

(11) Número de Publicação: **PT 1406698 E**

(51) Classificação Internacional:

A61P 9/00 (2007.10) **A61P 9/10** (2007.10)
A61P 17/02 (2007.10) **A61P 35/00** (2007.10)
A61K 31/202 (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2002.03.01**

(30) Prioridade(s): **2001.03.02 US 272931 P**
2002.03.01 US 86609

(43) Data de publicação do pedido: **2004.04.14**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.10.29**
007/2009

(73) Titular(es):

THE BRIGHAM AND WOMEN'S HOSPITAL
75 FRANCIS STREET BOSTON,
MASSACHUSETTS 02115

US

(72) Inventor(es):
CHARLES N. SERHAN
IOLANDA M. FIERRO

US
BR

(74) Mandatário:

MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA
RUA CASTILHO, N.º 50, 5º - ANDAR 1269-163 LISBOA

PT

(54) Epígrafe: **ANÁLOGOS DE LIPOXINA COMO NOVOS INIBIDORES DA ANGIOGÉNESE**

(57) Resumo:

RESUMO

"ANÁLOGOS DE LIPOXINA COMO NOVOS INIBIDORES DA ANGIOGÉNESE"

A presente invenção é dirigida para métodos de prevenção ou inibição da angiogénesse. O método é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄, LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-*R/S*-metil, LXA₄ e seus sais, ésteres, amidas, ácidos carboxílicos ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele. Como uma consequência da acção do agente terapêutico, a angiogénesse é prevenida ou inibida no indivíduo.

DESCRIÇÃO**"ANÁLOGOS DE LIPOXINA COMO NOVOS INIBIDORES DA ANGIOGÉNESE"****DECLARAÇÃO RELATIVAMENTE À INVESTIGAÇÃO FINANCIADA FEDERALMENTE**

O Governo dos E.U.A. pode ter direitos nesta invenção em conformidade com as Bolsas do National Institute of Health N° GM38765 e P01-DE13499.

PEDIDO AFIM

Este pedido reivindica prioridade ao Pedido Provisório U.S. N° 60/272 931, apresentado em 2 de Março de 2001, intitulado "A Novel Inhibitor of Angiogenesis: Aspirina-Triggered-15R Lipoxin A₄".

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A angiogénesse é um processo fundamental através do qual se formam novos capilares a partir de vasos sanguíneos existentes. Este processo desempenha papéis importantes em eventos fisiológicos tais como a formação do corpo lúteo, desenvolvimento do embrião e cicatrização de feridas, incluindo a recuperação de isquemia do miocárdio e úlcera gástrica (1). O crescimento desregulado de vasos sanguíneos pode contribuir para a lesão de tecido num grande número de doenças tais como artrite, diabetes e progressão de tumores (2). As células endoteliais estão normalmente quiescentes e são activadas durante a resposta angiogénica. Após estimulação, as células endoteliais podem degradar a sua membrana basal e matriz extracelular proximal, migrar direccionalmente, em seguida dividirem-se e organizarem-se em capilares funcionais dotados de uma nova lámina basal (3).

Existe um corpo crescente de evidência que demonstra que o interruptor angiogénico é regulado pelo balanço líquido entre reguladores positivos e negativos do crescimento de novos capilares (2). A persistência de neovascularização requer um ambiente pró-angiogénico, com a expressão de factores angiogénicos que ultrapassem a dos factores angiostáticos. Uma gama de péptidos pode influenciar este equilíbrio, incluindo factores mitogénicos como o factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) (3), factores não mitogénicos (citocinas, quimiocinas CXC seleccionadas) e fragmentos peptídicos internos de angiostatina e endostatina (3). Determinados eicosanóides também têm acções biológicas potentes nas células endoteliais vasculares. Nos coelhos, as PGE₂, PGR_{2α} e prostacilina (PGI₂) estimulam a angiogénesse onde a série E das prostaglandinas, em particular a PGE₁, é a mais potente de todas. A PGE₂ é um indutor potente da expressão do VEGF em fibroblastos sinoviais. Além das suas propriedades vasodilatadora e antiplaquetas, a PGI₂ também pode induzir a expressão do gene do VEGF e a síntese de proteínas (4).

Foi recentemente referido que é necessária a actividade da 12-lipoxigenase e um dos seus produtos, 12(S)-HETE, para respostas angiogénicas (5), e que a 12R-HETE derivada de P450 estimula a angiogénesse via NF-κB (6). O gene da ciclooxygenase-2 (COX-2) em células endoteliais é rapidamente regulado positivamente por vários factores de crescimento bem como por indutores da angiogénesse (7). De acordo com estas linhas, resultados utilizando três modelos de células endoteliais diferentes mostram que a COX-2 é um componente essencial da angiogénesse, pelo menos *in vitro* (8). Os fármacos anti-inflamatórios não esteróide tal como a aspirina (ASA) foram implicados na prevenção de

determinados cancros tais como o cancro do pulmão e cólon (9, 10) que pode estar relacionada com a aptidão do ASA para reduzir a angiogénesse (7).

A WO-A-98/11049 descreve compostos de lipoxina e a sua utilização no tratamento de distúrbios proliferativos celulares.

Por conseguinte, existe uma necessidade de composições para prevenir a angiogénesse que sejam dirigidas para o processo patológico, de modo a que a angiogénesse seja fisiologicamente prevenida ou inibida. Também existe uma necessidade para composições que induzam a angiogénesse em tecidos que careçam do requisito ou requisitos fisiológicos essenciais para a sua viabilidade.

SUMÁRIO

Os estados proliferativos tais como inflamação crónica, doenças isquémicas e cancro são frequentemente acompanhados de angiogénesse intensa, um processo altamente orquestrado envolvendo o desenvolvimento de vasos, migração de células endoteliais, proliferação e maturação. As lipoxinas desencadeadas pela aspirina (ATL), os homólogos enantioméricos 15R das lipoxinas (LXs), são mediadores endógenos gerados durante respostas multicelulares que apresentam acções imunomoduladores potentes. Surpreendentemente, constatou-se que as LXs, ATLs e mais especificamente, os análogos estáveis da ATL, 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (denotada ATL-1), LXA₄, 15-epi-LXA₄ e 15-R/S-metil, LXA₄ são inibidores potentes da angiogénesse. Por exemplo, as ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ e 15-R/S-metil, LXA₄ inibem cada uma delas a proliferação de células endoteliais na gama de 1-10 nM em ~50% em células

estimuladas com factor de crescimento endotelial vascular (VEGF) a 3 ng/mL ou leucotrieno D₄ (10 nM). Além disso, a ATL-1 (numa gama de 10-100 nM) inibiu a quimiotaxia de células endoteliais induzida pelo VEGF (3 ng/mL). Num modelo de granuloma *in vivo* de angiogénese inflamatória, o tratamento com ATL-1 (10 µg/rato) reduziu em ~50% o fenótipo angiogénico, como avaliado pela formação de cilindros granulosos vasculares e fluorescência. No conjunto, estes resultados identificaram uma acção nova e potente anteriormente não reconhecida da 15-epi-LX desencadeada pela aspirina.

A presente invenção refere-se à utilização de compostos de lipoxina de acordo com a reivindicação 1.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção, redução ou inibição da angiogénese. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis a um indivíduo necessitado daquele. Como uma consequência da acção do agente terapêutico, a angiogénese é prevenida ou inibida no indivíduo.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção ou inibição da angiogénese. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele. Como uma consequência da acção do agente terapêutico, a angiogénese é prevenida ou inibida no indivíduo.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção ou inibição do crescimento de tecido de tumores sólidos que está a sofrer neovascularização num indivíduo. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção ou inibição do crescimento de tecido de tumores sólidos que está a sofrer neovascularização num indivíduo. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para inibir ou prevenir a ocorrência de neovascularização num indivíduo. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para inibir ou prevenir a ocorrência de neovascularização num indivíduo. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para tratar um indivíduo no qual esteja a ocorrer neovascularização no tecido retiniano. A neovascularização no tecido retiniano pode ser prevenida ou inibida administrando uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para tratar um indivíduo no qual esteja a ocorrer neovascularização no tecido retiniano. A neovascularização no tecido retiniano pode ser prevenida ou inibida administrando uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para tratar um indivíduo em relação à reestenose em tecido em que ocorre migração de células de músculo liso após angioplastia. A reestenose pode ser prevenida ou inibida administrando uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para tratar um indivíduo em relação à reestenose em tecido em que ocorre migração de células de músculo liso após angioplastia. A reestenose pode ser prevenida ou inibida administrando uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-

lipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos de redução do fluxo de sangue ao tecido necessário para suportar o crescimento de tecido novo num indivíduo. Esta redução ou eliminação do crescimento indesejado de tecido novo pode ser consumada pela administração de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos de redução do fluxo de sangue ao tecido necessário para suportar o crescimento de tecido novo num indivíduo. Esta redução ou eliminação do crescimento indesejado de tecido novo pode ser consumada pela administração de uma composição compreendendo uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção, diminuição ou inibição da produção de novos vasos num indivíduo associada ou estimulada pela produção ou libertação de VEGF. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de um agente terapêutico, incluindo LXA₄ e análogos desta, tal como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele.

Alternativamente, pode utilizar-se uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxilipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis. Como uma consequência da acção do agente terapêutico, o crescimento de novos vasos associado à produção de VEGF é prevenida ou inibida e, por conseguinte, o crescimento de células endoteliais no indivíduo. Por exemplo, o VEGF está associado à génesis de tumores, linfoangiogénese e distúrbios proliferativos. Os compostos utilizados na invenção podem inibir, reduzir ou prevenir a metástase de tumores.

Surpreendentemente, os isómeros configuracionais de LXA₄, análogos de LXA₄ e análogos de ATL, LXB₄ e análogos de LXB₄ e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, proporcionam os efeitos contrários no que se refere à revascularização de tecido pelos compostos acima identificados utilizados na invenção. Isto é, foi surpreendentemente constatado que o LXB₄ e análogos de LXB₄ têm a capacidade de estimular a regeneração e crescimento de tecido vascular ou epitelial em tecidos que estão necessitados dessa estimulação. Isto é especialmente importante no enxerto de tecido, manipulação de tecido e sítios de ligação de grupo protético.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A invenção será entendida de modo mais completo a partir da descrição detalhada que se segue tomada em conjunto com os desenhos apensos, nos quais:

Figura 1 demonstra que a ATL-1 inibe a proliferação de HUVEC estimulada pelo VEGF. HUVEC (5 × 10³) foram

aplicadas em placas de cultura de 96 poços e a proliferação celular foi estimulada com 3 ng/mL de VEGF. Três dias após o tratamento, mediu-se os números de células utilizando um ensaio MTT. Os resultados são expressos como percentagem de inibição da proliferação em relação ao veículo e representam a média \pm EP para quatro experiências independentes realizadas em triplicado. Gráfico inserido: Experiência representativa que mostra a proliferação celular ao longo do tempo induzida por 3 ng/mL (triângulo a cheio) ou 10 ng/mL (quadrado a cheio) de VEGF. Veículo (círculos a branco) e ATL-1 (100 nM) (triângulo a branco).

Figura 2 demonstra que a ATL-1, assim como as LXA₄, 15-epi-LXA₄ e 15-R/S-metil, LXA₄ inibem cada uma delas a quimiotaxia de células endoteliais. (A) A quimiotaxia foi iniciada pela adição de VEGF (3 ng/mL) ou ATL-1 (100 nM) ao compartimento inferior de uma câmara de quimiotaxia de 48 poços. Os resultados são expressos como percentagem de migração celular em comparação com o veículo sozinho e representam a média \pm EP para três experiências independentes realizadas em triplicado ($P < 0,05$). (B) HUVEC foram incubadas com veículo ou com as concentrações indicadas de ATL-1 (15 min, 37 °C) e adicionadas ao compartimento superior da microcâmara (1×10^6 /poço). A quimiotaxia foi iniciada pela adição de VEGF (3 ng/mL) ao compartimento inferior. Os resultados são expressos como percentagem de inibição da migração em relação ao VEGF para uma experiência representativa realizada em triplicado.

Figura 3 é uma representação gráfica que demonstra a inibição da proliferação de HUVEC. (A) ATL-1 inibe a proliferação de HUVEC estimulada pela LTD₄. HUVECs (5 × 10³) foram aplicadas em placas de cultura de 96 poços, a proliferação celular foi estimulada com LTD₄ 10 nM e os números de células foram determinados após 3 dias utilizando MTT. (B) proliferação celular dependente da concentração induzida por LTD₄ e LTB₄. Os resultados são expressos como média ± EP para quatro experiências independentes realizadas em triplicado.

Figura 4 demonstra que a ATL-1 inibe o fenótipo angiogénico *in vivo*. (A) Índice vascular (VI = mg de corante carmina/mg de peso de tecido) ao dia 6 em bolsa de ar murídea. Os animais receberam uma injeção local de ATL-1 (10 µg/bolsa) ou veículo imediatamente antes de VEGF (1 µg/bolsa), 24 h depois de ter sido criada a bolsa. Os resultados são expressos como a média ± EP para n=4 animais por grupo. *Denota diferença estatisticamente significativa ($P<0,05$) de VEGF sozinho; (B) Histologia com óleo de cedro de bolsa de ar. Moldes vasculares com corante carmina foram feitas em bolsas de ar no dia 6 de ratos tratados localmente com veículo, ATL-1 (10 µg), VEGF (1 µg) ou VEGF mais ATL-1. O tecido foi fixado em etanol e aclarado em óleo de cedro.

Figura 5 representa a acção antiangiogénica de ATL-1: microscopia fluorescente. Fotomicrografias de fluorescência representativas que mostram a acção

antiangiogénica de ATL-1 (10 µg/bolsa) na bolsa de ar murídea (ver métodos).

Figura 6 são fotomicrografias de uma bolsa de ar murídea. Imuno-histoquímica para a bolsa de ar murídea CD31. Secções de bolsa de ar embebidas em parafina foram reveladas para CD31 de ratos como nas Figuras 4 e 5 e tratadas com veículo sozinho (A), análogo sozinho (B), ratos tratados com VEGF (C) e ratos tratados com VEGF mais ATL (D). Os resultados são representativos de oito ratos separados, cada um em duplicado. A ampliação é de 200 x e corante de contraste de peroxidase de rabano-silvestre com hematoxilina.

DESCRICAÇÃO DETALHADA

As características e outros pormenores da invenção serão agora mais particularmente descritos e indicados nas reivindicações.

As abreviaturas utilizadas ao longo do actual pedido incluem as seguintes e são aqui incluídas por conveniência. ASA, aspirina; ATL, 15-epi-lipoxinas desencadeadas pela aspirina; ATL-1, 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄; COX, ciclooxygenase; HETE, ácido hidroxieicosatetraenóico; HUVEC, células endoteliais da veia umbilical humana; IL, interleucina; LO, lipoxigenase; LT, leucotrieno; LX, lipoxina; LXA₄, ácido 5S,6R,15S-trihidroxi-7,9,13-trans-11-cis-eicosatetraenóico; 15-epi-LXA₄, ácido 5S,6R,15R-trihidroxi-7,9,13-trans-11-cis-eicosatetraenóico; 15-R/S-metil, LXA₄, ácido 5S,6R,15R/S-trihidroxi-15-metil-7,9,13-trans-11-cis-eicosatetraenóico, éster metílico; LXB₄, ácido 5S,14R,15S-trihidroxi-6,8,12-

trans-10-*cis*-eicosatetraenóico; MTT, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio; PBS, soro fisiológico tamponado com fosfato; PG, prostaglandina; PMN, neutrófilos; VEGF, factor de crescimento endotelial vascular.

É para ser entendido, que ao longo da presente especificação, é frequentemente feita referência aos compostos terapêuticos das invenções como ésteres, por exemplo, ATL-1 como um éster carboxílico, isto é, éster metílico. No entanto, todos os sais, ésteres, amidas e pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, incluindo o ácido carboxílico, são considerados dentro do âmbito da invenção para os compostos LXA₄, ATL e LXB₄. Por razões de conveniência, esta terminologia foi minimizada ao longo da descrição mas deverá ser considerada como parte da invenção. Além disso, deverá ser entendido que os termos LXA₄, 15-epi-LXA₄ e 15-R/S-metil, LXA₄ também incluem todos os sais, ésteres, amidas, pró-fármacos e ácidos carboxílicos farmaceuticamente aceitáveis.

Além disso, o(s) hidroxilo(s) de ATLs, LXA₄s e LXB₄s podem ser protegidos por vários grupos de protecção, tais como os conhecidos na técnica. Um especialista na técnica pode determinar facilmente quais o(s) grupo(s) de protecção que podem ser úteis para a protecção do(s) grupo(s) hidroxilo. Na técnica são conhecidos métodos correntes e encontram-se descritos em mais pormenor na literatura. Por exemplo, o(s) grupo(s) de protecção adequado(s) pode(m) ser seleccionado(s) pelo especialista e são descritos em Green e Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley e Sons, 1991.

Os grupos de protecção preferidos incluem os grupos TMS ou TIPPS, e preferencialmente os grupos acetato ou propionato.

Por exemplo, um ou mais grupos hidroxilo podem ser tratados com uma base suave, tal como trietilamina na presença de um cloreto ácido ou cloreto de sililo para facilitar uma reacção entre o ião hidroxilo e o halogeneto. Alternativamente, um halogeneto de alquilo pode ser feito reagir com o ião hidroxilo (gerado por uma base tal como diisopropilamida de lítio) para facilitar a formação de éter.

Também deverá ser entendido que nem todos os grupos hidroxilo precisam de ser protegidos. Podem ser protegidos um, dois ou todos os três grupos hidroxilo. Isto pode ser consumado pela escolha estequiométrica dos reagentes utilizados para proteger os grupos hidroxilo. Podem ser utilizados métodos conhecidos na técnica para separar os compostos de hidroxilo mono, di- ou tri-protégidos, por exemplo, HPLC, LC, cromatografia "flash", cromatografia de permeação de gel, cristalização, destilação, etc.

Uma vantagem de proteger um ou mais grupos hidroxilo dos compostos ATL, LXA₄, ou LXB₄, por exemplo, via acetatos, é a capacidade de retardar a captação metabólica completa do(s) composto(s). Este é um dos meios pelos quais o(s) composto(s) pode(m) permanecer activo(s) por um período de tempo prolongado à medida que o organismo do indivíduo elimina lentamente o grupo de protecção do hidroxilo em condições fisiológicas normais. Além disso, ao proteger um ou mais dos grupos hidroxilo destes compostos, a hidrólise do grupo de protecção permite que a medicação entre na via

bioquímica do indivíduo antes da degradação do composto parental, não protegido.

Os métodos para preparar análogos de lipoxina (ATLs, LXA₄s, ou LXB₄s) são conhecidos na técnica. Por exemplo, as Patentes U.S. N° 4 576 758, 4 560 514, 5 079 261, 5 049 681, 5 441 951, 5 648 512, 5 650 435, 6 048 897, 6 100 296, 6 177 468 e 6 316 648 e as Patentes Japonesas N° 3 227 922, 63 088 153, 62 198 677 e 1 228 994 descrevem abordagens para preparar análogos de lipoxina. As publicações por K.C. Nicolaou et al. incluem abordagens para vários compostos de lipoxina. (Por exemplo ver, Nicolaou, K.C. et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1003:44-53; Nicolaou, K.C. et al. *J. Org. Chem.* 54:5527-5535; e Nicolaou, K.C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30:1100-1116. Outras referências da literatura para a preparação de análogos de lipoxina incluem Takano, T., S. Fiore, J.F. Maddox, H.R. Brady, N.A. Petasis, e C.N. Serhan. 1997. Aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 e LXA4 stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for antiinflammatory receptors. *J. Exp. Med.* 185:1693-1704 e Serhan, Charles N., Maddox, Jane F., Petasis, Nicos A., Akritopoulou-Zanze, Irini, Papayianni, Aikaterina, Brady, Hugh R., Colgan, Sean P., e Madara, James L. (1995), *Biochemistry*, 34, pág.14609-14614.

O mecanismo de acção terapêutica da aspirina inclui a inibição de prostanóides derivados de COX (10). Foi descoberto que a COX-2, quando acetilada pelo ASA, bloqueia a capacidade da COX-2 para gerar prostanóides, mas ainda assim esta enzima permanece activa em células endoteliais, células epiteliais e células mononucleares e inicia a biossíntese de novos produtos de interacções célula-célula

ou biossíntese transcelular designados 15-epi-lipoxinas desencadeadas pela aspirina (ATLs) (11). Estes mediadores lipídicos endógenos, novos são os epímeros no carbono 15 das LX que são portadoras do álcool na posição 15 na configuração R em comparação com os seus homólogos de lipoxina nativa (LX) e parecem imitar a maior parte se não todas as bioactividades das LX endógenas.

Até à data as acções das ATLs parecem ser muito relevantes na regulação das respostas inflamatórias, uma vez que elas são geradas durante as interacções célula-célula que podem envolver, por exemplo, células endoteliais-neutrófilos *in vivo* (12), e apresentam acções inibidoras potentes em vários eventos chave e estratégicos na inflamação (12-14). As acções das LX e ATL incluem a inibição da adesão e transmigração de neutrófilos e, por este motivo, podem servir como sinais contra-reguladores para limitar e/ou regular a acumulação de leucócitos que são potencialmente activos na diminuição e desaparecimento de sítios inflamatórios (14). Uma vez que as LX são rapidamente geradas e inactivadas no microambiente local, para investigar estas acções *in vivo* foram concebidos análogos estáveis das lipoxinas, isto é LXA₄, e ATL que aumentam as biodisponibilidades e as bioactividades destes compostos naturais em comparação com os seus produtos nativos (14) e que também demonstraram ter ~100 vezes a potência da ASA (13). A presente invenção estabelece que as LXA₄s e ATLs podem regular a angiogéneses, uma aplicação anteriormente desconhecida e surpreendente destes compostos. Por exemplo, utilizando um análogo sintético da ATL metabolicamente mais estável [15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (denotada ATL-1)], os compostos de ATLs e LXA₄, incluindo, 15-epi-LXA₄ ou 15-R/S-metil, LXA₄ e LXA₄ provaram ser

eicosanóides angiostáticos potentes *in vivo*, identificando uma nova actividade para estes mediadores endógenos que está em contraste claro com as acções de outros eicosanóides e que é relevante em várias doenças humanas.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção, diminuição ou inibição da angiogénese. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de LXA₄ e análogos desta, tais como 15-R/S metil, LXA₄, e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele. Como uma consequência da acção do agente terapêutico, a angiogénese é prevenida, reduzida ou inibida no indivíduo. Mais especificamente, os agentes terapêuticos podem ser utilizados no tratamento dos estados patológicos e condições dos processos patológicos angiogénicos como se descreve abaixo. Mais especificamente, os compostos terapêuticos de LXA₄ e ATL descritos ao longo da especificação podem ser utilizados para o tratamento de reestenose, crescimento do tecido de tumor sólido, neovascularização, por exemplo, do tecido retiniano, e redução do fluxo de sangue ao tecido necessário para suportar o crescimento novo de tecido num indivíduo.

São aqui descritos tratamentos para a prevenção, redução ou inibição da angiogénese no tecido de um indivíduo. O tratamento é consumado pela administração de uma quantidade eficaz de uma lipoxina desencadeada pela aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxilipoxina A₄ (ATL-1)), e seus sais, ésteres, amidas ou pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis, a um indivíduo necessitado daquele. Como uma consequência da acção do agente terapêutico, a angiogénese é prevenida ou inibida no indivíduo.

É aqui descrito um tratamento para a inibição geral da angiogéneses em tecido, o qual inibe ou previne desse modo eventos no tecido que dependem da angiogéneses. Duma maneira geral, o tratamento compreende administrar ao tecido uma composição compreendendo uma quantidade inibidora da angiogéneses, por exemplo, de ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-R/S-metil, LXA₄.

Como aqui utilizado, o termo "angiogéneses" significa a formação de novos vasos sanguíneos num tecido ou órgão. Em condições fisiológicas normais, os humanos ou animais apenas sofrem angiogéneses em situações limitadas, muito específicas. Por exemplo, a angiogéneses está associada à cicatrização de feridas, desenvolvimento fetal e embrionário e formação do corpo lúteo, endométrio e placenta. Os aspectos bioquímicos da angiogéneses estão associados a um sistema extremamente regulado de estimuladores e inibidores angiogénicos. Foi constatado que a angiogéneses controlada está alterada em determinados estados patológicos e que, em muitos casos, a lesão patológica associada à doença está relacionada com angiogéneses não controlada.

Julga-se que os bioprocessos da angiogéneses controlada e não controlada ocorram de um modo semelhante. As células endoteliais e pericitos, rodeados pela membrana basal, formam vasos sanguíneos capilares. A erosão da membrana basal promove a angiogéneses pelas enzimas libertadas pelas células endoteliais e leucócitos. As células endoteliais, as quais revestem o lúmen de vasos sanguíneos, passam em seguida através da membrana basal. Estimulantes angiogénicos induzem as células endoteliais a migrar através da membrana basal erodida. As células em migração

formam uma ramificação dos vasos sanguíneos parentais, onde as células endoteliais sofrem mitose e proliferam. As ramificações endoteliais podem fundir-se umas com as outras para formar espirais capilares, criando um novo vaso sanguíneo. No estado patológico, a prevenção da angiogénese poderia evitar o dano provocado pela invasão do novo sistema microvascular.

A angiogénese persistente, não regulada pode ocorrer numa multiplicidade de estados patológicos, metástase de tumores e crescimento anormal de células endoteliais e sustenta os danos patológicos observados nestas condições. Os vários estados patológicos criados devido a angiogénese não regulada foram agrupados em conjunto como doenças angiogénicas dependentes ou doenças angiogénicas associadas. A presente invenção proporciona terapias que são dirigidas para controlar os processos angiogénicos, conduzindo assim à revogação ou mitigação destas doenças. Com excepção da cicatrização de feridas traumáticas, formação de corpo lúteo e embriogénesis, julga-se que os processos de angiogénese estão associados a processos patológicos indesejados e, de um modo frequente, potencialmente fatais e, por conseguinte, a utilização dos métodos terapêuticos da presente invenção são selectivos para a doença, isto é, angiogénesis, e não têm efeitos secundários perniciosos.

As seguintes doenças angiogénicas podem ser tratadas de acordo com a presente invenção utilizando as ATLs, tal como ATL-1, ou LXA₄s, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, mencionadas atrás. Estas doenças angiogénicas incluem, mas não se restringem às seguintes:

Um exemplo de uma doença mediada pela angiogénese é a doença neovascular ocular. Esta doença caracteriza-se pela invasão de novos vasos sanguíneos nas estruturas do olho como a retina ou córnea. É possivelmente, uma das causas mais comuns de cegueira e está envolvida em mais de vinte doenças oftálmicas. Por exemplo, na degeneração macular associada à idade, os problemas visuais associados são provocados por um crescimento de capilares coroidais através de defeitos na membrana de Bruch com proliferação de tecido fibrovascular por debaixo do epitélio de pigmento retiniano. A lesão angiogénica está também associada à retinopatia diabética, retinopatia da prematuridade, rejeição de enxerto da córnea, glaucoma neovascular e fibroplasia retrolental. Outras doenças associadas à neovascularização da córnea incluem, mas não se limitam a, deficiência de Vitamina A, uso excessivo de lentes de contacto, queratite atópica, queratite límbica superior, queratoconjuntivite epidémica, queratite sicca pterígia, síndrome de sjogrens, acne-rosácea, degeneração lipídica, queimaduras químicas, úlceras bacterianas, úlceras fúngicas, filectenulose, sífilis, infecções por Micobactéria, infecções pelo Herpes simplex, infecções pelo Herpes zoster, sarcoidose de Wegeners, Esclerite, Síndrome de Steven Johnson, queratotomia radial perifigóide, infecções por protozoários, sarcoma de Kaposi, Úlcera de Mooren, degeneração marginal de Terrien, queratólise marginal, artrite reumatóide, lúpus sistémico, poliarterite, traumatismo e rejeição de enxerto da córnea.

Doenças associadas à neovascularização retiniana/coroidal incluem, mas não se limitam a, retinopatia diabética, oclusão venosa, oclusão arterial, doença obstrutiva da carótida, uveíte/vitrite crónica, infecções

micobacterianas, doença de Lyme, lúpus eritematoso sistémico, degeneração macular, anemia falciforme, sarcoidose, sífilis, pseudoxantoma elástico, doença de Paget, retinopatia da prematuridade, doenças de Eales, doença de Best, miopia, cavidades ópticas, doença de Stargart, pars planite, separação retiniana crónica, síndromes de hiperviscosidade, toxoplasmose, doença de Bechet, infecções que provocam uma retinite ou coroidite, histoplasmose ocular presumida, traumatismo e complicações pós-laser. Outras doenças incluem, mas não se limitam a, doenças associadas à rubeose e doenças provocadas pela proliferação anormal de tecido fibrovascular ou fibroso incluindo todas as formas de vitreorretinopatia proliferativa.

Uma doença ainda mais prevalente na qual se julga que a angiogénesse esteja envolvida é artrite reumatóide. Por exemplo, os vasos sanguíneos no revestimento sinovial das articulações sofrem angiogénesse. Além de formar novas redes vasculares, as células endoteliais libertam factores e espécies de oxigénio reactivo que levam ao crescimento de pannus e destruição da cartilagem. Julga-se que os factores envolvidos na angiogénesse podem contribuir activamente, e ajudar a manter, o estado cronicamente inflamado da artrite reumatóide.

Julga-se que factores associados à angiogénesse também possam ter um papel na osteoartrite. A activação dos condrócitos por factores tipo angiogénicos contribui para a destruição da articulação. Uma fase posterior, os factores angiogénicos podem promover a formação de osso novo. A presente invenção proporciona intervenção terapêutica que impede a destruição do osso e pode parar o progresso da

doença e proporcionar alívio para pessoas que sofrem de artrite.

Sabe-se que a colite ulcerosa e a doença de Crohn têm alterações histológicas com o crescimento de novos vasos sanguíneos para os tecidos inflamados. A bartonellose pode resultar numa fase crónica que é caracterizada por proliferação de células endoteliais vasculares. Um papel patológico ainda mais insidioso associado à angiogénese é encontrado na arteriosclerose. Foi demonstrado que a formação de placas no lúmen de vasos sanguíneos tem uma actividade estimuladora angiogénica.

Uma doença angiogénica frequente da infância é o hemangioma. Duma maneira geral, os tumores associados à doença são benignos e regredem sem intervenção. Em casos mais graves, os tumores crescem e criam complicações clínicas. As formas sistémicas de hemangiomas, as hemangiomatoses, têm uma taxa de mortalidade elevada. Existem hemangiomas resistentes à terapia que não podem ser tratados com agentes terapêuticos correntemente em utilização.

A angiogénese é também responsável pela lesão presente em doenças hereditárias tais como doença de Osler-Weber-Rendu ou telangiectasia hemorrágica hereditária. Estas doenças são caracterizadas por múltiplos angiomas pequenos, tumores do sangue ou vasos linfáticos. Os angiomas são encontrados na pele e nas membranas da mucosa, frequentemente acompanhados de epistaxe (sangramento do nariz) ou sangramento gastrointestinal e por vezes com fístula arteriovenosa pulmonar ou hepática.

De grande preocupação são o(s) estado(s) patológico(s) associado(s) a cancro(s). Frequentemente, o cancro está associado à angiogénese e é identificado pela formação de tumores sólidos e metástases. Factores angiogénicos estão associados a vários tumores sólidos tais como neuroblastoma, rabdomiossarcomas, retinoblastoma, sarcoma de Ewing e osteossarcoma. Sabe-se que um tumor não pode expandir se um fluxo de sangue para proporcionar nutrientes e remover resíduos celulares. Os tumores não quais a angiogénese é importante incluem tumores sólidos e tumores benignos tais como neuroma acústico, neurofibroma, tracoma e granulomas. A prevenção ou inibição da angiogénesse poderia prevenir ou parar o crescimento destes tumores e a condição degenerativa subsequente devido à presença do tumor.

A angiogénesse também foi associada a tumores de origem sanguínea incluindo leucemias, qualquer uma das várias doenças neoplásicas agudas ou crónicas da medula óssea nas quais ocorre uma proliferação livre de glóbulos brancos, geralmente acompanhada de anemia, redução da coagulação do sangue e aumento dos gânglios linfáticos, fígado e baço. Acredita-se que a angiogénesse seja significativa como um factor causador de anomalias na medula óssea que dão origem a tumores tipo leucemia.

A angiogénesse é importante em duas fases da metástase de tumores. A primeira fase onde é importante a estimulação da angiogénesse é na vascularização do tumor o qual permite que as células tumorais entrem na corrente sanguínea e circulem pelo organismo. Assim que as células tumorais deixam o sítio primário e encontram um sítio de metástase secundário, tem de ocorrer angiogénesse antes que o novo

tumor possa crescer e expandir. Consequentemente, a prevenção da angiogénese poderia prevenir a metástase de tumores e conter o crescimento neoplásico ao sítio primário.

Numa forma de realização relacionada, a presente invenção pode ser utilizada em associação com outras terapias tal como quimioterapia convencional dirigida contra tumores sólidos e metástases. As ATLs, tal como a ATL-1, ou as LXA₄s, tal como a 15-R/S-metil, LXA₄, podem ser administradas durante ou após quimioterapia. Numa forma de realização preferida, o fármaco deverá ser administrado quando o tecido do tumor está a responder ao ataque tóxico quando o tecido vascular está a ser reorganizado para fornecer sangue e nutrientes ao tecido do tumor. Além disso, a utilização de ATLs, tal como a ATL-1, ou de LXA₄s pode ser utilizada como um tratamento profiláctico após remoção cirúrgica de um tumor para prevenir que ocorra angiogénesis no sítio de tratamento.

O conhecimento do papel da angiogénese na manutenção e metástase de tumores levou a um indicador prognóstico de cancro da mama. A quantidade de neovascularização encontrada no tumor primário foi determinada contando a densidade de microvasos na área da neovascularização mais intensa no carcinoma invasivo da mama. Constatou-se que um nível elevado de densidade de microvasos correlaciona com a recorrência do tumor. O controlo da angiogénese por meios terapêuticos poderia possivelmente levar à interrupção da recorrência dos tumores.

A angiogénese também está envolvida nos processos fisiológicos normais tais como reprodução e cicatrização de

feridas. A angiogénesse é um passo importante na ovulação e também na implantação da blástula após fertilização. A prevenção da angiogénesse poderia ser utilizada para induzir amenorreia, para bloquear a ovulação ou para prevenir a implantação da blástula.

Na cicatrização de feridas, a reparação excessiva ou fibroplasia pode ser um efeito secundário prejudicial de procedimentos cirúrgicos e pode ser provocada ou exacerbada pela angiogénesse. As adesões são uma complicação frequente da cirurgia e levam a problemas tal como obstrução do intestino delgado.

A reestenose é um processo de migração e proliferação de células do músculo liso (SMC) no sítio de angioplastia coronária transluminal percutânea o qual dificulta o sucesso da angioplastia. A migração e proliferação de SMC's durante a reestenose pode ser considerado um processo da angiogénesse que é inibido pelos métodos da presente invenção. Por conseguinte, a invenção também contempla a inibição, redução ou prevenção de reestenose, através da inibição, redução ou prevenção da angiogénesse de acordo com os métodos da presente invenção, num indivíduo após procedimentos de angioplastia. Para a inibição ou prevenção de reestenose, pode administrar-se uma ATL, tal como ATL-1 ou uma LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, preferencialmente via injecção intravenosa, vários dias antes da cirurgia ou após o procedimento de angioplastia durante cerca de 2 até cerca de 28 dias, e mais tipicamente durante aproximadamente os primeiros 14 dias após o procedimento.

O termo "indivíduo" como aqui utilizado refere-se a qualquer organismo vivo no qual é deduzida uma resposta

angiogénica. O termo indivíduo inclui, mas não se limita a, humanos, primatas não humanos tais como chimpanzés e outras espécies de macacos e símios; animais de exploração tais como gado, ovelhas, porcos, cabras e cavalos; mamíferos domésticos tais como cães e gatos; animais de laboratório incluindo roedores tais como ratos, ratazanas e porquinhos-da-índia, e semelhantes. O termo não denota uma idade ou género particular. Assim, estão abrangidos indivíduos adultos e recém-nascidos, bem como fetos, do género masculino ou feminino.

O termo “mamífero” como aqui utilizado refere-se a um organismo vivo capaz de deduzir uma resposta imunológica a um antigénio. O termo indivíduo inclui, mas não se limita, a primatas não humanos tais como chimpanzés e outras espécies de macacos e símios, ovelhas, porcos, cabras, cavalos, cães, gatos, ratos, ratazanas e porquinhos-da-índia, e semelhantes.

O termo “sais, ésteres, amidas e pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis” como aqui utilizado refere-se àqueles sais de carboxilato, sais de adição de aminoácidos, ésteres, amidas e pró-fármacos dos compostos da presente invenção os quais são, dentro do âmbito de uma opinião médica sólida, adequados para serem utilizados em contacto com os tecidos de doentes sem toxicidade, irritação, resposta alérgica, e semelhantes, impróprias em proporção com uma razão benefício/risco razoável, e eficazes para a utilização pretendida para os compostos da invenção. O termo “sais” refere-se aos sais de adição de ácido orgânico ou inorgânico, relativamente não tóxicos dos compostos da presente invenção. Estes sais podem ser preparados in situ durante o isolamento e purificação finais dos compostos ou

fazendo reagir separadamente o composto purificado na sua forma de base livre com um ácido orgânico ou inorgânico adequado e isolando o sal assim formado. Estes podem incluir catiões com base em metais alcalinos e alcalino-terrosos, tais como sódio, lítio, potássio, cálcio, magnésio e semelhantes, bem como catiões de amónio, amónio quaternário e amina não tóxicos incluindo, mas não se limitando a amónio, tetrametilamónio, tetraetilamónio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, e semelhantes. (Ver, por exemplo, Berge S. M., et al., "Pharmaceutical Salts," *J. Pharm. Sci.*, 1977;66:1-19 o qual é aqui incorporado por referência).

O termo "pró-fármaco" refere-se a compostos que são rapidamente transformados *in vivo* para produzir o composto parental das fórmulas anteriores, por exemplo, por hidrólise no sangue. Uma discussão completa é proporcionada em T. Higuchi e V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 da A.C.S. Symposium Series, e em Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association e Pergamon Press, 1987. Como aqui utilizado, um pró-fármaco é um composto que, após administração *in vivo*, é metabolizado ou convertido, de outro modo, na forma biologicamente, farmaceuticamente ou terapeuticamente activa do composto. A fim de produzir um pró-fármaco, o composto farmaceuticamente activo é modificado de modo a que o composto activo seja regenerado por processos metabólicos. O pró-fármaco pode ser concebido para alterar a estabilidade metabólica ou as características de transporte de um fármaco, para mascarar efeitos secundários ou toxicidade, para melhorar o paladar de um fármaco ou para alterar outras características ou propriedades de um fármaco. Por meio do conhecimento de

processos farmacodinâmicos e metabolismo de fármacos *in vivo*, uma vez identificado um composto farmaceuticamente activo, os especialistas na técnica farmacêutica podem geralmente conceber pró-fármacos do composto [ver, por exemplo, Nogradi (1985) *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, New York, páginas 388-392]. Os procedimentos convencionais para a selecção e preparação de derivados pró-fármacos adequados são descritos, por exemplo, em "Design of Prodrugs," ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985. Os exemplos adequados de pró-fármacos incluem os ésteres de metilo, etilo e glicerol do ácido correspondente.

Os compostos da invenção podem ser formulados em composições farmacêuticas como descrito, *vide infra*. Numa forma de realização preferida, o composto pode ser administrado ao longo de um período de tempo prolongado numa composição de liberação prolongada. As composições de liberação prolongada são conhecidas na técnica e um especialista na técnica pode formular uma composição aceitável com base em parâmetros geralmente reconhecidos na técnica. Numa forma de realização muito preferida, pode utilizar-se o éster de glicerol no tratamento de condições inflamatórias, aqui descritas, em composições de liberação prolongada, isto é, um adesivo transdérmico, como conhecido na técnica. Os métodos adequados para preparar um adesivo transdérmico podem ser encontrados nas Patentes U.S. Nº 5 814 599, 5 846 974 ou 4 201 211. Mais particularmente, os compostos podem ser administrados por via transdérmica utilizando os tipos de tecnologias de adesivos disponíveis de Ciba-Geigy Corporation e Alza Corporation. A administração das composições farmacêuticas da presente invenção pode ser intermitente, ou a uma velocidade

gradual, contínua, constante ou controlada a um animal de sangue quente, tal como um ser humano. Além disso, a hora do dia e o número de vezes por dia que a formulação farmacêutica é administrada pode variar. Preferencialmente, a administração é de modo a que os ingredientes activos da formulação farmacêutica interajam com a condição inflamatória.

Uma “quantidade terapeuticamente eficaz” é uma quantidade de uma ATL, tal como ATL-1 ou uma LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, suficiente para produzir uma inibição, redução ou prevenção mensurável da angiogénese no tecido a ser tratado, isto é, uma quantidade inibidora da angiogénese. A inibição da angiogénese pode ser medida *in situ* por imuno-histoquímica ou por outros métodos conhecidos do especialista na técnica tal como medição por análise FAC que monitoriza os receptores de P-selectina ou VEGF. Ver também Figuras 4 e 5.

Mais especificamente, as composições farmacêuticas da invenção podem incluir uma “quantidade terapeuticamente eficaz” ou uma “quantidade profilacticamente eficaz” de um antiangiogénico da invenção. Uma “quantidade terapeuticamente eficaz” refere-se a uma quantidade eficaz, a dosagens e por períodos de tempo necessários, para se conseguir o resultado terapêutico desejado, por exemplo, uma diminuição, redução ou prevenção de factores angiogénicos associados a vários estados ou condições patológicos. A quantidade terapeuticamente eficaz do antiangiogénico pode variar de acordo com factores tais como o estado patológico, idade, género e peso do indivíduo, e da capacidade do antiangiogénico para induzir uma resposta desejada no indivíduo. Uma quantidade

terapeuticamente eficaz é também uma em que quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais do anticorpo ou parte do anticorpo são ultrapassados pelos efeitos terapeuticamente benéficos.

Uma "quantidade profilacticamente eficaz" refere-se a uma quantidade eficaz, a dosagens e por períodos de tempo necessários, para se conseguir o resultado profiláctico desejado, isto é prevenido. Tipicamente, uma vez que uma dose profiláctica é utilizada em indivíduos antes ou numa fase inicial da doença, a quantidade profilacticamente eficaz será menor do que a quantidade terapeuticamente eficaz.

Os regímenes de dosagem podem ser ajustados para proporcionar a resposta óptima desejada (por exemplo, uma resposta terapêutica ou profiláctica). Por exemplo, pode administrar-se um único bolus, pode administrar-se várias doses divididas ao longo do tempo ou a dose pode ser proporcionalmente reduzida ou aumentada como indicado pelas exigências da situação terapêutica. É especialmente vantajoso formular composições parentéricas na forma de unidade de dosagem para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. Forma de unidade de dosagem como aqui utilizada refere-se a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para os indivíduos mamíferos a serem tratados; cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de composto activo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico necessário. A especificação para as formas de unidade de dosagem da invenção são ditadas e directamente dependentes das (a) características únicas do composto activo e do efeito terapêutico ou profiláctico

particular a ser conseguido, e (b) limitações inerentes na técnica de formulação de um tal composto activo para o tratamento de sensibilidade nos indivíduos.

Uma gama ilustrativa, não restritiva para uma quantidade terapeuticamente ou profilacticamente eficaz de um antiangiogénico da invenção é 0,1-20 mg/kg, mais preferencialmente 1-10 mg/kg. Assinala-se que os valores de dosagem podem variar com o tipo e gravidade da condição a ser aliviada. É ainda para ser entendido que para qualquer indivíduo particular, os regímenes de dosagem específicos deverão ser ajustados ao longo do tempo de acordo com as necessidades do indivíduo e a opinião profissional da pessoa que administra ou supervisiona a administração das composições, e que as gamas de dosagem aqui definidas são apenas ilustrativas e não se destinam a restringir o âmbito ou prática da composição reivindicada.

Os compostos antiangiogénicos da invenção, por exemplo, uma ATL, tal como ATL-1 ou uma LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, podem ser incorporados em composições farmacêuticas adequadas para administração a um indivíduo. Tipicamente, a composição farmacêutica compreende um antiangiogénico da invenção e um veículo farmaceuticamente aceitável. Como aqui utilizado, "veículo farmaceuticamente aceitável" inclui qualquer um e todos os solventes, meios de dispersão, revestimentos, agentes antibacterianos e antifúngicos, agentes isotónicos e de retardamento da absorção, e semelhantes que são fisiologicamente compatíveis. Exemplos de veículos farmaceuticamente aceitáveis incluem um ou mais de água, soro fisiológico, soro fisiológico tamponado com fosfato, dextrose, glicerol, etanol e semelhantes, bem como combinações destes. Nalguns

casos, pode ser benéfico incluir agentes isotónicos, por exemplo, açúcares, polialcoois tal como manitol, sorbitol, ou cloreto de sódio na composição. Os veículos farmaceuticamente aceitáveis podem compreender ainda quantidades mais pequenas de substâncias auxiliares tais como agentes humectantes ou emulsionantes, conservantes ou tampões, os quais melhoram o tempo de vida ou eficácia do antiangiogénico.

Adicionalmente, os álcoois mono-, di- e/ou tri-protectidos dos compostos da invenção proporcionam uma libertação prolongada do composto inibidor/preventivo. Por exemplo, os análogos triacilo da invenção proporcionam uma tal libertação prolongada dos álcoois tri-hidroxilo hidrolisados. Os análogos triacetilados são assim desesterificados no sangue do indivíduo.

Os antiangiogénicos da invenção podem ser incorporados numa composição farmacêutica adequada para administração parentérica. Outros tampões adequados incluem mas não se limitam a, succinato de sódio, citrato de sódio, fosfato de sódio ou fosfato de potássio. Pode utilizar-se cloreto de sódio para modificar a toxicidade da solução a uma concentração de 0-300 mM (de modo óptimo 150 mM para uma forma de dosagem líquida). Podem ser incluídos crioprotectores para uma forma de dosagem liofilizada, principalmente 0-10% de sacarose (de modo óptimo 0,5-1,0%). Outros crioprotectores adequados incluem trealose e lactose. Podem ser incluídos agentes de carga para uma forma de dosagem liofilizada, principalmente 1-10% de manitol (de modo óptimo 2-4%). Podem ser utilizados estabilizantes em formas de dosagem líquidas e liofilizadas, principalmente L-Metionina 1-50 mM (de modo

óptimo 5-10 mM). Outros agentes de carga adequados incluem glicina, arginina, podem ser incluídos como 0-0,05% de polissorbato-80 (de modo óptimo 0,005-0,01%). Os tensioactivos adicionais incluem mas não se limitam aos tensioactivos polissorbato 20 e BRIJ.

As composições desta invenção podem estar numa variedade de formas. Estas incluem, por exemplo, formas de dosagem líquidas, semi-sólidas e sólidas, tais como soluções líquidas (por exemplo, soluções injectáveis e para infusão), dispersões ou suspensões, comprimidos, pílulas, pós, lipossomas e supositórios. A forma preferida depende do modo de administração e aplicação terapêutica pretendidos. As composições preferidas típicas estão na forma de soluções injectáveis ou para infusão, tais como composições semelhantes às utilizadas para imunização passiva de humanos. O modo de administração preferido é parentérico (por exemplo, intravenoso, subcutâneo, intraperitoneal, intramuscular). Numa forma de realização preferida, o antiangiogénico é administrado por infusão ou injecção intravenosa. Noutra forma de realização preferida, o antiangiogénico é administrado por injecção intramuscular ou subcutânea. Numa forma de realização muito preferida, o antiangiogénico é administrado por via oral.

Alternativamente, uma forma de realização preferida inclui a utilização dos compostos da invenção em soluções de colírio. Isto proporciona uma aplicação fácil para inibir ou prevenir doenças oculares tais como glaucoma. Duma maneira geral, o ingrediente activo, isto é, os compostos da invenção, seriam dissolvidos numa solução aquosa que pode ser aplicada directamente no olho.

Tipicamente, as composições terapêuticas têm de ser estéreis e estáveis nas condições de fabrico e armazenagem. A composição pode ser formulada como uma solução, microemulsão, dispersão, lipossoma ou outra estrutura ordenada adequada para uma concentração elevada do fármaco. As soluções injectáveis estéreis podem ser preparadas incorporando o composto activo (isto é, antigénio, anticorpo ou parte de anticorpo) na quantidade necessária num solvente apropriado com um ou uma combinação dos ingredientes enumerados acima, consoante necessário, seguido de esterilização por filtração.

Duma maneira geral, as dispersões são preparadas incorporando o composto activo num veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes requeridos a partir daqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis, liofilizados para a preparação de soluções injectáveis estéreis, os métodos de preparação preferidos são secagem por vácuo e secagem por pulverização que produzem um pó do ingrediente activo com qualquer ingrediente adicional desejado de uma solução previamente esterilizada por filtração daquele. A fluidez apropriada de uma solução pode ser mantida, por exemplo, através da utilização de um revestimento tal como lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula necessário no caso de dispersão e pela utilização de tensioactivos. A absorção prolongada de composições injectáveis pode ser conseguida incorporando na composição um agente que retarde a absorção, por exemplo, sais de monoestearato e gelatina.

Os antiangiogénicos da presente invenção podem ser administrados por uma variedade de métodos conhecidos na técnica. Como será compreendido pelo especialista, a via

e/ou modo de administração variará em função dos resultados desejados. Em determinadas formas de realização, o composto activo pode ser preparado com um veículo que protegerá o composto contra a libertação rápida, tal como uma formulação de libertação controlada, incluindo implantes, adesivos transdérmicos e sistemas de administração microencapsulados. Pode utilizar-se polímeros biodegradáveis, biocompatíveis tal como acetato de etileno e vinilo, polianidridos, poli (ácido glicólico), colagénio, poliortoésteres e poli(ácido láctico). Estão patenteados muitos métodos de preparação de tais formulações ou são geralmente conhecidos dos especialistas na técnica. Ver, por exemplo, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

Em determinadas formas de realização, um antiangiogénico da invenção pode ser administrado por via oral, por exemplo, com um diluente inerte ou um veículo comestível assimilável. O composto (e outros ingredientes, se desejado) também pode ser fechado numa cápsula de gelatina dura ou mole, prensado em comprimidos ou directamente incorporado na dieta do indivíduo. Para administração terapêutica oral, os compostos podem ser incorporados com excipientes e utilizados na forma de comprimidos ingestíveis, comprimidos bocais, trociscos, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, hóstias e semelhantes. Para administrar um composto da invenção por outro método que não a administração parentérica, pode ser necessário revestir o composto, ou co-administrar o composto, com um material que impeça a sua inactivação.

A presente invenção também proporciona composições farmacêuticas embaladas úteis na prevenção ou inibição de actividade angiogénica num indivíduo. A composição farmacêutica embalada inclui um recipiente que contém uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos uma ATL, tal como ATL-1 ou uma LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, ou um sal farmaceuticamente aceitável, e instruções para utilizar o composto terapêutico na prevenção, redução ou inibição da actividade angiogénica no indivíduo. Além disso, a presente invenção proporciona quantidades terapeuticamente eficazes de composições farmacêuticas embaladas, por exemplo, ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-R/S-metil, LXA₄ ou sais farmaceuticamente aceitáveis, e instruções úteis para tratar, isto é, inibir ou prevenir, que o crescimento de tecido de tumor sólido sofra neovascularização, a ocorrência de neovascularização, a ocorrência de neovascularização no tecido retiniano, que ocorra reestenose após angioplastia num tecido em que ocorre migração de células do músculo liso ou redução do fluxo de sangue para um tecido necessário para suportar o novo crescimento de tecido angiogénico novo.

A presente invenção também proporciona compostos angiogénicos que facilitam a angiogénesse. Surpreendentemente, os isómeros configuracionais de LXA₄, análogos de LXA₄ e análogos de ATL, LXB₄ e análogos de LXB₄ e seus sais farmaceuticamente aceitáveis, proporcionam os efeitos contrários no que se refere à revascularização de tecido pelos compostos da invenção acima identificados. Isto é, constatou-se surpreendentemente que a LXB₄ e análogos de LXB₄ têm a capacidade de estimular a regeneração e crescimento de tecido vascular ou epitelial em tecidos que estão necessitados dessa estimulação. Isto é

especialmente importante no enxerto de tecido, manipulação de tecido e sítios de ligação de grupo protético. Portanto, os compostos utilizados na presente invenção podem ser usados em métodos de regeneração de tecido e produtos farmacêuticos embalados para conseguir esses resultados.

Por exemplo, a doença cardiovascular ocorre como uma consequência do bloqueio parcial ou total de vasos que transportam o sangue no sistema vascular coronário e na vasculatura periférica. A oclusão do vaso pode resultar na morte de tecido anteriormente sustentado pelos vasos obstruídos ou na incapacidade dos vasos para transportar um fluxo de sangue suficiente para regiões que requerem um consumo elevado de sangue e de nutrientes acompanhantes. A oclusão do vaso sanguíneo pode ser parcialmente compensada pelo processo natural de angiogéneses, no qual se formam novas condutas para substituir a função dos vasos deteriorados. Estas novas condutas são referidas como vasos "colaterais" e podem ajudar a restabelecer o fluxo de sangue para o tecido insuficientemente fornecido, constituindo desse modo pontes naturais em torno de vasos obstruídos. No entanto, por várias razões, alguns indivíduos são incapazes de gerar vasos colaterais suficientes para resolver as consequências de um fluxo sanguíneo diminuído em resultado da doença cardiovascular.

Os compostos de LXB₄ aqui descritos podem ser utilizados para melhorar a aptidão natural do organismo para se reparar a ele próprio sofrendo angiogéneses natural. Como pode ser observado a partir do conteúdo da especificação e das Figuras, o crescimento de vasos é estimulado por estes compostos únicos. Este processo e a utilização dos compostos da presente invenção pode ser usado para o

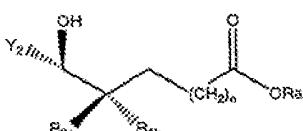
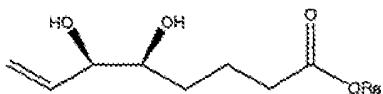
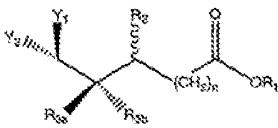
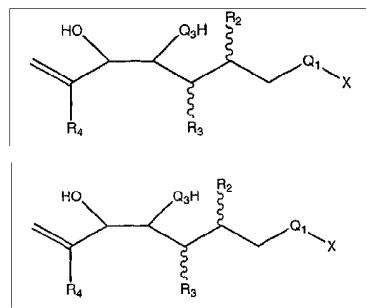
tratamento de feridas. Os compostos de LXB₄ ajudam a estimular o processo de cicatrização, fazendo que ocorra re-epitelização e vascularização.

Os análogos adequados de lipoxina, incluindo ATLs, LXA₄s e LXB₄s, incluem aqueles que possuem as características seguintes.

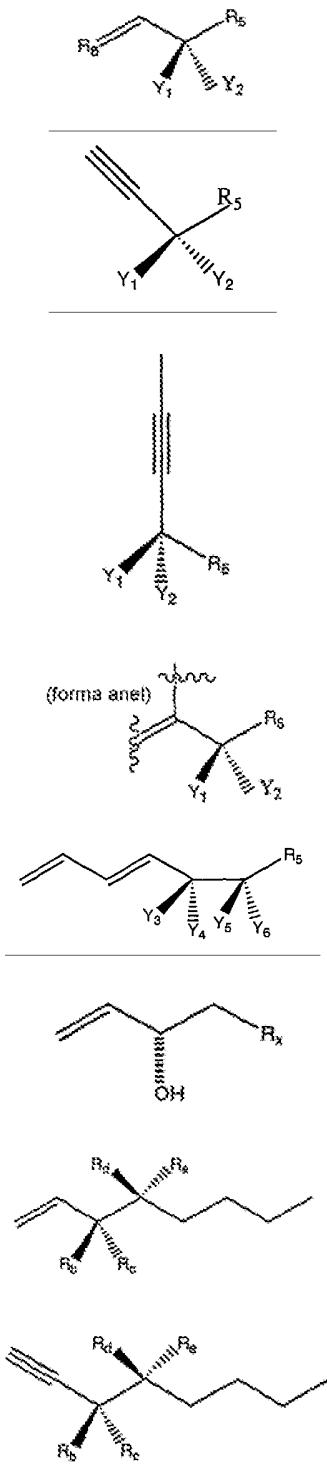
As lipoxinas da presente invenção compreendendo uma "região activa" e uma "região de transformação metabólica," como são aqui definidos ambos os termos, são geralmente da estrutura seguinte:

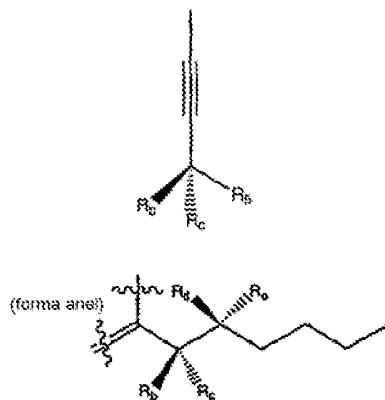


em que R₁ pode ser



e R_2 pode ser



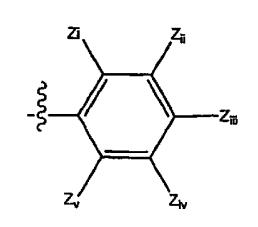


Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a seguinte fórmula estrutural I:

em que X é R_1 , OR_{-1} ou SR_1 ;

em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_1 , Z_{2i} , Z_{3ii} , Z_{4iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo,

-OR_x, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

em que Q₁ é (C=O), SO₂ ou (CN);

em que Q₃ é O, S ou NH;

em que um de R₂ e R₃ é um átomo de hidrogénio e o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

(e) R_a Q₂ R_b

em que Q₂ é -O- ou -S-;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; e em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R₄ é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_1 ou Y_2 é $-\text{OH}$, metilo ou $-\text{SH}$ e em que o outro é

- (a) um átomo de hidrogénio
- (b) CH_aZ_b
em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3; e
cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro,
ou um átomo de halogéneo;
- (c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono,
inclusive, de cadeia linear ou ramificado; ou
- (d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono,
inclusive;

ou Y_1 e Y_2 tomados em conjunto são

- (a) $=\text{NH}$; ou
- (b) $=\text{O}$;

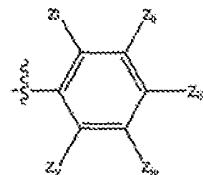
em que R_5 é

- (a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(b) $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}_i$

em que $n=0$ até 4 e R_i é

- (i) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (ii) um fenilo; ou
- (iii) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(c) $R_aQ_aR_b$

em que Q_a é O ou S;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

em que R_{iii} e R_{iv} são, cada um, independentemente:

(i) um átomo de hidrogénio;

(ii) CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0+3$, e em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro ou um átomo de halogéneo;

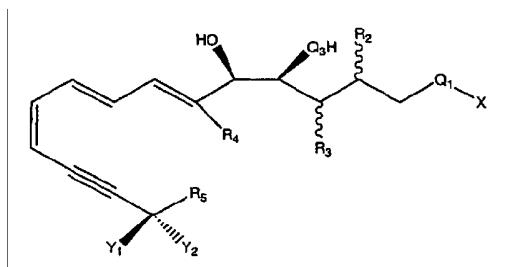
(e) um haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

e

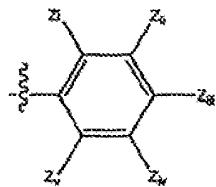
em que R_6 é

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;
- (c) um halogéneo.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a seguinte estrutura II:

em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ; em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) um fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_1 , Z_{1i} , Z_{1ii} , Z_{1iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável, tais como mas não se limitando a etiquetas fluorescentes; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou $(C=N)$;

em que Q_3 é O, S ou NH;

em que um de R_2 e R_3 é hidrogénio e o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

(e) $R_aQ_2R_b$

em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_4 é

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_1 ou Y_2 é $-OH$, metilo, $-H$ ou $-SH$ e em que o outro é

- (a) um átomo de hidrogénio;

(b) CH_aZ_b

em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3

em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro ou um átomo de halogéneo;

(c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

(d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive; ou Y_1 e Y_2 tomados em conjunto são

- (a) $=NH$; ou

(b) $=O$;

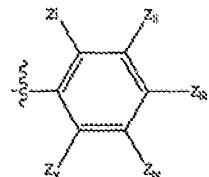
em que R_5 é

(a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(b) $-(CH_2)_n-R_i$

em que $n=0$ até 4 e R_i é

- (i) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
 - (ii) fenilo; ou
 - (iii) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

$$(c) -R_a Q_a R_b$$

em que Q_a é $-O-$ ou $-S-$; e

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(d) $-C(R_{iij}) (R_{iv}) - R_i$

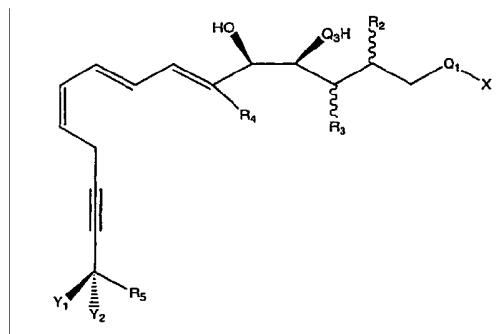
em que R_{iij} e R_{iv} são, cada um, independentemente:

- (i) um átomo de hidrogénio; ou
 (ii) CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0+3$

em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo,

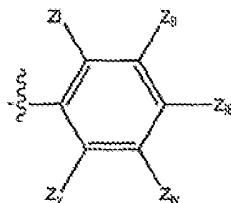
(e) um haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a seguinte estrutura III:



em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ; em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_1 , Z_{11} , Z_{111} , Z_{1111} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou $(C=N)$;

em que Q_3 é O, S ou NH;

em que um de R_2 e R_3 é átomo de hidrogénio e o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

(e) $R_aQ_2R_b$

em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_4 é

- (a) um átomo de hidrogénio; ou
- (b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_1 ou Y_2 é hidroxilo, metilo, hidrogénio ou tiol e em que o outro é

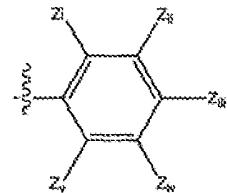
- (a) um átomo de hidrogénio;
 - (b) CH_aZ_b
em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3
em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo;
 - (c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;
 - (d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive; ou Y_1 e Y_2 tomados em conjunto são
- (a) $=NH$; ou
 - (b) $=O$; e

em que R_5 é

- (a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (b) $-(CH_2)_n-R_i$

em que $n=0$ até 4 e R_i é

- (i) cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (ii) fenilo;
- (iii) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(c) $R_aQ_aR_b$

em que Q_a é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

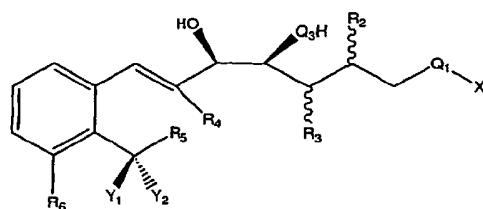
em que R_{iii} e R_{iv} são, cada um, independentemente:

- (i) um átomo de hidrogénio; ou
- (ii) CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0+3$

em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo,

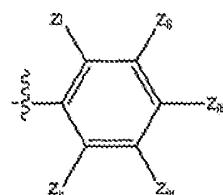
(e) um haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a seguinte fórmula estrutural IV:



em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ; em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou (CN) ;

em que Q_3 é O, S ou NH;

em que um de R_2 e R_3 é hidrogénio e o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

(e) $R_aQ_2R_b$

em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_4 é

- (a) um átomo de hidrogénio; ou
 (b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_1 ou Y_2 é $-\text{OH}$, metilo ou $-\text{SH}$ e em que o outro é

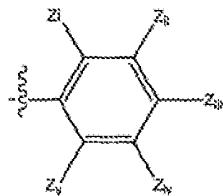
- (a) um átomo de hidrogénio;
 (b) CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3, em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo;
 (c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado; ou
 (d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive;
 ou Y_1 e Y_2 tomados em conjunto são

- (a) $=\text{NH}$; ou
 (b) $=\text{O}$;

em que R_5 é

- (a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
 (b) $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}_i$
 em que $n=0$ até 4 e R_i é

- (i) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
 (ii) fenilo; ou
 (iii) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(c) $R_aQ_aR_b$

em que Q_a é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

em que R_{iii} e R_{iv} são, cada um, independentemente:

(i) um átomo de hidrogénio; ou

(ii) CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0+3$ e

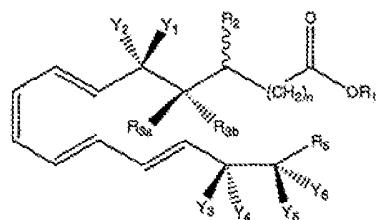
em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo; ou

(e) haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado; e

em que R_6 é

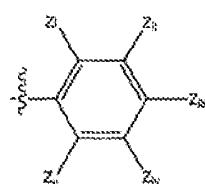
- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado; ou
- (c) um átomo de halogéneo.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a seguinte fórmula estrutural V:



em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_1 , Z_{2i} , Z_{3ii} , Z_{4v} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$,

$-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que $n = 1$ até 10, inclusive;

em que R_2 , R_{3a} , e R_{3b} são, cada um, independentemente:

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

(e) $R_aQ_2R_b$

em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; e em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_1 ou Y_2 é $-OH$, metilo, hidrogénio, ou $-SH$ e

em que o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) CH_aZ_b

em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3, e
em que cada Z é, independentemente, um ciano, um
nitro, ou um átomo de halogéneo;

(c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono,
inclusive, de cadeia linear ou ramificado;
(d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono,
inclusive, de cadeia linear ou ramificado;
ou Y_1 e Y_2 tomados em conjunto são

(a) =NH; ou

(b) =O;

em que Y_3 ou Y_4 é -OH, metilo, hidrogénio ou -SH e

em que o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) CH_aZ_b

em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3,

e em que cada Z é, independentemente, um ciano, um
nitro, ou um átomo de halogéneo;

(c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono,
inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

(d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono,
inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

ou Y_3 e Y_4 tomados em conjunto são

(a) =NH; ou

(b) =O;

em que Y_5 ou Y_6 é -OH, metilo, hidrogénio ou -SH e

em que o outro é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) CH_aZ_b

em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3

em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo;

(c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

(d) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

ou Y_5 e Y_6 tomados em conjunto são

(a) ==NH; ou

(b) ==O;

em que R_5 é

(a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

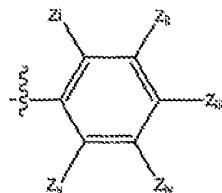
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

em que $n = 0$ até 4 e R_i é

(i) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo; ou

(iii) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(c) $-R_a Q_a R_b$

em que Q_a é $-O-$ ou $-S-$; e

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado ou fenilo substituído;

(d) $-C(R_{i\text{ii}})(R_{i\text{v}})-R_i$

em que $R_{i\text{ii}}$ e $R_{i\text{v}}$ são, cada um, independentemente:

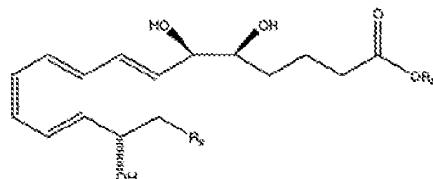
(i) um átomo de hidrogénio; ou

(ii) $CH_a Z_b$ em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=+3$, e

em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro ou um átomo de halogéneo; ou

(e) haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a fórmula estrutural VI:



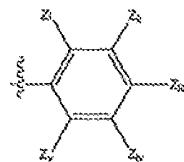
em que R_a é

(a) um átomo de hidrogénio; ou

(b) alquilo de 1 até 8 átomos de carbono;

em que R_x é

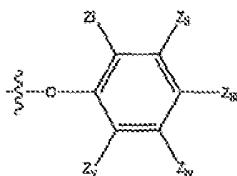
(a) fenilo substituído



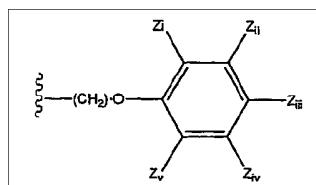
em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(b) um fenoxilo substituído

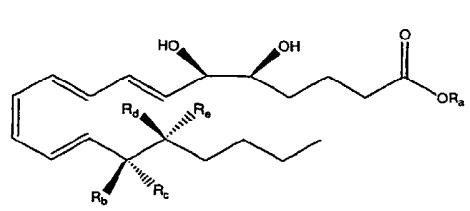


em que Z_i até Z_v são como definidos acima; ou



em que Z_i até Z_v são como definidos acima.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a seguinte fórmula estrutural VII:



em que R_a é

- (a) um átomo de hidrogénio; ou
- (b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono;

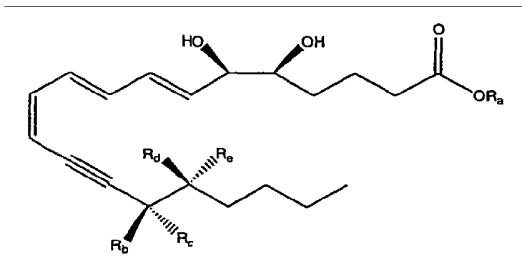
em que R_b e R_c são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um hidroxilo ou um tiol;
- (c) um metilo ou um halometilo;
- (d) um halogéneo;
- (e) um alcoxilo de 1 até 3 átomos de carbono;

em que R_d e R_e são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um hidroxilo ou tiol;
- (c) um metilo ou halometilo;
- (d) um halogéneo;
- (e) um alcoxilo de 1 até 3 átomos de carbono; ou
- (f) um alquilo ou haloalquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a fórmula estrutural VIII:



em que R_a é

- (a) um átomo de hidrogénio; ou
- (b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono;

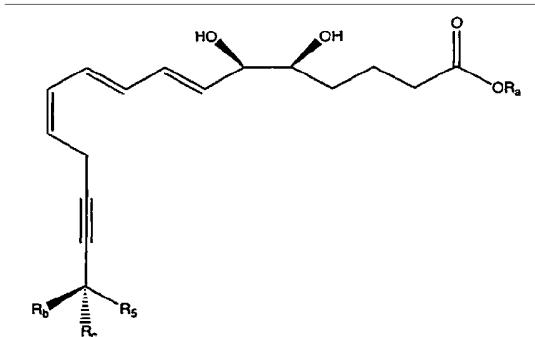
em que R_b e R_c são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um hidroxilo ou um tiol;
- (c) um halometilo;
- (d) um halogéneo;
- (e) um alquilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado; ou
- (f) um alcoxilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive;

em que R_d e R_e são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um hidroxilo ou um tiol;
- (c) um metilo ou um halometilo;
- (d) um halogéneo;
- (e) um alcoxilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive; ou
- (f) um alquilo ou haloalquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado.

Os análogos de lipoxina aqui descritos podem ter a fórmula estrutural IX:



em que R_a é

- (a) um átomo de hidrogénio; ou
- (b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono;

em que R_b e R_c são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um hidroxilo ou tiol;
- (c) um halometilo;
- (d) um halogéneo;
- (e) um alquilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;
- (f) um alcoxilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive; e

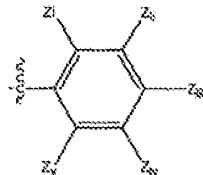
em que R_5 é

- (a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (b) $-(CH_2)_n-R_i$

em que $n = 0$ até 4 e R_i é

- (i) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;

- (ii) fenilo; ou
- (iii) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(c) $R_aQ_aR_b$

em que Q_a é $-O-$ ou $-S-$;
em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado ou fenilo substituído;

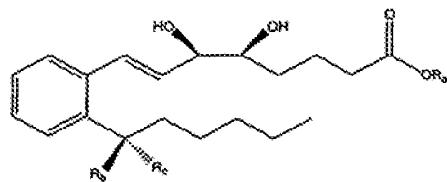
(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

em que R_{iii} e R_{iv} são, cada um, independentemente:

- (i) um átomo de hidrogénio; ou
- (ii) CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0+3$
em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro ou um átomo de halogéneo; ou

(e) haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado.

Os compostos de lipoxina aqui descritos podem ter a fórmula estrutural X:



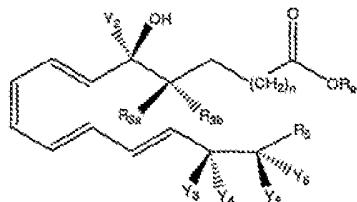
em que R_a é

- (a) um átomo de hidrogénio; ou
- (b) alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado; e

em que R_b e R_c são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
- (b) um hidroxilo ou um tiol;
- (c) um halometilo;
- (d) um halogéneo;
- (e) um alquilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;
- (f) um alcoxilo de 1 até 3 átomos de carbono, inclusive.

Os compostos aqui descritos podem ter a fórmula estrutural XI:



em que R_a é

- (i) um átomo de hidrogénio;
 - (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou
 - (iii) uma molécula com etiqueta detectável, em que $n=1$ até 10, inclusive;

em que Y_2 , R_{3a} e R_{3b} são, cada um, independentemente:

- (a) um átomo de hidrogénio;
 - (b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
 - (c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;
 - (d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou
 - (e) $R_aQ_2R_b$

em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; e em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_1 é $-\text{OH}$, metilo ou $-\text{SH}$;

em que Y_2 é

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) CH_aZ_b

em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3

em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro ou um átomo de halogéneo; ou

(c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_3 e Y_5 são, cada um, independentemente:

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) CH_aZ_b

em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3 e em que cada Z é, independentemente, um ciano, um nitro, ou um átomo de halogéneo; ou

(c) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que Y_4 e Y_6 são, cada um, independentemente

(a) um átomo de hidrogénio;

(b) um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

(c) um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado; ou

(d) um hidroxilo ou tiol; e

em que R_5 é

(a) um alquilo de 1 até 9 átomos de carbono o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

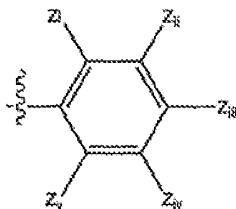
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

em que $n=0$ até 3 e R_i é

(i) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo;

(iii) fenilo substituído



em que Z_1 , Z_2 , Z_3 , Z_4 e Z_5 são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$,
em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

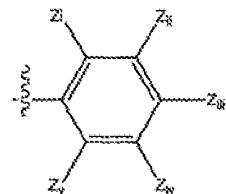
(c) $-R_aQ_aR_b$

em que Q_a é $-O-$ ou $-S-$;

em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_b é

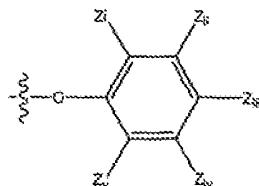
(a) um fenilo substituído



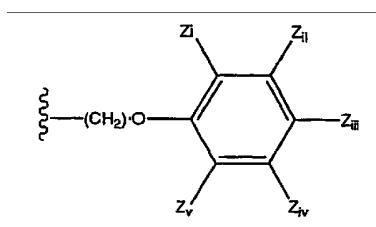
em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(b) um fenoxilo substituído



em que Z_i até Z_v são como definidos acima; ou



em que Z_i até Z_v são como definidos acima;

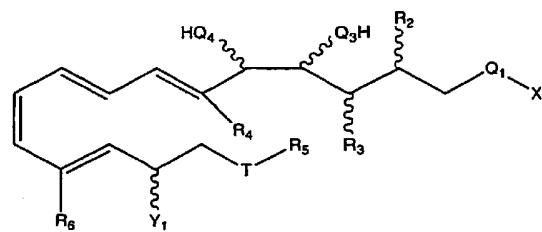
(d) um haloalquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, e 1 até 6 átomos de halogéneo, inclusive, de cadeia linear ou ramificado.

Entender-se-á que os ácidos e ésteres carboxílicos utilizados na invenção podem ser convertidos, se necessário, nos sais farmaceuticamente aceitáveis.

Em determinadas formas de realização da invenção, a LXB_4 ou os alcanoatos (acetatos) de C5 e C14 e C15 de LXB_4 podem ser excluídos.

LIPOXINAS POSSUINDO SUBSTITUENTES FENOXILO ou TIOFENOXILO

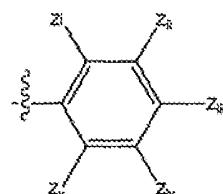
As lipoxinas e os análogos de lipoxina aqui descritos e úteis como agentes terapêuticos no tratamento das doenças, estados ou condições patológicos descritos ao longo da especificação têm a fórmula:



em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ;

em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_1 , Z_2 , Z_3 , Z_4 , Z_5 e Z_6 são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-$

R_1 , $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou (CN) , na condição de que quando Q_1 é CN , então X esteja ausente;

em que Q_3 e Q_4 são, cada um, independentemente O, S ou NH;

em que um de R_2 e R_3 é um átomo de hidrogénio e o outro é

(a) H;

(b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou

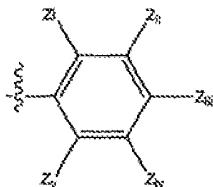
(e) $R_aQ_2R_b$ em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$; em que R_a é alquileno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado e em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, na condição de que quando R_b é 0, então R_b seja um átomo de hidrogénio;

em que R_4 é

(a) H;

(b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_5 é



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo ou um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído;

em que Y_1 é $-OH$, metilo, $-SH$, um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado, um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, ou CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3 e Z é ciano, nitro ou um halogéneo;

em que R_6 é

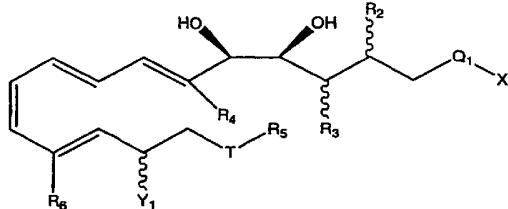
(a) H;

(b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que T é O ou S, e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

As lipoxinas e análogos de lipoxina aqui descritos e úteis como agentes terapêuticos no tratamento das doenças,

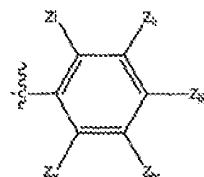
estados ou condições patológicos descritos ao longo da especificação têm a fórmula:



em que X é R₁, OR₁ ou SR₁;

em que R₁ é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z₁, Z₂, Z₃, Z₄, Z₅ e Z₆ são, cada um, independentemente seleccionados de -NO₂, -CN, -C(=O)-R₁, -SO₃H, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, -OR_x, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

- (vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou
- (viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou (CN) , na condição de que quando Q_1 é CN , então X esteja ausente;

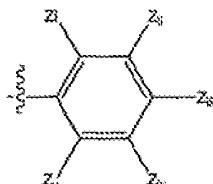
em que um de R_2 e R_3 é um átomo de hidrogénio e o outro é

- (a) H ;
- (b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;
- (d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou
- (e) $R_aQ_2R_b$ em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$; em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado e em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, na condição de que quando R_b é 0, então R_b seja um átomo de hidrogénio;

em que R_4 é

- (a) H ;
- (b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_5 é



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo ou um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído;

em que Y_1 é $-\text{OH}$, metilo, $-\text{SH}$, um alquilo de 2 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado, um alcoxilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, ou CH_aZ_b em que $a+b=3$, $a=0$ até 3, $b=0$ até 3 e Z é ciano, nitro ou um halogéneo;

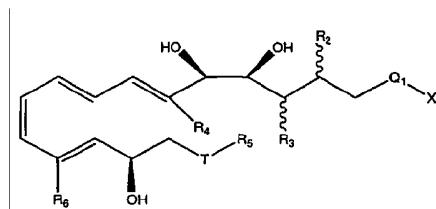
em que R_6 é

(a) H;

(b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que T é O ou S, e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

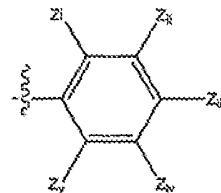
As lipoxinas e análogos de lipoxina aqui descritos e úteis como agentes terapêuticos no tratamento das doenças, estados ou condições patológicos descritos ao longo da especificação têm a fórmula:



em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ;

em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

- (vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou
- (viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou (CN) , na condição de que quando Q_1 é CN , então X esteja ausente;

em que um de R_2 e R_3 é um átomo de hidrogénio e o outro é

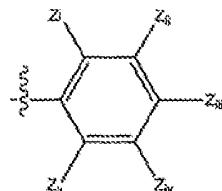
- (a) H;
- (b) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

- (c) um cicloalquilo de 3 até 6 átomos de carbono, inclusive;
- (d) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado; ou
- (e) $R_aQ_2R_b$ em que Q_2 é $-O-$ ou $-S-$; em que R_a é alquíleno de 0 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado e em que R_b é alquilo de 0 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, na condição de que quando R_b é 0, então R_b seja um átomo de hidrogénio;

em que R_4 é

- (a) H;
- (b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_5 é



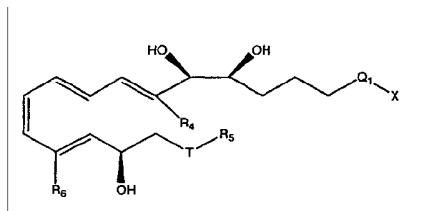
em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo ou um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído;

em que R_6 é

- (a) H;
- (b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que T é O ou S, e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

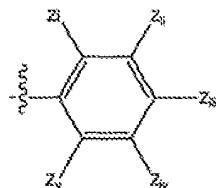
Num aspecto, as lipoxinas e análogos de lipoxina úteis como agentes terapêuticos no tratamento das doenças, estados ou condições patológicos descritos ao longo da especificação têm a fórmula:



em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ;

em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) -fenilo;
- (vi) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H-$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

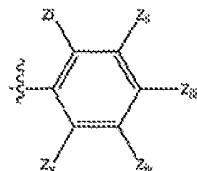
em que Q_1 é $(C=O)$, SO_2 ou (CN) , na condição de que quando Q_1 é CN , então X esteja ausente;

em que R_4 é

(a) H ;

(b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_5 é



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-OR_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo ou um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído;

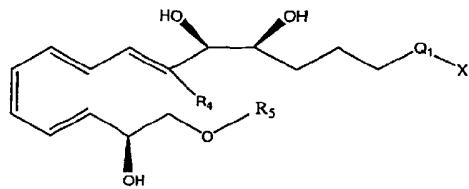
em que R_6 é

(a) H;

(b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que T é O ou S, e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Num aspecto, as lipoxinas e análogos de lipoxina úteis como agentes terapêuticos no tratamento das doenças, estados ou condições patológicos descritos ao longo da especificação têm a fórmula:



em que X é R₁, OR₁ ou SR₁;

em que R₁ é

(i) um átomo de hidrogénio;

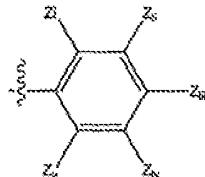
(ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

(iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono;

(iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo substituído



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;

(vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou

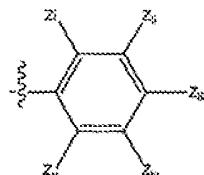
(viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

em que R_4 é

(a) H;

(b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

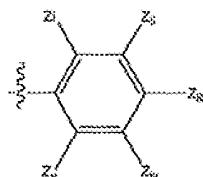
em que R_5 é



em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo ou um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído; e

os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

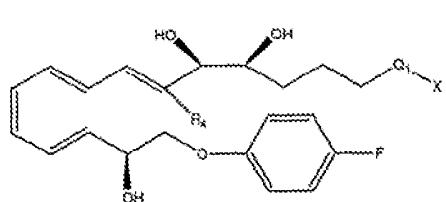
Em formas de realização preferidas, X é OR₁ em que R₁ é um átomo de hidrogénio, um grupo alquilo de 1 até 4 átomos de carbono ou um sal farmaceuticamente aceitável, Q₁ é C=O, R₂ e R₃, se presentes, são átomos de hidrogénio, R₄ é um átomo de hidrogénio ou metilo, Q₃ e Q₄, se presentes, são ambos O, R₆, se presente, é um átomo de hidrogénio, Y₁, se presente, é OH, T é O e R₅ é um fenilo substituído, por exemplo,



em que Z₁, Z₂, Z₃, Z₄ e Z₅ são, cada um, independentemente seleccionados de -NO₂, -CN, -C(=O)-R₁, -SO₃H, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, -OR_x,

em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo. Em determinadas formas de realização de R₅ são preferidos o *para*-fluorofenilo e/ou fenilo não substituído, por exemplo, 15-*epi*-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-LXA₄, 16-(*para*-fluoro)-fenoxi-LXA₄, 15-*epi*-16-fenoxi-LXA₄ ou 16-fenoxi-LXA₄.

As composições farmacêuticas podem incluir compostos utilizados na invenção e um veículo farmaceuticamente aceitável. Um composto preferido é



Numa forma de realização, Q_1 é um carbonilo, X é um hidroxilo ou um $-OR$, em que R é um grupo alquilo, isto é, grupos metilo ou etilo, e R_4 é um átomo de hidrogénio.

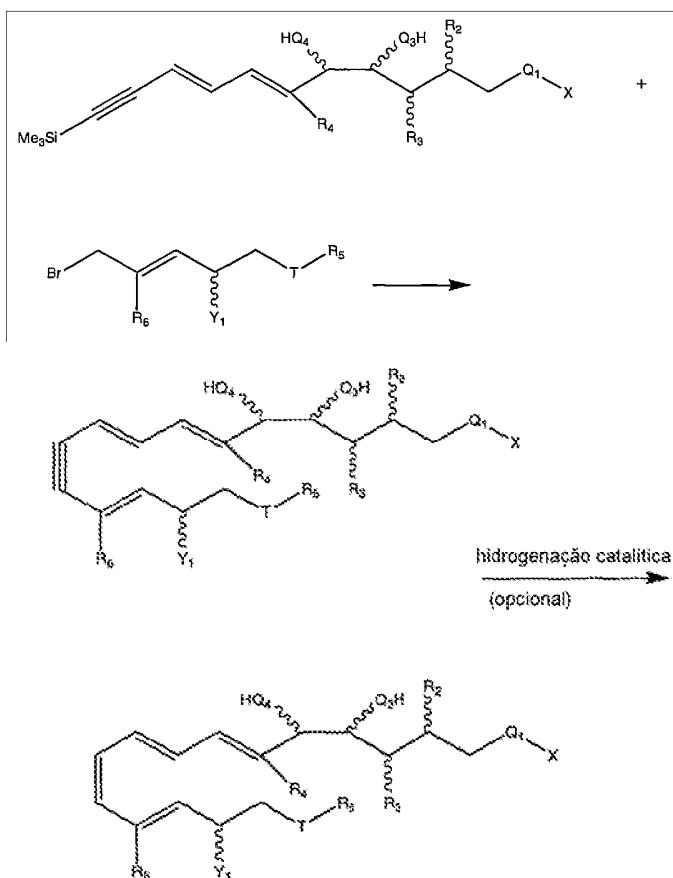
Noutras formas de realização, Y_1 é um hidroxilo e o carbono que suporta o hidroxilo pode ter uma configuração R ou S . Em formas de realização muito preferidas, o carbono quiral que suporta o grupo hidroxilo, por exemplo, Y_1 , é designado como uma 15-epi-lipoxina como é conhecido na técnica.

Em determinadas formas de realização a quiralidade dos carbonos que suportam os grupos R_2 , R_3 , Q_3 e Q_4 pode ser, cada uma, independente R ou S . Em formas de realização preferidas, Q_3 e Q_4 têm as quiralidades mostradas nas estruturas acima referidas.

Em formas de realização preferidas, R_4 é um hidrogénio. Noutras formas de realização preferidas, R_6 é um hidrogénio.

Além disso, R_5 pode ser um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído possuindo entre 1 e cerca de 6 átomos de carbono, preferencialmente entre 1 e 4 átomos de carbono, muito preferencialmente entre 1 e 3, e preferencialmente um ou dois átomos de carbono. Os átomos de carbono podem ter substituintes os quais incluem átomos de halogéneo, grupos hidroxilo, ou grupos éter.

Os compostos úteis na presente invenção podem ser preparados pelo esquema de síntese seguinte:



em que X , Q_1 , Q_3 , Q_4 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , Y_1 e T são como definidos acima. Podem ser utilizados métodos adequados conhecidos na técnica para produzir cada um dos fragmentos. Por exemplo, o fragmento acetilénico pode ser preparado pelos métodos discutidos em Nicolaou, K.C. et al. (1991) Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 30:1100; Nicolaou, K.C. et al. (1989) J. Org. Chem. 54:5527; Webber, S.E. et al. (1988) Adv. Exp. Med. Biol. 229:61; e Patente U.S. 5 441 951. O segundo fragmento pode ser preparado pelos métodos de Raduchel, B. e Vorbruggen, H. (1985) Adv. Prostaglandin Thromboxane Leucotriene Res. 14:263. Como uma consequência, os intermediários acetilénicos também estão abrangidos pela presente invenção como sendo úteis para o tratamento das várias doenças aqui descritas. Pode ser efectuadas abordagens semelhantes a I para produzir compostos

acetilénicos de LXB₄ como descrito, por exemplo, na Patente US Nº 6 316 648.

Um "análogo de lipoxina" deverá significar um composto o qual tem uma "região activa" que funciona como a região activa de uma "lipoxina natural", mas o qual tem uma "região de transformação metabólica" que difere da lipoxina natural. Os análogos de lipoxina incluem compostos os quais são estruturalmente semelhantes a uma lipoxina natural, compostos esses que partilham do mesmo sítio de reconhecimento pelo receptor, compostos esses que partilham da mesma ou de uma região de transformação metabólica de lipoxina semelhante à lipoxina, e compostos esses que são reconhecidos na técnica como sendo análogos de lipoxina. Os análogos de lipoxina incluem metabolitos análogos de lipoxina. Os compostos aqui descritos podem conter um ou mais centros de assimetria. Quando estão presentes átomos de carbono assimétricos é possível mais do que um estereoisómero, e todas as formas isoméricas possíveis destinam-se a estarem incluídas dentro das representações estruturais apresentadas. Os isómeros opticamente activos (R) e (S) podem ser resolvidos utilizando técnicas convencionais conhecidas do técnico médio na matéria. A presente invenção destina-se a incluir os possíveis diastereoisómeros bem como os isómeros racémicos e opticamente resolvidos.

Os termos "lipoxina correspondente" e "lipoxina natural" referem-se a uma lipoxina que ocorre naturalmente ou a um metabolito de lipoxina. Quando um análogo possui actividade para um receptor específico de lipoxina, a lipoxina correspondente ou natural é o ligando normal para esse receptor. Por exemplo, quando um análogo é um receptor

específico para LXA₄ em células HL-60 não diferenciadas, a lipoxina correspondente é a LXA₄.

Quando um análogo tem actividade como um antagonista para um outro composto (tal como leucotrieno C4 e/ou leucotrieno D4), o qual é antagonizado por uma lipoxina que ocorre naturalmente, essa lipoxina natural é a lipoxina correspondente.

“Região activa” deverá significar a região de uma lipoxina natural ou análogo de lipoxina, que está associada a interacções celulares *in vivo*. A região activa pode ligar-se ao “sítio de reconhecimento” de um receptor celular de lipoxina ou a uma macromolécula ou complexo de macromoléculas, incluindo uma enzima e o seu cofactor. Por exemplo, os análogos de lipoxina A₄ têm uma região activa compreendendo C₅–C₁₅ da lipoxina A₄ natural. Por exemplo, de modo semelhante, os análogos de lipoxina B₄ têm uma região activa compreendendo C₅–C₁₄ da lipoxina B₄ natural.

O termo “sítio de reconhecimento” ou receptor é reconhecido na técnica e destina-se a referir, duma maneira geral, a uma macromolécula ou complexo de macromoléculas funcional com o qual determinados grupos de mensageiros celulares, tais como hormonas, leucotrienos, lipoxinas, têm primeiro de interagir antes de se iniciarem as respostas bioquímicas e fisiológicas a esses mensageiros. Como utilizado neste pedido, um receptor pode estar isolado, numa célula intacta ou permeabilizada, ou no tecido, incluindo um órgão. Um receptor pode ser ou estar num indivíduo vivo, ou ele pode ser clonado. Um receptor pode normalmente existir ou ele pode ser induzido por um estado patológico, por uma lesão, ou por meios artificiais. Um composto desta invenção pode

ligar-se de modo reversível, irreversível, competitivo, não competitivo ou incompetitivo em relação ao substrato natural de um sítio de reconhecimento.

O termo "região de transformação metabólica" destina-se a referir, duma maneira geral, à porção de uma lipoxina, um metabolito de lipoxina ou análogo de lipoxina incluindo um metabolito de análogo de lipoxina, sobre a qual uma enzima ou uma enzima e o seu cofactor tentam realizar uma ou mais transformações metabólicas que essa enzima ou enzima e cofactor normalmente transformam nas lipoxinas. A região de transformação metabólica pode ser, ou não, susceptível à transformação. De modo semelhante, tais regiões estão possivelmente localizadas em análogos de ATL e LXB₄. Um exemplo não restritivo de uma região de transformação metabólica de uma lipoxina é uma porção de LXA₄ que inclui a ligação dupla C-13,14 ou o grupo hidroxilo em C-15, ou ambos.

O termo "molécula com etiqueta detectável" destina-se a incluir moléculas fluorescentes, fosforescentes e marcadas radioactivamente utilizadas para traçar, rastrear ou identificar o composto ou sítio de reconhecimento do receptor ao qual a molécula com etiqueta detectável está ligada. A molécula marcada pode ser detectada por qualquer um dos vários métodos conhecidos na técnica.

O termo "análogo marcado" é ainda entendido como abrangendo compostos que estão marcados com isótopos radioactivos, tais como, mas não se limitando a, tritio (³H), deutério (²H), carbono (¹⁴C), ou marcados de outro modo (por exemplo fluorescentemente). Os compostos desta invenção podem ser marcados ou derivatizados, por exemplo, para experiências

de ligação cinética, para elucidar melhor os percursos metabólicos e mecanismos enzimáticos, ou para caracterização por métodos conhecidos na técnica de química analítica.

O termo "inibe o metabolismo" significa o bloqueio ou redução da actividade de uma enzima que metaboliza um eicosanóide nativo. O bloqueio ou redução pode ocorrer por ligação covalente, por ligação irreversível, por ligação reversível a qual tem um efeito prático de ligação irreversível, ou por quaisquer outros meios que impeçam a enzima de funcionar do seu modo habitual num outro análogo de lipoxina, incluindo um metabolito de análogo de lipoxina, uma lipoxina, ou um metabolito de lipoxina. De modo semelhante, isto também se aplica aos análogos de ATL e LXB₄.

O termo "resiste ao metabolismo" destina-se a incluir a incapacidade de sofrer uma ou mais das transformações metabólicas degradativas por pelo menos uma das enzimas que metabolizam lipoxinas, ATL ou análogos de LXB₄. Dois exemplos não restritivos de análogos de LXA₄ que resistem ao metabolismo são 1) uma estrutura que não pode ser oxidada à forma 15-oxo, e 2) uma estrutura que pode ser oxidada à forma 15-oxo, mas que não é susceptível à redução enzimática à forma 13,14-di-hidro.

O termo "sofre mais lentamente metabolismo" significa ter uma cinética de reacção mais lenta ou requerer mais tempo para concluir a série de transformações metabólicas por uma ou mais das enzimas que metabolizam a lipoxina, análogos de lipoxina, ATL ou análogos de LXB₄. Um exemplo não restritivo de um análogo de LXA₄ que sofre mais lentamente

metabolismo é uma estrutura que tem uma energia de estado de transição mais elevada para a desidrogenação e C-15 do que a LXA₄ porque o análogo está estereoquimicamente impedido no C-16.

O termo "tecido" destina-se a incluir células intactas, sangue, preparações de sangue tais como plasma e soro, ossos, articulações, músculos, músculos lisos e órgãos.

O termo "halogéneo" destina-se a incluir flúor, cloro, bromo e iodo, ou fluoro, cloro, bromo e iodo.

A invenção é ainda ilustrada pelos exemplos seguintes. Deverá entender-se que os modelos utilizados ao longo dos exemplos são modelos aceites e que a demonstração de eficácia nestes modelos é preditiva da eficácia em seres humanos.

Materiais e Métodos

Cultura de Células

Isolou-se células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) por digestão com 0,1 % de colagenase (Worthington Biochemical, Bedford, MA) e propagou-se em placas de cultura de tecidos revestidas com gelatina (0,1%) em meio 199 (Gibco BRL, Grand Island, NY) suplementado com 20% de soro fetal bovino termicamente inactivado (BioWhittaker, Walkersville, MD), 50 µg/mL de mitogénio de células endoteliais (Biomedical Technologies, Stoughton, MA), 8 U/mL de heparina (APP, Los Angeles, CA), 50 U/mL de penicilina e 15 µg/mL de estreptomicina. Apenas as passagens 2 e 3 foram utilizadas nas experiências descritas.

Proliferação de células endoteliais

Aplicou-se HUVEC (5×10^3) em placas de 96 poços revestidas com 0,1% de gelatina durante 1h à temperatura ambiente. Após 24 h, o meio foi retirado e substituído com meio 199 fresco suplementado com 5% de soro fetal bovino e concentrações diferentes de VEGF₁₆₅ humano recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN), LTD₄ ou LTB₄. Contou-se as células endoteliais após 72 h utilizando o ensaio de MTT® (Sigma, St. Louis, MO) (15). A ATL-1 foi preparada como em Clish et al. (13). A percentagem de inibição foi avaliada de um modo semelhante e incluiu uma incubação de 15 minutos (37 °C) com 15-epi-lipoxina A₄, éster metílico de 15-epi-16-(*para*-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1), LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-*R/S*-metil, LXA₄ antes da adição de agonistas. Todas as incubações foram realizadas em triplicado. Antes de cada experiência a integridade e concentração de ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-*R/S* -metil, LXA₄ foram avaliadas por métodos físicos incluindo LC/MS/MS e UV (13).

Migração de Células Endoteliais

Adicionou-se VEGF, ATL-1 ou veículo aos poços inferiores de uma câmara de quimiotaquia de 48 poços (NeuroProbe, Cabin John, MD). Os poços foram revestidos com um filtro de policarbonato com 10 μm de tamanho de poro revestido com 0,1% de gelatina. Aplicou-se HUVEC (1×10^6) nos poços superiores e a câmara foi incubada (37°C, 5% de CO₂ durante 12 h). Após as incubações, os filtros foram retirados, raspou-se as células da superfície superior, fixou-se e revelou-se com Diff-Quik (Dade Behring, Newark, DE). Contou-se as células que migraram através do filtro na direção da superfície inferior por microscopia óptica; contou-se quatro campos a uma ampliação elevada (100×). As

incubações foram realizadas em triplicado. Para avaliar a inibição, as células endoteliais foram suspensas em meios com veículo ou ATL-1 durante 15 min antes de se colocar na câmara.

Determinação Quantitativa da Fragmentação do ADN

A fragmentação do ADN em células apoptóticas individuais foi quantificada utilizando um imunoensaio enzimático fotométrico (Estojo de detecção de apoptose: R&D Systems). As HUVECs multiplicadas em placas microtípulo de 96 poços (5×10^3 células/poço) foram incubadas durante 3 dias, fixadas com formaldeído a 3,7%, e permeabilizadas com proteinase K antes da marcação. Incorpora-se nucleótidos biotinilados nos fragmentos de ADN e detecta-se utilizando o conjugado de estreptavidina-peroxidase de rábano-silvestre seguido do substrato TACS-Sapphire.

Angiogénesis inflamatória

A angiogénesis foi avaliada com bolsas de ar murídeas que foram criadas por injeção subcutânea de ar estéril (3 mL) por debaixo da pele dorsal de ratos anestesiados (BALB/c, machos, 6-8 semanas). Depois de 24 h, administrhou-se localmente ATL-1 (10 μ g/bolsa) ou veículo, imediatamente antes da injeção de VEGF (1 μ g/bolsa). O conteúdo vascular foi avaliado através da formação de moldes vasculares (como em 16). Resumidamente, os ratos foram anestesiados (às 144 h) e foi gerada uma vasodilatação periférica colocando os animais numa camisa aquecida (40 °C, 10 min). Foram formados moldes vasculares pela injeção i.v. de 1 mL de vermelho de carmina a 5% (Sigma) em solução de gelatina a 5% aquecida a 40 °C. Os revestimentos das bolsas de ar foram dissecados e pesados. O tecido foi então dissolvido

em 2 mL de solução de NaOH 3 N durante 0,5 h, 21 °C e completamente digerido em água quente (56 °C) durante 10 min. As amostras digeridas foram centrifugadas (2500 rpm, 15 min) e filtradas através de um filtro de 0,45 µm. O teor de corante foi quantificado utilizando um espectrofotómetro de placas de 96 poços a 530 nm utilizando uma curva de calibração. Os resultados são expressos como índice vascular (VI) em microgramas de corante carmina/miligrama de peso de tecido, para n = 4 animais/grupo. Para visualização da vasculatura, a superfície dorsal das bolsas foi retirada por excisão e fixada em formalina durante 48 h. Os tecidos foram desidratados com etanol a 100% (5 dias, 4 °C) e aclarados por imersão em óleo de cedro durante 2 semanas. Num outro conjunto de experiências, os ratos foram anestesiados e injetados i.v. com 200 µL de 0,05 g/mL de isotiocianato de fluoresceína-dextrano (Sigma) em PBS às 144 h imediatamente antes de sacrifício. Os revestimentos dissecados foram fixados, montados em lâminas de vidro e examinados em relação à fluorescência (Nikon Eclipse modelo E600). Em ambos os protocolos, os observadores não estavam cegos em relação aos tratamentos.

Imuno-histoquímica

Os tecidos membranares das bolsas de ar foram fixados em formalina tamponada a 10% dum dia para o outro e processados para tratamento com parafina. Utilizou-se secções de parafina de cinco micrómetros de tecido de membrana cortadas na superfície para imuno-histoquímica em relação à expressão de CD31. Resumidamente, fatias foram desparafinadas e pré-tratadas com tripsina a 0,25% (Sigma Chemical) durante 20 min a 37 °C, seguida de lavagem em água destilada. Todos os outros passos foram realizados à temperatura ambiente numa câmara hidratada. As fatias foram

pré-tratadas com Peroxidase Block (DAKO, Carpinteria, CA) durante 5 min para desactivar a actividade peroxidase endógena, seguida de uma diluição a 1:5 de soro de cabra em Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, durante 20 min para bloquear sítios de ligação não específicos. Aplicou-se anticorpo primário anti-CD31 murídeo de ratazana (BD PharMingen, San Diego, CA) a uma diluição a 1:100 em Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, com 3% de soro de cabra durante 1 h. Depois de lavar em Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, aplicou-se um anticorpo secundário anti-ratazana de coelho (DAKO) a uma diluição a 1:200 em Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, com soro de cabra a 3% durante 30 min. Lavou-se novamente as fatias em Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, e aplicou-se anticorpo anti-coelho de cabra conjugado com peroxidase de rábano-silvestre (Envision detection kit: DAKO) durante 30 min. Após outra lavagem, desenvolveu-se a revelação com imunoperoxidase utilizando um estojo cromogénio DAB (DAKO) de acordo com o fabricante e revelado com corante de contraste utilizando hematoxilina.

Análise Estatística

Os resultados são apresentados como médias \pm E.P.M.. A avaliação estatística dos resultados foi realizada por análise de variância e valores de $P < 0,05$ foram tomados como representando diferenças estatisticamente significativas entre médias de grupos.

Resultados e Discussão

O análogo estável lipoxina A₄ desencadeado pela aspirina (denotado ATL-1) demonstrou ser um inibidor potente da proliferação of HUVECs estimulada pelo VEGF (IC₅₀ de ~3 nM) (Figura 1). A inibição foi dependente da concentração atingindo um patamar máximo aos 10 nM e era parcialmente invertida (de 38,0 \pm 2,5 para 78,0 \pm 6,21 % da proliferação

estimulada pelo VEGF, $P < 0,05$) por incubação das células com genisteína, um inibidor da actividade tirosina-cinase (50 μ M, 5 min, 37 °C, n=3). Mesmo a concentrações elevadas (100 nM), o análogo de ATL-1 sozinho não tinha acções evidentes na proliferação das HUVEC (Figura 1, Gráfico inserido). Em contraste acentuado, os análogos estáveis de LXB₄ aumentaram a proliferação. Uma vez que estas são estruturas relacionadas, as acções separadas dos análogos de ATL e LXB₄ com estas células indicam que a resposta à ATL-1 é extremamente estereoselectiva. De igual modo, uma comparação directa de ATL-1 com LXA₄ nativo e 15-epi-LXA₄ em concentrações equimolares (10 nM) numa experiência representativa mostrou que ATL-1 > 15-epi-LXA₄ > LXA₄ por ordem de actividade (por exemplo, 63,3 ± 3,3, 59,8 ± 1,8 e 38,1 ± 2,0% de inibição, respectivamente). Após exposição das células a ATL-1, ~98% das HUVEC permanecem viáveis, como determinado pelo ensaio de exclusão de azul de tripano, indicando que o composto não era citotóxico. Além de ser um mitogénio específico para células endoteliais, o VEGF é também um factor de sobrevivência de células endoteliais, promovendo desse modo a angiogénesis não só pela estimulação da proliferação celular mas também pela inibição da apoptose de células endoteliais (17).

Para determinar se esta nova acção inibidora da ATL-1 na proliferação das HUVEC envolvia apoptose, quantificou-se fragmentos de ADN (sob Materiais e Métodos). Nem a ATL-1 (100 nM) sozinha nem em combinação com VEGF (3 ng/mL) afectaram o padrão de fragmentação do ADN (n = 2, d = 3), sugerindo que as acções antiproliferativas do análogo de ATL-1 não eram o resultado da indução de apoptose em células endoteliais. A ligação de integrinas αv pelas

células endoteliais é acompanhada de uma diminuição na actividade supressora de tumores pela p53 e da inibição de vias apoptóticas, facilitando desse modo a formação de novos vasos sanguíneos (18). Em conformidade com estas linhas, foi recentemente demonstrado que a p53 pode regular positivamente a actividade do promotor da 15-lipoxigenase humana, proporcionando a primeira ligação entre esta actividade da enzima e um gene supressor de tumores conhecido (19). Também de interesse, a expressão excessiva de 15-lipoxigenase aumenta a formação de LXA₄ endógena que, por sua vez, inibe a progressão de glomerulonefrite (20). As ATL e LXA₄ partilham sítios de acção que são específicos para o tipo de receptor celular e para o tecido, e em conjunto com os seus análogos estáveis apresentam acções anti-inflamatórias potentes (21, 23 e 14).

A migração de células endoteliais é um componente essencial do processo angiogénico, proporcionando um desenvolvimento capilar na direcção do estímulo angiogénico (3). Portanto, avaliou-se a migração endotelial com ATL. Adicionou-se VEGF (3 ng/mL) ao compartimento inferior de uma câmara de quimiotaxia e quantificou-se a migração de células através de um filtro de 10 μm de tamanho de poro revestido a gelatina (Figura 2). Os resultados na Figura 2B mostram que as ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ e 15-R/S-metil, LXA₄ (ATL-1 mostrada como representativa) originaram inibições dependentes da concentração da migração de HUVEC estimuladas pelo VEGF com um nível máximo de inibição (~45%) a 10 nM de ATL. Como observado com os ensaios de proliferação, a ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-R/S-metil, LXA₄ sozinha, mesmo a concentrações mais elevadas (100 nM), não induziu migração de células endoteliais (Figura 2A), observações que sugerem que a ATL, LXA₄, 15-epi-LXA₄ ou 15-

R/S-metil, LXA₄ desempenha um papel no bloqueio de etapas iniciais da migração de células para sítios de neovascularização.

Como o VEGF (Figura 1), a LTD₄ também estimulou a proliferação de HUVEC (42 ± 1,2%) com um máximo a 10 nM, semelhante à resposta obtida com o VEGF (52,7 ± 1,6%). Pelo contrário, a LTB₄ a 10 nM não originou uma resposta significativa com estas células (Figura 3B). A acção mitogénica da LTD₄ (10 nM) foi antagonizada por exposição das células à ATL-1 (0,1-100 nM) com uma IC₅₀ de ~ 3 nM (Figura 3A). A LTD₄ não aumentou nem inibiu a proliferação estimulada pelo VEGF.

As acções antiproliferativas de lipoxinas nativas foram observadas pela primeira vez com a linha de células de adenocarcinoma pulmonar humano (23) e recentemente com células mesangiais renais humanas (24). As actuais observações, em conjunto com os resultados em células endoteliais, chamam a atenção para o papel regulador potencial de ATL endógenas nas doenças proliferativas. As acções de LX, ATL e análogos estáveis são transduzidas por um receptor transmembranar de alta afinidade (ALXR) identificado em vários tipos de células (para uma revisão, ver Chiang et al. (25)). Nas células mesangiais, a LXA₄ interage com o seu próprio receptor de alta afinidade (isto é, ALXR) bem como com uma subclasse de receptores de péptido-leucotrienos (cysLT1), onde a LXA₄ é um agonista parcial (24). A este respeito, a LXA₄ e os seus análogos bioactivos estáveis deslocam eficazmente a ligação específica da [³H]LTD₄ às células endoteliais vasculares (26). De igual modo, observações recentes proporcionaram a primeira evidência de que a ATL antagoniza especificamente

a ligação específica da LTD₄ aos cysLT1 humanos recombinantes clonados a partir de células endoteliais, assim como actua em receptores específicos para LXA₄ (21). Uma vez que a ATL-1 demonstrou ser um inibidor potente da proliferação de HUVEC (Figuras 1, 2 e 3), determinou-se se a ATL afecta a angiogénesis *in vivo*.

Durante a inflamação crónica são necessários novos vasos não só para a manutenção da perfusão de tecido, mas também para permitir um tráfego celular aumentado (27). Portanto, para este fim a angiogénesis foi avaliada *in vivo* utilizando um modelo bem estabelecido de bolsa de ar granulomatosa crónica em murídeo e foi seleccionado o intervalo de tempo de 6 dias porque foi demonstrado que origina uma densidade vascular próxima da máxima (16). A ATL-1 injectada localmente (10 pg/bolsa) imediatamente antes da administração de VEGF (1 µg/bolsa) deu uma redução de - 48% no índice vascular (Figura 4A). Para comparação, a ATL-1 (10 µg/rato ou 0,4 mg/kg rato) demonstrou ser muito mais potente do que outros agentes antiangiogénicos descritos que requerem doses muito maiores, incluindo esteróides a 1-3 mg/kg (16), ou os inibidores de COX-2, os quais requerem 1-6 mg/kg (28).

A Figura 4B mostra moldes vasculares representativos de revestimentos típicos de bolsas de ar ao 6º dia. Nos ratos administrados com VEGF (Figura 4B, painel inferior esquerdo) existe uma neovasculatura estabelecida com um grau muito elevado de densidade vascular em comparação com capilares apenas ligeiramente dilatados nos animais tratados com ATL, onde existiu claramente uma densidade vascular reduzida (Figura 4B, painel inferior direito). Noutro conjunto de experiências, utilizou-se isotiocianato

de fluoresceína-dextrano para visualizar os vasos nesta região. Em contraste acentuado com as acções da ATL-1, quando se administrou LTB4, um outro produto do percurso da lipoxigenase, sozinha à mesma dose que a ATL-1 (10 μ g de LTB4/bolsa), a LTB4 estimulou a neovascularização (n = 2).

A Figura 5 mostra fotomicrografias dos revestimentos dorsais dissecados no dia 6. Mais uma vez foi demonstrada uma angiogénesis profunda com redes vasculares extensivas na bolsa tratada com VEGF (Figura 5, painel inferior esquerdo). Também aqui, o tratamento com ATL-1 (10 μ g/bolsa) deu uma redução acentuada da vasculatura induzida pelo VEGF, como exemplificado pela falta de capilares finos visíveis (Figura 5, painel inferior direito).

É importante assinalar que a ATL-1 a esta dose (10 μ g/rato i.v.) não provoca alterações evidentes na tensão arterial média, excluindo uma possível acção da ATL-1 ao nível da tonicidade vascular. Isto é particularmente digno de nota, a doses elevadas, a LXA₄ pode estimular a vasodilatação em determinados leitos vasculares. As actuais experiências in vivo foram realizadas em séries separadas para avaliar a histologia e a presença de um marcador vascular utilizando revelação imuno-histoquímica da bolsa de ar murídea com o marcador de células endoteliais vasculares CD31 (Figura 6).

A molécula de adesão de plaquetas/células endoteliais-1 (ou CD31) é um membro da superfamília de Ig que está fortemente expressado na junção endotelial célula-célula, está presente em plaquetas bem como em leucócitos e é declarada como desempenhando um papel na angiogénesis e na migração transendotelial de leucócitos. A revelação imuno-

histoquímica para a CD31 nas bolsas mostrou que, nos ratos tratados com VEGF, estava presente uma forte revelação específica de células endoteliais e identificava uma rede vascular saliente (Figura 6C). Ao contrário, observou-se uma diminuição acentuada de vasos em ratos tratados com VEGF que foram também tratados com o análogo de LXA₄ (Figura 6D). Os níveis de revelação ligeira não específica associada a estas bolsas de ar foram essencialmente idênticos aos de secções de bolsas de ar de ratos tratados com veículo sozinho (Figura 6A) ou com análogo de LX sozinho (Figura 6B), nomeadamente, a revelação ligeira não específica de células inflamatórias, predominantemente leucócitos e macrófagos, que se sabe estarem associados a estas bolsas de ar criadas na pele murídea. No seu conjunto, estas observações indicam que a ATL reduziu a angiogénese estimulada pelo VEGF *in vivo*, sugerindo que a LXA₄ e a 15-epi-LXA₄ podem regular estas acções *in vivo*.

Os resultados de muitos estudos clínicos e laboratoriais demonstraram efeitos protectores da aspirina em várias formas de cancro humano, incluindo cancro do pulmão, cólon e mama, apesar de não estar esclarecido o seu mecanismo antineoplásico potencial (ver Ref. 9). Julga-se que o ASA actua, em parte, via redução da angiogénese, o que poderia estar relacionado com a capacidade do ASA para inibir a biossíntese de prostanóides (7). Mais recentemente, observou-se que o ASA desencadeia um novo interruptor na biossíntese de eicosanóides já que a acetilação da COX-2 permite que a enzima produza 15R-HETE que é convertido em 15-epi-lipoxinas, também conhecidas como ATL, durante as interacções célula-célula *in vitro* e *in vivo* (11, 12, 14). As ATLs bem como os seus análogos bioactivos estáveis são inibidores potentes de vários eventos chave na inflamação

aguda, tal como quimiotaxia de PMN e transmigração através de células endoteliais e epiteliais, bem como na diapedese de vénulas pós-capilares (13, 14). Os análogos de ATL imitam as acções de ATL e LX endógenas e foram concebidos para resistir à inactivação enzimática rápida *in vivo*. Constatou-se também que os análogos bioactivos de 15-*epi*-LXA₄ se completam nos ALXR de leucócitos e no receptor cysLT1 presente nas células endoteliais vasculares. Além disso, estes novos mediadores desencadeados pela aspirina inibem a libertação de citocinas e podem actuar ao nível da transcrição do gene (29) para reorientar o eixo citocina-quimiocina local (30), acções que são ambas de interesse no processo angiogénico (3). Assinala-se que a maior parte, se não todos, os eicosanóides examinados até à data são pró-angiogénicos incluindo os leucotrienos (por exemplo, LTD₄ e LTB₄, ver o quadro seguinte e a Figura 3) (5, 6, 28). Tendo isto em consideração, foi surpreendente que a ATL-1, LXA₄, 15-*epi*-LXA₄ e 15-*R/S*-metil, LXA₄ possuíssem actividade antiangiogénica. Proliferação de HUVEC induzida pela LXB₄

Composto	Percentagem de Proliferação
14- <i>epi</i> -LXB ₄ 0,1 nM	15,5 ± 1,0
14- <i>epi</i> -LXB ₄ 1,0 nM	18,3 ± 1,6
14- <i>epi</i> -LXB ₄ 10 nM	27,0 ± 5,0
14- <i>epi</i> -LXB ₄ 100 nM	27,7 ± 1,3
15- <i>epi</i> -LXB ₄ 0,1 nM	20,1 ± 1,2
15- <i>epi</i> -LXB ₄ 1,0 nM	26,1 ± 2,8
15- <i>epi</i> -LXB ₄ 10 nM	34,0 ± 2,5
15- <i>epi</i> -LXB ₄ 100 nM	35,2 ± 5,2
15- <i>epi</i> -LXB ₄ -acetilénica 0,1 nM	18,7 ± 1,6
15- <i>epi</i> -LXB ₄ -acetilénica 1,0 nM	23,7 ± 0,4
15- <i>epi</i> -LXB ₄ -acetilénica 10 nM	36,4 ± 3,7
15- <i>epi</i> -LXB ₄ -acetilénica 100 nM	37,4 ± 5,3
Proliferação induzida pelo VEGF:	50,4 ± 4,0

Em resumo, estes resultados demonstram que uma lipoxina desencadeada pela aspirina, análogo 15-*epi*-LXA₄, é um inibidor potente da angiogénese e da proliferação de

células endoteliais *in vivo*. No seu conjunto, estes resultados revelam uma acção nova das 15-epi-lipoxinas e sugerem um papel para o circuito de lipoxinas desencadeadas pela aspirina (14) como um mecanismo potencial que pode contribuir para as propriedades antiangiogénicas e anti-inflamatórias reconhecidas da aspirina (2, 7, 10). Com uma compreensão cada vez mais crescente do papel fundamental da angiogénese dentro de uma gama lata de processos fisiológicos e patológicos (1-3), a modulação do crescimento vascular poderia ser uma acção estratégica anteriormente não reconhecida e importante para a ATL, o mimético endógeno natural da lipoxina e seus análogos sintéticos.

Referências

1. Folkman, J., and Y. Shing. 1992. Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 267:10931-10934.
2. Folkman, J. 1995. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Med.* 1:27-31.
3. Arenberg, D.A., and R.M. Strieter. 1999. Angiogenesis. In *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. J.I. Gallin and R. Snyderman, editors. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 851-864.
4. Höper, M.M., N.F. Voelkel, T.O. Bates, J.D. Allard, M. Horan, D. Shepherd, and R.M. Tuder. 1997. Prostaglandins induce vascular endothelial growth factor in a human monocytic cell line and rat lungs via cAMP. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 17:748-756.

5. Nie, D., K. Tang, C. Diglio, and K.V. Honn. 2000. Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. *Hemost. Thromb. Vasc. Biol.* 95:2304-2311.
6. Stoltz, R.A., N.G. Abraham, and M.L. Schwartzman. 1996. The role of NF- κ B in the angiogenic response of coronary microvessel endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:2832-2837.
7. Hla, T., A. Ristimäki, S. Appleby, and J.G. Barriocanal. 1993. Cyclooxygenase gene expression in inflammation and angiogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 696:197-204.
8. Jones, M.K., H. Wang, B.M. Peskar, E. Levin, R.M. Itani, I.J. Sarfeh, and A.S. Tarnawski. 1999. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nature Med.* 5:1418-1423.
9. Marcus, A.J. 1995. Aspirin as prophylaxis against colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 333, no. Sept. 7:656-658.
10. Vane, J. 2000. Aspirin and other anti-inflammatory drugs. *Thorax* 55 (Suppl. 2):S3.
11. Clària, J., and C.N. Serhan. 1995. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, no. 21:9475-9479.

12. Chiang, N., T. Takano, C.B. Clish, N.A. Petasis, H.-H. Tai, and C.N. Serhan. 1998. Aspirin-triggered 15-epilipoxin A4 (ATL) generation by human leukocytes and murine peritonitis exudates: Development of a specific 15-epi-LXA4 ELISA. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 287:779-790.
13. Clish, C.B., J.A. O'Brien, K. Gronert, G.L. Stahl, N.A. Petasis, and C.N. Serhan. 1999. Local and systemic delivery of a stable aspirin-triggered lipoxin prevents neutrophil recruitment in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 8247-8252.
14. Serhan, C.N. 1997. Lipoxins and novel aspirin-triggered 15-epi-lipoxins (ATL): a jungle of cell-cell interactions or a therapeutic opportunity? *Prostaglandins* 53:107-137.
15. Marshall, N.J., C.J. Goodwin, and S.J. Holt. 1995. A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth Regulation* 5:69-84.
16. Colville-Nash, P.R., C.A.S. Alam, I. Appleton, J.R. Brown, M.P. Seed, and D.A. Willoughby. 1995. The pharmacological modulation of angiogenesis in chronic granulomatous inflammation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274: 1463-1472.
17. Gupta, K., S. Kshirsagar, W. Li, L. Gui, S. Ramakrishnan, P. Gupta, P.Y. Law, and R.P. Hebbel. 1999. VEGF prevents apoptosis of human microvascular endothelial cells via opposing effects on MAPK/ERK and SAPK/JNK signaling. *Exp. Cell Res.* 247:495-504.

18. Eliceiri, B.P., and D.A. Cheresh. 1999. The role of av integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of action and clinical development. *J. Clin. Invest.* 103:1227-1230.
19. Kelavkar, U.P., and K.F. Badr. 1999. Effects of mutant p53 expression on human 15-lipoxygenase-promoter activity and murine 12/15-lipoxygenase gene expression: Evidence that 15-lipoxygenase is a mutator gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:4378-4383.
20. Munger, K.A., A. Montero, M. Fukunaga, S. Uda, T. Yura, E. Imai, Y. Kaneda, J.M. Valdivielso, and K.F. Badr. 1999. Transfection of rat kidney with human 15-lipoxygenase suppresses inflammation and preserves function in experimental glomerulonephritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:13375-13380.
21. Gronert, K., T. Martinsson-Niskanen, S. Ravasi, N. Chiang, and C.N. Serhan. 2001. Selectivity of recombinant human leukotriene D4, leukotriene B4, and lipoxin A4 receptors with aspirin-triggered 15-epi-LXA4 and regulation of vascular and inflammatory responses. *Am. J. Pathol.* 158:3-9.
22. Sodin-Semrl, S., B. Taddeo, D. Tseng, J. Varga, and S. Fiore. 2000. Lipoxin A4 inhibits IL-1 beta-induced IL-6, IL-8, and matrix metalloproteinase-3 production in human synovial fibroblasts and enhances synthesis of tissue inhibitors of metalloproteinases. *J. Immunol.* 164:2660-2666.

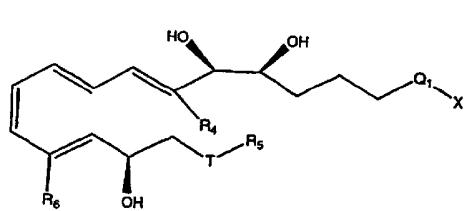
23. Clària, J., M.H. Lee, and C.N. Serhan. 1996. Aspirin-triggered lipoxins (15-epi-LX) are generated by the human lung adenocarcinoma cell line (A549)-neutrophil interactions and are potent inhibitors of cell proliferation. *Molecular Medicine* 2:583-596.
24. McMahon, B., C. Stenson, F. McPhillips, A. Fanning, H.R. Brady, and C. Godson. 2000. Lipoxin A4 antagonizes the mitogenic effects of leukotriene D4 in human renal mesangial cells: Differential activation of MAP kinases through distinct receptors. *J. Biol. Chem.* 275:27566-27575.
25. Chiang, N., K. Gronert, F.-H. Qiu, and C.N. Serhan. 2000. Lipoxin A4 receptor. In *Cytokine Reference*. J.J. Oppenheim, M. Feldmann, S.K. Durum, T. Hirano, J. Vilcek and N.A. Nicola, editors. Academic Press, London. 2219-2233.
26. Takano, T., S. Fiore, J.F. Maddox, H.R. Brady, N.A. Petasis, and C.N. Serhan. 1997. Aspirin-triggered 15-epilipoxin A4 and LXA4 stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for anti-inflammatory receptors. *J. Exp. Med.* 185:1693-1704.
27. Cotran, R.S., V. Kumar, and T. Collins, editors. 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia.
28. Masferrer, J.L., A. Koki, and K. Seibert. 1999. COX-2 inhibitors: a new class of antiangiogenic agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 889:84-86.

29. Gewirtz, A.T., B. McCormick, A.S. Neish, N.A. Petasis, K. Gronert, C.N. Serhan, and J.L. Madara. 1998. Pathogen-induced chemokine secretion from model intestinal epithelium is inhibited by lipoxin A4 analogs. *J. Clin. Invest.* 101:1860-1869.
30. Hachicha, M., M. Pouliot, N.A. Petasis, and C.N. Serhan. 1999. Lipoxin (LX)A4 and aspirin-triggered 15-epi-LXA4 inhibit tumor necrosis factor 1a-initiated neutrophil responses and trafficking: regulators of a cytokine-chemokine axis. *J. Exp. Med.* 189:1923-1929.

Lisboa, 30 de Dezembro de 2008

REIVINDICAÇÕES

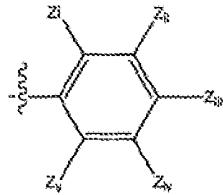
1. Utilização de um composto de lipoxina no fabrico de um medicamento para a prevenção ou tratamento de doença neovascular ocular, artrite reumatóide, osteoartrite, hemangioma, estado(s) patológico(s) associados a cancro(s), colite ulcerosa, doença de Chron, doença de Osler-Weber-Rendu e telangiectasia hemorrágica hereditária através da inibição, prevenção ou redução da angiogénese, possuindo o composto de lipoxina a fórmula



em que X é R_1 , OR_1 ou SR_1 ;

em que R_1 é

- (i) um átomo de hidrogénio;
- (ii) um alquilo de 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;
- (iii) um cicloalquilo de 3 até 10 átomos de carbono;
- (iv) um aralquilo de 7 até 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo substituído



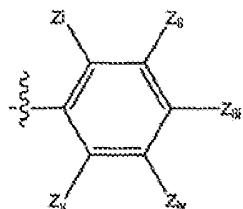
em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo;
 (vii) uma molécula com etiqueta detectável; ou
 (viii) um alcenilo de 2 até 8 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificada;

em que Q_1 é $(\text{C}=\text{O})$, SO_2 ou (CN) , na condição de que quando Q_1 é CN , então X esteja ausente;
 em que R_4 é

(a) H ;

(b) um alquilo de 1 até 6 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado;

em que R_5 é

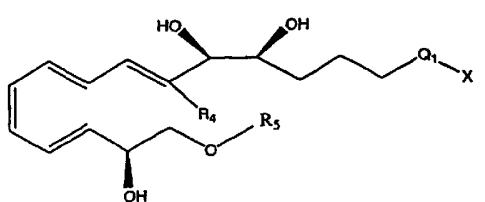


em que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} e Z_v são, cada um, independentemente seleccionados de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, um átomo de hidrogénio, halogéneo, metilo, $-\text{OR}_x$, em que R_x é 1 até 8 átomos de carbono, inclusive, o qual pode ser de cadeia linear ou ramificado, e hidroxilo ou um grupo alquilo ramificado ou não ramificado, substituído ou não substituído; em que R_6 é

- (a) H;
- (b) um alquilo de 1 até 4 átomos de carbono, inclusive, de cadeia linear ou ramificado;

em que T é O ou S, e seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

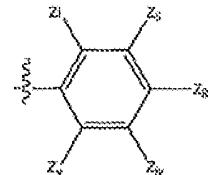
2. Utilização da reivindicação 1, em que o composto de lipoxina tem a fórmula



em que R_4 , R_5 , Q_1 e X são como definidos na reivindicação 1.

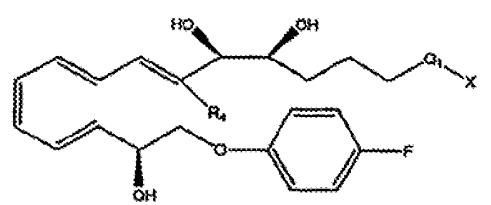
3. Utilização da reivindicação 1 ou 2, em que X é OR_1 em que R_1 é um átomo de hidrogénio, um grupo alquilo de 1 até 4 átomos de carbono ou um sal farmaceuticamente aceitável, Q_1 é $\text{C}=\text{O}$, R_2 e R_3 , se presentes, são átomos de hidrogénio, R_4 é um átomo de hidrogénio ou metilo, Q_3 e Q_4 , se presentes, são ambos O, R_6 , se presente, é

um átomo de hidrogénio, Y_1 , se presente, é OH, T é O e R_5 é um fenilo substituído



em que Z_1 , Z_{2i} , Z_{3ii} , Z_{4iv} e Z_5 são definidos na reivindicação 1.

4. Utilização da reivindicação 1, em que o composto de lipoxina tem a fórmula



em que R_4 , Q_1 e X são como definidos na reivindicação 1.

5. Utilização da reivindicação 4, em que Q_1 é um carbonilo, X é um hidroxilo ou um -OR, em que R é um grupo alquilo, isto é, grupos metilo ou etilo, e R_4 é um átomo de hidrogénio.