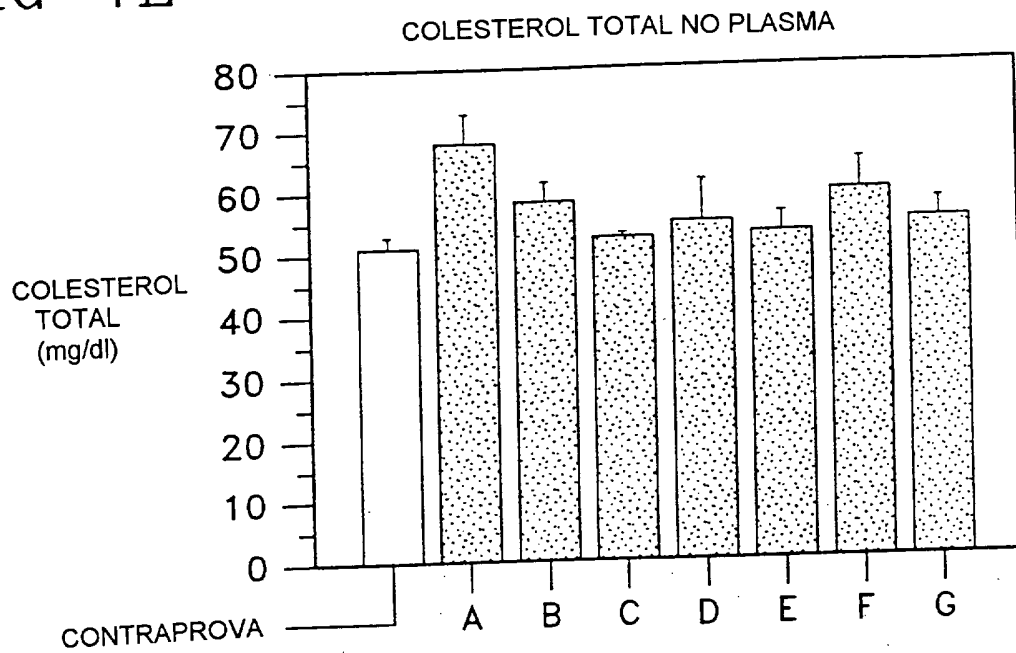


FIG-7F

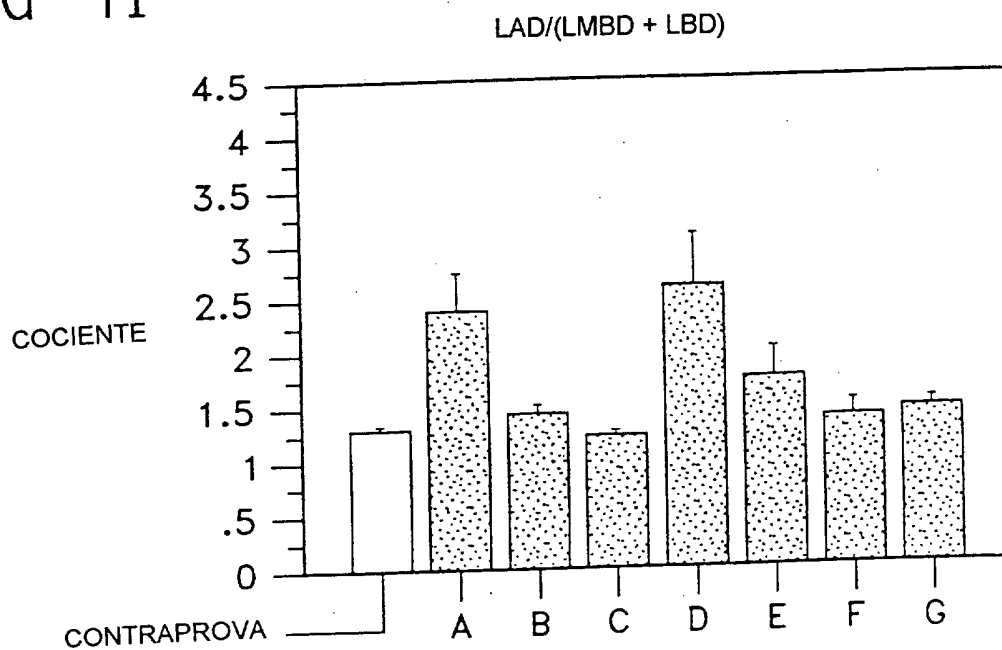


FIG-7G

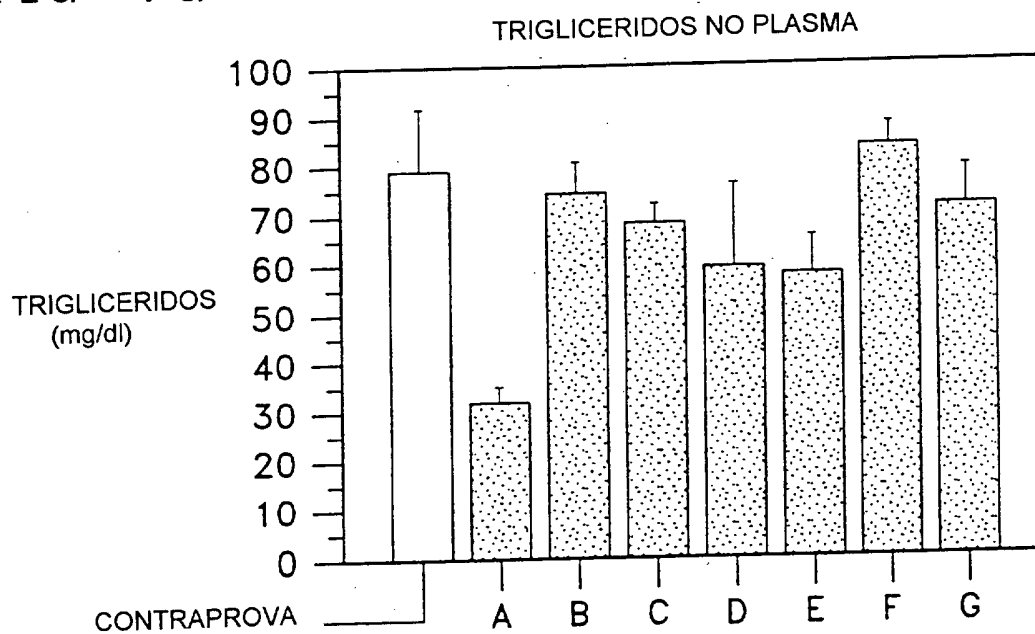
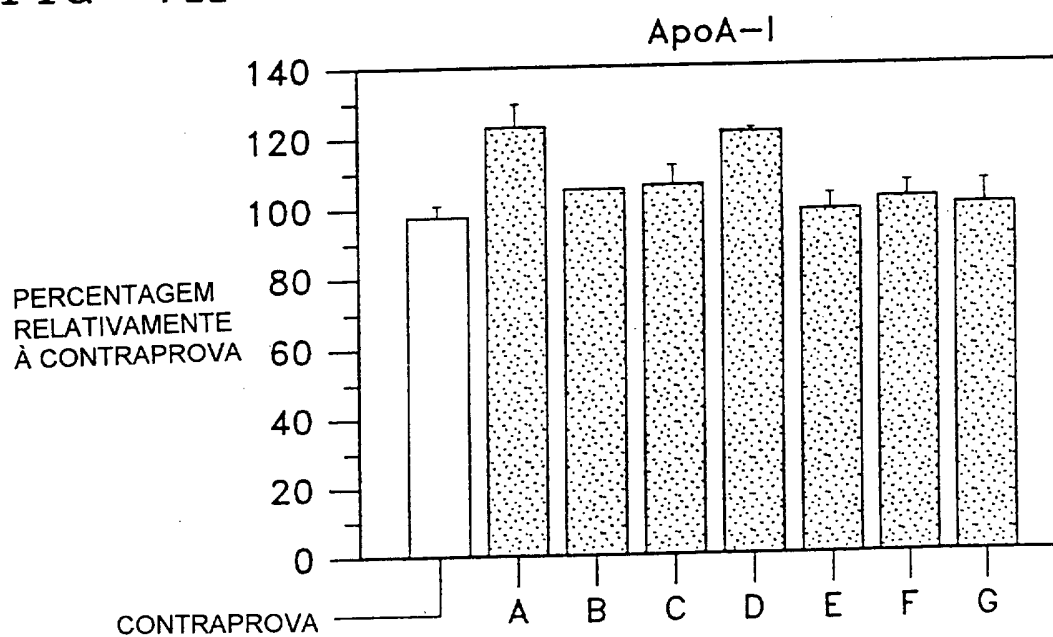


FIG-7H



f l A

FIG-7I

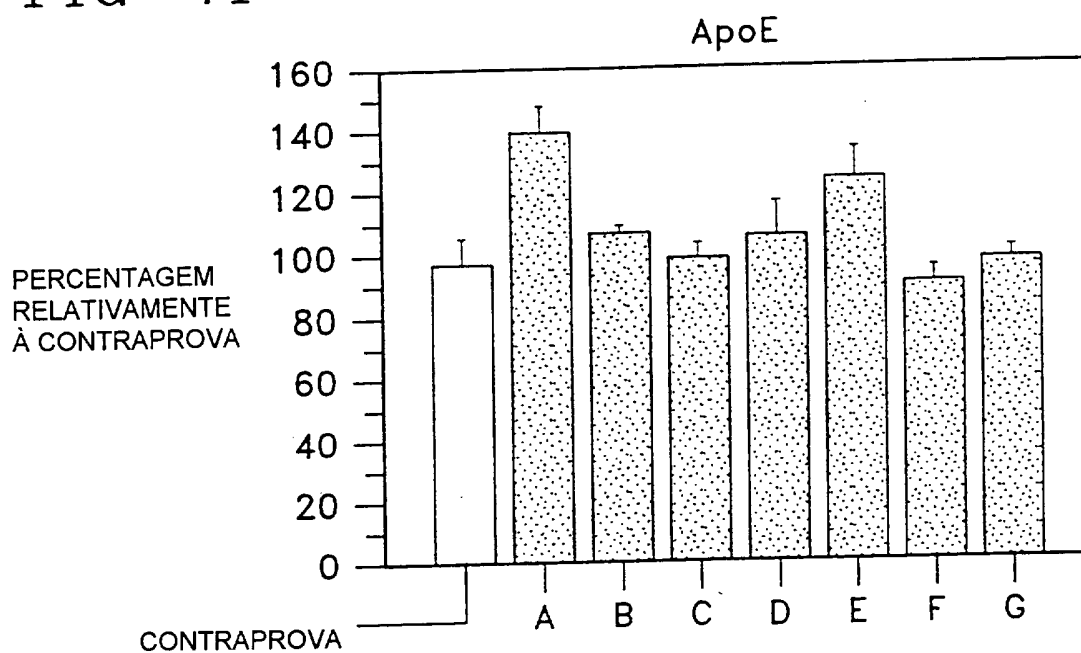
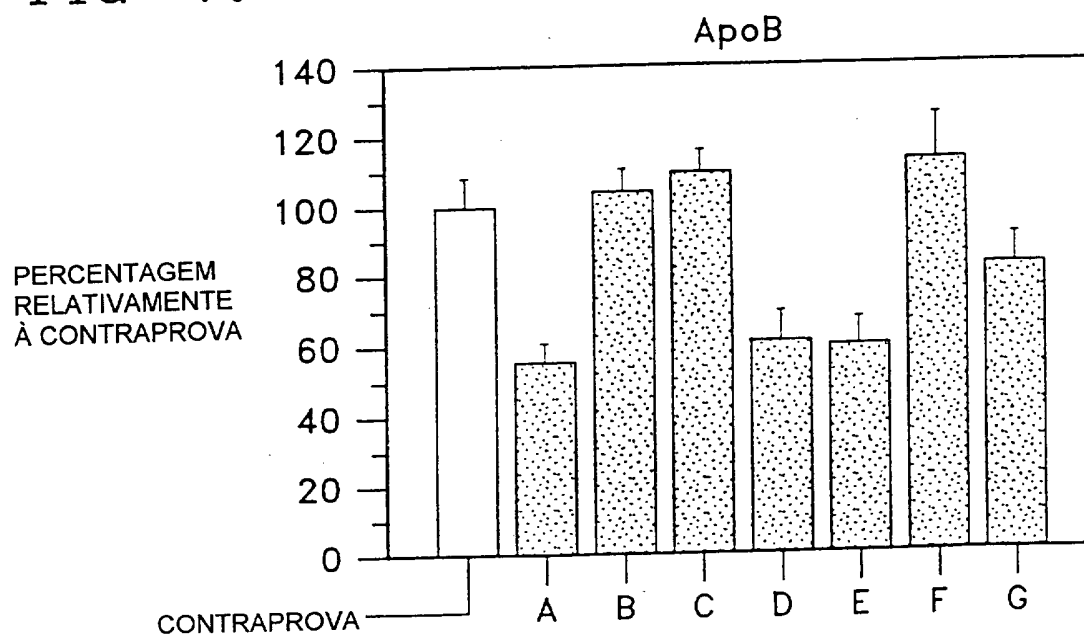


FIG-7J



f L A

FIG-7K

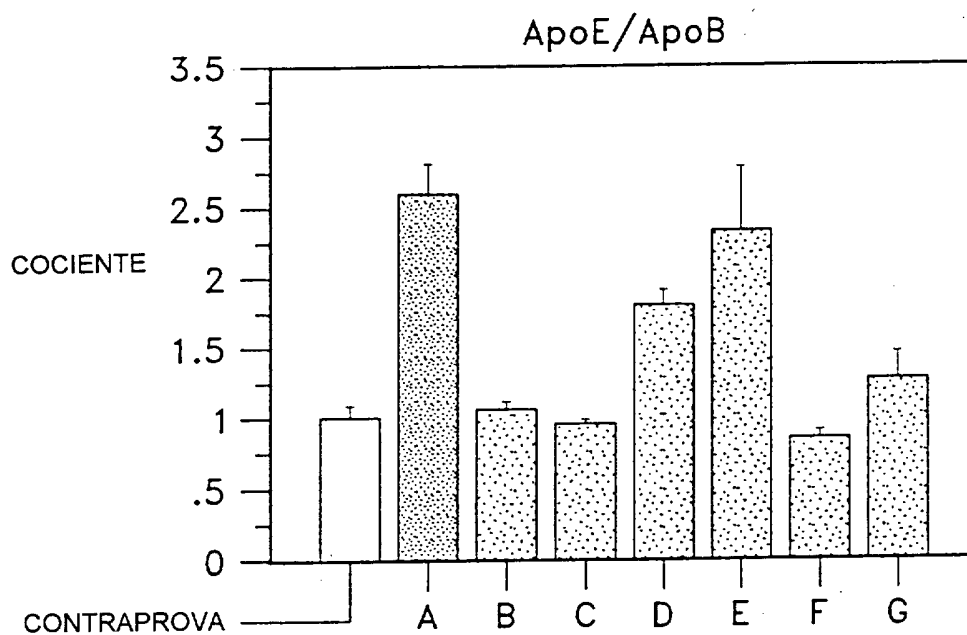
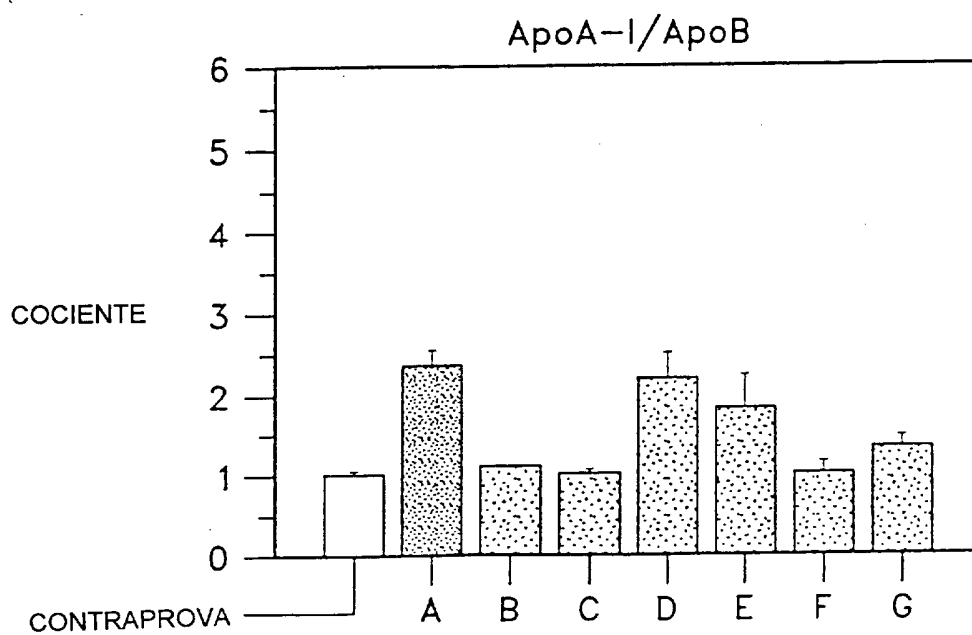


FIG-7L



f. l. A

FIG-7M

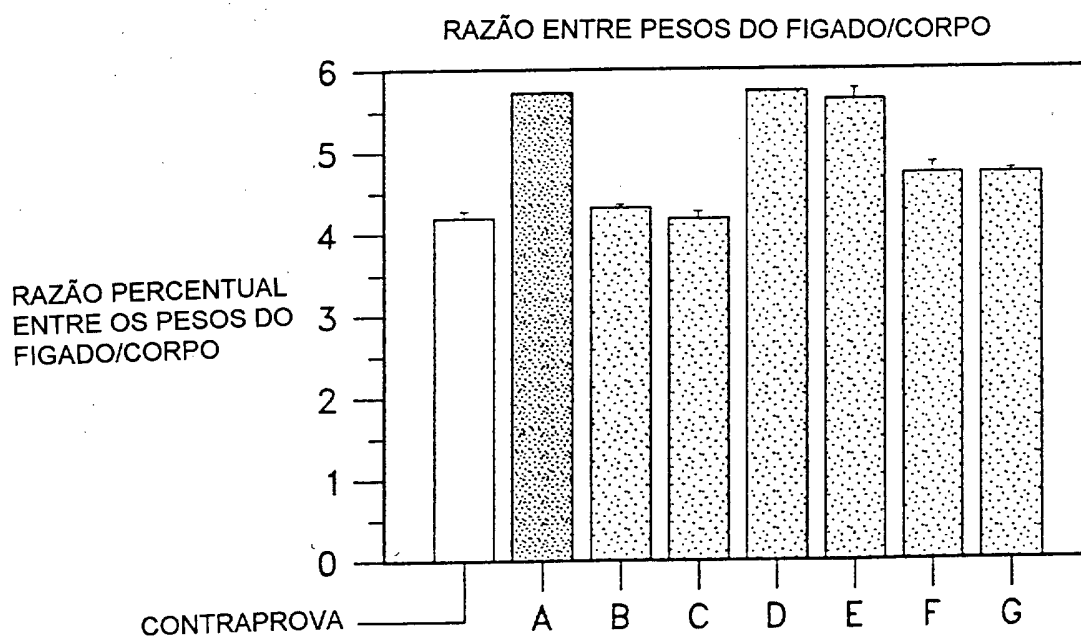


FIG-8

