

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

(51) Classificação Internacional:

C07D 493/20 (2011.01) **C07D 497/20** (2011.01)
C07D 487/20 (2011.01) **C07D 471/20** (2011.01)
C07D 491/20 (2011.01) **C07D 498/20** (2011.01)
C07C 13/72 (2011.01) **A61K 31/02** (2011.01)
A61P 31/04 (2011.01) **A61K 31/352** (2011.01)
A61P 33/02 (2011.01)

(22) Data de pedido: **2006.12.22**

(30) Prioridade(s): **2005.12.23 AU 2005907277**

(43) Data de publicação do pedido: **2008.09.24**

(45) Data e BPI da concessão: **2012.03.14**
118/2012

(73) Titular(es):

ECOBOTICS LIMITED
7 PENDA STREET YUNGABURRA QLD 4884 AU

(72) Inventor(es):

PAUL WARREN REDDELL AU
VICTORIA ANNE GORDON AU

(74) Mandatário:

LUÍS MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **ESPIROCETAIS**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO PRESENTE DIZ RESPEITO A ESPIROCETAIS, QUE SÃO COMPOSTOS ÚTEIS PARA TRATAR OU PARA EVITAR INFECÇÕES POR PROTOZOÁRIOS, INFECÇÕES POR PARASITAS, INFECÇÕES BACTERIANAS, PATOLOGIAS PROLIFERATIVAS DAS CÉLULAS E PATOLOGIAS ANTI INFLAMATÓRIAS. OS COMPOSTOS ESPIROCETAIS TAMBÉM SÃO ÚTEIS A TÍTULO DE AGENTES IMUNOSSUPRESSORES, E TAMBÉM EM MÉTODOS DE CONTROLO DAS PESTES.

RESUMO

"ESPIROCETAIS"

A invenção presente diz respeito a espirocetais, que são compostos úteis para tratar ou para evitar infecções por protozoários, infecções por parasitas, infecções bacterianas, patologias proliferativas das células e patologias anti inflamatórias. Os compostos espirocetais também são úteis a título de agentes imunossuppressores, e também em métodos de controlo das pestes.

DESCRIÇÃO

"ESPIROCETAIS"

DOMÍNIO DA INVENÇÃO

Esta invenção diz respeito a moléculas biologicamente activas. Mais especificamente, esta invenção diz respeito a espirocetais com benefício terapêutico potencial e/ou à sua utilização a título de produtos farmacêuticos ou agro-químicos.

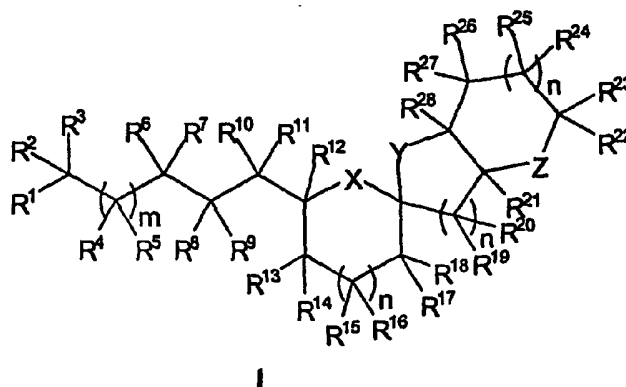
ESTADO DA TÉCNICA

As descobertas biológicas integram um domínio em crescimento, no qual se investigam e se despistam produtos naturais com actividade biológica a partir de ambientes naturais, incluindo plantas, micro-organismos, corais e outras formas de vida marinhas. Na pesquisa de produtos naturais com actividade biológica, despistam-se em materiais biológicos moléculas que tenham propriedades que possam ter utilidade terapêutica e potencial de utilização numa gama de tratamentos, por exemplo tratamentos para o cancro, tratamentos contra protozoários, tratamentos contra parasitas, tratamentos antifúngicos, tratamentos antibióticos e tratamento anti-inflamatórios, ou que apresentem actividade como pesticidas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A invenção presente provém de se ter verificado a existência de novos derivados de espirocetal que têm potencialmente novas utilizações terapêuticas na qualidade de agentes citotóxicos, agentes antiprotozoários, agentes antiparasíticos, agentes antibióticos e agentes anti-inflamatórios ou agentes imunossuppressores, ou apresentam potencial como agentes pesticidas, para utilizações farmacêuticas ou em agricultura.

Um aspecto da invenção proporciona compostos com a fórmula (I)



na qual:

X, Y e Z sejam seleccionados independentemente de entre -S-, -O-, -NH-, -N(alquilo C₁-C₆), e -C(R)₂;

n seja 1 a 10;

m seja 1 a 16;

R^1 a R^{28} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilaquilo, heterociclilalquilo, alcoxi-alquilo, halo, -CN, NO_2 , -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, $-CO_2R$, -OR, -SR $-N(R)_2$, NROR, $-ON(R)_2$, -SOR, $-SO_2R$, $-SO_3R$, $-SON(R)_2$, $-SO_2N(R)_2$, $-SO_3N(R)_2$, $-P(R)_3$, $-P(O)(R)_3$, $-Si(R)_3$, $-B(R)_2$, $-C(W)R$ e $-WC(W)R$;

R seja seleccionado de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilaquilo, heterociclilalquilo, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} e -trihaloalquilo C_1-C_{10} ;

ou

um ou mais de entre R^1 (ou R^2 ou R^3) esteja ligado a R^4 (ou R^5), R^4 (ou R^5) esteja ligado a R^6 (ou R^7), R^6 (ou R^7) esteja ligado a R^8 (ou R^9), R^8 (ou R^9) esteja ligado a R^{10} (ou R^{11}), R^{10} (ou R^{11}) esteja ligado a R^{12} , R^{12} esteja ligado a R^{13} (ou R^{14}), R^{13} (ou R^{14}) esteja ligado a R^{15} (ou R^{16}), R^{15} (ou R^{16}) esteja ligado a R^{17} (ou R^{18}), R^{19} (ou R^{20}) esteja ligado a R^{21} , R^{22} (ou R^{23}) esteja ligado a R^{24} (ou R^{25}), R^{26} (ou R^{27}) esteja

ligado a R^{28} para formar um anel C_1-C_8 dissustituído (fundido) saturado ou insaturado carbocíclico ou heterocíclico, anéis esses que também possam ter substituintes R , $-(C=W)R$ e $-W(C=W)R$;

um ou mais de entre R^1 (ou R^2 ou R^3) esteja ligado a R^4 (ou R^5), R^4 (ou R^5) esteja ligado a R^6 (ou R^7), R^6 (ou R^7) esteja ligado a R^8 (ou R^9), R^8 (ou R^9) esteja ligado a R^{10} (ou R^{11}), R^{10} (ou R^{11}) esteja ligado a R^{12} , R^{12} esteja ligado a R^{13} (ou R^{14}), R^{13} (ou R^{14}) esteja ligado a R^{15} (ou R^{16}), R^{15} (ou R^{16}) esteja ligado a R^{17} (ou R^{18}), R^{19} (ou R^{20}) esteja ligado a R^{21} , R^{22} (ou R^{23}) esteja ligado a R^{24} (ou R^{25}), R^{26} (ou R^{27}) esteja ligado a R^{28} de modo a formarem uma ligação dupla, um epóxido ou um tioepóxido;

um ou mais de entre R^1 e R^2 (ou R^1 e R^3) (ou R^2 e R^3), R^4 e R^5 , R^6 e R^7 , R^8 e R^9 , R^{10} e R^{11} , R^{13} e R^{14} , R^{15} e R^{16} , R^{17} e R^{18} , R^{19} e R^{20} , R^{22} e R^{23} , R^{24} e R^{25} , R^{24} (ou R^{25}) esteja ligado a R^{26} (ou R^{27}), R^{26} e R^{27} formem uma ligação dupla com W , e W seja seleccionado de entre enxofre, oxigénio, NH ou N (alquilo C_1-C_6);

um ou mais de entre R^1 e R^2 (ou R^3) se ligue a R^4 e R^5 , R^4 e R^5 se liguem a R^6 e R^7 , R^6 e R^7 se liguem a R^8 e R^9 , R^8 e R^9 se liguem a R^{10} e R^{11} de modo a formarem uma ligação tripla;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, em agricultura ou como pesticida.

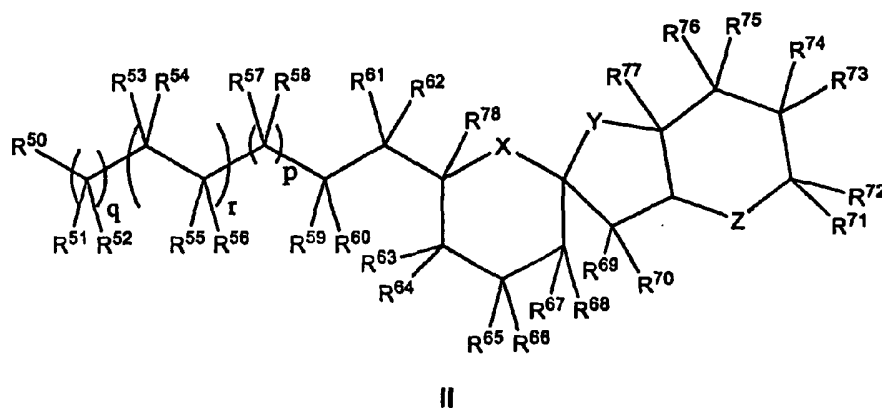
Em algumas concretizações, nas quais um ou mais de entre R^1 a R^{28} seja um alcenilo C_2-C_{20} , um ou mais de entre R^1 a R^{28} possam também incluir um grupo arilo ou heteroarilo.

Em algumas concretizações, nas quais um ou mais de entre R^1 a R^{28} seja um alcenilo C_2-C_{20} , as unidades alcenilo possam ser singelas ou múltiplas.

Noutras concretizações ainda, nas quais um ou mais de entre R^1 a R^{28} seja um alcenilo C_2-C_{20} , um ou mais de entre R^1 a R^{28} possam também incluir um grupo arilo ou heteroarilo.

Noutras concretizações ainda, nas quais um ou mais de entre R^1 a R^{28} seja um alcenilo C_2-C_{20} , as unidades alcenilo possam ser singelas ou múltiplas.

Numa concretização, o composto com a fórmula (I) seja um composto com a fórmula (II):



na qual

X, Y e Z sejam seleccionados independentemente de entre -O-, -S-, -NH-, -N(alquilo C₁-C₆)- e -CH₂-;

R⁵⁰ seja seleccionado de entre -CH₃, -cicloalquilo C₃-C₈, arilo, heterociclilo e heteroarilo;

R⁵¹, R⁵², R⁵⁷, R⁵⁸, R⁶¹, R⁶², R⁶⁷, R⁶⁸, R⁶⁹ e R⁷⁰ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R -OR, -SR, -N(R)₂, NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e WC(W)R;

R⁵³ a R⁵⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁵⁴ e R⁵⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R⁵³ e R⁵⁴ ou R⁵⁵ e R⁵⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁵⁹ e R⁶⁰ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄,

-heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁵⁹ e R⁶⁰ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁶³ e R⁶⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁶⁴ e R⁶⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R⁶³ e R⁶⁴ ou R⁶⁵ e R⁶⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁷¹ e R⁷² sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e

-WC(W)R; ou R^{71} e R^{72} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{73} e R^{76} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R^{74} e R^{75} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R^{73} e R^{74} ou R^{75} e R^{76} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{77} e R^{78} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{10} , -alcenilo C_2-C_{10} e -alcinilo C_2-C_{10} ;

W seja seleccionado de entre -O-, -S-, -NH- e -N(alquilo C_1-C_6)-;

R seja seleccionado de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} e -trihaloalquilo;

p e q sejam independentemente 0 ou 1; e

r seja um inteiro de 1 a 8;

em que os diversos grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo e heteroarilo sejam opcionalmente substituídos;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, em agricultura ou como pesticida.

Em algumas concretizações da fórmula II,

X, Y e Z sejam seleccionados independentemente de entre -O- e -S-;

R^{50} seja seleccionado de entre -CH₃, -cicloalquilo C₃-C₈, arilo, heterociclilo e heteroarilo;

R^{51} , R^{52} , R^{57} , R^{58} , R^{61} , R^{62} , R^{67} , R^{68} , R^{69} e R^{70} sejam seleccionados independentemente de entre sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R;

R^{53} a R^{56} sejam seleccionados independentemente de entre sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃,

$-P(O)(R)_3$, $-OSi(R)_3$, $-OB(R)_2$, $-C(W)R$ e $-WC(W)R$; ou R^{54} e R^{55} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou $-O-$;

R^{39} seja hidrogénio e R^{60} seja seleccionado de entre $-OH$, $-O$ -alquilo C_1-C_{10} , $-O$ -alcenilo C_2-C_{10} , $-O$ -cicloalquilo, $-O$ -arilo, $-O$ -heterociclilo, $-O$ -heteroarilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -cicloalquilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -arilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -heterociclilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -heteroarilo e $-OC(O)R$; ou R^{59} e R^{60} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{63} e R^{64} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, $-alquilo$ C_1-C_{20} , $-alcenilo$ C_2-C_{20} , $-alcinilo$ C_2-C_{20} , $-cicloalquilo$ C_3-C_8 , $-arilo$ C_6-C_{14} , $-heteroarilo$ C_5-C_{14} , $-heterociclilo$ C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, $-CN$, $-NO_2$, $-haloalquilo$ C_1-C_{10} , $-dihaloalquilo$ C_1-C_{10} , $-trihaloalquilo$ C_1-C_{10} , $-COR$, $-CO_2R$, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-NROR$, $-ON(R)_2$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_3R$, $-SON(R)_2$, $-SO_2N(R)_2$, $-SO_3N(R)_2$, $-P(R)_3$, $-P(O)(R)_3$, $-OSi(R)_3$, $-OB(R)_2$, $-C(W)R$ e $-WC(W)R$;

R^{65} seja hidrogénio e R^{66} seja seleccionado de entre $-OH$, $-O$ -alquilo C_1-C_{10} , $-O$ -alcenilo C_2-C_{10} , $-O$ -cicloalquilo, $-O$ -arilo, $-O$ -heterociclilo, $-O$ -heteroarilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -cicloalquilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -arilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -heterociclilo, $-O$ -alquil C_1-C_{10} -heteroarilo e $-OC(O)R$; ou R^{65} e R^{66} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; ou R^{64} e R^{65} tomados em conjunto formem uma ligação dupla;

R^{71} seja hidrogénio e R^{72} seja seleccionado de entre $-OH$, $-O$ -alquilo C_1-C_{10} , $-O$ -alcenilo C_2-C_{10} , $-O$ -

cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁷¹ e R⁷² tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁷³ a R⁷⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁷⁴ e R⁷⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou -O-;

R⁷⁷ e R⁷⁸ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio e -alquilo C₁-C₁₀;

W seja seleccionado de entre -O-, -S-, -NH- e -N(alquilo C₁-C₆)-;

R seja seleccionado de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀ e -trihaloalquilo C₁-C₁₀;

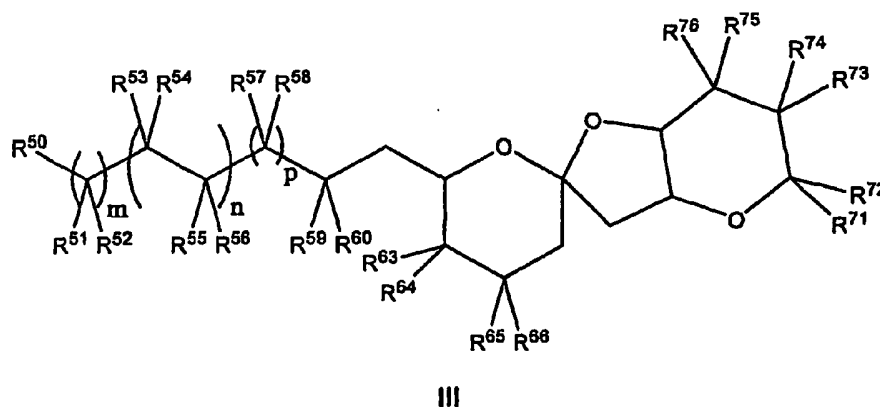
p e q sejam 0 ou 1; e

r seja um inteiro de 1 a 8;

em que os diversos grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo e heteroarilo sejam opcionalmente substituídos;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, da agricultura ou como pesticida.

Em algumas concretizações, o composto com a fórmula I é um composto com a fórmula III:



na qual:

R^{50} seja seleccionado de entre $-CH_3$,
-cicloalquilo C_3-C_8 , arilo, heterociclilo e heteroarilo;

R^{51} , R^{52} , R^{57} e R^{58} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} ,
-cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, $-CN$, $-NO_2$, -haloalquilo

C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(O)R e -OC(O)R;

R⁵³ a R⁵⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(O)R e -OC(O)R; ou R⁵⁴ e R⁵⁵, tomados em conjunto, formem uma ligação dupla ou -O-;

R⁵⁹ seja hidrogénio e R⁶⁰ seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀, -O-alcenilo C₂-C₁₀, -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁵⁹ e R⁶⁰ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁶³ e R⁶⁴ sejam hidrogénio;

R⁶⁵ seja hidrogénio e R⁶⁶ seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀,

-O-alcenilo C₂-C₁₀, -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁶⁵ e R⁶⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; ou R⁶⁴ e R⁶⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla; R⁷¹ seja hidrogénio e R⁷² seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀, -O-alcenilo C₂-C₁₀, -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁷¹ e R⁷² tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; R⁷³ a R⁷⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁷⁴ e R⁷⁵, tomados em conjunto, formem uma ligação dupla ou -O-;

R seja seleccionado de entre hidrogénio,
-alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} ,
-cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -
heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} ,
arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclil-
alquilo, -haloalquilo C_1-C_{10} ,
-dihaloalquilo C_1-C_{10} e -trihaloalquilo C_1-C_{10} ;
p e q sejam 0 ou 1; e
r seja um inteiro de 1 a 8;

em que os diversos grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo e heteroarilo sejam opcionalmente substituídos;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para agricultura ou como pesticida.

Nas concretizações preferidas dos compostos com a fórmula II, aplica-se uma ou mais das seguintes especificações:

X, Y e Z sejam independentemente oxigénio ou enxofre; em particular oxigénio;

R^{50} seja $-CH_3$, arilo, heterociclilo ou heteroarilo, em particular $-CH_3$, fenilo ou heteroarilo, mais particularmente $-CH_3$, fenilo ou benzodioxolano;

R^{51} , R^{52} , R^{57} e R^{58} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo

C₁-C₆, -alcenilo C₂-C₆, -alcinilo C₂-C₆,
-cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo
C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, halo, -CN, -NO₂,
-haloalquilo C₁-C₆, -dihaloalquilo C₁-C₆,
-trihaloalquilo C₁-C₆, -CO-alquilo C₁-C₆, -CO₂H,
-CO₂-alquilo C₁-C₆, -OH, -O-alquilo C₁-C₆, -SH,
-S-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH-alquilo C₁-C₆,
-N(alquilo C₁-C₆)₂ e -OC(O)-alquilo C₁-C₆; em
particular hidrogénio, alquilo C₁-C₆, -CO-
alquilo C₁-C₆, -CO₂H, CO₂-alquilo C₁-C₆, -OH,
-O-alquilo C₁-C₆ e -OC(O)-alquilo C₁-C₆; e em
particular hidrogénio;

R⁵³ a R⁵⁶ sejam seleccionados independentemente
de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₆, -alcenilo
C₂-C₆, -alcinilo C₂-C₆, -cicloalquilo C₃-C₈,
-arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄,
-heterociclilo C₃-C₁₄, halo, -CN, -NO₂,
-haloalquilo C₁-C₆, -dihaloalquilo C₁-C₆,
-trihaloalquilo C₁-C₆, -CO-alquilo C₁-C₆, -CO₂H,
-CO₂-alquilo C₁-C₆, -OH, -O-alquilo C₁-C₆, -SH,
-S-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH-alquilo C₁-C₆,
-N(alquilo C₁-C₆)₂ e -OC(O)-alquilo C₁-C₆; ou R⁵⁴
e R⁵⁵ tomados em conjunto formem uma ligação
dupla ou -O-; em particular hidrogénio,
-alquilo C₁-C₆, -CO-alquilo C₁-C₆, -CO₂H, -CO₂-
alquilo C₁-C₆, -OH, -O-alquilo C₁-C₆ e -OC(O)-
alquilo C₁-C₆ ou R⁵⁴ e R⁵⁵ tomados em conjunto
formem uma ligação dupla ou -O-; e em

particular hidrogénio ou R^{54} e R^{55} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou -O-;

R^{59} seja hidrogénio e R^{60} seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C_1-C_{10} , -O-alcenilo C_2-C_{10} , -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C_1-C_{10} -cicloalquilo, -O-alquil C_1-C_{10} -arilo, -O-alquil C_1-C_{10} -heterociclilo, -O-alquil C_1-C_{10} -heteroarilo e -OC(O)R; ou R^{59} e R^{60} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; em particular quando R^{60} seja -OH, -O-alquilo C_1-C_{10} e -OC(O)-alquilo C_1-C_{10} ; ou R^{59} e R^{60} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{61} , R^{62} , R^{67} , R^{68} , R^6 e R^{70} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_6 , -alcenilo C_2-C_6 , -alcinilo C_2-C_6 , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_6 , -dihaloalquilo C_1-C_6 , -trihaloalquilo C_1-C_6 , -CO-alquilo C_1-C_6 , -CO₂H, -CO₂-alquilo C_1-C_6 , -OH, -O-alquilo C_1-C_6 , -SH, -S-alquilo C_1-C_6 , -NH₂, -NH-alquilo C_1-C_6 , -N(alquilo C_1-C_6)₂ e -OC(O)-alquilo C_1-C_6 ; em particular hidrogénio, -alquilo C_1-C_3 , -OH, -O-alquilo C_1-C_6 e -CO-alquilo C_1-C_6 ; e mais em particular hidrogénio;

R^{63} e R^{64} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_6 , -alcenilo C_2-C_6 , -alcinilo C_2-C_6 , -cicloalquilo C_3-C_8 ,

-arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄,
-heterociclilo C₃-C₁₄, halo, -CN, -NO₂,
-haloalquilo C₁-C₆, -dihaloalquilo C₁-C₆,
-trihaloalquilo C₁-C₆, -CO-alquilo C₁-C₆, -CO₂H,
-CO₂-alquilo C₁-C₆, -OH, -O-alquilo C₁-C₆, -SH,
-S-alquilo C₁-C₆, -NH₂, -NH-alquilo C₁-C₆,
-N(alquilo C₁-C₆)₂ e -OC(O)-alquilo C₁-C₆; em particular hidrogénio, -alquilo C₁-C₃, -OH, -O-alquilo C₁-C₆ e -OC(O)-alquilo C₁-C₆; mais em especial hidrogénio;

R⁶⁵ seja hidrogénio e R⁶⁶ seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀, -O-alcenilo C₂-C₁₀, -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁵⁹ e R⁶⁰ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; em particular quando R⁶⁰ seja -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀ e -O-C(O)-alquilo C₁-C₁₀; ou R⁵⁹ e R⁶⁰ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

ou R⁶⁴ e R⁶⁵ formem uma ligação dupla ou -O-; em particular uma ligação dupla;

R⁷¹ seja hidrogénio e R⁷² seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀, -O-alcenilo C₂-C₁₀, -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e

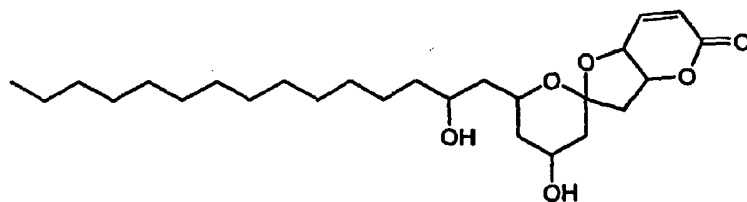
-OC(O)R; ou R^{71} e R^{72} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; em particular quando R^{72} for -OH, -O-alquilo C_1-C_{10} e -OC(O)-alquilo C_1-C_{10} ; ou R^{71} e R^{72} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{73} , R^{74} , R^{75} e R^{76} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_6 , -alcenilo C_2-C_6 , -alcinilo C_2-C_6 , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_6 , -dihaloalquilo C_1-C_6 , -trihaloalquilo C_1-C_6 , -CO-alquilo C_1-C_6 , -CO₂H, -CO₂-alquilo C_1-C_6 , -OH, -O-alquilo C_1-C_6 , -SH, -S-alquilo C_1-C_6 , -NH₂, -NH-alquilo C_1-C_6 , N(alquilo C_1-C_6)₂ e -OC(O)-alquilo C_1-C_6 ou R^{74} e R^{75} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou -O-; em particular hidrogénio, -alquilo C_1-C_3 , -OH, -O-alquilo C_1-C_6 e -OC(O)-alquilo C_1-C_6 ou R^{74} e R^{75} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou -O-; mais em especial hidrogénio ou R^{74} e R^{75} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou -O-;

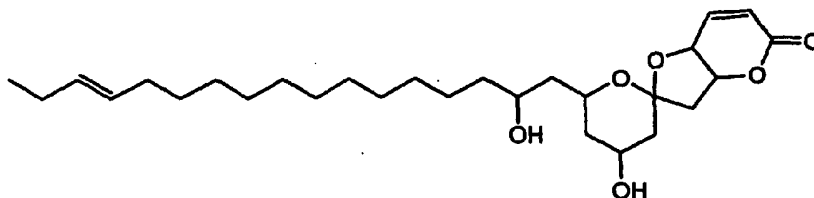
R^{77} e R^{78} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio e -alquilo C_1-C_3 ; em particular hidrogénio e metilo, mais em particular hidrogénio;

r seja um inteiro de 3 a 7.

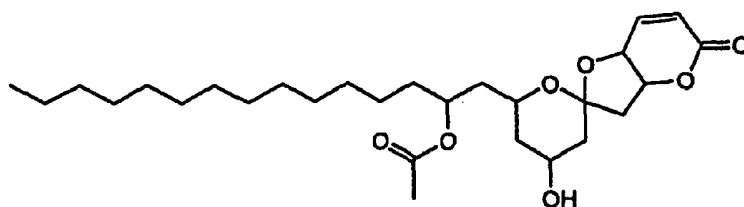
Em algumas concretizações, o composto da invenção é seleccionado de entre:



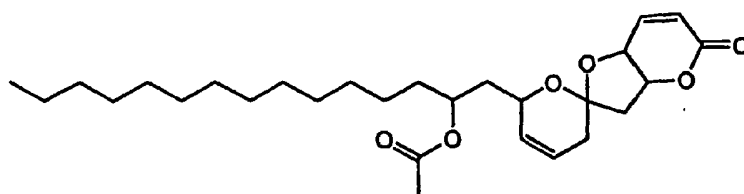
também denominado EBI-23;



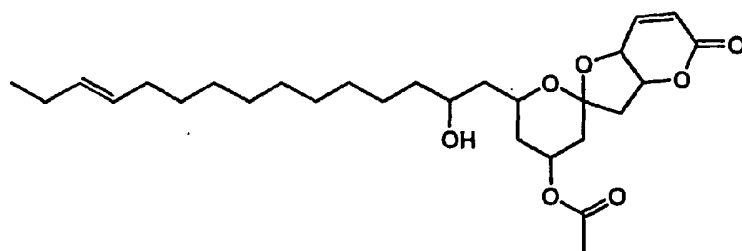
também denominado EBI-24;



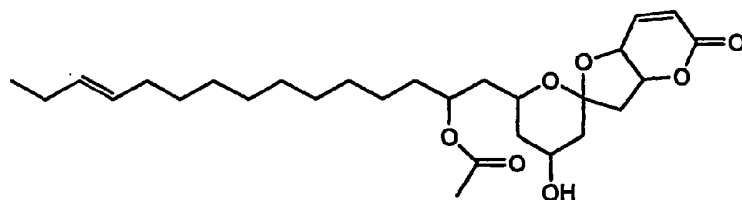
também denominado EBI-25;



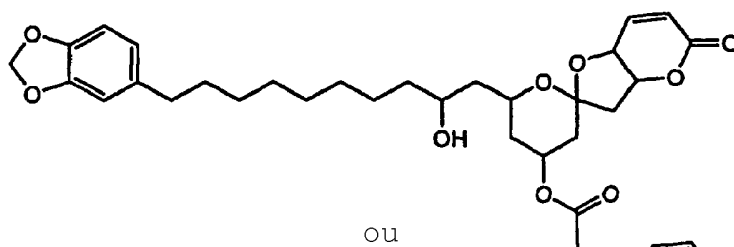
também denominado EBI-42;



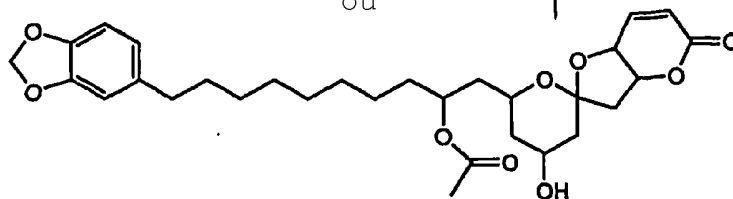
ou



também referido neste documento como EBI-72;

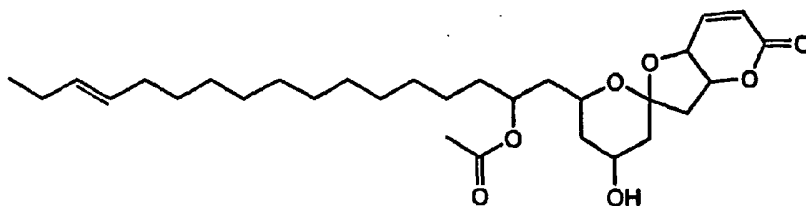


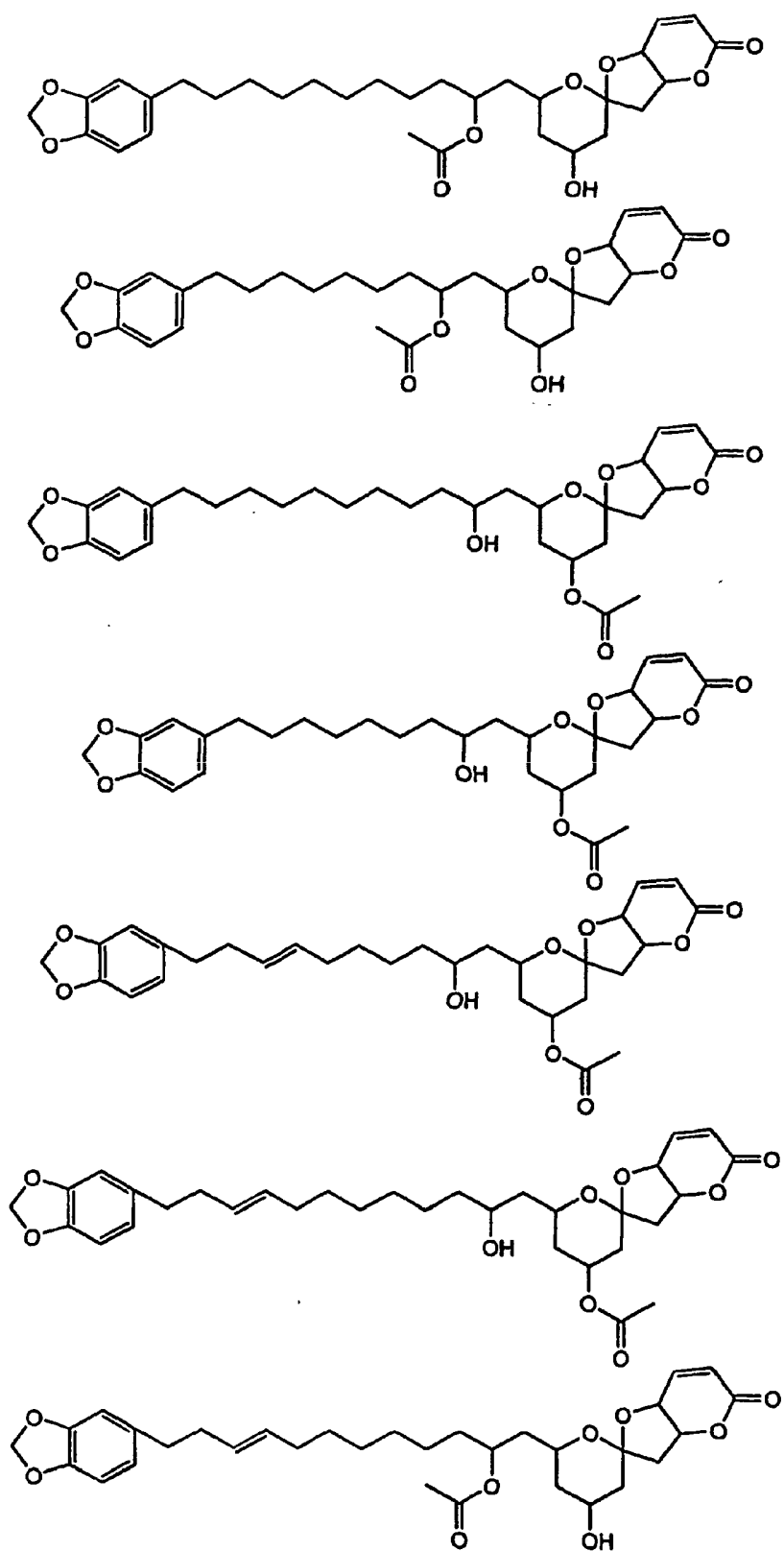
ou

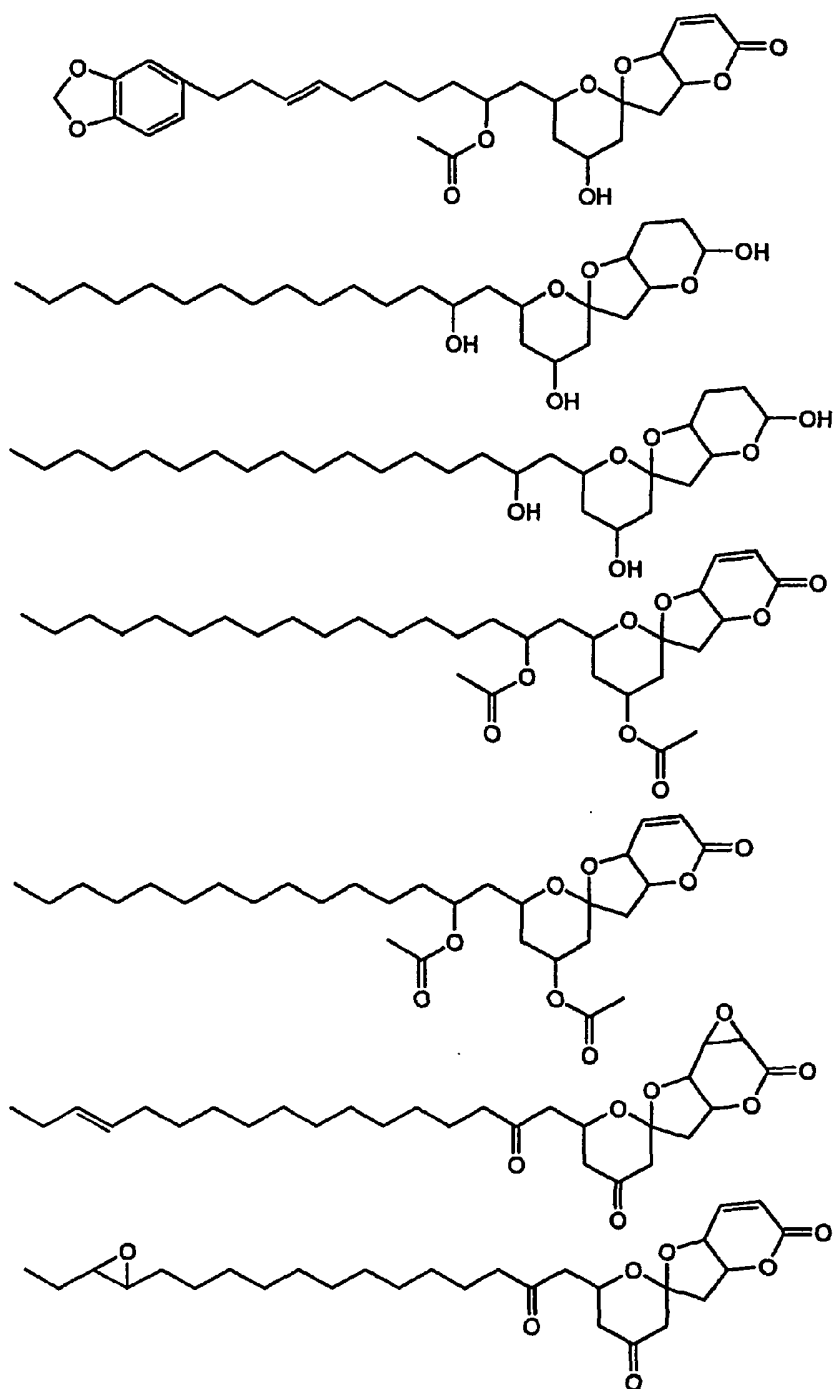


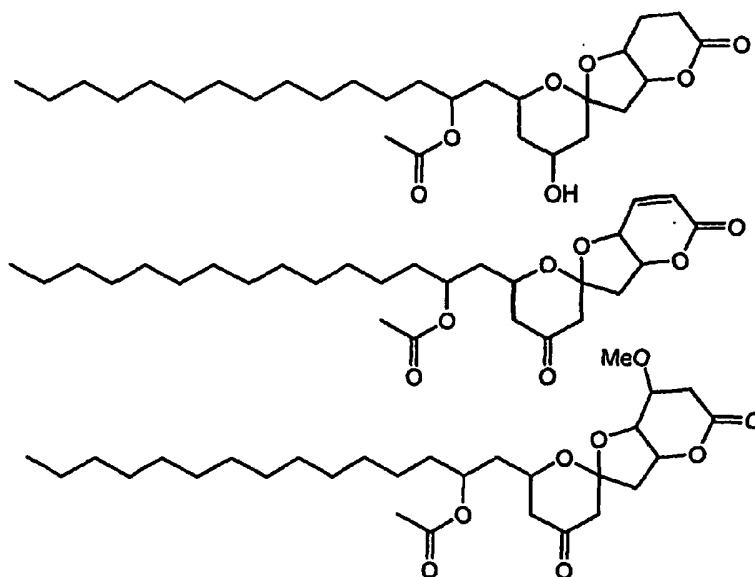
também denominado neste documento EBI-73;

Incluem-se noutros compostos da invenção:









O termo "alquilo" refere-se a grupos hidrocarboneto com cadeia linear ou ramificada, opcionalmente substituídos, contendo 1 a 20 átomos de carbono. Quando seja apropriado, o grupo alquilo pode conter um número de átomos de carbono especificado, por exemplo -alquilo C₁-C₆ que inclui grupos alquilo contendo 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono dispostos de modo linear ou ramificado. Incluem-se nos exemplos não limitativos dos grupos alquilo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, s-butilo, t-butilo, pentilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, hexilo, heptilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 2-etilbutilo, 3-etilbutilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo.

O termo "alcenilo" refere-se a grupos hidrocarboneto insaturados lineares ou ramificados, opcionalmente substituídos, contendo 2 a 20 átomos de

carbono e apresentando pelo menos uma ligação dupla. Quando apropriado, o grupo alcenilo pode ter um número especificado de átomos de carbono, por exemplo, alcenilo C_2-C_6 , que inclui grupos alcenilo contendo 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono dispostos de forma linear ou ramificada. Incluem-se nos exemplos não limitativos de grupos alcenilo, os grupos etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, s-butenilo e t-butenilo, pentenilo, hexenilo, hept-1,3-dieno, hex-1,3-dien, trieno que não seja 1,3,5, e outros semelhantes.

O termo "alcinilo" refere-se a grupos hidrocarboneto lineares ou ramificados, insaturados, opcionalmente substituídos, contendo 2 a 20 átomos de carbono e apresentando pelo menos uma ligação tripla. Quando tal seja apropriado, o grupo alcinilo pode conter o número de átomos de carbono especificado, por exemplo, os grupos alcinilo C_2-C_6 contêm 2, 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono, dispostos de um modo linear ou ramificado. Incluem-se nos exemplos não limitativos dos grupos alcinilo, os grupos etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo e outros semelhantes.

Os termos "cicloalquilo" e "carbocíclico" referem grupos carbonados opcionalmente substituídos, saturados ou insaturados, monocíclicos, bicíclicos ou tricíclicos. Quando seja apropriado, o grupo cicloalquilo pode apresentar um número especificado de átomos de carbono, por exemplo, cicloalquilo C_3-C_6 é um grupo carbocíclico

contendo 3, 4, 5 ou 6 átomos de carbono. Podem incluir-se nos exemplos não limitativos os grupos ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, e ciclohexadienilo, e outros semelhantes.

"Arilo" significa um sistema anelar carbocíclico monocíclico, bicíclico ou tricíclico em C_6-C_{14} , contendo até 7 átomos em cada anel, no qual pelo menos um anel seja aromático. Incluem-se nos exemplos de grupos arilo, sem que a estes eles se limitem, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo e bifenilo. O arilo pode incluir 1-3 anéis de benzeno. Caso estejam presentes dois ou mais anéis aromáticos, então os anéis podem estar fundidos uns aos outros, de tal modo que anéis adjacentes partilhem em comum uma ligação.

"Heterocíclico" ou "heterociclilo" referem-se a anéis não aromáticos contendo 3 a 8 átomos no anel, e destes átomos, 1 a 4 sejam heteroátomos, sendo o anel referido isolado ou estando fundido a um segundo anel seleccionado de entre os anéis alicíclicos contendo 3 a 7 membros, dos quais 0 a 4 sejam heteroátomos, em que os heteroátomos referidos sejam seleccionados independentemente de entre O, N e S. Heterocíclico inclui grupos heterocíclicos parcial e completamente saturados. Os sistemas heterocíclicos podem estar ligados a outras espécies através de um dos seus átomos de carbono ou heteroátomos, e podem ser tanto saturados como insaturados, incluindo todas as formas de espécies hidrocarboneto.

Incluem-se nos exemplos não limitativos dos heterocíclicos, os grupos pirrolidinilo, pirrolinilo, piranilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, pirazolinilo, ditiolilo, oxatiolilo, dioxanilo, dioxinilo, oxazinilo, azepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, oxepinilo e tiapinilo, imidazolinilo, tiomorfolinilo, e outros semelhantes.

O termo "heteroarilo", tal como se utiliza neste documento, significa um sistema anelar estável, monocíclico ou bicíclico, com até 7 átomos por anel, no qual pelo menos um anel seja aromático e pelo menos um anel contenha 1-4 heteroátomos, seleccionados de entre enxofre, oxigénio e azoto. Incluem-se nos heteroarilo, sem que estes se limitem a eles, os grupos oxazolilo, tiazolilo, tienilo, furilo, 1-isobenzofuranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, iso-oxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piradazinilo, indolizininilo, isoindolilo, indolilo, purinilo, ftalazinilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,3,4-oxatriazolilo, 1,2,3,5-oxatriazolilo, 1,3,5-triazinilo, 1,2,4-triazinilo, 1,2,3-triazinilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, tionaftenilo, isotionaftenilo, indoleninilo, 2-isobenzazolilo, 1,5-pirindinilo, pirano[3,4-b]pirrolilo, isoindazolilo, indoxazinilo, benzoxazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, cinolinilo, quinazolinilo, naftiridinilo, pirido[3,4-b]piridinilo, pirido[3,2-b]piridinilo, pirido[4,3-b]piridinilo, acridinilo, carbazolilo,

quinoxalinilo, pirazolilo, benzotriazolilo, tiofenilo, isoquinolinilo, piridinilo, tetrahydroquinolinilo, benzazepinilo, benzodioxanilo, benzoxepinilo, benzodiazepinilo, benzotiazepinilo, e outros semelhantes.

Os grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo e heterociclilo podem ser substituídos com um ou mais substituintes seleccionados independentemente de entre -F, -Cl, -Br, -I, -CO₂R, -CN, -OR, -SR, -N(R)₂, -NO₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(=O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, em que R seja tal como se definiu acima.

Tal como se utilizam neste documento, os termos "halo" ou "halogéneo" referem-se a flúor (fluoro), cloro (cloro), bromo (bromo) e iodo (iodo).

Outro aspecto ainda da invenção proporciona um sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, da agricultura ou como pesticida, de um composto com a fórmula (I) ou a fórmula (II).

Os termos "sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico", "sais aceitáveis em agricultura" ou "sais aceitáveis a título de pesticidas", tal como se utilizam neste documento, referem-se a sais que sejam seguros do ponto de vista toxicológico, para administração sistémica ou localizada, ou adequados para aplicação a uma planta ou num ambiente agrícola, industrial ou doméstico. Podem

seleccionar-se os sais aceitáveis de um ponto de vista farmacêutico, para agricultura ou como pesticidas, de entre o conjunto incluindo os sais com metais alcalinos e alcalino-terrosos, de amónio, de alumínio, de ferro, de amina, de glucosamina, cloreto, sulfato, sulfonato, bissulfato, nitrato, citrato, tartarato, bitartarato, fosfato, carbonato, bicarbonato, malato, maleato, napsilato, fumarato, succinato, acetato, benzoato, tereftalato, pamoato, pectinato e de s-metilmetionina, piperazina, e outros semelhantes.

Entender-se-á também que os compostos da invenção podem possuir centros assimétricos e são portanto capazes de existir sob mais do que uma forma estereoisomérica. A invenção portanto diz também respeito a compostos sob forma isomérica substancialmente pura, num ou mais centros assimétricos, por exemplo, com um e.e. maior do que 90 %, tal como cerca de 95 % ou 97 % de e.e. ou mais do que 99 % de e.e., bem como misturas, incluindo misturas racémicas, dos estereoisómeros. Podem obter-se estes isómeros isolando-os a partir fontes naturais, ou por síntese assimétrica, por exemplo utilizando intermediários quirais, ou por resolução quiral. Os compostos da invenção podem existir sob a forma de isómeros geométricos. A invenção também diz respeito a compostos em formas substancialmente puras *cis* (Z) ou *trans* (E), ou a misturas destas.

Podem obter-se os compostos da invenção presente por isolamento a partir de uma planta ou de uma parte de

uma planta, ou por derivatização do composto isolado, ou por derivatização de um composto relacionado.

Também se descreve um método para se isolar um ou mais compostos com a fórmula (I) ou com a fórmula (II), método este que inclui o passo de se extrair o referido composto ou mais compostos a partir de uma planta ou de uma parte de planta.

Preferivelmente, a planta pertence à família *Lauraceae*.

Preferivelmente, o género é *Litsea*, *Cinnamonium*, *Cryptocarya*, *Beilschmiedia*, *Endiandra*, *Neolitsea* e *Lindera*.

Preferivelmente a espécie é *Litsea* spp. tal como *Litsea sebifera*, *Litsea polyantha*, *Litsea cossiaefolia*, *Litsea elliptica*, *Litsea ferruginea*, *Litsea firma*, *Litsea garciae*, *Litsea oppositifolia*, *Litsea australis*, *Litsea bennettii*, *Litsea bindoniana*, *Litsea breviumbellata*, *Litsea connorsii*, *Litsea faweetiana*, *Litsea glutinosa*, *Litsea granitica*, *Litsea leefeana*, *Litsea macrophylla*. *Litsea reticulata*; particularmente *Litsea breviumbellata*, *Litsea connorsii* e *Litsea leefeana*; *Cinnamonium* spp. tal como *Cinnamonium acuminatifolium*, *Cinnamonium acuminatissimum*, *Cinnamonium acutatum*, *Cinnamonium africanum*, *Cinnamonium aggregatum*, *Cinnamonium alainii*, *Cinnamonium alatum*, *Cinnamonium albiflorum*, *Cinnamonium alcinii*, *Cinnamonium alexel*, *Cinnamonium alibertii*, *Cinnamonium alternifolium*,

Cinnamonium altissimum, *Cinnamonium ammannii*, *Cinnamonium amoenum*, *Cinnamonium amplexicaule*, *Cinnamonium amplifolium*, *Chinamomum anacardium*, *Cinnamonium andersonii*, *Cinnamonium angustifolium*, *Cinnamonium angustitepalum*, *Cinnamonium antillarum*, *Cinnamonium appelianum*, *Cinnamonium arbusculum*, *Cinnamonium archboldianum*, *Cinnamonium areolatocostae*, *Cinnamonium areolatum*, *Cinnamonium areolatum*, *Cinnamonium arfakense*, *Cinnamonium argenteum*, *Cinnamonium aromaticum*. *Cinnamonium arsenei*, *Cinnantomum asa-grayi*, *Cinnamonium assamicum*, *Cinnamonium aubletii*, *Cinnamonium aureo-fulvum*, *Cinnamonium australe*, *Cinnamonium austro-sinense*, *Cinnamonium austro-yunnanense*, *Cinnamonium bahianum*, *Cinnamonium bahiense*, *Cinnamonium baileyianum*, *Cinnamonium baillonii*, *Cinnamonium balansae*, *Cinnamonium bamoense*, *Cinnamonium barbato-axillatum*, *Cinnamonium barbeyanum*, *Cinnamonium barlowii*, *Cinnamonium bartheifolium*, *Cinnamonium barthii*, *Cinnamonium bazania*, *Cinnamonium beccaril*, *Cinnamonium bejolghota*, *Cinnamonium bengalense*, *Cinnamonium biafranum*, *Cinnamonium bintulense*, *Cinnamonium birmanicum*, *Cinnamonium blumei*, *Cinnamonium bodinieri*, *Cinnamonium bonii*, *Cinnamonium bonplandii*, *Cinnamonium borneense*, *Cinnamonium bourgeauvianum*, *Cinnamonium boutonii*, *Cinnamonium brachythyrsum*, *Cinnamonium bractefoliaceum*, *Cinnamonium burmannii*, *Cinnamonium camphora*, *Cinnamomum cassia* (sinónimo de *C. aromaticum*), *Cinnamonium caudiferum*, *Cinnamonium chartophyllum*, *Cinnamonium citriodorum*, *Cinnamonium contractum*, *Cinnamonium filipes*, *Cinnamonium glanduliferum*, *Cinnamonium glaucescens*, *Cinnamonium ilicioides*, *Cinnamonium*

impressinervium, *Cinnamonium iners*, *Cinnamonium japonicum*,
Cinnamonium javanicum, *Cinnamonium jensenianum*, *Cinnamonium*
kotoense, *Cinnamonium kwangtungense*, *Cinnamonium liangii*,
Cinnamonium longepaniculatum, *Cinnamonium longipetiolatum*,
Cinnamonium loureiroi, *Cinnamonium mairei*, *Cinnamonium*
micranthum, *Cinnamonium migao*, *Cinnamonium mollifolium*,
Cinnamonium oliveri, *Cinnamonium osmophloeum*, *Cinnamonium*
parthenoxylon, *Cinnamonium pauciflorum*, *Cinnamonium*
philippinense, *Cinnamonium pingbienense*, *Cinnamonium*
pittosporoides, *Cinnamonium platyphyllum*, *Cinnamonium*
porphyrium, *Cinnamonium propinquum*, *Cinnamonium*
reticulatum, *Cinnamonium rigidissimum*, *Cinnamonium*
saxatile, *Cinnamonium septentrionale*, *Cinnamonium*
subavenium, *Cinnamonium tamala*, *Cinnamonium tenuipilum*,
Cinnamonium tonkinense, *Cinnamonium triplinerve*,
Cinnamonium tsangii, *Cinnamonium tsoi*, *Cinnamonium*
validinerve, *Cinnamonium verum*, *Cinnamonium virens*,
Cinnamonium wilsonii e *Cinnamonium laubatii*, e em
particular *Cinnamonium laubatii*, *Cinnamonium oliveri*,
Cinnamonium virens e *Cinnamonium camphora*; ou *Cryptocarya*
spp. tal como *C. alba*, *C. angulata*, *C. aristata*, *C.*
ashersoniana, *C. chinensis*, *C. cinnamomifolia*, *C.*
corrugata, *C. crassinervia*, *C. cunninghamiana*, *C.*
densiflora, *C. ferrea*, *C. foetida*, *C. gigantocarpa*, *C.*
glauescens, *C. grandis*, *C. hypospodia*, *C. invasorium*, *C.*
laevigata, *C. leptospermoides*, *C. inackinnoniana*, *C.*
massoia, *C. meissneri*, *C. membranaceae*, *C. multipaniculata*,
C. murrayi, *C. nigra*, *C. nitens*, *C. oblata*, *C. odorata*, *C.*
palawanensis, *C. pleurosperma*, *C. pluricostata*, *C. rigida*,

C. scortechinii, *C. transversa*, *C. tomentosa*, *C. triplinervis*, *C. vulgaris*, *C. angulata*, *C. bamagana*, *C. bellendenkerana*, *C. bidwillii*, *C. brassii*, *C. burckiana*, *C. clarksoniana*, *C. claudiana*, *C. cocosoides*, *C. cunninghamii*, *C. endiandrifolia*, *C. erythoxylon*, *C. exfoliata*, *C. floydii*, *C. foveolata*, *C. glaucocarpa*, *C. leucophylla*, *C. lividula*, *C. macdonaldii*, *C. meisneriana*, *C. melanocarpa*, *C. microneura*, *C. obovata*, *C. onoprienkoana*, *C. putida*, *C. rhodosperma*, *C. saccharata*, *C. sclerophylla*, *C. smaragdina*, *C. sp Boonjee*, *C. sp Gadgarra*, *C. triplinervis* var. *riparia*; em particular *C. angulata*, *C. bamagana*, *C. bellendenkerana*, *C. bidwillii*, *C. brassii*, *C. clarksoniana*, *C. cocosoides*, *C. corrugata*, *C. cunninghamii*, *C. exfoliata*, *C. glaucescens*, *C. grandis*, *C. hypospodia*, *C. laevigata*, *C. leucophylla*, *C. lividula*, *C. macdonaldii*, *C. mackinnonianiana*, *C. melanocarpa*, *C. microneura*, *C. murrayi*, *C. oblata*, *C. onoprienkoana*, *C. pleurosperma*, *C. putida*, *C. rhodosperma*, *C. triplinervis* var. *riparia*, *C. vulgaris*; *Beilschmiedia bancroftii*, *Beilschmiedia brunnea*, *Beilschmiedia castrisinensis*, *Beilschmiedia collina*, *Beilschmiedia elliptica*, *Beilschmiedia obtusifolia*, *Beilschmiedia oligandra*, *Beilschmiedia peninsularis*, *Beilschmiedia recurva*, *Beilschmiedia tooram*, *Beilschmiedia volckii*; em particular *Beilschmiedia bancroftii*, *Beilschmiedia castrisinensis*, *Beilschmiedia peninsularis*, *Beilschmiedia recurva*, *Beilschmiedia tooram*, *Beilschmiedia volckii*; *Endiandra acuminata*, *Endiandra anthropophagorum*, *Endiandra bellendenkerana*, *Endiandra bessaphila*, *Endiandra collinsii*, *Endiandra compressa*, *Endiandra cooperana*,

Endiandra cowleyana, *Endiandra crassiflora*, *Endiandra dichrophylla*, *Endiandra dielsiana*, *Endiandra discolor*, *Endiandra floydii*, *Endiandra glauca*, *Endiandra globosa*, *Endiandra grayi*, *Endiandra hayesii*, *Endiandra hypotephra*, *Endiandra impressicosta*, *Endiandra insignis*, *Endiandra introrsa*, *Endiandra jonesii*, *Endiandra leptodendron*, *Endiandra limnophila*, *Endiandra longipedicellata*, *Endiandra microneura*, *Endiandra monothyra* subsp *monothyra*, *Endiandra monothyra* subsp *trichophylla*, *Endiandra montana*, *Endiandra muelleri*, *Endiandra palmerstonii*, *Endiandra phaeocarpa*, *Endiandra sankeyana*, *Endiandra sideroxylon*, *Endiandra sieberi*, *Endiandra virens*, *Endiandra wolfei*, *Endiandra xanthocarpa*; em particular *Endiandra bessaphila*, *Endiandra compressa*, *Endiandra globosa*, *Endiandra insignis*, *Endiandra jonesii*, *Endiandra microneura*, *Endiandra monothyra* subsp *monothyra*, *Endiandra montana*, *Endiandra palmerstonii*, *Endiandra sankeyana*; *Neolitsea australiensis*, *Neolitsea brassii*, *Neolitsea dealbata*; em particular *Neolitsea dealbata*; e *Lindera queenslandica*.

As partes da planta podem incluir fruto, semente, casca, folha, flor, raízes e madeira.

Preferivelmente obtém-se o extracto a partir da semente, do epicarpo ou do mesocarpo.

Por exemplo, submete-se inicialmente a biomassa obtida a partir de sementes, folhas e casca da planta a uma extracção com solvente, por exemplo com um solvente polar

tal como metanol. concentra-se então o extracto inicial e dilui-se com água e submete-se a uma extracção com um segundo solvente, por exemplo acetato de etilo. Misturam-se as amostras de solvente da segunda extracção e submete-se a uma separação por fraccionamento em HPLC preparativa. Analisam-se as fracções por HPLC analítica e juntam-se as que apresentam períodos de retenção semelhantes de compostos existentes nas amostras. Pesam-se as amostras misturadas, submetem-se a ensaios biológicos e analisam-se por HPLC analítica. Leva-se a cabo mais fraccionamento recorrendo a uma ou mais HPLC preparativas para se isolarem compostos específicos. Todos os compostos são submetidos a ensaios biológicos e a sua estrutura é identificada recorrendo a técnicas de UV, RMN e espectrometria de massa.

Podem obter-se outros compostos da invenção derivatizando compostos isolados de plantas ou de partes de plantas, em particular dos géneros *Litsea*, *Cinnamomum* e *Cryptocarya*.

Podem obter-se derivados dos compostos naturais por métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, podem oxidar-se grupos hidroxilo, a cetonas, aldeídos ou ácidos carboxílicos, por exposição a agentes oxidantes tais como ácido crómico, reagente de Jones, KMnO_4 , perácidos tais como mCPBA (ácido metacloroperbenzóico) ou dioxiranos tais como dimetildioxirano (DMDO) e metil(trifluorometil)dioxirano (TFDO). Podem seleccionar-se agentes oxidantes de tal modo que outros grupos funcionais

na molécula sejam, ou não sejam, também oxidados. Por exemplo, pode oxidar-se selectivamente um álcool primário a um aldeído ou a um ácido carboxílico, na presença de álcoois secundários, utilizando reagentes tais como $\text{RuCl}_2(\text{P}\phi_3)_3$ -benzeno. Podem oxidar-se selectivamente os álcoois secundários a cetonas na presença de um álcool primário utilizando Cl_2 -piridina ou NaBrO_3 -nitrato cérico e de amónio. Podem oxidar-se álcoois na presença de ligações duplas ou triplas e sem epimerização em estero-centros adjacentes utilizando o reagente de Jones. Em alternativa, podem seleccionar-se reagentes menos selectivos, resultando na oxidação de mais do que um tipo de grupo funcional.

Também se podem derivatizar grupos hidroxilo por formação de éteres ou de ésteres. Por exemplo, podem preparar-se éteres por formação de um ião alcóxido na presença de uma base, fazendo reagir o alcóxido com um halogeneto de alquilo, alcenilo, alcinilo ou arilo que seja apropriado. Pode de forma semelhante conseguir-se uma acilação através da formação de um ião alcóxido e sua reacção ulterior com um ácido carboxílico apropriado ou com um ácido carboxílico activado (tal como um anidrido).

Podem hidrolisar-se grupos acilo para se obterem álcoois recorrendo a hidrólise ácida ou básica, tal como se conhece na técnica.

Podem introduzir-se grupos sililo nos grupos hidroxilo, para se obterem éteres silílicos, utilizando uma

base fraca e um reagente cloreto de sililo, por exemplo Me_3SiCl and trietilamina em THF, ou agentes tais como $\text{MeSiNFicO}_2\text{SiMe}_3$ em THF.

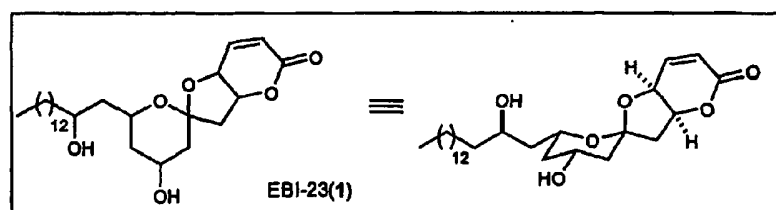
Podem introduzir-se facilmente sulfonatos em grupos hidroxilo, por reacção com um grupo sulfonato adequado. Por exemplo, podem introduzir-se metanossulfonatos por tratamento de um grupo hidroxilo com MsCl e trietilamina, em diclorometano. Podem introduzir-se grupos tosilato fazendo reagir um grupo hidroxilo com TsCl e piridina. Podem introduzir-se grupos alilsulfonato fazendo reagir um grupo hidroxilo cloreto de alilsulfonilo e piridina em diclorometano.

Podem reduzir-se cetonas a álcoois secundários com agentes redutores tais como hidreto de alumínio e lítio e outros hidretos metálicos, sem que reajam as ligações duplas, incluindo as cetonas α -insaturadas.

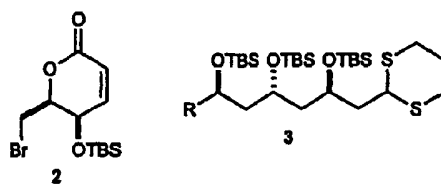
Podem reduzir-se ligações duplas e ligações triplas a ligações simples utilizando uma redução catalítica, por exemplo, H_2/Pd . Também se podem oxidar as ligações duplas a epóxidos utilizando agentes oxidantes tais como perácidos, por exemplo mCPBA , ou dioxiranos, tais como DMDO e TFDO . Também se podem submeter as ligações duplas a reacções de adição para se introduzirem substituintes tais coo grupos halo, hidroxilo ou alcóxilo, e aminas.

Um especialista da técnica será capaz de determinar condições adequadas para se obterem derivados dos compostos isolados, por exemplo, referindo-se a textos que dizem respeito a metodologias sintética, exemplos dos quais são Smith M.B. e March J., 'March's Advanced Organic Chemistry', Quinta Edição, John Wiley & Sons Inc., 2001, e Larock R.C., 'Comprehensive Organic Transformations', VCH Publishers Ltd., 1989. Além disto, as manipulações selectivas de grupos funcionais podem obrigar a protecção de outros grupos funcionais. Podem encontrar-se grupos protectores adequados para evitar reacções laterais indesejadas em Green e Wuts, 'Protective Groups in Organic Synthesis', John Wiley & Sons Inc., 3ª Edição, 1999.

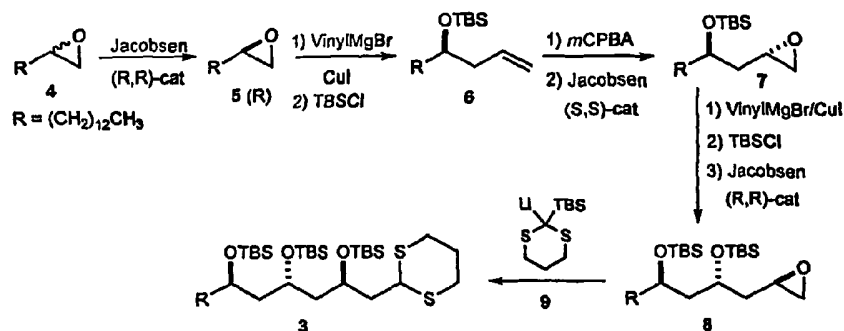
Também se podem sintetizar os compostos da invenção a partir de matérias-primas comercialmente disponíveis. Descrevem-se adiante três vias sintéticas para se sintetizar o EBI-23:



Síntese 1: A primeira estratégia de síntese do EBI-23 (1) baseava-se numa síntese convergente de duas 'metades', a lactona (2) e o triol (3).

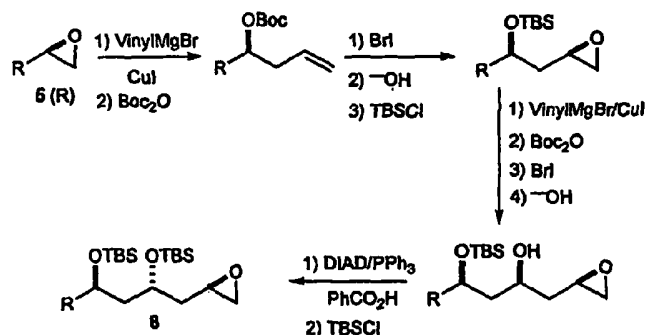


Preparou-se o triol **3** de modo assimétrico em 9 passos, seguindo o protocolo adiante (Esquema 1). Resolveu-se o epóxido **4** no estereoisómero *R* **5** utilizando o catalisador de Jacobsen (*R,R*). Abriu-se o anel do epóxido **5** com brometo de vinilmagnésio na presença de iodeto de cobre(I) e protegeu-se o álcool resultante sob a forma de um éter com TBS (**6**). Transformou-se o éter de TBS **6** no epóxido **7** utilizando ácido meta-cloroperbenzóico (*m*CPBA) e em seguida uma resolução cinética recorrendo ao catalisador de Jacobsen (*S,S*). Submeteu-se o epóxido **7** à mesma sequência, obtendo-se o epóxido **8**, que se fez reagir com o ditiano **9** para se obter o ditiano **3**.



Esquema 1

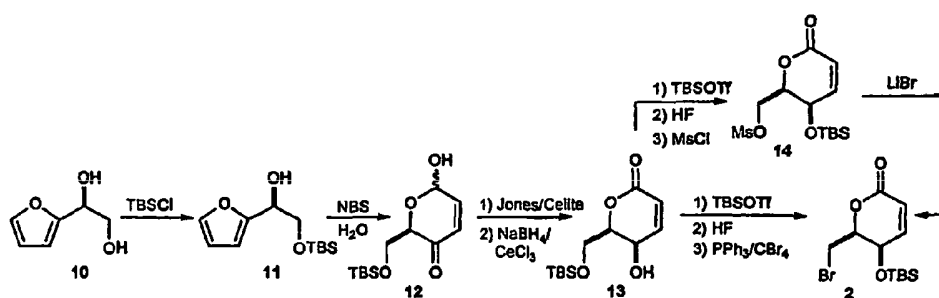
Em alternativa, pode preparar-se **8** pelo Esquema 1.1, adiante:



Esquema 1.1

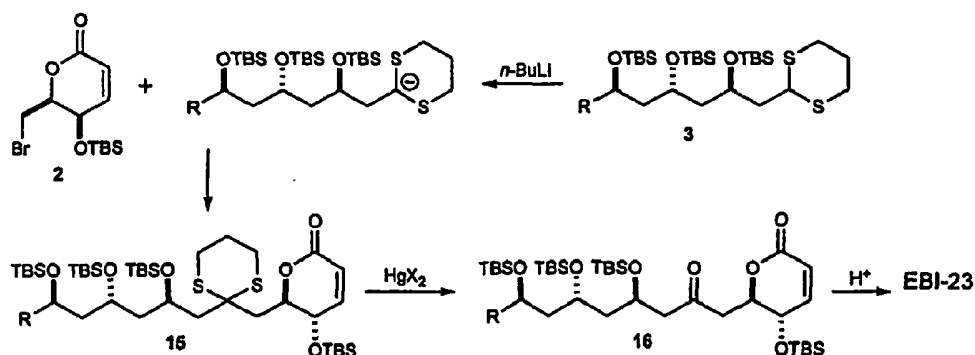
Obtém-se a parte de EBI-23 do lado direito, isto é a lactona **2**, a partir da pirona **13**, que é construída consoante a literatura (por exemplo Harris et al., *Strategies and Tactics in Organic Synthesis*, 2004, **5**, 221, e O'Doherty et al., *Organic Letters* 2000, **2**, 2983-2986, *Tetrahedron Letters* 2000, **41**, 183-187). Protege-se uma das funções álcool do diol **10** com TBS (levando por exemplo a **11**) e depois alarga-se o anel (NBS/H₂O) obtendo-se o lactol **12**. Por uma oxidação de Jones seguida por uma redução estereosseletiva de Luche obtém-se **13**, que se pode transformar no brometo (lactona) **2**, seguido um de dois protocolos diferentes, após uma protecção com TBS e uma desprotecção selectiva do éter primário de TBS. No primeiro protocolo transforma-se o álcool (**13**) no mesilato **14**, que

sofre uma reacção de Finkelstein com brometo de lítio originando **2**. No segundo processo transformar-se directamente o álcool **13** em **2** utilizando tetrabromometano e trifenilfosfina (Esquema 2).



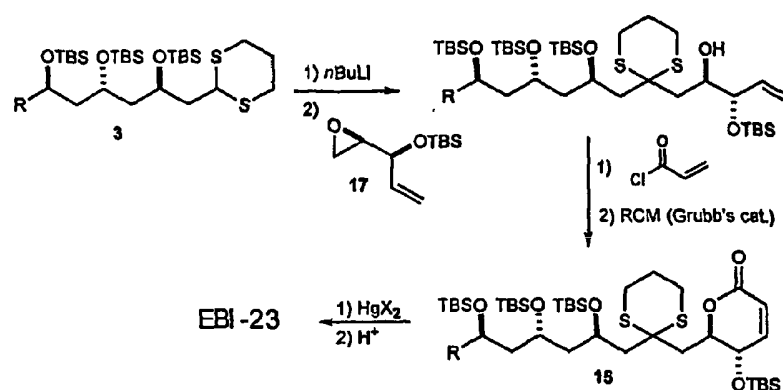
Esquema 2

Acoplam-se as duas metades, isto é **2** e **3**, para se obter (**15**), desprotonando o ditiano **3** com butil-lítio e adicionando o anião ao brometo **2**. Desprotege-se o ditiano resultante com sais de mercúrio para se obter a cetona **16**, que sofre uma desprotecção retirando os TBS e em seguida um fecho de anel catalisado por ácido para se obter EBI-23 (Esquema 3).



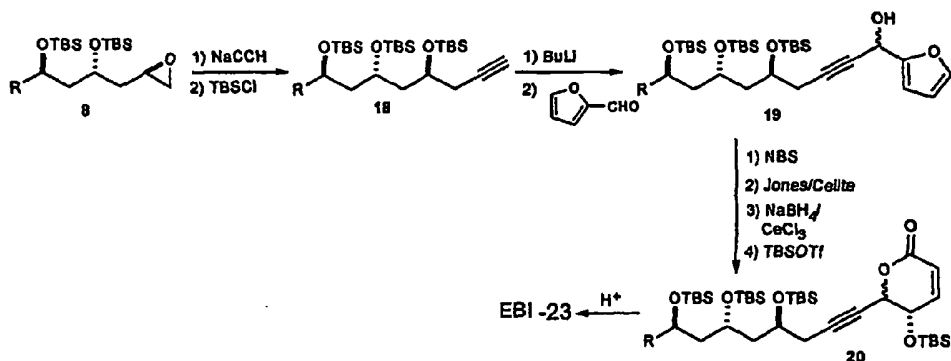
Esquema 3

Síntese 2: A via 2 (Esquema 4) baseia-se numa estratégia envolvendo uma metátese de Grubbs no fecho de anel (RCM). Por reacção do triol **3** com o epóxido **17** conhecido, e em seguida uma acilação (cloreto de acrilóilo) e RCM proporciona um acesso rápido à lactona **15**, que por tratamento com sais de mercúrio e subsequentemente com um catalisador ácido, proporciona EBI-23.



Esquema 4

Síntese 3: A via 3 (Esquema 5) recorre à química dos compostos acetilénicos, na medida em que se transforma o epóxido **8** no acetileno **18**, utilizando acetileto de sódio, e em seguida se protege com TBS. Por tratamento de **18** com butil-lítio e reacção com 2-furfural obtém-se o furano **19**. O furano **19** sofre um aumento de anel, uma oxidação de Jones, uma redução de Luche e uma protecção com TBS para proporcionar **20**, que em meio ácido revela o EBI-23. Infelizmente, esta via não assegura controlo estereoquímico numa das posições.



Esquema 5

Por utilização de matérias-primas com diversas substituições diferentes, podem obter-se produtos espirocetal substituídos.

Um aspecto adicional da invenção proporciona uma composição farmacêutica para o tratamento ou a profilaxia de uma doença ou de um estado, que inclui uma quantidade eficaz de um ou mais compostos com a fórmula (I) ou com a fórmula (II), ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, e de um seu excipiente, diluente e/ou veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico.

As formas de dosagem e as taxas de utilização farmacêutica bem como as composições, são facilmente determináveis por um especialista da técnica.

Incluem-se nas formas de dosagem, comprimidos, dispersões, suspensões, injeções, soluções, xaropes, trociscos, cápsulas, supositórios, aerossóis, patchos transdérmicos, e outras semelhantes. Também se podem incluir nestas formas de dosagem, dispositivos para

injecção ou implantação concebidas especificamente para, ou modificadas para, assegurar a libertação controlada da composição farmacêutica. Pode conseguir-se a libertação controlada do agente terapêutico revestindo-o, por exemplo, com polímeros hidrofóbicos tais como resinas acrílicas, ceras, álcoois alifáticos superiores, ácidos poliláctico e poliglicólico, e determinados derivados de celulose tais como a hidroxipropilmetilcelulose. Além disto, pode afectar-se a libertação controlada utilizando matrizes poliméricas, lipossomas e/ou microesferas.

Também se podem incorporar nas composições desta invenção veículos aceitáveis do ponto de vista farmacêutico e veículos aceitáveis para administração sistémica.

De uma forma adequada, a composição farmacêutica inclui um veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico ou um veículo aceitável. Um "veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico" significa uma carga, substância diluente ou encapsulante, sólida ou líquida, que se possa utilizar com segurança para administração sistémica. Consoante a via de administração específica, podem utilizar-se diversos veículos, bem conhecidos na técnica. Podem seleccionar-se estes veículos ou excipientes de entre um conjunto que inclui açúcares, amidos, celulose e os seus derivados, malte, gelatina, talco, sulfato de cálcio, óleos vegetais, óleos sintéticos, polióis, ácido algínico, soluções tamponizadas com fosfato, emulsionantes, soro salino isotónico, e água isenta de pirogéneos.

Pode empregar-se qualquer via de administração adequada para proporcionar a um ser humano ou não humano a composição farmacêutica da invenção. Por exemplo, pode empregar-se uma via oral, rectal, parenteral, sublingual, bucal, endovenosa, intra-articular, intramuscular, intra-dérmica, subcutânea, por inalação, intra-ocular, intraperitoneal, intracerebroventricular, transdérmica, e outras semelhantes.

As composições farmacêuticas da invenção presente adequadas para administração podem ser apresentadas sob a forma de unidades discretas, tais como frascos, cápsulas, saquetas ou comprimidos, contendo cada uma destas uma quantidade previamente determinada de um ou mais compostos activos do ponto de vista farmacêutico da invenção, sob a forma de um pó ou de grânulos ou como ao solução ou uma suspensão num líquido aquoso, num líquido não aquoso, sob a forma de uma emulsão de óleo em água ou de uma emulsão de água em óleo. Estas composições podem ser preparadas por qualquer um dos métodos conhecidos em farmácia, mas todos os métodos incluem o passo de se associarem um ou mais compostos activos do ponto de vista farmacêutico da invenção com o veículo que constitui um ou mais dos ingredientes necessários. Em geral, preparam-se as composições misturando uniforme e intimamente os agentes da invenção com veículos líquidos ou com veículos sólidos em partículas muito finas, ou ambos, e depois, quando necessário, enformando o produto de modo a que adquira a apresentação pretendida.

Nos pós, o veículo é um sólido em partículas muito pequenas, que se mistura com a componente activa também em partículas muito pequenas.

Nos comprimidos, mistura-se a componente activa com o veículo que possua a capacidade de aglomeração necessária, em proporções adequadas, e compacta-se à forma e dimensões pretendidas.

Os pós e os comprimidos contêm preferivelmente entre cinco ou dez e cerca de setenta por cento, do composto activo. Os veículos adequados são carbonato de magnésio, estearato de magnésio, talco, açúcar, lactose, pectina, dextrina, amido, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica, uma cera com ponto de fusão baixo, manteiga de cacau, e outros semelhantes. O termo "preparação" pretende incluir a formulação do composto activo com material encapsulante para proporcionar uma cápsula na qual a componente activa, com ou sem veículos, esteja rodeada por um veículo, o qual está portanto intimamente associado a ela. De uma forma semelhante, as hóstias e as pastilhas estão incluídas. comprimidos, pós, cápsulas, pílulas, hóstias, e pastilhas, podem ser utilizadas como formas sólidas adequadas para administração por via oral.

Para se prepararem supositórios, funde-se primeiro uma cera que funda a uma temperatura baixa, tal como uma mistura de acilgliceróis de ácidos gordos ou

manteiga de cacau, e dispersa-se a componente activa homogeneamente nela, por exemplo por agitação. Verte-se então a mistura homogénea para moldes com dimensões convenientes, deixa-se arrefecer, e portanto solidificar.

Podem apresentar-se as formulações adequadas para administração vaginal como pessários, tampões, cremes, geles, pastas, espumas ou aspersões que contenham, para além do ingrediente activo, veículos tais como os que são conhecidos na técnica e considerados apropriados.

Incluem-se nas preparações sob a forma líquida as soluções, suspensões, e emulsões, por exemplo, soluções em água ou em água e propilenoglicol. Por exemplo, as preparações líquidas para injeção parenteral podem ser formuladas como soluções em polietilenoglicol aquoso.

Podem portanto formular-se os compostos consoante a invenção presente para administração parenteral (por exemplo por injeção, por exemplo injeção de um *bolus* ou infusão contínua) e podem apresentar-se como formas de unidades de dose em ampolas, seringas previamente enchidas, infusões com pequenos volumes, ou em contentores com diversas doses contendo um conservante adicionado. As composições podem assumir formas tais como as de suspensões, soluções, ou emulsões, em veículos oleosos ou aquosos, e elas podem conter agentes de formulação tais como de suspensão, estabilizantes e/ou dispersantes. Em alternativa, o ingrediente activo pode assumir a forma de

um pó, obtido por isolamento asséptico de um sólido estéril, ou por liofilização a partir de uma solução, para ser reconstituído com um veículo adequado, por exemplo água estéril, isenta de pirogêneos, antes da utilização.

Podem preparar-se soluções aquosas adequadas para utilização oral dissolvendo a componente activa em água e adicionando, consoante se pretenda, corantes, sabores, agentes estabilizantes e espessantes adequados.

Podem fabricar-se suspensões aquosas adequadas para administração oral dispersando a componente activa em pequenas partículas em água com um material viscoso, tal como gomas naturais ou sintéticas, resinas, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica, ou outros agentes de suspensão bem conhecidos.

Também se incluem preparações sob a forma de sólidos destinadas a ser transformadas, pouco antes da sua utilização, em preparações sob a forma de líquidos, para administração por via oral. Incluem-se nestas formas líquidas as soluções, as suspensões, e as emulsões. Estas preparações podem conter, para além da componente activa, corantes, sabores, estabilizantes, tampões, edulcorantes artificiais e naturais, dispersantes, espessantes, agentes solubilizantes, e outros semelhantes.

Para aplicação tópica sobre a epiderme, podem formular-se os compostos consoante a invenção sob a forma

de unguentos, cremes ou loções, ou a de pachos transdérmicos. Os unguentos e cremes podem, por exemplo, ser formulados com uma base aquosa ou oleosa, com adição de agentes espessantes e/ou gelificantes adequados. Podem formular-se as loções com uma base aquosa ou oleosa, e elas também conterão em geral um ou mais agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensão, agentes espessantes, ou agentes corantes.

Incluem-se nas formulações adequadas para administração tópica na boca as pastilhas que incluam o agente activo numa base com sabor, em geral sacarose e goma-arábica ou de tragacanto; as pastilhas incluindo o ingrediente activo numa base inerte tais como gelatina e glicerina ou sacarose e goma-arábica; e lavagens bucais que incluam o ingrediente activo num veículo líquido adequado.

Aplicam-se directamente na cavidade nasal soluções ou suspensões, por meios convencionais, por exemplo com um conta-gotas, uma pipeta ou um aspersor. Podem proporcionar-se estas formulações sob formas de dose única ou de diversas doses. Neste último caso, utilizando um conta-gotas ou uma pipeta, isto pode ser conseguido quando o paciente se administre um volume previamente determinado, adequado, da solução ou da suspensão. No caso de um sistema de aspersão, isto pode conseguir-se por exemplo utilizando uma bomba atomizadora medindo o volume da aspersão. Para melhorar a administração nasal e a retenção dos compostos consoante a invenção, eles podem ser

encapsulados em ciclodextrinas, ou formulados com os agentes de que se espera uma melhoria da libertação e da retenção na mucosa nasal.

Também pode conseguir-se a administração pelo sistema respiratório através de uma formulação em aerossol na qual o ingrediente activo seja proporcionado numa embalagem sob pressão com um fluido de arrastamento adequado, tal como um clorofluorocarboneto (CFC), por exemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, ou diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono, ou outro gás adequado. O aerossol também pode conter de forma conveniente um tensioactivo tal como a lecitina. Pode controlar-se a dose do fármaco proporcionando uma válvula quantificadora.

Em alternativa podem proporcionar-se os ingredientes activos sob a forma de um pó seco, por exemplo uma mistura em pó do composto com uma base adequada em pó, tal como lactose, amido, derivados de amido tais como hidroxipropilmetilcelulose e polivinilpirrolidona (PVP).

De uma forma conveniente, o veículo em pó formará um gel na cavidade nasal. A composição em pó pode ser apresentada sob a forma de uma unidade de dose, por exemplo em cápsulas ou em cartuchos em, por exemplo, gelatina, ou em embalagens *blister* a partir dos quais se pode administrar o pó com um inalador.

Nas formulações destinadas a uma administração no aparelho respiratório, incluindo formulações intranasais, o composto apresentará em geral partículas com dimensões pequenas, por exemplo da ordem de 1 a 10 micron ou menos. Podem obter-se dimensões de partícula deste tipo por meios conhecidos na técnica, por exemplo por micronização.

Os compostos activos da invenção e da composição desta invenção estão presente numa quantidade suficiente para evitar, inibir ou melhorar uma ou mais doenças ou estados seleccionados de entre o conjunto constituído por: uma infecção bacteriana, uma infecção a protozoários, uma infestação parasítica, uma patologia proliferativa de células, uma patologia inflamatória ou uma infestação com uma peste. Os especialistas da técnica sabem facilmente determinar dosagens adequadas dos compostos da invenção e das composições farmacêuticas contendo estes compostos.

Também se descreve um método de evitar uma doença ou estado que inclua a administração a um sujeito que necessite de um tal tratamento, de uma dose eficaz de um ou mais compostos consoante a invenção, ou de sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico deles.

Noutro aspecto ainda da invenção, proporciona-se um ou mais dos compostos consoante a invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou de evitar uma doença ou um estado.

Em concretizações não limitativas, os compostos da invenção têm uma ou mais actividades seleccionadas de entre actividade antiparasítica (por exemplo contra um endoparasita e/ou um ectoparasita, tal como, *Haemonchus contortus*), actividade antibiótica (por exemplo contra *Bacillus subtilis*), actividade antiprotozoários (por exemplo contra *Giardia* sp. Portland), actividade citotóxica (por exemplo contra um carcinoma de células basais e/ou um carcinoma de células escamosas e/ou um melanoma e/ou um fibro-sarcoma e/ou um mieloma murino, e/ou actividade antitumoral (por exemplo contra uma leucemia, um melanoma, um cancro da próstata, um cancro da mama, um cancro dos ovários e/ou outros tumores sólidos), actividade anti-inflamatória ou imuno-supressora e/ou actividade pesticida.

Num aspecto da invenção, proporciona-se um composto da invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou de evitar uma infecção bacteriana, o qual inclui administrar-se a um sujeito um composto da invenção ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

E concretizações preferidas, o composto com a fórmula (I) e a fórmula (II), é um de entre EBI-23, EBI-24 e EBI-25.

A infecção bacteriana pode ser provocada por bactérias Gram-positivas ou por bactéria Gram-negativas, em particular por bactérias Gram-positivas, incluindo

bactérias dos Géneros *Bacillus* (por exemplo *B. subtilis*, *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. firmis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. coagulans*, *B. pantothenicus*, *B. alvei*, *B. brevis*, *B. circulans*, *B. laterosporus*, *B. macerans*, *B. polymyxa*, *B. stearothermophilus*, *B. thuringiensis*, *B. sphaericus*, *Staphylococcus* (por exemplo *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*), *Streptococcus* (por exemplo *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. equisimilis*, *S. equi*, *S. zooepidemicus*, *S. anginosus*, *S. salivarius*, *S. milleri*, *S. sanguis*, *S. mitior*, *S. mutans*, *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. bovis*, *S. equinus*, *S. uberis*, *S. avium*), *Acrococcus*, *Gemella*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Kurthia*, *Lactobacillus*, *Erysipelothrix*, *Arachnia*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Rothia*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Nocardia*, *Mycobacterium*.

Noutro aspecto da invenção proporciona-se um composto da invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou de evitar uma infecção parasítica, que inclua administrar-se a um sujeito um composto da invenção ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Em concretizações preferidas, o parasita é um helminthe (verme), em particular nematodes, trematodes e cestodes, em particular *Haemonchus contortus*, *Trichinella spiralis*, *H. placei*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Mecistocirrus digitatus*,

Trychostrongylus axei, *Trichuris trichiura*, *T. vulpis*, *T. campanula*, *T. suis*, *T. ovis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *B. phlebotomum*, *Oesophagostomum columbianum*, *O. radiatum*, *Cooperia curticei*, *C. punctata*, *C. oncophora*, *C. pectinata*, *Strongyloides papillosus*, *Chabertia ovina*, *Ancylostoma duodenale*, *A. braziliense*, *A. tubaeforme*, *A. caninum*, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *E. gregorii*, *Ascaris lumbricoides*, *Paragonimus Westermani*, *Clonorchis sinensis*, *Fasciola hepatica*, *Taenia solium*, *T. saginata*, *Capillaria aerophila*, *Necator americanus*, espécies do género *Trichuris*, *Baylisascaris*, *Aphelenchoides*, *Melioidogyne*, *Heterodera*, *Globodera*, *Nacobbus*, *Pratylenchus*, *Ditylenchus*, *Xiphinema*, *Longidorus*, *Trichodorus*, *Nematodirus*.

Nesta concretização, incluem-se nos compostos preferidos o EBI-23 e o EBI-24.

Noutro aspecto ainda da invenção, proporciona-se um composto da invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou de evitar uma patologia proliferativa de células, que inclua administrar-se a um sujeito um composto da invenção ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Numa concretização preferida, a patologia proliferativa de células é um cancro, em particular quando o cancro for seleccionado de entre leucemia, melanoma, cancro da próstata, cancro da mama, cancro dos ovários,

cancro de células basais, carcinoma de células escamosas, fibro-sarcoma, cancro do cólon, cancro do pulmão, um neoplasma e outros cancros com tumores sólidos.

Nesta concretização, incluem-se nos compostos preferidos o EBI-23, o EBI-24, o EBI-25 e o EBI-42.

A invenção presente também contempla a utilização de compostos da invenção, ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, numa combinação de terapias, tal como a administração dos compostos da invenção ou dos seus sais aceitáveis do ponto de vista farmacêutico em conjunto com a submissão do sujeito a outros agentes ou procedimentos que são úteis no tratamento de patologias proliferativas de células tais como tumores. Por exemplo, podem administrar-se os compostos da invenção em combinação com outros fármacos quimioterapêuticos, ou com outros tratamentos tais como a radioterapia. Incluem-se nos agentes quimioterapêuticos adequados, sem que eles se limitem a estes, ciclofosfamida, doxorubicina, fosfato de etoposido, paclitaxel, topotecan, camptotecinas, 5-fluorouracilo, tamoxifene, estaurosporina, avastina, erbitux, imatinib e vincristina. Os compostos da invenção podem ser administrados em simultâneo, em separado ou sequencialmente com o fármaco quimioterapêutico.

Noutra concretização ainda da invenção presente, proporciona-se um composto da invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização

num método de tratar ou de evitar uma infecção a protozoários, que inclua administrar-se a um sujeito um composto da invenção ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Numa concretização preferida, a infecção a protozoários é seleccionada de entre *Giardia* spp., *Trichomonas* spp., tripanossomíase africana, disenteria amíbian, babesiose, disenteria balantídica, doença de Chagas, coccidiose, malária e toxoplasmose, em particular infecções por *Giardia* spp. e *Trichomonas* spp..

Nesta concretização, incluem-se nos compostos preferidos o EBI-23, o EBI-24 e o EBI-25.

Noutro aspecto ainda da invenção presente, proporciona-se uma utilização de um composto da invenção, ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, no fabrico de um medicamento para tratar ou para evitar uma infecção bacteriana, uma infecção parasítica, uma infecção a protozoários ou uma patologia proliferativa de células.

Noutro aspecto ainda da invenção presente, proporciona-se um composto da invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou para evitar uma patologia inflamatória, que inclua administrar-se a um sujeito um composto da invenção ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

Numa concretização preferida, a patologia inflamatória é uma inflamação geral, a artrite reumatóide, a colite, ou uma patologia associada a um sistema imunitário em funcionamento deficiente, tal como uma patologia auto-imune. Numa concretização preferida, o composto da invenção é capaz de imunomodular, em particular de imuno-suprimir. Os compostos da invenção são também úteis a título de agente imuno-supressores, nos transplantes de órgãos.

Se pretender significar qualquer sujeição a uma qualquer teoria, nos compostos talhienona de uma espécie que é uma cetona insaturada em alfa-beta, susceptível à substituição nucleófila com tióis proteicos reactivos, é paralela à estrutura reactiva e potencialmente às propriedades farmacológicas, do ácido etacrínico. Este último composto inibe a glutathione transferase e outras proteínas sensíveis a tióis, potencia agentes contra o cancro tais como a radiação ionizante devido à diminuição do conteúdo em tióis, e é utilizado clinicamente a título de diurético. O ácido etacrínico também inibe o caminho de sinalização pró-inflamatório NF-kappa B, incluindo a inibição da secreção dos mediadores pró-inflamatórios IL-6, IL-10, óxido nítrico, e HMGB1 dos macrófagos (Killeen et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2006, 316:1070-9).

Os compostos da invenção são uma classe estrutural preferida porque muitas variações estruturais na cauda hidrofóbica podem conferir um potencial para uma gama

de actividades biológicas, na dependência do microambiente do local de ligação à proteína. Por exemplo, o ácido etacrínico necessitava de uma concentração 10 vezes superior do que o EBI-23, para conseguir uma paragem celular, e não demonstrava qualquer selectividade contra células tumorais.

Noutro aspecto ainda da invenção, proporciona-se um composto da invenção, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de diurese, que inclua administrar-se a um sujeito um composto de acordo com a invenção ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico.

A invenção também proporciona a utilização de um composto da invenção ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico no fabrico de um medicamento diurético.

O termo "sujeito", tal como se utiliza neste documento, inclui seres humanos, primatas, gado (por exemplo ovinos, suínos, bovinos, equinos, asnos), animais de testes laboratoriais (por exemplo murganhos, coelhos, ratos, cobaias), animais de companhia (por exemplo cães, gatos), pássaros (por exemplo galináceos, patos, gansos, papagaios, cacatuas, pombos, tentilhões, aves de rapina, ratites, codornizes, canários), animais bravios em cativeiro (por exemplo raposas, cangurus, veados) e répteis (por exemplo lagartos e cobras). Preferivelmente, o sujeito é um ser humano, um animal de companhia, gado ou um

animal de teste laboratorial. Ainda mais preferivelmente, o sujeito é um ser humano, um animal de companhia ou gado.

Uma "quantidade eficaz" significa uma quantidade necessária pelo menos em parte para se conseguir a reacção pretendida, ou para atrasar o início de, ou inibir a progressão de, ou parar por completo, a manifestação ou o desenvolvimento de um estado específico que se esteja a tratar. Esta quantidade varia dependendo do estado de saúde e físico do indivíduo que se vai tratar, do grupo taxonómico a que o indivíduo a tratar pertença, do grau de protecção pretendido, da formulação da composição, da avaliação do estado de saúde, e de outros factores relevantes. É de esperar que esta quantidade varie adentro de uma gama relativamente larga que possa ser determinada através de ensaios de rotina. Uma quantidade eficaz em relação a um paciente humano, por exemplo, pode situar-se na gama de entre cerca de 0,1 ng por kg de massa corporal, e 1 g por kg de massa corporal, por dosagem. A dosagem é preferivelmente de entre 1 µg e 1 g por kg de massa corporal e por dosagem, tal como na gama de entre 1 mg e 1 g por kg de massa corporal por dosagem. Numa concretização, a dosagem encontra-se na gama de entre 1 mg e 500 mg por kg de massa corporal por dosagem. Noutra concretização, a dosagem encontra-se adentro da gama de 1 mg a 250 mg por kg de massa corporal por dosagem. Noutra concretização ainda, a dosagem encontra-se na gama de entre 1 mg e 100 mg por kg de massa corporal por dosagem, tal como até 50 mg por kg de massa corporal por dosagem. Noutra concretização ainda, a

dosagem encontra-se adentro da gama de 1 µg e 1 mg por kg de massa corporal por dosagem. Os regimes de dosagem podem ser ajustados para proporcionar a reacção terapêutica óptima. Por exemplo, podem administrar-se diversas doses parciais ao dia, por semana, mensalmente ou a outros intervalos de tempo adequados, ou pode diminuir-se a dose proporcionalmente consoante a indicação proporcionada pelas exigências da situação.

As referências feitas neste documento a "tratamento" e a "profilaxia" devem ser consideradas adentro dos seus contextos mais vastos. O termo "tratamento" não implica necessariamente que um sujeito seja tratado até ter uma recuperação total. De forma semelhante, "profilaxia" não significa necessariamente que o sujeito não venha a contrair um estado de doença. Portanto, o tratamento e a profilaxia incluem melhorar os sintomas de um determinado estado ou evitar ou de outro modo diminuir o risco de se desenvolver um estado específico. O termo "profilaxia" pode ser considerado como diminuindo a severidade ou a manifestação inicial de um estado específico. O "tratamento" também pode diminuir a severidade de um estado existente.

Noutro aspecto da invenção, os compostos da invenção são adequados para utilização a título de pesticidas. A invenção proporciona também portanto uma composição pesticida que inclui um composto da invenção ou um seu sal aceitável de um ponto de vista farmacêutico,

agrícola ou como pesticida, bem como um veículo aceitável de um ponto de vista farmacêutico, agrícola ou num pesticida.

A composição pesticida pode assumir a forma de um concentrado emulsionável, de um produto capaz de fluir, de um pó molhável, de um pó solúvel, de uma solução, de um aerossol, de uma poeira, de grânulos ou de um isco. Um especialista na formulação de composições pesticidas será capaz de preparar estas formulações.

Incluem-se nos veículos adequados para composições pesticidas, sem que a estes eles se limitem, óleos, em particular óleos provenientes do petróleo, emulsionantes, solventes tais como a água ou hidrocarbonetos, tensioactivos, componentes de aspersões de aerossóis tais como os CFC, talco ou argila.

Noutro aspecto da invenção, proporciona-se um composto da invenção, aceitável ou um seu sal de um ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de controlar as pestes num sujeito humano ou animal infestado com a peste.

Noutro aspecto ainda da invenção, proporciona-se um método de controlar pestes num ambiente agrícola, doméstico ou industrial, infestados com a peste, que inclua aplicar-se ao ambiente uma quantidade eficaz de um composto

da invenção ou de um seu sal aceitável para utilização em agricultura ou como pesticida.

A peste é preferivelmente um insecto, em particular moscas, escaravelhos, gafanhotos, cigarras, borboletas e traças, bem como as suas larvas ou ninfas, em particular as moscas (*Diptera*) tais como a mosca doméstica, pulgas, piolhos, carraças, mosquitos, *gnats* e *midges*.

Em algumas concretizações, a peste infesta plantas. Incluem-se nos exemplos dessas pestes, sem que se limitem a, *Acyrtosiphon kondoi* (pulgão azul-verde), *Acyrtosiphon pisum* (pulgão da ervilha), *Agrotis* spp. (*cutworm*), *Agrypnus variabilis* (verme da cana de açúcar), *Anoplognathus* spp. (escaravelhos do natal), *Aphodius tasmaniae* (escaravelho com cabeça negra dos pastos), *Austroasca alfalfae* (cigarrinha da luzerna), *Bathytricha truncate* (brocas do caule da cana-de-açúcar e do milho), *Bemisia tabaci* (mosca-branca), *Brachycaudus helichrysi* (pulgões *leaf curl plum aphid*), *Brevicoryne brassicae* (pulgões das couves), *Bruchophagus roddi* (vespa da semente da luzerna), *Bruchus pisorum* (brocas das ervilhas), *Bryobia* spp. (ácaro *bryobia*), *Ciampa arletaria* (traças *brown pasture looper*), *Chortoicetes terminifera* (praga de gafanhotos Australian), *Chrysodeitis argentifera* (traça do tabaco), *Chrysodeitis eriosoma* (traça verde), *Contarinia sorghicola* (mosquito do sorgo), *Deroceras* spp. (lesmas), *Diachrysia oricalcea* (traça da soja), *Etiella behrii* (traça da semente de luzerna), *Frankliniella schultzei* (tripes do

tomate), *Graphognathus leucoloma* (gorgulho com franja branca), *Halotydeus destructor* (traça da terra com pernas vermelhas), *Hednota pediônoma* (verme rede dos pastos), *Helicoverpa armigera* (lagarta das espigas), *Helicoverpa punctigera* (burgo nativo), *Helix* spp. (caracóis), *Heteronychus arator* (escaravelho negro Africano), *Leucania convecta* (lagarta do milho), *Lipaphis erysimi* (ácaro do nabo), *Listroderes difficilis* (gorgulho dos vegetais), *Melanacanthus scutellaris* (insecto castanho do feijão), *Merophyas divulsana* (enrolador de folhas de luzerna), *Myzus persicae* (ácaro verde do pêssago), *Nala lividipes* (bichacadeira preta do campo), *Mythimna convector* (lagarta do milho), *Nezara viridula* (percevejo verde), *Nysius vinitor* (rutherglen bug), *Nysius clevelandensis* (grey cluster bug), *Oncopera rufobrunnea* (underground grass grub), *Orondina* spp. (falso verme-amarelo), *Othnonius batesi* (escaravelho negro do solo), *Penthaleus major* (ácaro azul da aveia), *Persectania ewingii* (lagarta do sul), *Petrobia lateens* (ácaro castanho do trigo), *Pieris rapae* (borboleta branca da couve), *Piezodorus hybneri* (redbanded shield bug), *Plutella xylostella* (cabbage moth/diamondback moth), *Rhopalosiphum maidis* (afídio do milho), *Sericesthis* spp. (small brownish cockchafer), *Sitona discoideus* (sitona weevil), *Sminthurus viridis* (pulga da luzerna), *Spodoptera exigua* (lagarta pequena), *Spodoptera letura* (lagarta aglomerada), *Spodoptera mauritia* (lagarta da relva), *Stomopteryx simplexella* (traça da soja), *Tetranychus ludeni* (ácaro do feijão), *Tetranychus urticae* (ácaro com dois pontos), *Therioaphis trifolii* f. *maculata* (afídio ponteadado

da luzerna), *Thrips tabaci* (tripes cebola), *Thrips imaginis* (tripes em placa), *Zizina labradus* (borboleta azul da relva), *Zygrita diva* (rosca coroa da luzerna).

Noutras concretizações, as pestes infestam sujeitos e/ou ambientes que não sejam as plantas. Incluem-se nos exemplos destas pestes, sem que se limitem a estes, piolhos, formigas incluindo *Camponotus* spp., *Lasius alienus*, *Acanthomyops interjectus*, *Monomorium pharaonis*, *Solenopsis molesta*, *Tetramorium caepitum*, *Monomorium minimum*, *Prenolepts imparis*, *Formica exsectoides*, *Iridomyrmex pruinosus*, *Cremastogaster lineolata*, *Tapinoma sessile*, *Paratrechina longicornis*, baratas, mosquitos, percevejos incluindo *Leptoglossus occidentalis*, *Acrosternum hiare*, *Chlorochroa sayi*, *Podius maculiventris*, *Murgantia histrionica*, *Oncopeltus fasciatus*, *Nabis alternatus*, *Leptopterna dolabrata*, *Lygus lineolaris*, *Adelpocoris rapidus*, *Poecilocapsus lineatus*, *Orius insidiosus*, *Corythucha ciliata*, abelhas, vespas, aranha viúva negra, piolho de livro, insectos boxelder, aranha castanha reclusa, traças de roupas incluindo *Tineola* spp., *Tinea* spp., *Trichophaga* spp., escaravelhos dos tapetes, centopeias, ácaros dos trevos, moscas agregadas e da cara 'cluster and face flies', escaravelhos dos cigarros e das drogarias, grilos incluindo *Acheta* spp., *Gryllus* spp., *Gryllus* spp., *Nemobius* spp., *Oecanthus* spp., *Ceuthophilus* spp., *Neocurtilla* spp., pernilongos, moscas domésticas, moscas dos esgotos, earwigs, moscardo Europeu, pulgas incluindo *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*,

Ctenocephalides spp., *Nosopsyllus fasciatus*, *Nosopsyllus* spp., *Xenopsylla cheopis*, *Xenopsylla* spp., *Cediopsylla simplex*, *Cediopsylla* spp., fungus gnats, escaravelhos do chão, escaravelhos de peles e de despensas, moscas de cavalo/bovino/veado/suíno, ácaros da poeira caseira incluindo *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides* spp., ácaros incluindo *Ornithonyssus sylviarum*, *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bacoti*, *Liponyssoides sanuineus*, *Demodex folliculorum*, *Sarcoptes scabiei hominis*, *Pyemotes tritici*, *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Dermatophagoides* sp., piolhos de humanos, moscas humpbacked, traça de farinhas indiana, centopeias, vespas mud daubers, multicolored asian lady beetle, broca caseira, mosquitos e moscas de corvos, cigarras periódicas e de "dia de cão", carunchos, brocas de cabeça redonda e de cabeça chata, pseudoescorpiões, psilídeos ou piolhos de plantas, escaravelhos 'spider beetles', aranhas de saco, sap beetles, térmitas, tisanuros e firebrats, porcas saras e bichos-de-conta, colêmbolos, lagartas stinging hair, tarântulas, moscas do vinagre, vespas e moscardos, broca do cais, baratas da mata, vespas de manto amarelo, escaravelhos fungos, gorgulhos de sementes, escaravelhos com dentes de serra e de grãos, escaravelhos confundidos e de vermelhos da farinha, gorgulhos do celeiro e do arroz, traça indiana, lagartas da farinha, moscas de esgoto, carraças incluindo *Dermacentor* spp., *Ixodes* spp., *Rhipicephalus* spp., abelhas carpinteiras, pulgas, percevejos predadores, piolhos humanos, bichos de pé,

percevejos mistério, moscardo europeu, lagartas cabelo urticantes, carraça de pernas pretas, moscas de maio, moscas negras, lagartas pelo de cavalo, grilos, lagarta do sobreiro, gafanhotos, mosquitos, mosquitos, gafanhotos, mosquitos incluindo *Aedes albopictus*, *Aedes Canadensis*, *Aedes triseriatus*, *Aedes tivittatus*, *Aedes vexans*, *Aedes* spp., *Anopheles quadrimaculatus*, *Anopheles* spp., *Coquillettidia perturbans*, *Coquillettidia* spp., *Culex pipiens*, *Culex* spp.

Os especialistas da técnica podem determinar uma quantidade eficaz em agricultura utilizando métodos conhecidos, que tipicamente serão de entre 5 g e 500 g por hectare.

O ambiente que se encontra infestado por uma peste pode ser um ambiente agrícola, um ambiente doméstico ou um ambiente industrial.

Tal como se utiliza neste documento, o termo "ambiente agrícola" refere-se a um ambiente no qual se leva a cabo agricultura, por exemplo aonde se cultivem culturas, árvores, e outras plantas com importância comercial. O ambiente de agricultura inclui não só a planta ela própria, mas também o solo e a área em torno das plantas enquanto crescem, bem como as áreas nas quais se possam armazenar partes de plantas, por exemplo, sementes, grãos, folhas ou frutos.

Um "ambiente doméstico" inclui ambientes que sejam habitados por seres humanos ou animais, e que podem incluir ambientes interiores, tais como tapetes, cortinas, armários, camas e o ar dentro de uma casa. Um "ambiente industrial" inclui ambientes que são utilizados com objectivos industriais tais como fabrico, armazenagem ou comercialização de produtos. Incluem-se nos ambientes industriais os armazéns, instalações de fabrico, lojas, instalações de armazenagem e outros semelhantes.

Neste aspecto, incluem-se nos compostos preferidos da invenção o EBI-24 e o EBI-25.

A invenção proporciona também a utilização de um composto da invenção a título de agro-químico.

Portanto, o composto da invenção pode ser formulado de um modo adequado para ser aliciado sobre culturas, pastos, florestas e outros ambientes de agricultura, preferivelmente para aliviar e/ou acabar com uma ou mais pestes de insectos.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

FIG. 1: Diagrama de fluxos para a extracção com solventes inicial de compostos com a fórmula (I);

FIG. 2A: Diagrama de fluxos mostrando as extracções entre solventes para o concentrado aquoso obtido da Fig, 1;

FIG. 2B: Diagrama de fluxos mostrando as extracções entre solventes para o resíduo em acetato de etilo obtido da Fig. 1;

FIG. 3: Diagrama de fluxos ilustrando os passos na cromatografia HPLC preparativa;

FIG. 5: Representa graficamente o tratamento de células de melanoma B16 com EBI-23 em murganhos C57BL/6;

FIG. 6: Representa graficamente o tratamento de tumores da próstata DU145 em murganhos nus tal como a partir do instante do início do tratamento; e

FIG. 7: Representa graficamente o tratamento de tumores da próstata DU145 em murganhos nus, tal como se ilustra a partir do instante da injeção de células de tumor.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA

DESPISTE DE ACTIVIDADES

Testaram-se amostras obtidas por extracção com solventes de *Litsea leefeana* (epicarpo e mesocarpo), *Cinnamomum laubatii* (semente) *Cryptocarya lividula* (epicarpo e mesocarpo), contendo compostos com a fórmula (I) e com a fórmula (II), para se determinar a sua actividade terapêutica por despiste recorrendo a uma série de ensaios biológicos de Tecnologias de Despiste Microbiano, nomeadamente os NemaTOX, ProTOX, MycoTOX, CyTOX, DipteraTOX e TriTOX. Para facilitar a compreensão

descrevem-se resumidamente estes ensaios biológicos antes de se descreverem as metodologias de extracção e de elucidação da estrutura química.

NemaTOX (referido em alternativa, neste documento, como Ne) é um ensaio biológico anti-helmíntico, aplicável a quaisquer nemátodos parasitas com estágios do ciclo vital envolvendo vida livre, e pode ser utilizado como metodologia de despiste para detectar actividade e definir o espectro de espécies dos compostos contra nemátodos parasitas e para examinar o impacto de resistência previamente existente contra outras classes de anti-helmínticos, quanto à sua potência. Utilizou-se para este ensaio *Haemonchus contortus*.

Neste ensaio determina-se o efeito sobre o desenvolvimento das larvas pelo método descrito por Gill *et al.* (1995) Int. J. Parasitol. **25**: 463-470. Em suma, neste ensaio aplicaram-se ovos de nematode sobre a superfície de uma matriz em agar contendo a amostra em teste, e deixaram-se desenvolver até ao estágio L3, infectivo (6 dias). Nesta altura anotava-se o estágio de desenvolvimento larvar que se havia atingido e quaisquer características fora do habitual (deformidade, paralisia, toxicidade), através de um exame ao microscópio.

ProTOX, (referido alternativamente neste documento como Bs) é um ensaio biológico antibacteriano, largamente aplicável à maior parte das bactérias aeróbicas

e anaeróbicas. O ensaio biológico apresenta uma base de agar em fase sólida na qual se incorporou o composto em teste em conjunto com um cromogénico. À medida que as bactérias se multiplicam no poço, o cromogénico é metabolizado a partir da forma azul, num processo em dois passos, a um composto incolor. Os compostos que apresentem uma actividade antibacteriana potente inibem o metabolismo bacteriano do cromogénico, enquanto os compostos bacteriostáticos induzem um metabolismo limitado, tal como é indicado pela coloração intermédia, cor-de-rosa. O ProTOX é largamente aplicável a uma gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, tanto em condições aeróbicas como microaerofílicas. Levaram-se a cabo os ensaios do ProTOX recorrendo a *Bacillus subtilis*.

Em suma, no ProTOX, aplicaram-se as bactérias (caldo com 24 horas) sobre a superfície de uma matriz de agar contendo a amostra em teste, e deixaram-se crescer durante 48 h. Monitorizou-se o ensaio às 24 e às 48 horas e anotaram-se os poços activos. Os antibióticos conhecidos proporcionaram transições coradas consistentes, que eram dependentes da sua concentração e do tempo. Estes perfis proporcionaram um guia importante para a primeira fase da constatação da existência de características interessantes. Em geral, os compostos activos como bactericidas não provocam alterações de cor nem às 24 nem às 48 horas, enquanto os compostos activos como bacteriostáticos denotam actividade às 24 horas mas menor potencia ou inactividade às 48 horas.

MycoTOX (referido alternativamente neste documento como Tr) é um ensaio biológico não cromogénico utilizado para se detectar actividade contra fungos filamentosos patogénicos de plantas e de animais. O ensaio biológico recorre a uma base sólida em agar, na qual se incorporou um composto em teste. Uma vez que os perfis de crescimento dos fungos filamentosos são fáceis de ver sobre a superfície do agar, determinam-se por exame visual com facilidade, quantificando-se, a extensão do crescimento do micélio, a esporulação (caso seja relevante para a espécie que se investiga) e as alterações de cor à maturação. Os compostos com uma actividade antifúngica potente inibem a germinação dos esporos de fungos e proporcionam um forte contraste face aos poços que contenham compostos inactivos com o crescimento excessivo dos fungos. Concentrações menores de tais compostos, ou compostos que exibam um modo de actuação mais fungistático, são revelados por menores crescimentos do micélio, da extinção da esporulação, ou diminuições de outros aspectos característicos da maturação de colónias.

O MycoTOX envolve um fungo (suspensão de esporos ou fragmentos de micélio) aplicado sobre a superfície de uma matriz em agar contendo o produto químico em teste, deixando-se crescer durante um período de até uma semana (consoante a espécie). Monitorizou-se o ensaio em duas alturas diferentes para se identificarem as fases chave do seu desenvolvimento ao longo do ciclo vital (por exemplo crescimento do micélio e extinção da esporulação),

anotando-se os poços activos. As alturas em que se levaram a cabo os exames das culturas dependiam da espécie de fungo em investigação.

Levaram-se a cabo os ensaios MycoTOX utilizando *Trichophyton rubrum*.

CyTOX (referido alternativamente neste documento como Cy) é um ensaio biológico envolvendo uma placa de microtitulação, utilizado para identificar potenciais activos antitumorais. CyTOX é um ensaio biológico cromogénico com uma larga aplicação a uma larga gama de linhas celulares, tumorais e não tumorais. As transições coradas no CyTOX são proporcionais ao metabolismo celular e à produtividade, e portanto apresentam perfis úteis para se reconhecer e para suportar a classificação diagnóstica dos activos, enquadrada adentro dos conhecimentos classificados para os activos citotóxicos e antitumorais.

O CyTOX recorre a um meio líquido no qual se incorporou o composto em teste em conjunto com um novo cromogénico. À medida que as células crescem e se dividem, o cromogénico é metabolizado virando de roxo, num processo em um único passo, a um metabolito incolor. O CyTOX é levado a cabo em rotina recorrendo à linha de células de mieloma murino NS1 como guia para a toxicidade em relação a células de mamíferos.

Em resumo, no CyTOX aplicaram-se as células nos meios contendo o composto químico em teste e deixou-se crescer durante 72 horas. Monitorizou-se os ensaios às 24, 48 e 72 horas, identificando-se os poços activos.

DipteraTOX

O **DipteraTOX** é também referido neste documento como DipG, DipP e DipH. O DipG representa ausência de alimentação da larva. O DipP representa ausência de formação das pupas e o Dip H representa ausência de eclosão das moscas. Um valor de A no DipG, no Dip P ou no Dip H representa um composto muito activo, e um valor de P representa um activo. No DipteraTox aplicam-se os ovos das moscas sobre a superfície de uma matriz em agar contendo 250 µg por mL do químico em teste, e deixam-se eclodir os ovos, desenvolver-se e atingir o estado de pupa, durante um período de duas semanas. Monitoriza-se o ensaio em duas alturas diferentes para se determinar a extensão da actividade de pastagem da matriz em agar na Semana 1 bem como a presença de moscas adultas na Semana 2. Classifica-se a actividade qualitativamente, atribuindo-se as classificações de activo ou inactivo nos Dias 7 e 14, respectivamente para se denotar um falhanço da alimentação e um falhanço do desenvolvimento até ao estágio de adultos. Utilizou-se a *Drosophila melanogaster* para este ensaio.

TriTOX

O TriTOX, (referido em alternativa, neste documento, como Gi) é um ensaio biológico cromogénico com base numa placa de microtitulação, para o despiste da actividade contra protozoários patogénicos, anaeróbicos/microaerofílicos, por exemplo *Giardia* spp. e *Trichomonas* spp. Os ensaios biológicos são levados a cabo em condições anaeróbicas e recorrem a cromogénicos que são específicos para as espécies. Determinam-se as concentrações inibidoras mínimas (valores aproximados de LD₉₉) recorrendo ao método seguinte: diluem-se em série a ½ as soluções de partida dos compostos desconhecidos, para se obterem 12 concentrações numa gama de 1 para 2.048. Aplicam-se alíquotas de cada uma destas concentrações nos poços de placas de microtitulação com 96 poços, e dilui com os meios de cultura. Classificam-se as substâncias em teste como activas ou inactivas com base na alteração de cor do cromogénico. Anota-se a menor concentração à qual o composto é activo como sendo a menor concentração inibidora (MIC). Além disto, leva-se a cabo uma inspecção ao microscópio para se identificarem quaisquer características de alteração morfológicas que possam ser consistentes com um tipo de toxicidade, e portanto com um modo de actuação. Utilizaram-se para este ensaio *Giardia* spp..

Para que se compreenda facilmente esta invenção e se possa conduzir a efeitos práticos, serão ora descritas

concretizações específicas preferidas, recorrendo aos exemplos não limitativos que se seguem.

EXEMPLO 1

MÉTODOS

Extracção

Recolheram-se e submeteram-se ao processo de extracção que adiante se descreve, amostras de biomassa, incluindo sementes, folhas e casa, de *Litsea leefeana* (epicarpo e mesocarpo), *Cinnamonium laubatii* (semente) e *Cryptocarya lividula* (epicarpo e mesocarpo). Estas amostras e as fracções delas obtidas são referidas nos exemplos adiante como EB 116, EB 115 e EB 77 para as amostras e subsequentes fracções, respectivamente da *Litsea leefeana*, da *Cinnamonium laubatii* e da *Cryptocarya lividula*.

Fase 1- Extracção

Cobriu-se bem a biomassa com metanol e agitou-se (~2 L, de um dia para o outro) seguindo-se uma filtração para se obter o primeiro extracto. Repetiu-se mais uma vez este processo (~2 L, ~5 horas) para se obter o segundo

extracto. Examinou-se cada um dos extractos por HPLC analítico e ensaiou-se biologicamente (FIG. 1). Misturaram-se os extractos sequenciais em metanol e removeu-se o solvente num evaporador rotativo para se obter um concentrado aquoso.

Fase 2 - Extracção com Solvente

Diluiu-se o concentrado aquoso proveniente da extracção com água, a 400 mL. Obtiveram-se amostras deste produto (código 'Cr') para HPLC e ensaio biológico, depois agitou-se com igual volume de acetato de etilo (EtOAc) numa ampola de decantação e separaram-se as fases individuais, EtOAc₁ e H₂O₁. Note-se que por vezes se formava um precipitado que era insolúvel em qualquer uma das fases. Separou-se este precipitado por filtração e dissolveu-se em metanol (código 'Me'). Extraíu-se a fase inferior aquosa (H₂O₁) mais duas vezes com acetato de etilo para se obterem EtOAc₂ e EtOAc₃ em conjunto com a fase remanescente H₂O₃. Examinaram-se as sub-amostras de todas as fases por HPLC analítica e por ensaio biológico (FIG. 2A).

Misturaram-se os extractos sequenciais em acetato de etilo e removeu-se o solvente num evaporador rotativo, para se obter um resíduo que se pesou. Por vezes, uma HPLC analítica indicava que o extracto em EtOAc continha quantidades consideráveis de materiais extremamente lipofílicos ($T_R > 9$ minutos). Para se remover este material

levou-se a cabo uma partição entre hexano:metanol:água a 10:9:1 (FIG. 2B).

Fase 3 - Fraccionamento por HPLC Preparativa

Investigou-se o resíduo da partição entre solventes por HPLC analítica para se encontrarem as condições óptimas de cromatografia para a separação dos metabolitos presentes. Utilizando estas condições óptimas, fraccionou-se o resíduo (~2 g) por HPLC preparativa em fase reversa (C18, injeção única), em 100 fracções (FIG. 3). Examinaram-se sub-amostras de todas as 100 fracções por HPLC analítica. Depois de se analisarem os vestígios por HPLC, consolidaram-se as 100 fracções em 20 a 30 conjuntos de fracções (conjuntos), algumas das quais podem ser puras a + do que 80 %. Pesaram-se estas fracções de conjuntos, submeteram-se a ensaios biológicos e examinaram-se por HPLC analítica.

Resumo da Partição com Solventes para EB116, EB115 e EB 77

As amostras de biomassa de *Litsea leefeana* (EB116), *Cinnamomum laubatii* (EB115), e *Cryptocarya lividula* (EB77) sofreram extracção e partição com solventes, utilizando as fases 1 e 2 descritas acima. A Tabela 1 resume as quantidades de material extractável

obtido depois da partição com solventes recorrendo a acetato de etilo.

Tabela 1: Massas após Partição dos Extractos com Acetato de Etilo

Amostra	Massa ¹	EtOAc ²	% Ext. ³	Coment. HPLC
EB116	780	32,8	4,2	Muito complexo [#]
EB115	902	39,6	4,4	Bom [%]
EB77	416	11,4	2,7	Excelente

¹Massa: Massa total da amostra em gramas de material de planta fornecido e utilizado para o estudo.

²EtOAc: Extractáveis em acetato de etilo.

³%Ext.: Extractáveis em acetato de etilo expressos em percentagem da massa total da amostra.

[#]0,6 g de precipitação de material durante a extracção com acetato de etilo.

[%]31,6 g de material precipitado durante a extracção com acetato de etilo.

HPLC Preparativa

Levou-se a cabo HPLC preparativa num sistema constituído por dois Cromatógrafos Preparativos em Fase Líquida Shimadzu LC-8A com um misturador estático, um Detector de Conjunto de Díodos Shimadzu SPD-M1 OAVP e um Controlador do Sistema Shimadzu SCL-10AVP. A coluna

utilizada tinha 50 x 100 mm (diâmetro x comprimento) e estava empacotada com C18 Platinum EPS (Alltech).

Dissolveram-se cerca de 2 gramas de material extraído com acetato de etilo em sulfóxido de dimetilo (4 mL) e submeteram-se a uma HPLC preparativa em condições que tipicamente eram de 60 mL/minuto com um gradiente de eluição de 30 % a 100 % de acetonitrilo/água ao longo de 20 minutos, e em seguida acetonitrilo durante 10 minutos. Recolheram-se cem fracções (20 mL), evaporaram-se sob azoto, e depois misturaram-se consoante os resultados da análise por HPLC.

Análise por UV

Os espectros de UV foram adquiridos durante a HPLC recorrendo ao Detector de Conjunto de Díodos Shimadzu SPD-M10AVP, tal como se mencionou acima.

Análise por RMN

Todos os espectros de RMN foram adquiridos em sulfóxido de dimetilo- d_6 e estão apresentados relativamente aos sinais residuais de sulfóxido de dimetilo, ou em clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) e estão apresentados relativamente aos sinais residuais de clorofórmio. Adquiriram-se espectros de RMN de ^1D , de ^1H e de ^{13}C [APT], respectivamente a 300 e a 75 MHz, num espectrómetro Varian Gemini 300BB (Palo Alto, CA, EUA). Os espectros 2D de RMN,

HSQC, HMBC, COSY e TOCSY, bem como um espectro de RMN de ^{13}C e de ^1H foram adquiridos num espectrómetro de RMN Bruker DRX600 (de 600 MHz).

Levou-se a cabo a análise dos dados de RMN utilizando os programas ACD/SpecManager e ACD/Structure Elucidator, ambos nas suas versões 6.0, da Advanced Chemistry Development, Inc. (Toronto, ON, Canadá).

Análise por Espectrometria de Massa por Electroaspersão (ES-MS)

Todos os espectros de massa de iões positivos por electroaspersão foram obtidos num equipamento Finnigan/Mat TSQ7000 LCMS/MS (San Jose, CA, EUA).

EXEMPLO 2

EB116: Extracção e Partição com Solventes

A extracção e a partição entre solventes de EB 116 proporcionou 780 g de material. Cada uma das fases da extracção e da partição com solvente foi testada quanto à sua actividade biológica recorrendo aos ensaios biológicos acima. Pode verificar-se na Tabela 2 que os extractos e as fases de acetato de etilo da partição com solvente apresentam, todas elas, elevada actividade Ne, Bs, Tr e Cy.

TABELA 2: Actividade dos Extractos e das Fracções de Partição com Solvente.

Amostra	Ne ⁴	Bs ⁴	Tr ⁴	Cy ⁴
EB116.PY1.7-Ext1	4	64	2	256
EB116.PY1.7-Ext2	16	128	8	1024
EB116.PY1.19-Cr	0	0	0	8
EB116.PY1.19-EtOAc ₁	64	2048	16	2048
EB116.PY1.19-EtOAc ₂	32	128	8	2048
EB116.PY1.19-EtOAc ₃	1	2	1	64
EB116.PY1.19-H ₂ O ₁	1	0	2	16
EB116.PY1.19-H ₂ O ₂	0	0	0	4
EB116.PY1.19-H ₂ O ₃	0	1	0	8
EB116.PY1.19-Me	0	0	0	0
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor, uma vez que não se atingiu o ponto final.				

Submeteram-se os extractos aquosos concentrados sucessivos a HPLC. A coluna utilizada foi uma coluna com 50 x 100 mm (diâmetro x comprimento) empacotada com C18 Platinum EPS (Alltech). Dissolveram-se cerca de 2 gramas de material extraído em sulfóxido de dimetilo (4 mL) e submeteram-se a uma HPLC preparativa cujas condições eram tipicamente de 60 mL/minuto com um gradiente de eluição de

30 % a 100 % de acetonitrilo/água ao longo de 20 minutos, e em seguida acetonitrilo durante 10 minutos.

Para os objectivos de comparação, a primeira fracção de acetato de etilo e a terceira fase aquosa foram analisadas por HPLC. Na terceira fase aquosa da terceira partição de solventes água/acetato de etilo havia poucos ou nenhuns compostos remanescentes com interesse.

EB116: Fraccionamento Preparativo por HPLC

De um modo semelhante ao descrito para a Fase 3 acima, misturaram-se as amostras da partição de EB116 com acetato de etilo como solvente, e em seguida isolaram-se compostos recorrendo a um aparelho de cromatografia HPLC preparativa.

Utilizou-se a HPLC preparativa para se produzirem 100 fracções. Misturaram-se fracções dependendo da concentração relativa de compostos, consoante indicado pelo cromatógrafo de HPLC preparativa.

Determinou-se a actividade biológica de cada amostra ou conjunto de fracções provenientes da HPLC preparativa utilizando o método de ensaios biológicos acima. Resumem-se os resultados adiante na Tabela 3.

TABLE 3: Actividade das Misturas de HPLC Preparativa.

Amostra	Massa⁵	Ne⁴	Bs⁴	Tr⁴	Cy⁴
EB116.LA2.139-1/12	64	1	0	0	4
EB116.LA2.139-13/14	15	0	0	0	4
EB116.LA2.139-15/16	2	0	0	2	8
EB116.LA2.139-17/21	19	0	0	0	4
EB116.LA2.139-22/26	21	0	0	0	16
EB116.LA2.139-27/31	37	1	0	0	32
EB116.LA2.139-32/33	29	4	2	0	256
EB116.LA2.139-34/35	29	1	1	0	32
EB116.LA2.139-36	1022	1	4	2	32
EB116.LA2.139-37	27	2	8	2	64
EB116.LA2.139-38/40	70	16	32	32	256
EB116.LA2.139-41/45	205	32	1024	32	1024
EB116.LA2.139-46/47	74	16	256	32	1024
EB116.LA2.139-48/50	146	16	126	64	512
EB116.LA2.139-51/56	287	64	2048	32	2048
EB116.LA2.139-57/58	120	16	512	8	2048
EB116.LA2.139-59/63	370	16	2048	4	2048
EB116.LA2.139-64/70	102	8	128	0	2048
EB116.LA2.139-71/80	53	0	2	0	2048
EB116.LA2.139-81/90	17	0	0	0	32
EB116.LA2.139-91/100	55	1	0	0	128

Amostra	Massa ⁵	Ne ⁴	Bs ⁴	Tr ⁴	Cy ⁴
⁴ LD ₅₀ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final.					
⁵ Massa em mg.					

EB115: Extracção e Partição Entre Solventes

A extracção partição entre solventes do EB115 proporcionou 902 g de material. Cada uma das fases de extracção e de partição entre solventes foi testada em termos da sua actividade biológica, recorrendo aos ensaios biológicos acima. Pode ver-se na Tabela 4 que os extractos e as fases em acetato de etilo na partição com solvente manifestavam todos uma elevada actividade Ne, Bs, Tr e Cy.

TABELA 4: Actividade dos Extractos e Partições por Solventes.

Amostra	Ne ⁴	Bs ⁴	Tr ⁴	Cy ⁴
EB115.PY1.6-Ext1	8	16	128	256
EB115.PY1.6-Ext2	8	16	128	256
EB115.PY1.18-Cr	1	0	4	8
EB115.PY1.18-EtOAc ₁	16	128	256	1024
EB115.PY1.18-EtOAc ₂	8	18	64	128
EB115.PY1.18-EtOAc ₃	0	0	8	8
EB115.PY1.18-H ₂ O ₃	1	0	4	8
EB115.PY1.18-Me	0	0	1	8
⁴ LD ₅₀ em µg/mL, calculado como massa do produto				

Amostra	Ne ⁴	Bs ⁴	Tr ⁴	Cy ⁴
químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final.				

Submeteram-se a HPLC os extractos aquosos concentrados sucessivos. Acoluna utilizada foi uma coluna com 50 x 100 mm (diâmetro x comprimento) empacotada com C18 Platinum EPS (Alltech). Dissolveram-se cerca de 2 gramas de material extraído em sulfóxido de dimetilo (4 mL) e submeteram-se a uma HPLC preparativa sendo as condições típicas de 60 mL/minuto com um gradiente de eluição de 30 % a 100 % acetonitrilo/água ao longo de 20 minutos, seguindo-se acetonitrilo durante 10 minutos.

Para os objectivos de comparação, a primeira fracção de acetato de etilo e a terceira fase aquosa foram analisadas por HPLC. Na terceira fase aquosa da terceira partição de solventes água/acetato de etilo havia poucos ou nenhuns compostos remanescentes com interesse.

EB115: Fraccionamento Preparativo por HPLC

De um modo semelhante ao descrito para a Fase 3 acima, misturaram-se as amostras da partição de EB115 com acetato de etilo como solvente, e em seguida isolaram-se compostos recorrendo a um aparelho de cromatografia HPLC preparativa.

Utilizou-se a HPLC preparativa para se produzirem 100 fracções. Misturaram-se fracções dependendo da concentração relativa de compostos, consoante indicado pelo cromatógrafo de HPLC preparativa.

Determinou-se a actividade biológica de cada amostra ou conjunto de fracções provenientes da HPLC preparativa utilizando o método de ensaios biológicos acima. Resumem-se os resultados adiante na Tabela 5.

TABELA 5: Actividade das Misturas de HPLC Preparativa.

Amostra	Massa⁵	Ne⁴	Bs⁴	Tr⁴	Cy⁴
EB115.LA2.138-1/13	44	1	0	8	4
EB115.LA2.138-14/21	9	0	0	0	0
EB115.LA2.138-22	2	0	0	0	0
EB115.LA2.138-23/28	12	0	0	0	2
EB115.1A2.138-29/33	29	0	0	4	16
EB115.1A2.138-34/36	22	0	0	4	16
EB115.LA2.138-37	45	1	0	16	32
EB115.LA2.138-38	151	4	8	32	512
EB115.LA2.138-39	88	0	2	32	512
EB115.LA2.138-40	70	4	4	32	256
EB115.LA2.138-41	64	0	16	64	512
EB115.LA2.138-42	56	0	8	32	256

Amostra	Massa ⁵	Ne ⁴	Bs ⁴	Tr ⁴	Cy ⁴
EB115.LA2.138-43	10	0	8	0	64
EB115.LA2.138-44/47	137	4	16	128	128
EB115.LA2.138-48/49	185	4	32	1024	128
EB115.LA2.138-50/52	148	16	16	1024	512
EB115.LA2.138-53/56	48	8	128	128	1024
EB115.LA2.138-57/60	130	0	32	32	1024
EB115.LA2.138-61/65	130	4	256	64	2048
EB115.LA2.138-66/70	16	2	32	0	128
EB115.LA2.138-71/80	16	0	2	0	128
EB115.LA2.138-81/90	5	0	0	0	4
EB115.LA2.138-91/100	12	0	0	0	8
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.					

EB77: Extracção e Partição entre Solventes

A extracção e a partição entre solventes do EB77 proporcionou 416 g de material. Testaram-se as diversas extracções e fases das partições entre solventes quanto às suas actividades biológicas, utilizando os ensaios biológicos acima. Pode ver-se da Tabela 6 que tanto os extractos como as fases em acetato de etilo da partição

entre solventes apresentavam elevadas actividades Ne, Bs, Tr e Cy.

TABELA 6: Actividade dos Extractos e Partições entre Solventes.

	Ne		Bs		Tr		Cy	
Amostra	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴
EB77.MG1.41-Ext1	4	440	64	27	16	110	256	6,8
EB77.MG1.41-Ext2	2	340	32	21	16	43	128	5,3
EB77.MG1.57-EtOAc ₁	64	140	512	17	256	34	2048	4,3
EB77.MG1.57-EtOAc ₂	1	250	4	62	4	62	32	7,7
EB77.MG1.57-EtOAc ₃	0	-	1	110	2	55	8	14
EB77.MG1.57-H ₂ O ₁	1	4200	0	-	2	2100	8	530
EB77.MG1.57-H ₂ O ₂	1	4200	0	-	2	2100	8	530
EB77.MG1.57-H ₂ O ₃	1	4300	0	-	0	-	8	530
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final.								

Submeteram-se a HPLC os extractos aquosos concentrados sucessivos. A coluna utilizada foi uma coluna com 50 x 100 mm (diâmetro x comprimento) empacotada com C18 Platinum EPS (Alltech). Dissolveram-se cerca de 2 gramas de material extraído em sulfóxido de dimetilo (4 mL) e submeteram-se a uma HPLC preparativa sendo as condições típicas de 60 mL/minuto com um gradiente de eluição de 30 %

a 100 % acetonitrilo/água ao longo de 20 minutos, seguindo-se acetonitrilo durante 10 minutos.

Para os objectivos de comparação, a primeira fracção de acetato de etilo e a terceira fase aquosa foram analisadas por HPLC. Na terceira fase aquosa da terceira partição de solventes água/acetato de etilo havia poucos ou nenhuns compostos remanescentes com interesse.

EB77: Fraccionamento por HPLC Preparativa

De um modo semelhante ao descrito para a Fase 3 acima, misturaram-se as amostras da partição de EB77 com acetato de etilo como solvente, e em seguida isolaram-se compostos recorrendo a um aparelho de cromatografia HPLC preparativa.

Utilizou-se a HPLC preparativa para se produzirem 100 fracções. Misturaram-se fracções dependendo da concentração relativa de compostos, consoante indicado pelo cromatógrafo de HPLC preparativa.

Determinou-se a actividade biológica de cada fracção ou conjunto de fracções provenientes da HPLC preparativa utilizando o método de ensaios biológicos acima. Resumem-se os resultados adiante na Tabela 5.

TABELA 7: Actividade das Misturas de HPLC Preparativa.

		Ne		Bs		Tr		Cy	
Amostra	Massa ⁵	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴
EB77.LA3.110-1/11	68,6	2	1100	0		4	540	32	67
EB77.LA3.110-12/13	11,7	0		0		0		4	92
EB77.LA3.110-14/15	12,7	0		0		0		4	99
EB77.LA3.110-16/22	28,0	0		1	880	1	880	128	6,8
EB77.LA3.110-23/26	40,7	0		1	1300	4	320	1024	1,2
EB77.LA3.110-27/28	22,6	0		8	88	256	2,8	512	1,4
EB77.LA3.110-29/33	68,9	2	1100	2	1100	64	34	1024	2,1
EB77.LA3.110-34/35	116,5	64	57	32	11	512	7,1	2048	1,8
EB77.LA3.110-36	46,2	32	45	32	45	512	2,8	1024	1,4
EB77.LA3.110-37	41,4	32	40	32	40	128	10	512	2,5
EB77.LA3.110-38	40,8	64	20	16	80	512	2,5	1024	1,2
EB77.LA3.110-39	36,6	32	36	32	36	512	2,2	1024	1,1
EB77.LA3.110-40	18,4	8	72	8	72	8	72	256	2,2
EB77.LA3.110-41/43	102,4	128	25	128	25	8	400	2048	1,6
EB77.LA3.110-44/45	87,6	128	21	256	11	8	340	1024	2,7
EB77.LA3.110-46/48	116,0	128	28	512	7,1	8	450	2048	1,8
EB77.LA3.110-49/51	94,3	256	12	512	5,8	8	370	2048	1,4
EB77.LA3.110-52	21,0	32	20	128	5,1	4	160	512	1,3
EB77.LA3.110-53	31,2	32	31	256	3,8	2	490	2048	0,48

		Ne		Bs		Tr		Cy	
Amostra	Massa ⁵	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴	Título	LD ₉₉ ⁴
EB77.LA3.110-54	37,0	64	18	128	9,0	2	580	2048	0,57
EB77.LA3.110-55	42,1	128	0	256	5,1	2	660	2048	0,64
EB77.LA3.110-56/58	142,7	256	17	1024	4,4	1	4500	2048	2.2
EB77.LA3.110-59/60	66,8	64	33	256	8,2	0		2048	1,0
EB77.LA3.110-61/62	23,5	16	46	64	11	0		1024	0,72
EB77.LA3.110-63/70	50,8	4	400	64	25	0		2048	0,77
EB77.LA3.110-71/80	11,5	0		0		0		64	5,6
EB77.LA3.110-81/90	8,9	0		0		0		64	4,3
E877.LA3.110-91/100	29,2	0		1	910	0		128	7,1
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.									

EXEMPLO 3**ELUCIDAÇÃO DA ESTRUTURA QUÍMICA****EBI-23**

Dissolveu-se em metanol a mistura de material semelhante (fracções 59-63, 370 mg) da separação por HPLC preparativo em gradiente, e submeteu-se a uma HPLC preparativa (a 10 mL/minuto com eluição isocrática por 55 %

água/acetonitrilo ao longo de 30 minutos, a través de uma coluna de 5 μm Phenomenex Luna C18(2) 20 x 100 mm).

Misturaram-se as fracções 27 a 32, concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se o produto resultante por espectroscopia UV, por HPLC analítica, por ES-MS e por RMN (Tabela 8). Da análise dos resultados de HPLC, ES-MS e RMN, determinou-se que EB116.LA3.31-27/32 continha o seguinte composto referido neste documento como EBI-23.

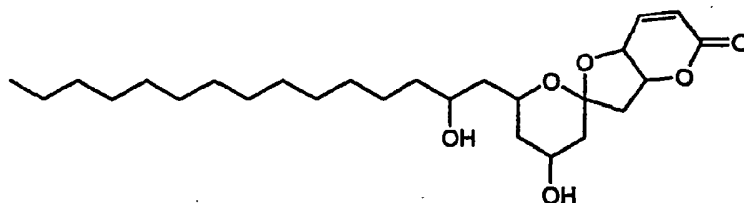


TABELA 8: DADOS DE RMN para EBI-69 em DMSO- d_6 a 75/600 MHz

Nº.	^{13}C	^1H	Multiplicidade (J, Hz)
2	161,3		
3	123,2	6,15	d (9,8)
4	140,8	7,06	dd (9,8, 5,1)
5	67,9	4,35	t (4,9)
6	79,0	5,10	m
7	47,6	2,03, 2,41	dd (14,6, 6,9) dd (14,6, 2,4)
8	105,1		
9	40,0	1,78, 1,85	m
10	62,2	3,94	m

Nº.	¹³ C	¹ H	Multiplicidade (J, Hz)
11	37,0	~1,5, ~1,3	m
12	63,4	4,19	m
13	43,2	~1,5, 1,3	m
14	66,6	4,24	dd (10,4, 4,6)
15	37,0	~1,5, ~1,3	m
16	25,1	1,22	m
17	~29	1,22	m
18	~29	1,22	m
19	~29	1,22	m
20	~29	1,22	m
21	~29	1,22	m
22	~29	1,22	m
23	~29	1,22	m
24	~29	1,22	m
25	31,3	1,22	m
26	22,1	~1,25	m
27	13,9	0,84	t (7,0)

Os resultados do ensaio biológico da Tabela 9 e os descritos no Exemplo 4 'Actividade adicional *in vitro*', no Exemplo 5 "Pormenores e resultados do despiste anti-inflamatório de EBI-23 e EBI-24", e ainda o Exemplo 18 "Inibição da imunomodulação da reacção mista de

TABELA 9: - Ensaio biológico de EBI-23

Amostra	Massa ⁵	Ne LD ₉₉ ⁴	BS LD ₉₉ ⁴	Tr LD ₉₉ ⁴	Cy LD ₉₉ ⁴	Gi LD ₉₉ ⁴
EB116.LA3.31-27/32	82,1	100	3,1	-	0,78	50

⁴ LD₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵Massa em mg.

EBI-24

Misturaram-se as fracções 36 a 40 da HPLC preparativa que se descreveu acima. As fracções 36 a 40 foram em conjunto concentradas em vazio, liofilizadas, analisando-se o produto resultante por espectroscopia no UV, por HPLC analítica, ES-MS e RMN (Tabela 10). A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN determinou-se que EB116.LA3.31-36/40 continha o composto seguinte, que se refere neste documento como EBI-24.

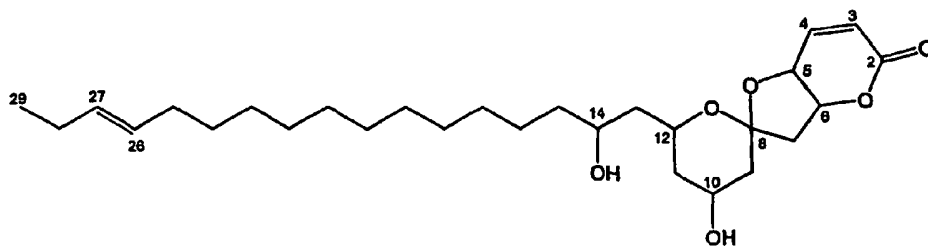


TABELA 10: Dados de RMN para EBI-24 em DMSO- d_6 a 75/600 MHz

Nº.	^{13}C	^1H	Multiplicidade (J, Hz)
2	161,3		
3	123,2	6,14	d (10,0)
4	140,8	7,04	dd (10,0, 5,2)
5	67,9	4,37	t (4,9)
6	78,9	5,09	m
7	47,6	2,42, 2,04	dd (14,6, 6,9) dd (14,6, 2,5)
8	105,2		

Nº.	¹³ C	¹ H	Multiplicidade (J, Hz)
9	40,0	1,86, 1,79	m
10	62,2	3,94	m
11	37,0	1,59, 1,31	m
12	63,4	4,20	m
13	43,2	1,54, 1,33	m
14	66,9	3,51	m
15	37,2	1,30	m
16	25,1	1,35, 1,23	m
17	~29	1,22	m
18	~29	1,22	m
19	~29	1,22	m
20	~29	1,22	m
21	~29	1,22	m
22	~29	1,22	m
23	~29	1,22	m
24	~29	1,22	m
25	31,9	1,91	m
26	128,9	5,36	m
27	131,5	5,39	m
28	25,0	1,94	m
29	13,8	0,91	t (7,4)
10-OH		n.d.	

Nº.	¹³ C	¹ H	Multiplicidade (J, Hz)
12-OH		n.d.	

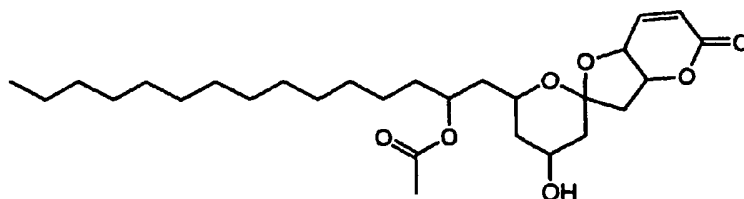
Os resultados do ensaio biológico da Tabela 11 e os descritos no Exemplo 4 'Actividade adicional *in vitro*', no Exemplo 5 "Pormenores e resultados do despiste anti-inflamatório de EBI-23 e EBI-24", e ainda no Exemplo 18 "Inibição da imunomodulação da reacção mista de linfócitos", indicam claramente que o composto EBI-24 apresenta eficácia a título de (A) agente citotóxico, sendo portanto provavelmente útil no tratamento e na profilaxia de patologias proliferativas de células, tais como tumores, leucemia, linfoma e patologias relacionadas, (B) antiparasítico, e portanto poderia ter utilidade no tratamento de uma infestação por um parasita, tal como um ectoparasita e/ou endoparasita dos seres humanos e/ou de animais, (C) antibiótico, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção bacteriana de seres humanos e/ou de animais, (D) um antiprotozoário, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção a protozoários, em seres humanos e/ou em animais, (E) um insecticida e portanto poderia ser útil para eliminar e/ou inibir o crescimento de insectos, incluindo uma larga gama de espécies de insectos, (F) um anti-inflamatório, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de um estado anti-inflamatório, e (G) um agente imuno-supressor.

TABELA 11: - Ensaio biológico de EBI-24

Amostra	Massa ⁵	Ne	BS	Tr	Cy	Gi	DipP ⁴ /DipH ⁴
		LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	
EB116.LA3.31-36/40	43,5	100	13	-	0,78	100	P/P
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.							

EBI-25

Misturaram-se as fracções 56 a 63 da HPLC preparativa que se descreveu acima. As fracções 56 a 63 foram em conjunto concentradas em vazio, liofilizadas, analisando-se o produto resultante por espectroscopia no UV, por HPLC analítica, ES-MS e RMN (Tabela 12). A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN determinou-se que EB116.LA3.31-56/63 continha o composto seguinte, que se refere neste documento como EBI-25:

**TABELA 12:** Dados de RMN para EBI-25 em DMSO-*d*₆ a 75/600 MHz

Nº.	¹³ C	¹ H	Multiplicidade (J, Hz)
2	161,3		

Nº.	¹³ C	¹ H	Multiplicidade (J, Hz)
3	123,2	6,14	d (9,9)
4	140,7	7,05	dd (9,9, 5,3)
5	68,0	4,38	t (4,9)
6	78,9	5,09	m
7	47,6	2,40, 2,06	dd (14,6, 6,8) dd (14,6, 2,4)
8	105,2		M
9	38,9	1,85, 1,78	M
10	62,0	3,93	M
11	77,0	1,52, 1,34	M
12	63,1	4,14	M
13	39,3	1,61, 1,54	m
14	70,8	4,92	m
15	33,5	1,53, 1,47	m
16	24,6	1,24	m
17	~29	1,22	m
18	~29	1,22	m
19	~29	1,22	m
20	~29	1,22	m
21	~29	1,22	m
22	~29	1,22	m
23	~29	1,22	m
24	~29	1,22	m

Amostra	Massa ⁵	Ne	BS	Tr	Cy	Gi	DipH
		LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴
EB116.LA3.31- 56/63	44,6	-	25	-	1,6	50	P
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.							

EBI-37

Misturaram-se as fracções 42 a 44 de EB115 (*Cinnamonium laubatii*), concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se por espectroscopia no UV, HPLC analítica, ES-MS e RMN. A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN determinou-se que a EB115.LA3.31-60-40/42 continha um composto referido neste documento como EBI-37, que era idêntico ao EBI-23.

Os resultados do ensaio biológico da Tabela 14 indicam claramente que o composto EBI-37 apresenta eficácia na qualidade de A) um agente citotóxico, sendo portanto provavelmente útil no tratamento e na profilaxia de patologias proliferativas de células, tais como tumores, leucemia, linfoma e patologias relacionadas, (B) um antibiótico, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção bacteriana de seres humanos e/ou de animais, (C) um antiprotozoário, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção a protozoários, em seres humanos e/ou em animais.

TABELA 14: - Ensaio Biológico de EBI-37

Amostra	Massa ⁵	Ne	BS	Tr	Cy	Gi
		LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴
EB115.LA3.60- 40/42	130	-	6,3	-	0,78	50
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.						

EBI-38

Misturaram-se as fracções 47 a 49 de EB115 e concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se por espectroscopia no UV, HPLC analítica, ES-MS e RMN. A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN determinou-se que a EB115.LA3.60-47/49 continha um composto referido neste documento como EBI-38, que era idêntico ao EBI-24.

Os resultados do ensaio biológico da Tabela 15 indicam claramente que o composto EBI-38 apresenta eficácia a título de A) um agente citotóxico, sendo portanto provavelmente útil no tratamento e na profilaxia de patologias proliferativas de células, tais como tumores, leucemia, linfoma e patologias relacionadas, (B) um antiparasítico, e portanto poderia ter utilidade no tratamento de uma infestação por um parasita, tal como um

ectoparasita e/ou endoparasita dos seres humanos e/ou de animais, (C) um antibiótico, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção bacteriana de seres humanos e/ou de animais e (D) um antiprotozoário, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção a protozoários, em seres humanos e/ou em animais.

TABELA 15: - Ensaio Biológico de EBI-38

Amostra	Massa ⁵	Ne	BS	Tr	Cy	Gi
		LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴
EB115.LA3.60- 47/49	7,7	50	13	-	0,78	50
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.						

EBI-39

Misturaram-se as fracções 62 a 64 de EB115 e concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se o produto resultante por espectroscopia no UV, por HPLC analítico, por ES-MS e por RMN. A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN, determinou-se que EB 115.LA3.60-62/64 continha um composto referido neste documento como EBI-39, que se verificou ser idêntico a EBI-25.

Os resultados do ensaio biológico da Tabela 16 indicam claramente que o composto EBI-39 apresenta eficácia a título de (A) um agente citotóxico, sendo portanto provavelmente útil no tratamento e na profilaxia de patologias proliferativas de células, tais como tumores, leucemia, linfoma e patologias relacionadas, (B) um antibiótico, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção bacteriana de seres humanos e/ou de animais, (C) um antiprotozoário, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção a protozoários, em seres humanos e/ou em animais.

TABELA 16: - Ensaio Biológico de EBI-31

Amostra	Massa ⁵	Ne	BS	Tr	Cy	Gi
		LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴
EB115.LA3.60- 62/64	7,7	-	13	-	1,6	50
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.						

EBI-42

Misturaram-se as fracções 83 a 86 de EB115 e concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se o produto resultante por espectroscopia no UV, por HPLC analítico, por ES-MS e por RMN (Tabela 17). A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN determinou-se

que EB 115.LA3.60-83/86 continha o composto seguinte, referido neste documento como EBI-42:

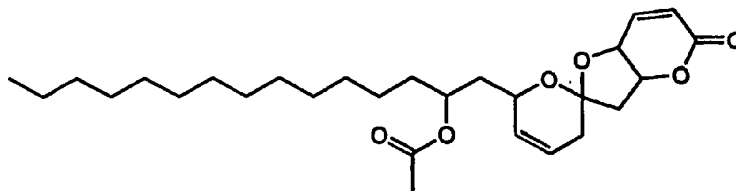


TABELA 17: Dados de RMN para EBI-42 em DMSO-*d*₆ a 75/600 MHz

Nº.	¹³ C	¹ H	Multiplicidade (J, Hz)
2	161,3		
3	123,1	6,15	d (9,8)
4	140,7	4,01	dd (9,8, 5,1)
5	67,7	4,44	t (4,8)
6	80,1	5,21	m
7	45,6	2,42, 2,25	dd (14,8, 6,5), dd (14,8, 2,5)
8	102,9		
9	29,2	1,97, 1,86	m
10	127,3	5,62	m
11	128,5	5,96	m
12	66,4	3,86	m
13	38,9	1,78, 1,66	m
14	70,5	4,93	m
15	33,4	1,52	m

Nº.	^{13}C	^1H	Multiplicidade (J, Hz)
16	24,5	1,24	m
17	~29	1,23	m
18	~29	1,23	m
19	~29	1,23	m
20	~29	1,23	m
21	~29	1,23	m
22	~29	1,23	m
23	~29	1,23	m
24	~29	1,23	m
25	31,2	1,22	m
26	22,0	1,25	m
27	13,9	0,84	t (7,0)
28	170,0		
29	20,9	1,98	s

Os resultados do ensaio biológico da Tabela 18, bem como os descritos no Exemplo 4 'Actividade adicional *in vitro*', indicam claramente que o composto EBI-42 apresenta uma eficácia a título de agente citotóxico, sendo portanto provavelmente útil no tratamento e na profilaxia de patologias proliferativas de células, tais como tumores, leucemia, linfoma e patologias relacionadas.

TABELA 18: - Ensaio Biológico de EBI-42

Amostra	Massa ⁵	Ne	BS	Tr	Cy	Gi
		LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴	LD ₉₉ ⁴
EB115.LA3.60- 62/64	1,8	-	-	-	1,6	-
⁴ LD ₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵ Massa em mg.						

EBI-69

Misturaram-se as fracções 92 a 100 de EB77 e concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se o produto resultante por espectroscopia no UV, por HPLC analítico, por ES-MS e por RMN. A partir dos resultados das análises por HPLC, ES-MS e RMN, determinou-se que EB77.LA4.92-100 continha um composto referido neste documento como EBI-69, que se verificou ser idêntico a EBI-23.

Os resultados do ensaio biológico da Tabela 19, bem como os descritos no Exemplo 4 'Actividade adicional *in vitro*', indicam claramente que o composto EBI-69 apresenta uma eficácia a título de (A) agente citotóxico, sendo portanto provavelmente útil no tratamento e na profilaxia de patologias proliferativas de células, tais como tumores,

leucemia, linfoma e patologias relacionadas, (B) um antiparasítico, e portanto poderia ter utilidade no tratamento de uma infestação por um parasita, tal como um ectoparasita e/ou endoparasita dos seres humanos e/ou de animais, (C) um antibiótico, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção bacteriana de seres humanos e/ou de animais, (D) um antiprotozoário, e portanto poderia ser útil no tratamento ou na profilaxia de uma infecção a protozoários, em seres humanos e/ou em animais, e (E) um insecticida e portanto poderia ser útil para eliminar e/ou inibir o crescimento de insectos, incluindo uma larga gama de espécies de insectos,

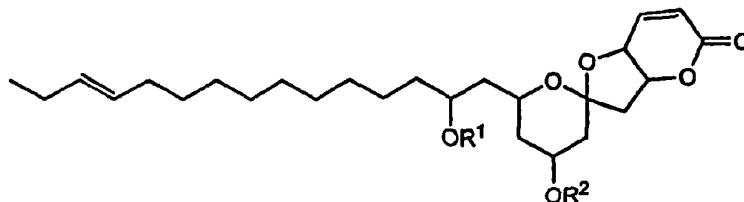
TABELA 19: - Ensaio biológico de EBI-69

Amostra	Massa ⁵	Título	Título	Título	Título	DipP ⁴	Título
		Ne/LD ₉₉ ⁴	BS/LD ₉₉ ⁴	Tr/LC ₉₉ ⁴	Cy/LD ₉₉ ⁴		Gi/LD ₉₉ ⁴
EB77.LA4.92	28	1/63	16/3,9	0/-	256/0,24	P	4/16
-100							

LD₉₉ em µg/mL, calculado como massa do produto químico no último poço com actividade, no entanto o valor real pode ser menor uma vez que não se atingiu o ponto final. ⁵Massa em mg.

Concentrou-se em vazio a fracção 9 de EB116, liofilizou-se e analisou-se o produto resultante por ES-MS e RMN. A partir dos dados de RMN e dos obtidos no espectrómetro de massa, esta fracção proporcionou um

composto que incluía um ou ambos os compostos seguintes, referidos neste documento como EBI-72.

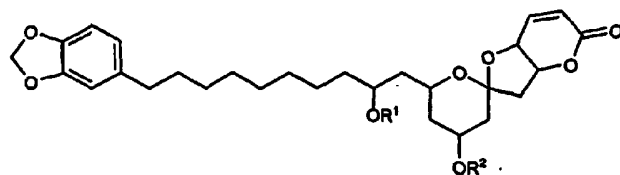


R¹ é Ac e R² é H, ou R¹ é H e R² é Ac.

RMN de ¹H (CDCl₃, 300MHz) 0,94 (t, 3H), 1,23 (s muito largo, 15H), 1,30-1,63 (m, 4H), 1,67-2,00 (m, 7H), 2,00 (s, 3H), 2,22 (dd, J 14,6, 2,7Hz, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,22 (dd, J 14,6, 6,9Hz, 1H), 3,1 (s lg, 1H), 4,08 (s lg, 1H), 4,10-4,12 (m, 1H), 4,52 (t, J 4,9Hz, 1H), 4,98-5,06 (m, 2H), 5,27-5,50 (m, 2H), 6,18 (d, J 9,9Hz, 1H), 6,86 (dd, J 9,9, 5,2Hz, 1H).

ES-MS C₂₈H₄₄O₇ 515 (M+Na), 1006 (2M+Na).

Misturaram-se as fracções 10 e 11 de EB 116 e concentrou-se em vazio, liofilizou-se e analisou-se o produto resultante por ES-MS e por RMN. A partir dos dados de RMN e da espectrometria de massa, esta fracção proporcionou um ou ambos os compostos seguintes, referidos neste documento como EBI-73.



R^1 é Ac e R^2 é H, ou R^1 é H e R^2 é Ac.

RMN de ^1H (CDCl_3 , 300MHz) 1,17-1,63 (m, 16H), 1,8 (d lg, 2H), 1,87-2,00 (m, 2H), 2,03 (s, 3H), 2,10-2,27 (m, 2H), 2,43-2,63 (m, 3H), 3,73-3,87 (m, 1H), 4,30-4,43 (m, 1H), 4,47 (t, J 5,1Hz, 1H), 4,97-5,10 (m, 2H), 5,90 (s, 2H), 6,14 (d, J 5,MHz, 1H), 6,57-6,77 (m, 3H), 6,86 (dd, J 9,9, 5,1Hz, 1H).

ES-MS $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_9$ 566 ($\text{M}+\text{Na}-1$).

EXEMPLO 4

Actividade adicional *in vitro*

EBI-23

Levaram-se a cabo ensaios adicionais *in vitro*, os quais provaram que o EBI-23 manifesta:

uma actividade citotóxica contra fibroblastos normais humanos (NFF) a 30 $\mu\text{g/mL}$; uma actividade antitumoral contra as seguintes linhas de células:

leucemia K562 a 3 µg/mL;
melanoma MM96L a 1 µg/mL;
melanoma MM418c5 a 1 µg/mL;
próstata DU145 a 3 µg/mL;
mama MCF-7 a 1 µg/mL;
ovário C180-13S a 1 µg/mL.

EBI-24

Levaram-se a cabo ensaios adicionais *in vitro*, os quais provaram que o EBI-24 manifesta:

uma actividade citotóxica contra fibroblastos normais humanos (NFF) a 10 µg/mL; uma actividade antitumoral contra as seguintes linhas de células:

leucemia K562 a 10 µg/mL;
melanoma MM96L a 3 µg/mL;
melanoma MM418c5 a 10 µg/mL;
próstata DU145 a 10 µg/mL;
mama MCF-7 a 10 µg/mL;
ovário C180-13S a 3 µg/mL.

EBI-25

Levaram-se a cabo ensaios adicionais *in vitro*, os quais provaram que o EBI-25 manifesta:

uma actividade citotóxica contra fibroblastos normais humanos (NFF) a 30 µg/mL; uma actividade antitumoral contra as seguintes linhas de células:

leucemia K562 a 30 µg/mL;
melanoma MM96L a 10 µg/mL;
melanoma MM418c5 a 10 µg/mL;
próstata DU145 a 30 µg/mL;
mama MCF-7 a 300 µg/mL;
ovário C180-13S a 3 µg/mL.

EBI-42

Levaram-se a cabo ensaios adicionais *in vitro*, os quais provaram que o EBI-42 não tem:

qualquer actividade citotóxica contra fibroblastos normais humanos (NFF) a 10 µg/mL;
e

mas tem actividade antitumoral contra as seguintes linhas de células;

melanoma MM96L a 10 µg/mL; e
ovário C 180-13 S a 10 µg/mL.

EXEMPLO 5**Pormenores e resultados do despiste anti-inflamatório com EBI-23 e com EBI-24**

Levaram-se a cabo três ensaios principais; transformação, regressão e reacções linfocitárias mistas (MLR). Faz-se referência ao trabalho de Moss *et al.*, (DJ, Rickinson AB, Pope JH: Long-term T-cell-mediated immunity to Epstein-Barr virus in man. III. Activation of cytotoxic T cells in virus-infected leukocyte cultures. *Int. J. Cancer* 1979, **23**: 618-625). Complete regression of virus-induced transformation in cultures of seropositive donor leukocytes.

Os resultados experimentais qualitativos, tanto para a regressão como para MLR, foram obtidos visualmente e pela adição de [³H-metil]timidina (³H-T). O ³H-T é um análogo de um nucleósido e é incorporado no ADN de células em proliferação. Caso as células estejam em proliferação, o valor de contagens/minuto (cpm) é elevado; caso as células estejam mortas, o cpm é pequeno.

Transformação e Regressão**Estado da Técnica quanto à Transformação**

Infectaram-se células mononucleares seronegativas e seropositivas para o EBV, do sangue periférico de

doadores (PBMC), com o EBV. Uma pequena percentagem das células B contidas na população de PBMC foram transformadas em linhas de células linfoblastóides imortalizadas (LCL).

Estado da Técnica quanto à Regressão

TABELA 21: - Regressão em PMBC sero-positivas para o EBV, induzida por células T com memória específica do EBV

	Dia 8 - 10	Dia 14	Dia 28
Sero+ para EBV PBMC de doador + EBV	transformação	regressão/morte	Morte
Sero- para EBV PBMC de doador + EBV	Transformação	transformação	crescimento

Só ocorre regressão nas PBMC sero-positivas para EBV induzidas por células T com memória específica de EBV.

Experiências com EBI-23 e com EBI-24 isolados tanto de EB116 como de EB115

Métodos:

Adicionaram-se EBI-23 e EBI-24 a concentrações de 2 µg/mL, individualmente, a PBMC de doadores seropositivos e seronegativos para EBV, previamente infectadas com o EBV, para monitorizar a inibição da transformação e/ou a regressão.

Incubaram-se então as células durante 28 dias, sendo os resultados determinados visualmente, e pela adição de $^3\text{H-T}$ para se obterem dados quantitativos.

Resultados:

Os resumos individuais de transformação foram determinados através dos dados visuais e das cpm com $^3\text{H-T}$ a partir das células mononucleares do sangue periférico (PBMC) dos doadores seronegativos para EBV. O controlo em se utilizou foram estas PBMC sem produto químico adicionado. Determinaram-se os valores dos cortes de cpm com $^3\text{H-T}$ para cada ensaio individual utilizando o valor do controlo individual, mais ou menos uma diferença de cinco vezes. Escolheu-se esta diferença de 5 vezes porque comparava os valores dos dados de cpm de $^3\text{H-T}$ para todos os controlos e as inspecções visuais de todos os poços em teste.

Determinam-se os resumos individuais das regressões por exame dos dados visuais bem como dos dados

relativos aos cpm com $^3\text{H-T}$, a partir de PBMC de doadores seropositivos para EBV. O controlo eram estas PBMC sem qualquer produto químico adicionado. Determinou-se o valor de $^3\text{H-T}$ para cada ensaio individual usando este valor de controlo, mais ou menos uma diferença de cem (100) vezes. Escolheu-se esta diferença de 100 vezes porque comparava os valores dos dados de cpm de $^3\text{H-T}$ para todos os controlos e as inspecções visuais de todos os poços em teste. O controlo positivo era o valor de cpm de células incubadas com ciclosporina (CSA), um produto químico conhecido como inibindo a regressão, enquanto o controlo negativo eram as PBMC sem vírus nem produto químico.

Reacções Linfocitárias Mistas (MLR):

Estado da Técnica e método para MLR

Estudo do efeito de EBI-23 e de EBI-24 isolados de EB115 e de EB116 sobre as respostas das células T alogénicas.

Misturaram-se PBMC com LCL irradiadas, LCL com diferentes HLA, e monitorizou-se a activação de células T e o seu crescimento passados seis (6) dias.

Resultados

Determinaram-se os resumos individuais dos MLR através dos dados visuais e dos valores de cpm de $^3\text{H-T}$ cpm

de PBMC + LCL com diferentes HLA a que se adicionara o produto químico EB. O controlo eram estas PBMC + LCL menos o produto químico. Determinaram-se os valores dos cortes de cpm com $^3\text{H-T}$ para cada ensaio individual utilizando o valor do controlo individual, mais ou menos uma diferença de cinco vezes. Escolheu-se esta diferença de 5 vezes porque comparava os valores dos dados de cpm de $^3\text{H-T}$ para todos os controlos e as inspecções visuais dos controlos, com os dados visuais de todos os poços em teste. O controlo positivo era o valor de cpm de células incubadas com ciclosporina (CSA), um produto químico conhecido como inibindo a MLR, enquanto o controlo negativo eram as PBMC por si sós e as LCL por si sós.

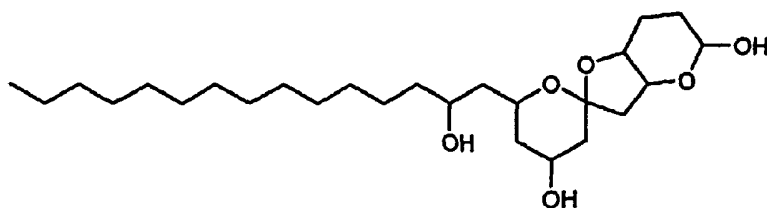
Resultados do despiste de produtos químicos específicos:

Tanto o EBI-23 como o EBI-24 demonstraram uma inibição forte da transformação.

EXEMPLO 6

Derivatização do EBI-23 por hidrogenação

Tratou-se 1 mg de EBI-23 em 200 μL de metanol com 4 mg de PtO_2 durante 24 horas à temperatura ambiente para se obter:

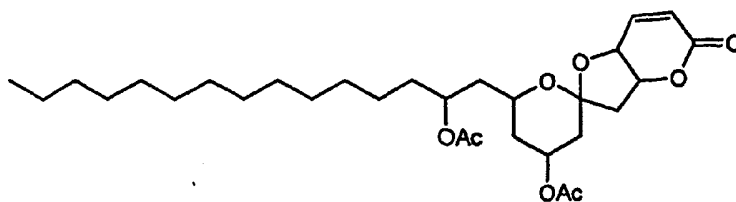


$C_{26}H_{48}O_6$; Massa exacta: 456,3451; Massa molecular: 456,6557; C: 68,38, H: 10,59, O: 21,02. MS (ESI): 479, (M+Na).

EXEMPLO 7

Derivatização de EBI-23 por acetilação

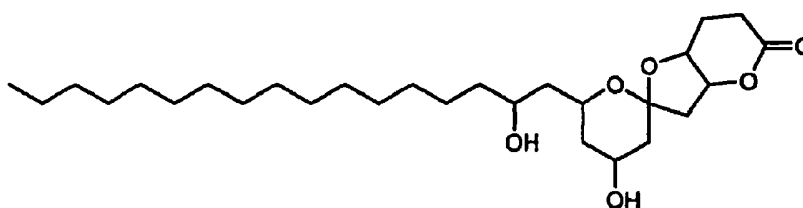
Agitou-se 1 mg de EBI-23 em 400 μ L de anidrido acético e piridina (a 1:1) à temperatura ambiente durante 17 horas para se obter:



$C_{30}H_{48}O_8$; Massa exacta: 536,3349; Massa molecular: 536,6973; C: 67,14, H: 9,01, O: 23,85. MS (ESI): 559, (M+Na).

EXEMPLO 8**Derivatização de EBI-24 por hidrogenação**

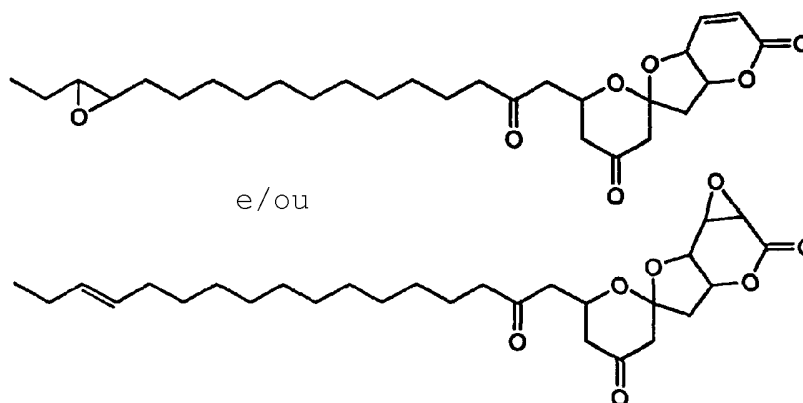
Tratou-se 1 mg de EBI-24 em 200 µL de metanol com 4 mg PtO₂ durante 24 horas à temperatura ambiente para se obter:



C₂₈H₄₆O₆; Massa exacta: 478,33; Massa molecular: 478,66; MS (ESI): 501, (M+Na), 533 (M+Na+MeOH), 565 (M+Na+₂MeOH).

EXEMPLO 9**Derivatização de EBI-24 por oxidação**

Tratou-se 1 mg de EBI-24 em 200 µL de acetona com 50 µL de uma solução de dimetildioxirano (DMDO) preparada de fresco, e agitou-se durante 1 hora a 0°C e durante 3 horas à temperatura ambiente para se obter:

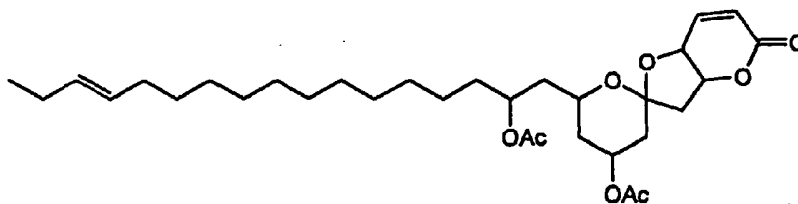


$C_{28}H_{42}O_7$; Massa exacta: 490,2931; Massa molecular: 490,6289; MS (ESI): 513, (M+Na), 1003 ($2M+Na$).

EXEMPLO 10

Derivatização de EBI-24 por acetilação

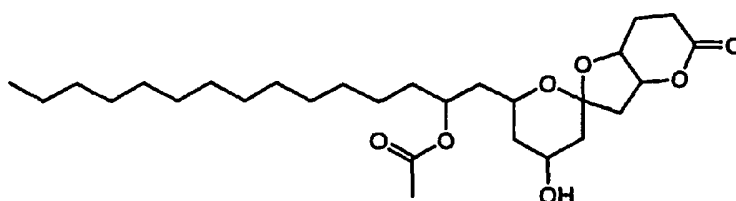
Agitou-se à temperatura ambiente 1 mg de EBI-24 em 400 μ L de anidrido acético e piridina (a 1:1) durante 17 horas para se obter:



$C_{32}H_{50}O_8$; Massa exacta: 562,3506; Massa molecular: 562,7346; MS (ESI): 585, (M+Na).

EXEMPLO 11**Derivatização de EBI-25 por hidrogenação**

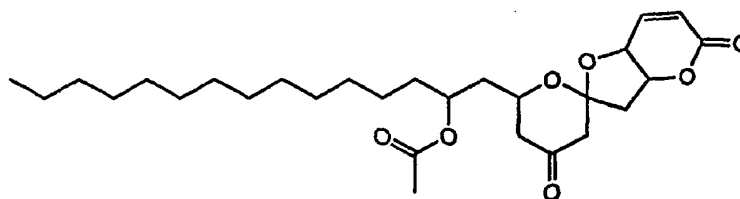
Tratou-se 1 mg de EBI-25 em 200 μ L de metanol com 4 mg de PtO_2 durante 24 horas à temperatura ambiente para se obter:



$\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_7$; Massa exacta: 496,34; Massa molecular: 496,6765; MS (ESI): 551, ($\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}$), 1079 ($2\text{M}+\text{Na}+2\text{MeOH}$).

EXEMPLO 12**Derivatização de EBI-25 por oxidação**

Tratou-se 1 mg de EBI-25 em 200 μ L de acetona com 50 μ L de uma solução de dimetildioxirano (DMDO) preparada de fresco, durante 1 hora a 0°C e 3 horas à temperatura ambiente, para se obter:

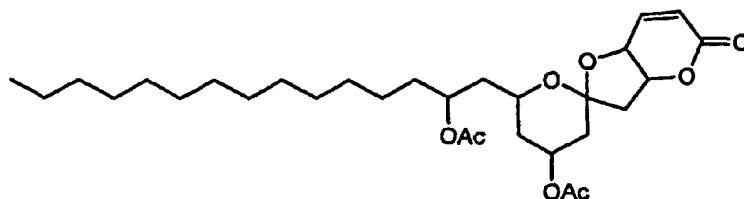


$C_{28}H_{44}O_7$; Massa exacta: 492,3087; Massa molecular: 492,6448; MS (ESI): 515, (M+Na), 1007 ($2M+Na$).

EXEMPLO 13

Derivatização de EBI-25 por acetilação

Agitou-se 1 mg de EBI-25 em 400 μ L de anidrido acético e piridina (a 1:1), à temperatura ambiente durante 17 horas para se obter:



$C_{30}H_{48}O_8$; Massa exacta: 536,3349; Massa molecular: 536,6973; MS (ESI): 559, (M+Na)

EXEMPLO 14

Efeitos da derivatização de EBI-23, EBI-24 e EBI-25

Levaram-se a cabo diversas reacções de derivatização a partir de quantidades de 1 mg de EBI-23, EBI-24, e EBI-25. Obtiveram-se espectros de massa para se confirmarem as naturezas dos derivatizados, mas não se purificou(aram) o(s) produto(s) para este despiste

preliminar de actividade inibidora do crescimento de uma linha de células tumorais humanas. Compararam-se os resultados assumindo ausência de perdas durante as derivatizações.

O EBI-23 perdeu a maior parte da sua actividade por hidrogenação e por oxidação (presumivelmente devido a uma perda da ligação dupla), enquanto a aceptilação do OH ou a epoxidação da ligação dupla tinham menores efeitos. A estrutura relacionada EBI-24, com uma ligação dupla na cadeia lateral longa, era 10 vezes menos potente do que o EBI-23 e só a hidrogenação provocava perda da sua actividade. O EBI-25 era o menos potente desta série. Tornava-se mais activo após epoxidação, talvez em consequência de uma maior polaridade contrariando a aceptilação do OH.

EXEMPLO 15

Efeitos de EBI-23, morfológicos e sobre o ciclo celular

A doses próximas do IC_{50} , não se observava qualquer alteração morfológica notável, tal como uma apoptose, utilizando estes compostos. Isto tende a considerar que não eram alvos nem o PKC (sendo composto protótipo o PMA), nem as lesões no ADN (sendo composto protótipo a cisplatina), nem as quinases (sendo composto

protótipo a estaurosporina), nem as mitocôndrias nem a membrana plasmática (lise celular).

A citometria de fluxo de diversas linhas de células passadas 24 horas de tratamento com 1 µg/mL de EBI-23 sugere um grau variável de paragem de G2/M. Isto no entanto não é acompanhado pela morfologia típica arredondada das células tratadas com ligandos da tubulina. Não se detectaram fragmentos de ADN, reforçando a observação visual de que ocorrera pouca ou nenhuma apoptose.

EXEMPLO 16

Inibição do crescimento do Melanoma B16 pelo EBI-23 e murganhos C57BL/6

Depois de uma experiência preliminar para determinar a MTD em murganhos, implantaram-se em murganhos C57BL/6 células de melanoma B 16 (0,5 milhões de células por local, 2 locais por murganho, subcutâneo, 3 murganhos/grupo) e começou-se o tratamento 24 horas depois. Para este estudo inicial, preparou-se o EBI-23 diluindo uma solução etanólica com soro salino, de tal modo que o teor final em etanol fosse de 2 %. Injectou-se a solução turva que deste modo se obteve por via intraperitoneal nos murganhos, diariamente ao longo de 7 dias. Mediram-se ao longo do tempo a dimensão do tumor e a massa corporal.

Os resultados (Fig. 5) denotaram uma reacção relacionada com a dose, com uma diminuição significativa do crescimento do B 16 com uma dose de 250 µg/murganho/dia, e uma reacção mensurável a 80 µg.

Os murganhos toleravam bem este regime, excepto que havia alguma perda de massa corporal à dose mais elevada. Parou-se o tratamento aos 13 dias por causa das limitações devidas a não existir suficiente EBI-23.

EXEMPLO 17

Tratamento de tumores da próstata DU145 em murganhos nus

Investigou-se a actuação do EBI-23 sobre tumores da próstata DU145 em murganhos nus. Trataram-se os murganhos com 200 mg/murganho/dia até ao dia 14, e depois com 400 mg/murganho/dia. Mostram-se os resultados nas Figuras 6 e 7.

EXEMPLO 18

Imunomodulação: inibição da reacção mista de linfócitos

Adicionaram-se células linfblastóides irradiadas com raios gama (LCL, células B transformadas pelo vírus de Esptein-Barr; 17.000) a linfócitos do sangue periférico

humano (PBMC; 50.000 por poço de microtitulação), e em seguida o fármaco, incubado a 37°C tal como acima e marcado com [³H]-timidina no Dia 4. Lisaram-se as células e lavaram-se por sobre tapetes em fibra de vidro para contagem da cintilação. Utilizaram-se as mesmas concentrações de fármaco para avaliar a toxicidade directa por ensaio em LCL de controlo (10.000 células/poço).

A MLR mede a capacidade das células T normais sofrerem uma reacção proliferativa em relação a alo-antigénios expressados por uma linha de células B não proliferante. Um composto de controlo positivo, o fármaco ciclosporina A imuno-supressor que é clinicamente utilizado, inibia por completo a MLR. Verificou-se que o EBI-23 inibia a MLR a 1 µg/mL. Isto não se devia a uma toxicidade geral, uma vez que o crescimento das LCL de controlo não era afectado.

A inibição de MLR pelo EBI-23 a uma dose de certa forma superior ao teor necessário para inibir o crescimento celular sugere que o EBI-23 tem potencial a título de fármaco imuno-supressor. Sem que isto signifique sujeição a uma qualquer teoria, esta reactividade, e de facto esta actividade contra o cancro, pode acontecer ao nível molecular a partir de um potencial para substituição em beta por parte de nucleófilos, no anel de lactona. Poderiam incluir-se nesses nucleófilos, grupos amino ou tiol reactivos de proteínas celulares específicas, cuja

especificidade proviesse da reactividade química e da cauda alifática dos membros individuais da família EBI-23.

EXEMPLO 19

Submeteu-se uma série de extractos de plantas a uma purificação por HPLC, recorrendo a um dos seguintes sistemas de separação por HPLC:

Coluna:	Phenomenex luna 5 μ 250 x 4,60 mm C18						
Caudal:	0,5 mL/minuto						
Sistema de Solventes:	Metanol/água						
Gradiente:							
Método:							
EBA.M							
Tempo (minutos)	0	20	40	50	51	55	
% Metanol	90	90	100	100	90	90	
EBC.M							
Tempo (minutos)	0	10	40	55	56	65	
% Metanol	70	90	100	100	70	70	

EBB.M							
Tempo (minutos)	0	30	40	45	50	51	55
% Metanol	85	90	90	100	100	85	85

Testaram-se os compostos isolados contra uma série de linhas cancerosas, humanas e não-humanas. As linhas celulares tumorais humanas foram: MCF-7, MDA-MB-231 e T47D, de cancro da mama; DU145 e PC3 de cancro da próstata, CI80-13S de cancro dos ovários; MM96L, D04, SkMel5 e MM418c5 de melanoma; HT29 de cancro do cólon; K562 e HL60 de leucemia. As linhas de células de murganho foram a de melanoma murino B 16, e a LK2 de carcinoma celular induzido por UV (SCC). Utilizaram-se fibroblastos neonatais do prepúcio (NFF) a título de células normais de controlo. Cultivaram-se as células a 37°C sob 5 % de dióxido de carbono/ar, em meio RPMI 1640 contendo 10 % de soro fetal de vitelo.

Mostram-se os resultados na Tabela 22.

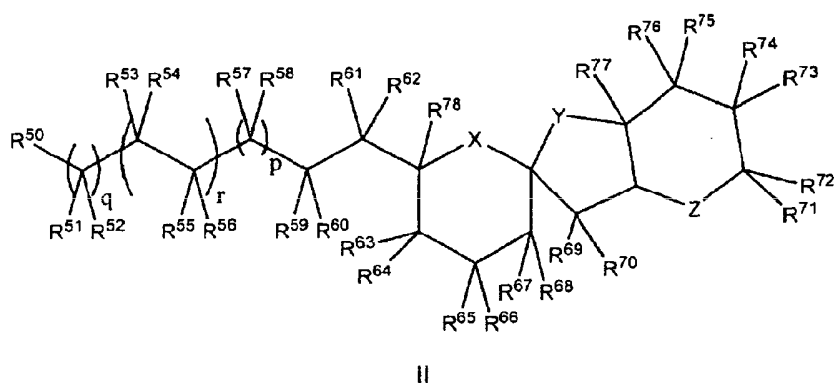
Tabela 22. Descrição e actividades contra o cancro de espirocetais

Composto	Tempo de Retenção na HPLC (minutos)	Método de EB HPLC	IC ₅₀ (em µg/mL) para cada linha de células (dose de fármaco que inibe o crescimento em 50 %)								
			NFF	MCF7	T47D	DUI45	PC3	K562	C180-13S	MM96L	B16
EBI-23			2	0,5		0,7	1,0	1,7	0,2	0,15	0,5
EBI-24			0,8	0,2		0,7		0,6	0,75	1,3	
EBI-25			3	0,34		1		6,1	5	1,6	
EBI-42			>10	6		>10		>10	6	-	
EBI-72	21,5	A	45	6			32			25	
EBI-73	10,7	A	6	1,7	6	2			7	1,7	
EB99_EBB_30.3	30,3	B	25	1,5	3		3	7	2		1,5
EB99_EBB_33.3	33,3	B	4	2	0,3		2	3,5	0,3		0,3
EB120_EBC_29.9	29,9	C	3	0,3	0,4		0,7	4	0,3		0.2
EB116/11/5b_5-7.5	6	A	8	1	10	1,1				1	
EB116/11/5b_13-14	13,5	A	8	1,2	12	1,5		9	9		
EB116_EBA_16.3	16,3	A	1,1	0,9	1	1,2			0,7	1	
EB116_EBA_24.6	24,6	A	1,2	0,92	0,9	1,1			0,37	0,5	
EB116_EBA_32.2	322	A	1	1	1	1			0,1	0,11	
EB116_EBA_17.9	17,9	A	30	32			10,8			30	
EB116_EBA-38.2	38,2	A	6	1,1	2	8			1	1	
EB116_EBA_35.5	35,5	A	6	3			6			3,5	

Lisboa, 14 de Junho de 2012

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto com a fórmula (II):



na qual

X, Y e Z sejam seleccionados independentemente de entre -O-, -S-, -NH-, -N(alquilo C₁-C₆)-e -CH₂-;

R⁵⁰ seja seleccionado de entre -CH₃, -cicloalquilo C₃-C₈, arilo, heterociclilo e heteroarilo;

R⁵¹, R⁵², R⁵⁷, R⁵⁸, R⁶¹, R⁶², R⁶⁷, R⁶⁸, R⁶⁹ e R⁷⁰ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R -OR, -SR, -N(R)₂, NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e WC(W)R;

R^{53} a R^{56} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R^{54} e R^{55} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R^{53} e R^{54} ou R^{55} e R^{56} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{59} e R^{60} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R^{59} e R^{60} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{63} e R^{66} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} ,

-trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁶⁴ e R⁶⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R⁶³ e R⁶⁴ ou R⁶⁵ e R⁶⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁷¹ e R⁷² sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁷¹ e R⁷² tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁷³ e R⁷⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁷⁴ e R⁷⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R⁷³ e R⁷⁴ ou R⁷⁵ e R⁷⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{77} e R^{78} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{10} , -alcenilo C_2-C_{10} e -alcinilo C_2-C_{10} ;

W seja seleccionado de entre -O-, -S-, -NH- e -N(alquilo C_1-C_6)-;

R seja seleccionado de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} e -trihaloalquilo;

p e q sejam independentemente 0 ou 1; e

r seja um inteiro de 1 a 8;

em que os diversos grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo e heteroarilo sejam opcionalmente substituídos;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, em agricultura ou como pesticida.

2. Um composto de acordo com a reivindicação 1,

no qual

X, Y e Z sejam seleccionados independentemente de entre -O-, -S-, -NH-, -N(alquilo C_1-C_6)- e $-CH_2-$;

R^{50} seja seleccionado de entre $-CH_3$, -cicloalquilo C_3-C_8 , arilo, heterociclilo e heteroarilo;

R^{51} , R^{52} , R^{57} , R^{58} , R^{61} , R^{62} , R^{67} , R^{68} , R^{69} e R^{70} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} ,

-cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄,
 -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo,
 heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂,
 -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo
 C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R -OR, -SR, -N(R)₂, NROR, -ON(R)₂, -SOR,
 -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃,
 -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e WC(W)R;

R⁵³ a R⁵⁶ sejam seleccionados independentemente de
 entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀,
 -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄,
 -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo,
 heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo,
 halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀,
 -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂,
 -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂,
 -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e
 -WC(W)R; ou R⁵⁴ e R⁵⁵ tomados em conjunto formem uma ligação
 dupla ou sejam -O-; ou R⁵³ e R⁵⁴ ou R⁵⁵ e R⁵⁶ tomados em
 conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁵⁹ e R⁶⁰ sejam seleccionados independentemente de
 entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀,
 -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄,
 -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo,
 heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo,
 halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀,
 -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂,
 -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂,
 -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e

-WC(W)R; ou R^{59} e R^{60} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{63} e R^{66} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R^{64} e R^{65} tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R^{63} e R^{64} ou R^{65} e R^{66} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{71} e R^{72} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R^{71} e R^{72} tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R^{73} e R^{76} sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo,

heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁷⁴ e R⁷⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla ou sejam -O-; ou R⁷³ e R⁷⁴ ou R⁷⁵ e R⁷⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo;

R⁷⁷ e R⁷⁸ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₁₀, -alcenilo C₂-C₁₀ e -alcinilo C₂-C₁₀;

W seja seleccionado de entre -O-, -S-, -NH- e -N(alquilo C₁-C₆)-;

R seja seleccionado de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, -haloalquilo C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀ e -trihaloalquilo;

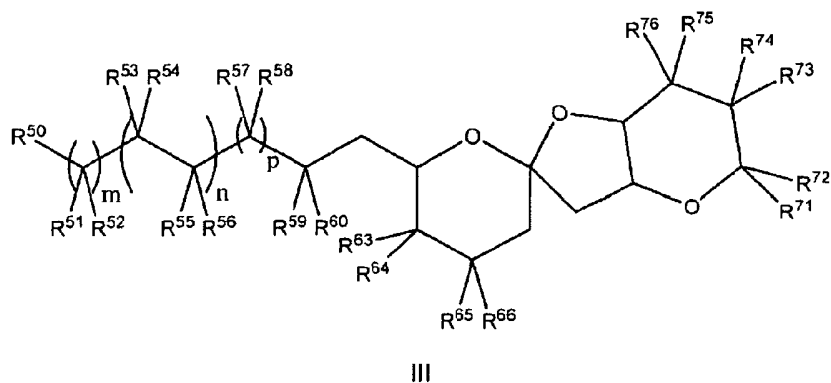
p e q sejam independentemente 0 ou 1; e

r seja um inteiro de 1 a 8;

em que os diversos grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo e heteroarilo sejam opcionalmente substituídos;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, em agricultura ou como pesticida.

3. Um composto de acordo com a reivindicação 1, que seja um composto com a fórmula (III):



na qual:

R^{50} seja seleccionado de entre $-CH_3$,
 -cicloalquilo C_3-C_8 , arilo, heterociclilo e
 heteroarilo;

R^{51} , R^{52} , R^{57} e R^{58} sejam seleccionados
 independentemente de entre hidrogénio, -alquilo
 C_1-C_{20} , -alcenilo C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} ,
 -cicloalquilo C_3-C_8 , -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo
 C_5-C_{14} , -heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo,
 heteroarilalquilo, heterociclilalquilo,
 alcoxialquilo, halo, $-CN$, $-NO_2$, -haloalquilo
 C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo
 C_1-C_{10} , $-COR$, $-CO_2R$, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-NROR$,
 $-ON(R)_2$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_3R$, $-SON(R)_2$, $-SO_2N(R)_2$,
 $-SO_3N(R)_2$, $-P(R)_3$, $-P(O)(R)_3$, $-OSi(R)_3$, $-OB(R)_2$,
 $-C(O)R$ e $-OC(O)R$;

R^{53} a R^{56} sejam seleccionados independentemente
 de entre hidrogénio, -alquilo C_1-C_{20} , -alcenilo
 C_2-C_{20} , -alcinilo C_2-C_{20} , -cicloalquilo C_3-C_8 ,
 -arilo C_6-C_{14} , -heteroarilo C_5-C_{14} ,

-heterociclilo C_3-C_{14} , arilalquilo, heteroarilalquilo, heterociclilalquilo, alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo C_1-C_{10} , -dihaloalquilo C_1-C_{10} , -trihaloalquilo C_1-C_{10} , -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR, -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂, -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂, -C(O)R e -OC(O)R; ou R⁵⁴ e R⁵⁵, tomados em conjunto, formem uma ligação dupla ou -O-; R⁵⁹ seja hidrogénio e R⁶⁰ seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C_1-C_{10} , -O-alcenilo C_2-C_{10} , -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C_1-C_{10} -cicloalquilo, -O-alquil C_1-C_{10} -arilo, -O-alquil C_1-C_{10} -heterociclilo, -O-alquil C_1-C_{10} -heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁵⁹ e R⁶⁰ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; R⁶³ e R⁶⁴ sejam hidrogénio; R⁶⁵ seja hidrogénio e R⁶⁶ seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C_1-C_{10} , -O-alcenilo C_2-C_{10} , -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C_1-C_{10} -cicloalquilo, -O-alquil C_1-C_{10} -arilo, -O-alquil C_1-C_{10} -heterociclilo, -O-alquil C_1-C_{10} -heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁶⁵ e R⁶⁶ tomados em conjunto formem um grupo carbonilo; ou R⁶⁴ e R⁶⁵ tomados em conjunto formem uma ligação dupla; R⁷¹ seja hidrogénio e R⁷² seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C_1-C_{10} , -O-alcenilo C_2-C_{10} ,

-O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo,
 -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo,
 -O-alquil C₁-C₁₀-arilo, -O-alquil C₁-C₁₀-
 heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e
 -OC(O)R; ou R⁷¹ e R⁷² tomados em conjunto formem
 um grupo carbonilo;

R⁷³ a R⁷⁶ sejam seleccionados independentemente
 de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo
 C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈,
 -arilo C₆-C₁₄, -heteroarilo C₅-C₁₄,
 -heterociclilo C₃-C₁₄, arilalquilo,
 heteroarilalquilo, heterociclilalquilo,
 alcoxialquilo, halo, -CN, -NO₂, -haloalquilo
 C₁-C₁₀, -dihaloalquilo C₁-C₁₀, -trihaloalquilo
 C₁-C₁₀, -COR, -CO₂R, -OR, -SR, -N(R)₂, -NROR,
 -ON(R)₂, -SOR, -SO₂R, -SO₃R, -SON(R)₂, -SO₂N(R)₂,
 -SO₃N(R)₂, -P(R)₃, -P(O)(R)₃, -OSi(R)₃, -OB(R)₂,
 -C(W)R e -WC(W)R; ou R⁷⁴ e R⁷⁵, tomados em
 conjunto, formem uma ligação dupla ou -O-;

R seja seleccionado de entre hidrogénio,
 -alquilo C₁-C₂₀, -alcenilo C₂-C₂₀, -alcinilo C₂-
 C₂₀, -cicloalquilo C₃-C₈, -arilo C₆-C₁₄, -
 heteroarilo C₅-C₁₄, -heterociclilo C₃-C₁₄,
 arilalquilo, heteroarilalquilo,
 heterociclilalquilo, -haloalquilo C₁-C₁₀,
 -dihaloalquilo C₁-C₁₀ e -trihaloalquilo C₁-C₁₀;
 p e q sejam 0 ou 1; e
 r seja um inteiro de 1 a 8;

em que os diversos grupos alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclilo e heteroarilo sejam opcionalmente substituídos;

ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para agricultura ou como pesticida.

4. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual X, Y e Z sejam oxigénio.

5. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R⁵⁰ seja -CH₃, fenilo ou heteroarilo.

6. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R⁵¹, R⁵², R⁵⁷ e R⁵⁸ sejam hidrogénio.

7. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R⁵³ a R⁵⁶ sejam seleccionados independentemente de entre hidrogénio, -alquilo C₁-C₆, -CO-alquilo C₁-C₆, -CO₂H, -CO₂-alquilo C₁-C₆, -OH, -O-alquilo C₁-C₆ e -OC(O)-alquilo C₁-C₆, ou R⁵⁴ e R⁵⁵, tomados em conjunto, formem uma ligação dupla ou -O-.

8. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R⁵⁹ seja hidrogénio e R⁶⁰ seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C₁-C₁₀, -alcenilo OC₂-C₁₀, -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C₁-C₁₀-cicloalquilo, -O-alquilC₁-C₁₀-arilo, -O-C₁-C₁₀-heterociclilo, -O-alquil C₁-C₁₀-heteroarilo e -OC(O)R; ou R⁵⁹ e R⁶⁰, tomados em conjunto, formem um grupo carbonilo.

9. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{61} , R^{62} , R^{67} , R^{68} , R^{69} e R^{70} sejam hidrogénio.

10. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{63} e R^{64} sejam hidrogénio.

11. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{65} seja hidrogénio e R^{66} seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C_1 - C_{10} , -alcenilo OC_2 - C_{10} , -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C_1 - C_{10} -cicloalquilo, -O-alquil C_1 - C_{10} -arilo, -O- C_1 - C_{10} -heterociclilo, -O-alquil C_1 - C_{10} -heteroarilo e -OC(O)R; ou R^{65} e R^{66} , tomados em conjunto, formem um grupo carbonilo.

12. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{64} e R^{65} formem uma ligação dupla.

13. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{71} seja hidrogénio e R^{72} seja seleccionado de entre -OH, -O-alquilo C_1 - C_{10} , -alcenilo OC_2 - C_{10} , -O-cicloalquilo, -O-arilo, -O-heterociclilo, -O-heteroarilo, -O-alquil C_1 - C_{10} -cicloalquilo, -O-alquil C_1 - C_{10} -arilo, -O- C_1 - C_{10} -heterociclilo, -O-alquil C_1 - C_{10} -heteroarilo e -OC(O)R; ou R^{71} e R^{72} , tomados em conjunto, formem um grupo carbonilo.

14. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{73} , R^{74} , R^{75} e R^{76} sejam hidrogénio, ou R^{73} e R^{76} sejam

hidrogénio e R^{74} e R^{75} , tomados em conjunto, formem uma ligação dupla ou -O-.

15. Um composto de acordo com a reivindicação 1, no qual R^{77} e R^{78} sejam independentemente hidrogénio ou metilo.

16. Uma composição farmacêutica, para agricultura ou pesticida, que inclua um composto de acordo com a reivindicação 1 e um veículo aceitável do ponto de vista farmacêutico, para agricultura ou para pesticidas.

17. Um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou de evitar uma doença ou um estado.

18. Um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15 ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou para evitar uma infecção bacteriana; um método para tratar ou evitar uma infecção parasítica; um método para tratar ou evitar uma infecção por protozoários; um método para tratar ou evitar uma patologia inflamatória; ou um método assegurando diurese.

19. Um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, ou um seu sal aceitável do ponto de

vista farmacêutico, para utilização num método de tratar ou de evitar uma patologia proliferativa de células.

20. Um composto para utilização num método de tratar ou de evitar uma patologia proliferativa de células de acordo com a reivindicação 19, em que o referido método incluía também a administração de um segundo fármaco quimioterapêutico.

21. Um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15 ou um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para utilização num método para controlar pestes num sujeito animal ou humano infestado com essa peste.

22. Utilização de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15 ou de um seu sal aceitável do ponto de vista farmacêutico, para o fabrico de um medicamento para utilização num método tal como se definiu em qualquer uma das reivindicações 18 a 21.

23. Um método para controlar pestes num ambiente agrícola, doméstico ou industrial infestado com a peste, que incluía aplicar-se ao ambiente uma quantidade eficaz de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações

1 a 15, ou um seu sal aceitável do ponto de vista da agricultura ou como pesticida.

Lisboa, 14 de Junho de 2012

FIG. 1

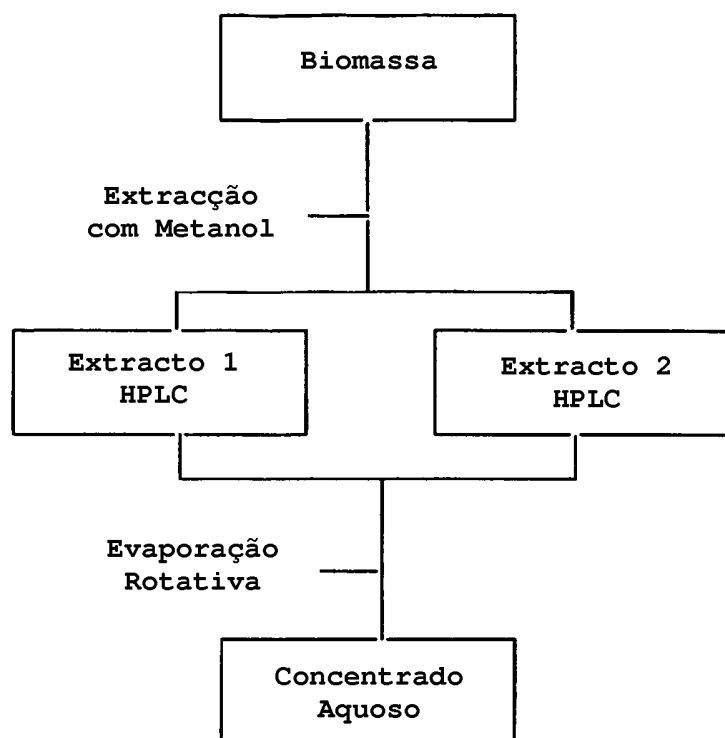


FIG. 2A

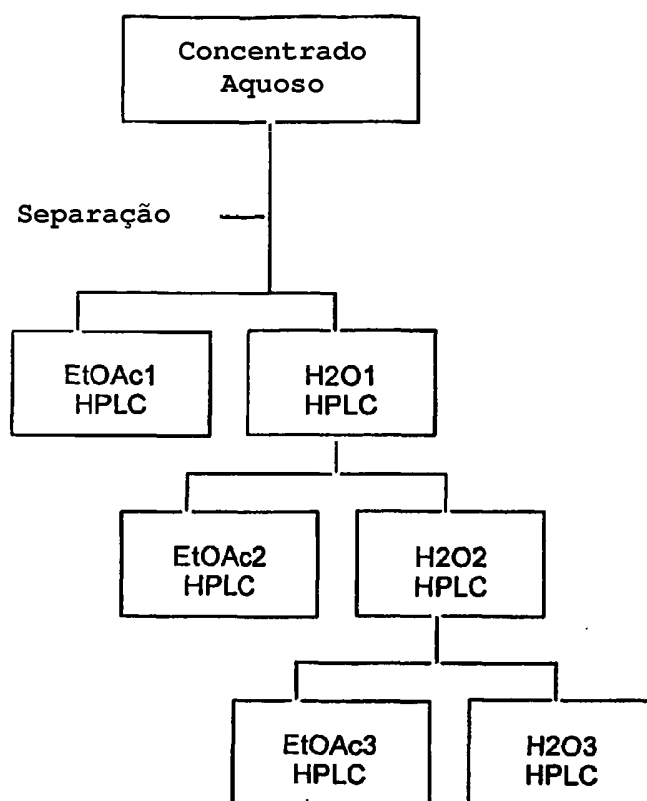


FIG. 2B

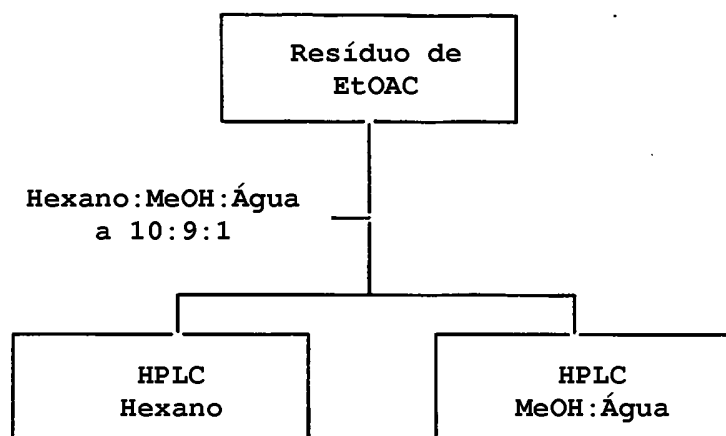


FIG. 3

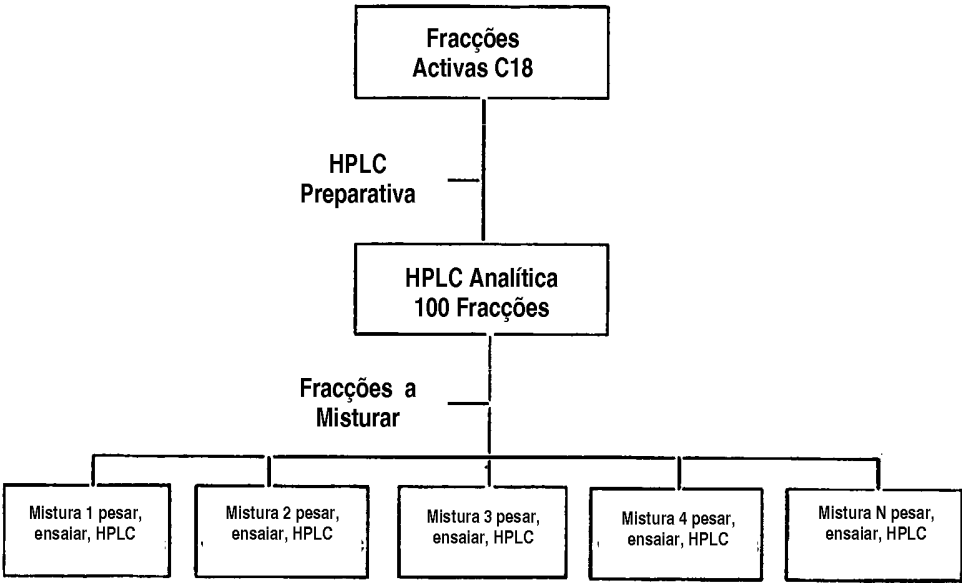


FIG. 5

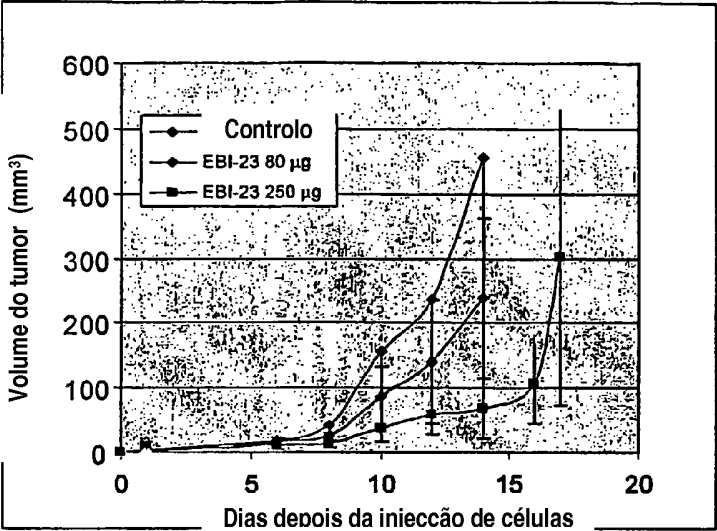


FIG. 6

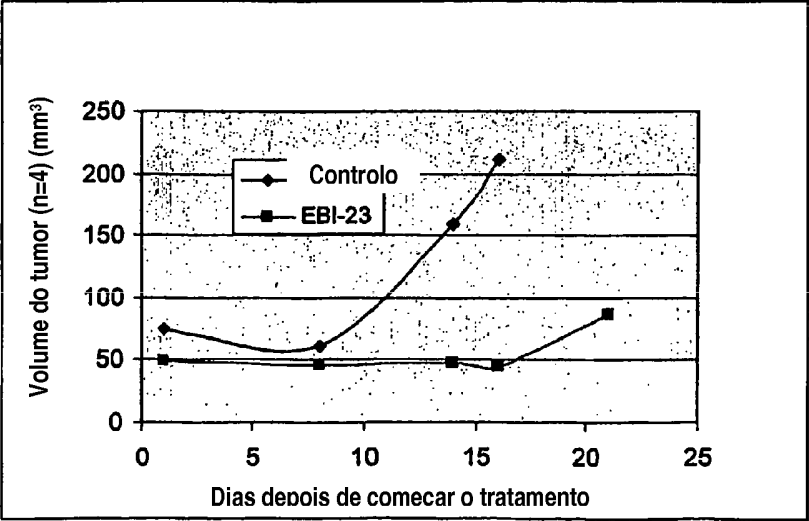
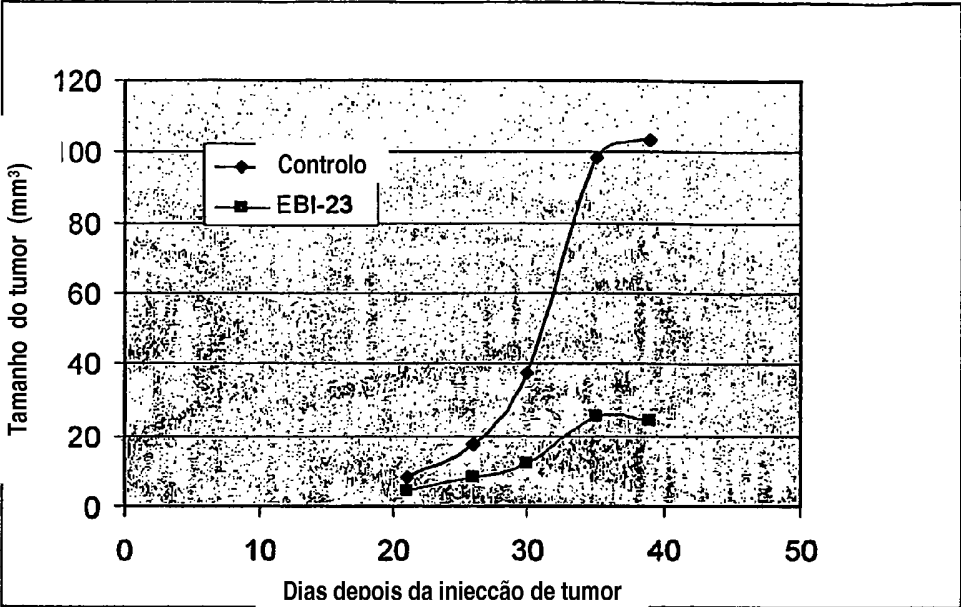


FIG. 7



REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pela requerente destina-se apenas a ser vantajosa para o leitor. Ela não integra o documento de Patente Europeia. Embora se tenha tomado grande cuidado na compilação das referências, não é possível excluir terem ocorrido erros ou omissões e o EPO declara não assumir qualquer responsabilidade a este respeito.

Literatura sem ser de patentes, citada na descrição

- **Smith M.B.; March J.;** March's Advanced Organic Chemistry; John Wiley & Sons Inc. 2001
- **Larock R.C.;** Comprehensive Organic Transformations; VCH Publishers Ltd. 1989
- **Green & Wuts;** Protective Groups in Organic Synthesis; John Wiley & Sons Inc. 1999
- **Harris et al.;** Strategies and Tactics in Organic Synthesis, 2004, vol. **5**, 221-
- **O'Doherty, et al.;** Organic Letters, 2000, vol. **2**, 2983-2986
- Tetrahedron Letters, 2000, vol. **41**, 183-187
- **Killeen et al.;** J. Pharmacol. Exp. Ther., 2006, vol. **316**, 1070-9
- **Gill et al.;** Int. J. Parasitol., 1995, vol. **25**, 463-470

- **DJ, Rickinson; AB, Pope JH;** Long-term T-cell-mediated immunity to Epstein-Barr virus in man. III. Activation of cytotoxic T cells in virus-infected leukocyte cultures; *Int J. Cancer*, 1979, vol. **23**, 618-625