



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0622138-6 A2**

(22) Data de Depósito: 20/11/2006
(43) Data da Publicação: 27/12/2011
(RPI 2138)



(51) *Int.Cl.:*
A01N 43/42
A61K 31/44

(54) **Título:** COMPOSTOS ÚTEIS PARA TRATAR
DISTÚRBIOS NEURODEGENERATIVOS

(73) **Titular(es):** Satori Pharmaceuticals, Inc.

(72) **Inventor(es):** Mark A. Findeis

(74) **Procurador(es):** Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2006044880 de
20/11/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2008/063165de
29/05/2008

(57) **Resumo:** COMPOSTOS ÚTEIS PARA TRATAR
DISTÚRBIOS NEURODEGENERATIVOS. A presente invenção refere-se a compostos que são úteis para tratar ou diminuir a gravidade de um distúrbio neurodegenerativo. A presente invenção proporciona também métodos para tratar ou diminuir a gravidade de tais distúrbios, onde o método compreende administrar a um paciente um composto da presente invenção, ou uma composição deste. O dito método é útil para tratar ou diminuir a gravidade de, por exemplo, mal de Alzheimer.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSTOS ÚTEIS PARA TRATAR DISTÚRBIOS NEURODEGENERATIVOS**".
REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

O presente pedido é uma continuação em parte do Pedido de Patente US 11/434.726, depositado em 16 de maio de 2006, que reivindica
5 Patente US 11/434.726, depositado em 16 de maio de 2006, que reivindica prioridade do Pedido de Patente provisório US 60/681.662, depositado em 17 de maio de 2005, o qual é aqui incorporado a título de referência na íntegra.

Campo Técnico da Invenção

10 A presente invenção refere-se a compostos farmacologicamente ativos que são úteis no tratamento ou na diminuição da gravidade de distúrbios neurodegenerativos.

Antecedentes da Invenção

O papel central da forma longa do peptídeo-beta amiloide, em particular $A\beta(1-42)$ na mal de Alzheimer foi estabelecido durante uma série de estudos histopatológicos, genéticos e bioquímicos. Vide Selkoe, DJ, *Physiol Rev.* 2001, 81:741-766, Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy, e Younkin SG, *J. Physiol Paris* 1998, 92:289-92, The role of A beta 42 in Alzheimer's disease. Especificamente, foi descoberto que a deposição de
15 $A\beta(1-42)$ no cérebro é uma característica inicial e invariável de todas as formas do mal de Alzheimer. De fato, isto ocorre antes que um diagnóstico do mal de Alzheimer seja possível e antes do depósito da forma primária mais curta de A-beta, $A\beta(1-40)$. Vide Parvathy S, et al., *Arch. Neurol.* 2001, 58:2025-32, Correlation between Abeta-40-, Abeta-42, and Abeta-43-containing amyloid plaques and cognitive decline. Implicações adicionais de
20 $A\beta(1-42)$ na etiologia da doença vêm da observação de que mutações nos genes da presenilina (gama-secretase) associadas a formas do mal de Alzheimer familiares de início prematuro resultam uniformemente em níveis aumentados de $A\beta(1-42)$. Vide Ishii K, et al *Neurosci Lett.* 1997, 228:17-20, Increased A beta 42(43)-plaque deposition in early-onset familial Alzheimer's
25 disease brains with the deletion of exon 9 and the missense point mutation (H163R) in the PS-1 gene. Mutações adicionais na proteína precursora da
30

amilóide APP aumentam o total de A β e em alguns casos, aumentam somente A β (1-42). Vide Kosaka T, et al *Neurology*, 48:741-5, The beta APP717 Alzheimer mutation increases the percentage of plasma amyloid-beta protein ending at A beta 42(43). Ainda que as várias mutações de APP
5 possam influenciar o tipo, quantidade e local de A β depositada, foi constatado que espécies predominantes e iniciais depositadas no parênquima do cérebro é A β longa (Mann). Vide Mann DM, et al., "*Am J Pathol*. 1996, 148:1257-66, Predominant deposition of amyloid-beta 42(43) in plaques in cases of Alzheimer's disease and hereditary cerebral hemorrhage associated
10 with mutations in the amyloid precursor protein gene".

Em depósitos iniciais de A β , quando a maior parte da proteína depositada está na forma de plaquetas amorfas ou difusas, virtualmente toda a A β está na forma longa. Vide Gravina SA, et al., "*J Biol Chem*, 270:7013-6, Amyloid beta protein (A beta) in Alzheimer's disease brain. Biochemical and
15 imunocytochemical analysis with antibodies specific for forms ending at A beta 40 or A beta 42(43); Iwatsubo et al., *Am J Pathol*. 1996, 149:1823-30, Full-length amyloid-beta (1-42(43)) and amino-terminally modified and truncated amyloid-beta 42(43) deposit in diffuse plaques; e Roher AE, et al., *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993, 90:10836-40, beta-Amyloid-(1-42) is a major
20 component of cerebrovascular amyloid deposits: implications for the pathology of Alzheimer disease. Esses depósitos iniciais de A β (1-42) são então capazes de semear o depósito adicional de ambas as formas curta e longa de A β . Vide Tamaoka, et al *Biochem Biophys Res Commun*. 1994, 205:834-42, Biochemical evidence for the long-tail form (A beta 1-42/43) of amyloid
25 beta protein as a seed molecule in cerebral deposits of Alzheimer's disease.

Em animais transgênicos que expressam A β , os depósitos eram associados a níveis elevados de A β (1-42), e o padrão do depósito é similar ao visto na doença humana com a A β (1-42) sendo depositada inicialmente seguida por deposição de A β (1-40). Vide Rockenstein E, et al *J Neurosci Res*. 2001, 66:573-82, Early formation of mature amyloid-beta protein deposits in a mutant APP transgenic model depends on levels of Abeta(1-42); e
30 Terai K, et al., *Neuroscience* 2001, 104:299-310, beta-Amyloid deposits in

transgenic mice expressing human beta-amyloid precursor protein have the same characteristics as those in Alzheimer's disease. Padrões e tempos de depósito similares são encontrados em pacientes de síndrome de Down onde a expressão de A β é elevada e o depósito é acelerado. Vide Iwatsubo T, et al *Ann Neurol.* 1995, 37:294-9, Amyloid beta protein (A beta) deposition: A beta 42(43) precedes A beta 40 in Down syndrome.

Em conformidade, a redução seletiva de A β (1-42) assim emerge como uma estratégia específica para a doença pela redução do potencial de formação de amiloide de todas as formas de A β , atrasando ou parando os novos depósitos de A β , inibindo a formação de oligômeros tóxicos solúveis de A β , e desta forma atrasando ou parando a progressão da neurodegeneração.

Sumário da Invenção

Como descrito aqui, a presente invenção fornece compostos úteis para o tratamento ou redução da gravidade de um distúrbio neurodegenerativo. A presente invenção também fornece métodos para o tratamento ou redução da gravidade de tais distúrbios onde tal método compreende administrar a um paciente um composto da presente invenção, ou uma composição desta. O referido método é útil para o tratamento ou redução da gravidade do, por exemplo, mal de Alzheimer.

Breve Descrição dos Desenhos

A figura 1 retrata o espectro de RMN ^1H das frações de cromatografia sat14-9 e sat14-10.

A figura 2 retrata o espectro de RMN ^1H das frações de cromatografia sat14-11 e sat14-12.

A figura 3 retrata o espectro de RMN ^1H das frações de cromatografia sat15-1 e sat15-2.

A figura 4 retrata o espectro de RMN ^1H das frações de cromatografia sat15-4 e sat15-5.

A figura 5 retrata uma ampliação da separação do cromatograma HPLC de fase reversa C-18 de sat15-5, onde os números 1 a 5 correspondem às janelas de tempo para as frações sat 16-1 a sat16-9.

A figura 6 retrata o espectro de RMN ^1H da porção sat16-3 correspondente ao composto 6, 98% puro.

A figura 7 retrata um sumário do fluxograma do protocolo de isolamento 2.

5 A figura 8 retrata um traço de HPLC de extrato de erva de São Cristóvão após HPLC semipreparativa.

A figura 9 retrata um traço de HPLC do composto 6 mostrando um pequeno pico de deacil.

A figura 10 retrata um traço de HPLC do composto 6.

10 A figura 11 retrata um espectro de massa do Composto-deacil 6.

A figura 12 retrata um RMN ^1H do Composto-deacil 6.

A figura 13 retrata um traço de HPLC do Composto 6.

A figura 14 retrata um RMN $^1\text{H}(\text{CD}_3\text{OD})$ do Composto 6.

A figura 15 retrata um espectro de massa do Composto 6.

15 A figura 16 retrata o traço de HPLC do Composto 6 detectado a 205 nm isolado de acordo com o protocolo 2.

A figura 17 retrata o traço de HPLC do Composto 6 detectado a 230 nm isolado de acordo com o protocolo 2.

A figura 18 retrata o HPLC do Composto 6 detectado em ELSD.

20 A figura 19 retrata o espectro RMN ^1H do Composto 6 detectado de acordo com o protocolo 2.

A figura 20 retrata o espectro de massa do Composto 6 isolado de acordo com o protocolo 2.

25 A figura 21 retrata o efeito determinado de IP-MS do Composto 6 sobre quantidades relativas de amiloide-beta (1-40), (1-42), (1-37), (1-38) e (1-39).

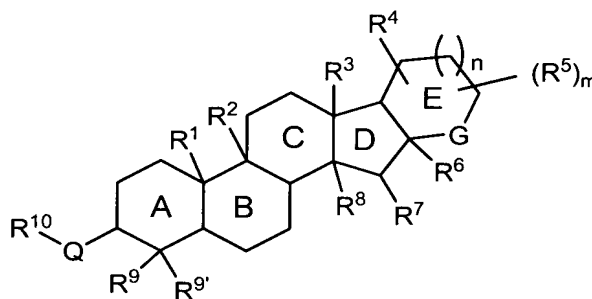
A figura 22 retrata o efeito determinado de IP-MS do Composto 6 sobre as quantidades de amiloide-beta (1-40), (1-42), (1-37), (1-38) e (1-39) no tipo selvagem e 717 células com mutação.

30 Descrição Detalhada de Certas Modalidades Da Invenção

1. Descrição Geral dos Compostos da Invenção.

De acordo com uma modalidade, a presente invenção fornece

um composto da fórmula I:



I

ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde:

5 cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR ou O;

R¹ e R² são cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, N(R)₂ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

15 cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído ou um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde:

20 dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

n é 0-2;

25 R³, R⁴, R⁷ e R⁸ são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

m é 0-2;

R^5 é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂, ou:

quando R^5 é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, então R^6 e um grupo R' em R^5 são opcionalmente tomados juntos para formar um anel 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-;

cada R' e R'' é independentemente selecionado de R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

R^6 é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

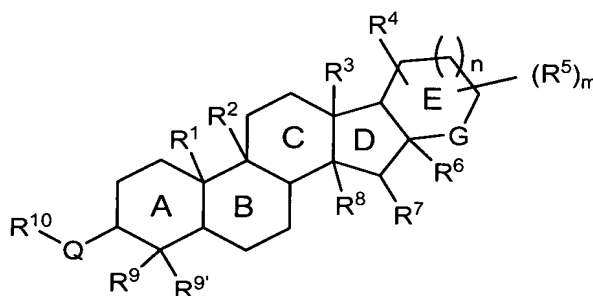
R^9 e R^9 são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, SR ou N(R)₂, ou R^1 e R^2 são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

Q é uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-; e

R^{10} é R, um grupo hidroxila adequadamente protegido, um grupo tiol adequadamente protegido, um grupo amino adequadamente protegido,

um anel monocíclico de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; um anel bicíclico de 8 a 10 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; uma porção detectável, um resíduo de polímero, um peptídeo, ou uma porção contendo açúcar ou similar ao açúcar.

De acordo com uma outra modalidade, a presente invenção fornece um composto da fórmula I:



I

ou um sal farmaceuticamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR ou O;

R¹ e R² são cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, N(R)₂ ou um grupo amino adequadamente protegido, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde:

dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

5 n é 0-2;

R^3 , R^4 , R^7 e R^8 são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO_2R , OSO_2R , $N(R)_2$, um grupo amino adequadamente protegido, $NR(CO)R$, $NR(CO)(CO)R$, $NR(CO)N(R)_2$,
10 $NR(CO)OR$, $(CO)OR$, $O(CO)R$, $(CO)N(R)_2$ ou $O(CO)N(R)_2$

m é 0-2;

R^5 é $T-C(R')_3$, $T-C(R')_2C(R'')_3$, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO_2R , OSO_2R , $N(R)_2$, um grupo amino adequadamente protegido, $NR(CO)R$,
15 $NR(CO)(CO)R$, $NR(CO)N(R)_2$, $NR(CO)OR$, $(CO)OR$, $O(CO)R$, $(CO)N(R)_2$ ou $O(CO)N(R)_2$ ou:

quando R^5 é $T-C(R')_3$ ou $T-C(R')_2C(R'')_3$, então R^6 e um grupo R' em R^5 são opcionalmente tomados juntos para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

20 cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-6} alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-;

25 cada R' e R'' é independentemente selecionado de R, OR, SR, SO_2R , OSO_2R , $N(R)_2$, $NR(CO)R$, $NR(CO)(CO)R$, $NR(CO)N(R)_2$, $NR(CO)OR$, $(CO)OR$, $O(CO)R$, $(CO)N(R)_2$ ou $O(CO)N(R)_2$;

R_6 é halogênio, R, OR, SR, SO_2R , OSO_2R , $N(R)_2$, $NR(CO)R$,
30 $NR(CO)(CO)R$, $NR(CO)N(R)_2$, $NR(CO)OR$, $(CO)OR$, $O(CO)R$, $(CO)N(R)_2$ ou $O(CO)N(R)_2$;

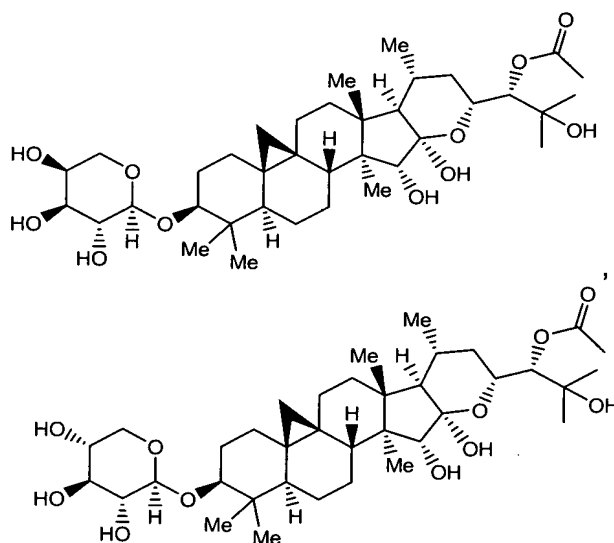
R^9 e R^9 são, cada um, independentemente, selecionados de R,

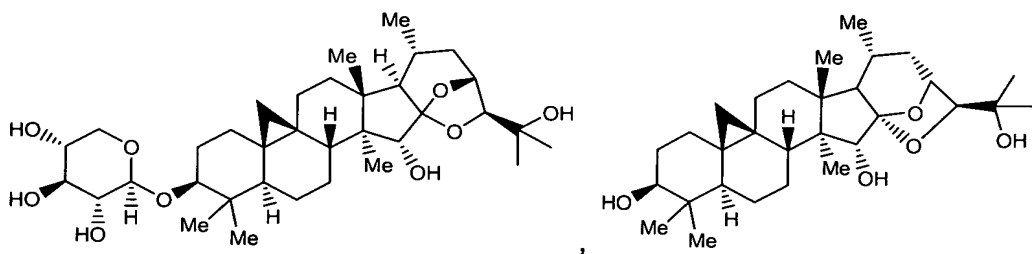
OR, SR ou $N(R)_2$, ou R^1 e R^2 são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado ou saturado; ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

- 5 Q é uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-6} alquilideno opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-; e

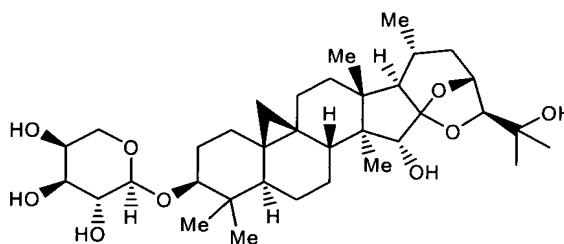
- 10 R^{10} é R, um grupo hidroxila adequadamente protegido, um grupo tiol adequadamente protegido, um grupo amino adequadamente protegido, um anel monocíclico de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; um anel bicíclico de 8 a 10 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; uma porção detectável, um resíduo de polímero, um peptídeo, ou uma porção contendo açúcar ou similar a açúcar,

desde que tal composto seja diferente de:





ou



2. Definições:

Os compostos desta invenção incluem aqueles descritos acima de maneira geral, e são adicionalmente ilustrados pelas modalidades, sub-modalidades e espécies reveladas aqui. Como utilizado aqui, as seguintes definições devem se aplicar a não ser que seja indicado o contrário. Para os propósitos desta invenção, os elementos químicos são identificados de acordo com a Tabela Periódica de Elementos, versão CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75^a Ed. Adicionalmente, os princípios gerais de química orgânica são descritos em "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 e "March's Advanced Organic Chemistry", 5^a edition., Ed. Smith, M. B. e March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, cujos conteúdo é aqui incorporado a título, na íntegra.

Como é definido acima de maneira geral, cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático. Deve se prezar o fato de que os compostos da presente invenção são contemplados como sendo compostos quimicamente exequíveis. Por conseguinte, deve ser entendido por aqueles versados na técnica que quando qualquer um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é insaturado, certos substituintes nesse anel estarão ausentes para que as regras da valência sejam satisfeitas. Por exemplo, se o Anel D é insaturado na ligação entre o Anel D e o Anel E, então R⁶ estará ausente. Alternativa-

mente, se o Anel D é insaturado na ligação entre o Anel D e o Anel C, então R⁸ e R³ estarão ausentes. Todas as combinações de saturação e insaturação de qualquer um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E são contempladas pela presente invenção. Assim, para que regras gerais de valência sejam cumpridas, e dependendo do grau de saturação e insaturação de qualquer um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E, o requisito da presença ou ausência de cada um de R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸, R⁹, R⁹e QR¹⁰ está assim contemplado.

Conforme descrição aqui, os compostos da invenção podem ser opcionalmente substituídos com um ou mais substituintes, conforme ilustrados acima de maneira geral, ou exemplificados por classes, subclasses e espécies particulares da invenção. Deve ser notado que a frase "opcionalmente substituído" é utilizada de maneira intercambiável com a frase "substituído ou não-substituído". Em geral, o termo "substituído", precedido ou não pelo termo "opcionalmente", se refere à substituição de radicais hidrogênio em uma dada estrutura por um radical de um substituinte especificado. A não ser que se indique o contrário, um grupo opcionalmente substituído pode possuir um substituinte em cada posição substituível do grupo, e quando mais de uma posição em uma dada estrutura pode ser substituída por mais de um substituinte selecionado em um grupo especificado, os substituintes podem ser iguais ou diferentes em cada posição. Combinações de substituintes contemplados por esta invenção são preferivelmente aquelas que resultam na formação de compostos quimicamente exequíveis ou estáveis.

O termo "estável", conforme utilizado aqui, se refere a compostos que não são substancialmente alterados quando submetidos a condições que permitam sua produção, detecção e, preferivelmente, sua recuperação, purificação e uso para um ou mais dos propósitos revelados aqui. Em algumas modalidades, um composto estável ou um composto quimicamente exequível é um que não é substancialmente alterado quando mantido a 40°C ou menos, na ausência de umidade ou outras condições quimicamente reativas, por pelo menos uma semana.

O termo "alifático" ou "grupo alifático", conforme utilizado aqui,

significa uma cadeia de hidrocarbonetos, linear (ou seja, não-ramificada) ou ramificada, substituída ou não-substituída, que é completamente saturada ou que contenha uma ou mais unidades de insaturação, ou um hidrocarboneto monocíclico ou hidrocarboneto bicíclico que é completamente saturado ou que contém uma ou mais unidades de insaturação, mas que não é aromático (também referido aqui por "carbociclo", "cicloalifático" ou "cicloalquila"), que tem um único ponto de ligação para restante da molécula. A não ser que seja indicado o contrário, grupos alifáticos contêm de 1 a 20 átomos de carbono alifáticos. Em algumas modalidades, os grupos alifáticos contêm de 1 a 6 átomos de carbono alifáticos. Em ainda outras modalidades, os grupos alifáticos contêm de 1 a 4 átomos de carbono alifáticos. Em algumas modalidades, "cicloalifático" (ou "carbociclo" ou "cicloalquila") se refere a um hidrocarboneto C₃-C₈ monocíclico ou a um hidrocarboneto C₈-C₁₂ bicíclico completamente saturado ou que contém uma ou mais unidades de insaturação, mas que não é aromático, e que tem um único ponto de ligação ao restante da molécula onde qualquer anel individual nesse sistema de anel bicíclico possui de 3 a 7 membros. Grupos alifáticos adequados incluem, mas sem limitação, grupos alquínica, alquênica, alquilar substituídos ou não-substituídos, lineares ou ramificados e híbridos destes como (cicloalquil)alquila, (cicloalquênica)alquila ou (cicloalquil)alquênica. Em outras modalidades, um grupo alifático pode ter dois átomos de hidrogênio geminais substituídos por oxo (um átomo de oxigênio carbonila bivalente =O), ou um substituinte formador de anel, tal como -O-(alquilenos ou alquilideno ramificado ou não)-O- para formar acetal ou cetal.

Em certas modalidades, exemplos de grupos alifáticos incluem, mas sem limitação, etínica, 2-propínica, 1-propênica, 2-butenica, 1,3-butadiénica, 2-penténica, vinil (etenica), alilar, isopropénica, metilar, etilar, propilar, isopropilar, butilar, isobutilar, sec-butilar, terc-butilar, pentilar, isopentilar, sec-pentilar, neo-pentilar, terc-pentilar, ciclopentilar, hexilar, isoexilar, sec-hexilar, cicloexilar, 2-metil-pentilar, terc-hexilar, 2,3-dimetilbutilar, 3,3-dimetilbutilar, 1,3-dimetilbutilar, e 2,3-dimetilbut-2-ilar.

Os termos "haloalquila", "haloalquênica" e "haloalcóxi" significam

alquila, alquenila e alcóxi, conforme o caso, substituídos com um ou mais átomos de halogênio. O termo "halogênio" significa F, Cl, Br ou I. Tais grupos "haloalquila", "haloalquenila" e "haloalcóxi" podem ter dois ou mais substituintes halo que podem ou não ser o mesmo halogênio e podem ou não
5 estar no mesmo átomo de carbono. Exemplos incluem clorometila, periodometila, 3,3-dicloropropila, 1,3-difluorbutila, trifluormetila, e 1-bromo-2-cloropropila.

Os termos "heterociclo", "heterociclila", "heterocicloalifático" e "heterocíclico", como utilizados aqui, significam sistemas de anéis tricíclicos,
10 bicíclicos ou monocíclicos, não-aromáticos, onde um ou mais membros do anel são um heteroátomo escolhido de forma independente. Em algumas modalidades, o grupo "heterociclo", "heterociclila", "heterocicloalifático" ou "heterocíclico" tem de 3 a 14 membros no anel onde um ou mais membros no anel é um heteroátomo selecionado de forma independente de oxigênio,
15 enxofre, nitrogênio ou fósforo, e cada anel do sistema contém de 3 a 7 membros no anel.

O termo "heteroátomo" significa um ou mais de oxigênio, enxofre, nitrogênio, fósforo ou silício (incluindo-se qualquer forma oxidada de enxofre, nitrogênio, fósforo ou silício; a forma quaternizada de qualquer nitrogênio básico; ou um nitrogênio substituível de um anel heterocíclico, por exemplo, N (como em 3,4-di-hidro-2H-pirrolila), NH (como em pirrolidinila) ou NR⁺ (como em pirrolidinila N-substituída).
20

O termo "insaturado", conforme utilizado aqui, significa que uma porção tem uma ou mais unidades de instauração.

25 O termo "alcoxi" ou "tioalquila", conforme utilizado aqui, refere-se a um grupo alquila, como definido previamente, anexado à cadeia de carbono principal através de um átomo de oxigênio ("alcóxi") ou de enxofre ("tioalquila").

O termo "arila" utilizado sozinho ou como parte de uma porção maior como em "aralquila", "aralcóxi", ou "ariloxialquila", refere-se a sistemas de anéis monocíclicos, bicíclicos ou tricíclicos que possuem um total de 5 a
30 14 membros no anel, onde pelo menos um anel no sistema é aromático e

onde cada anel no sistema contém de 3 a 7 membros de anel. O termo "arila" pode ser utilizado de forma intercambiável com o termo "anel de arila". O termo "arila" também se refere a sistemas de anéis heteroarila conforme é definido abaixo.

5 O termo "heteroarila", utilizado sozinho ou como parte de uma porção maior como em "heteroaralquila" ou "heteroaralcóxi", refere-se a sistemas de anéis monocíclicos, bicíclicos ou tricíclicos que possuem um total de 5 a 14 membros no anel, onde pelo menos um anel no sistema é aromá-
10 tico, pelo menos um anel contém um ou mais heteroátomos e onde cada anel no sistema contém de 3 a 7 membros no anel. O termo "heteroarila" pode ser utilizado de forma intercambiável com o termo "anel heteroarila" ou com o termo "heteroaromático".

Um grupo arila (incluindo-se aralquila, aralcóxi, ariloxialquila e similares) ou heteroarila (incluindo-se heteroaralquila e heteroarilalcóxi e simi-
15 lares) pode conter um ou mais substituintes. Substituintes adequados no átomo de carbono insaturado de um grupo arila ou heteroarila são selecionados de halogênio; N₃, CN, R^o, OR^o, SR^o; 1,2-metileno-dióxi; 1,2-etilenodióxi; fenila (Ph) opcionalmente substituída com R^o; (CH₂)₁₋₂ (Ph), opcionalmente substituído por R^o; CH=CH(Ph), opcionalmente substituído
20 por R^o; -O(Ph) opcionalmente substituído por R^o; NO₂; CN; N(R^o)₂; N-R^oC(O)R^o; NR^oC(O)N(R^o)₂; NR^oCO₂R^o; -NR^oNR^oC(O)R^o; NR^oN-R^oC(O)N(R^o)₂; NR^oNR^oCO₂R^o; C(O)C(O)R^o; C(O)CH₂C(O)R^o; CO₂R^o; C(O)R^o; C(O)N(R^o)₂; OC(O)N(R^o)₂; S(O)₂R^o; SO₂N(R^o)₂; S(O)R^o; NR^oSO₂N(R^o)₂; NR^oSO₂R^o; C(=S)N(R^o)₂; C(=NH)-N(R^o)₂; ou (CH₂)₀₋₂NHC(O)R^o
25 onde cada ocorrência independente de R^o é selecionada de hidrogênio, um anel alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído, um anel heteroarila ou heterocíclico de 5 a 6 membros não-substituído, fenila, O(Ph) ou CH₂(Ph) ou, mesmo com a definição acima, duas ocorrências independentes de R^o, no mesmo substituinte ou em substituintes diferentes, tomados juntos com o(s)
30 átomo(s) a que cada grupo R^o está ligado, formam um anel de 3 a 8 membros de cicloalquila, heterociclila, arila ou heteroarila que possui de 0 a 4 heteroátomos selecionados de maneira independente de nitrogênio, oxigênio

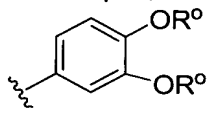
ou enxofre. Substituintes opcionais no grupo alifático de R^0 são selecionados de N_3 , CN, NH_2 , $NH(C_{1-4}$ alifático), $N(C_{1-4}$ alifático) $_2$, halogênio, C_{1-4} alifático, OH, $O(C_{1-4}$ alifático), NO_2 , CN, CO_2H , $CO_2(C_{1-4}$ alifático), $O(haloC_{1-4}$ alifático) ou halo (C_{1-4} alifático), onde cada um dos grupos alifáticos C_{1-4} mencionados
 5 acima de R^0 é não-substituído.

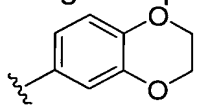
Um grupo alifático ou heteroalifático ou um anel heterocíclico não-aromático pode conter um ou mais substituintes. Substituintes adequados no carbono saturado de um grupo alifático ou heteroalifático ou de um anel heterocíclico não-aromático são selecionados daqueles listados acima
 10 para o carbono insaturado de um grupo arila ou heteroarila e, adicionalmente, podem incluir os seguintes: $=O$, $=S$, $=NNHR^*$, $=NN(R^*)_2$, $=NNHC(O)R^*$, $=NNHCO_2$ (alquila), $=NNHSO_2$ (alquila) ou $=NR^*$, onde cada R^* é selecionado de maneira independente de hidrogênio ou de um alifático C_{1-6} opcionalmente substituído. Substituintes opcionais do grupo alifático de R^* são selecionados de NH_2 , $NH(C_{1-4}$ alifático), $N(C_{1-4}$ alifático) $_2$, halogênio, C_{1-4} alifático, OH, $O(C_{1-4}$ alifático), NO_2 , CN, CO_2H , $CO_2(C_{1-4}$ alifático), $O(halo C_{1-4}$ alifático) ou halo(C_{1-4} alifático), onde cada um dos grupos alifáticos C_{1-4} mencionados
 15 acima de R^* é não-substituído.

Substituintes opcionais no nitrogênio de um anel heterocíclico não-aromático são selecionados de R^+ , $N(R^+)_2$, $C(O)R^+$, CO_2R^+ , $C(O)C(O)R^+$, $C(O)CH_2C(O)R^+$, SO_2R^+ , $SO_2N(R^+)_2$, $C(=S)N(R^+)_2$, $C(=NH)-N(R^+)_2$ ou $NR^+SO_2R^+$; onde R^+ é um hidrogênio, um alifático C_{1-6} opcionalmente substituído, fenila opcionalmente substituída, $O(Ph)$ opcionalmente substituído, $CH_2(Ph)$ opcionalmente substituído, $(CH_2)_{1-2}(Ph)$ opcionalmente substituído,
 20 $CH=CH(Ph)$ opcionalmente substituído, ou um anel heteroarila ou heterocíclico de 5 a 6 membros não-substituído, o qual possui de 1 a 4 heteroátomos selecionados de maneira independente de oxigênio, nitrogênio, ou enxofre, ou, apesar da definição acima, duas ocorrências independentes de R^+ , no mesmo substituinte ou em substituintes diferentes, tomados juntos com o(s)
 25 átomo(s) a que cada grupo R^+ está ligado, formam um anel, de 3 a 8 membros, de cicloalquila, heterociclila, arila ou heteroarila que possui de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou
 30

4. enxofre. Substituintes opcionais no grupo alifático ou no anel fenila de R^+ são selecionados de NH_2 , $NH(C_{1-4}$ alifático), $N(C_{1-4}$ alifático) $_2$, halogênio, C_{1-4} alifático, OH , $O(C_{1-4}$ alifático), NO_2 , CN , CO_2H , $CO_2(C_{1-4}$ alifático), $O(haloC_{1-4}$ alifático) ou $haloC_{1-4}$ alifático, onde cada um dos grupos alifáticos C_{1-4} mencionados acima de R^+ é não-substituído.

5. Conforme detalhado acima, duas ocorrências independentes de R^o (ou de R^+ , ou qualquer outra variável similarmente definida aqui) são tomadas juntas com o(s) átomo(s) ao(s) qual(quais) cada variável é ligada pra formar um anel de 3 a 8 membros cicloalquila, heterociclila, arila, ou heteroarila que possui de 0 a 4 heteroátomos selecionados de independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Anéis exemplificativos que são formados quando duas ocorrências de R^o (ou R^+ , ou qualquer outra variável definida aqui de modo similar) são tomadas juntas com (o)s átomo(s) ao(s) qual(quais) cada variável está ligada incluem, sem limitação, os seguintes: a) duas ocorrências independentes de R^o (ou de R^+ , ou qualquer outra variável definida aqui de modo similar) que são ligadas ao mesmo átomo e são tomadas juntas com tal átomo para que formem um anel, por exemplo, $N(R^o)_2$, onde ambas as ocorrências de R^o são tomadas juntas com o átomo de nitrogênio para que formem um grupo piperidin-1-ila, piperazin-1-ila ou morfolin-4-ila; e b) duas ocorrências independentes de R^o (ou de R^+ , ou qualquer outra variável definida aqui de modo similar) que são ligadas a diferentes átomos e são tomadas juntas com ambos esses átomos para que formem um anel, por exemplo, onde um grupo fenila é substituído por duas ocorrências

20 de OR^o , essas duas ocorrências de R^o são tomadas juntas com os átomos de oxigênio aos quais elas são ligadas para formar um anel

25 contendo oxigênio, fundido, de 6 membros: . Deve ser notado

que vários outros anéis podem ser formados quando duas ocorrências independentes de R^o (ou de R^+ , ou qualquer outra variável similarmente definida aqui) são tomadas juntas com o(s) átomo(s) ao(s) qual(quais) cada variável é ligada e que os exemplos detalhados acima não têm por intenção a limita-

30

ção.

Conforme utilizado aqui, o termo "porção detectável" é utilizado de maneira intercambiável com o termo "marcador" e se refere a qualquer porção capaz de ser detectada, por exemplo, marcadores primários e marcadores secundários. Marcadores primários, tais quais radioisótopos (por exemplo, ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S ou ^{14}C), marcadores de massa e marcadores fluorescentes são grupos repórter que geram sinais que podem ser detectados sem modificações adicionais.

O termo "marcador secundário" conforme utilizado aqui se refere a frações tal como a biotina e vários antígenos de proteína que requerem a presença de um segundo intermediário para a produção de um sinal detectável. Para a biotina, o intermediário secundário pode incluir conjugados da estreptavidina-enzima. Para marcadores de antígenos, intermediários secundários podem incluir conjugados de anticorpo-enzima. Alguns grupos fluorescentes agem como maracores secundários porque transferem energia a um outro grupo no processo de transferência de energia de ressonância fluorescente não-radiativa (FRET), e o segundo grupo produz o sinal detectável.

Os termos "marcador fluorescente", "corante fluorescente" e "fluoróforo", conforme utilizados aqui, referem-se a frações que absorvem energia da luz em um comprimento de onda de excitação definido e emitem energia de luz em um comprimento de onda diferente. Exemplos de marcadores fluorescentes incluem, sem limitação: tintas Alexa Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), AMCA, AMCA-S, corantes BODIPY (BODIPY FL, BODIPY R6G, BODIPY TMR, BODIPY TR, BODIPY 530/550, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY 630/650 e BODIPY 650/665), Carboxirrodamina 6G, carbóxi-X-rodamina (ROX), Azul Cascata, Amarelo Cascata, Cumarina 343, corantes de Cianina (Cy3, Cy5, Cy3.5 e Cy5.5), Dansil, Dapoxyl, Dialquilaminocumarian, 4',5'-Dicloro-2',7'-dimetóxi-fluoresceína, DM-NERF, Eosina, Eritrosina, Fluoresceína, FAM, Hidroxicumarina, corantes

IRDyes (IRD40, IRD 700 e IRD 800), JOE, Lissamina rodamina B, Azul Marinho, Metoxicumarina, Naftofluoresceína, Verde Oregon 488, Verde Oregon 500, Verde Oregon 514, Azul Pacífico, PyMPO, Pireno, Rodamina B, Rodamina 6G, Verde Rodamina, Vermelho Rodamina, Verde Rodol, 2',4',5',7'-Tetra-bromossulfona-fluoresceína, Tetrametil-rodamina (TMR), Carboxitrametilrodamina (TAMRA), Vermelho do Texas e Vermelho do Texas-X.

O termo "marcador de massa", conforme utilizado aqui, se refere a qualquer porção capaz de ser singularmente detectada graças a sua massa por meio de técnicas de detecção de espectrometria de massa (MS). Exemplos de marcadores de massa incluem rótulos de liberação de eletróforos como o ácido N-[3-[4'-[(p'-metóxi-tetrafluor-benzil)óxi]fenil]-3-metilgliceronil]isonipecótico, 4'-[2,3,5,6-tetraflúor-4-(pentafluorfenoxil)]metilacetofenona e seus derivados. A síntese e a utilidade destes marcadores de massa estão descritas nas Patentes US 4.650.750, 4.709.016, 5.360.8191, 5.516.931, 5.602.273, 5.604.104, 5.610.020 e 5.650.270. Outros exemplos de marcadores de massa incluem, sem limitação, nucleotídeos, didesoxinucleotídeos, oligonucleotídeos de comprimento e composição base variáveis, oligopeptídeos, oligossacarídeos e outros polímeros sintéticos de comprimento e composição monomérica variáveis. Uma ampla variedade de moléculas orgânicas, tanto neutras quanto carregadas (biomoléculas ou compostos sintéticos) em uma faixa de massa apropriada (100 a 2.000 Daltons) pode também ser utilizada como marcador de massa.

O termo "substrato", conforme utilizado aqui, refere-se a qualquer material ou complexo macromolecular ou material ao qual um grupo terminal funcionalizado de um composto da presente invenção pode ser ligado. Exemplos de substratos comumente usados incluem, mas sem limitação, superfícies de vidro, superfícies de sílica, superfícies de plástico, superfícies de metal, superfícies que contêm um revestimento químico ou metálico, membranas (por exemplo, náilon, polissulfona ou sílica), microesferas (por exemplo, látex, poliestireno ou outro polímero), matrizes de polímeros porosos (por exemplo, gel de poliacrilamida, polissacarídeo ou polimetacrilato) e complexos macromoleculares (por exemplo, proteínas ou polissacari-

deos).

A não ser que se indique o contrário, as estruturas retratadas aqui também têm por objetivo incluir todas as formas isoméricas (por exemplo, enantioméricas, diastereoméricas e geométricas (ou conformacionais)) das estruturas; por exemplo, as configurações R e S para cada centro assimétrico, os isômeros de ligação dupla (Z) e (E) e os isômeros conformacionais (Z) e (E). Assim, isômeros estereoquímicos simples assim como misturas enantioméricas, diastereoméricas e geométricas (ou conformacional) dos presentes compostos estão dentro do escopo da invenção.

A não ser que se indique o contrário, todas as formas tautoméricas dos compostos da invenção estão dentro do escopo da invenção.

Adicionalmente, a não ser que se indique o contrário, as estruturas aqui retratadas também têm por objetivo incluir compostos que diferem somente na presença de um ou mais átomos isotopicamente enriquecidos. Por exemplo, compostos que possuem as presentes estruturas exceto pela substituição do hidrogênio por deutério ou trítio, ou a substituição de um carbono por um carbono enriquecido ^{13}C ou ^{14}C estão dentro do escopo desta invenção. Tais compostos são úteis, por exemplo, como ferramentas analíticas ou sondas em ensaios biológicos.

3. Descrição de compostos exemplificativos:

Como definido de maneira geral acima, a porção G da fórmula I é S, CH_2 , NR ou O. Em certas modalidades, a porção G de fórmula I é O.

Como definido de maneira geral acima, R^1 e R^2 da fórmula I são cada um independentemente halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, $\text{N}(\text{R})_2$ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R^1 e R^2 são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em algumas modalidades, R^1 e R^2 da fórmula I são cada um independentemente R ou OR. Em outras modalidades, R^1 e R^2 da fórmula I são cada um independentemente R, onde R é hidrogênio ou um grupo alifático C_{1-6} , opcionalmente substituído. De acordo com um outro

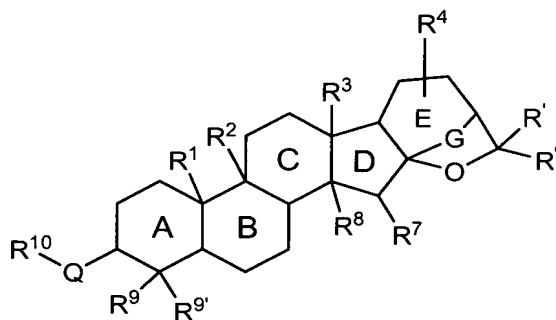
aspecto da presente invenção, R^1 e R^2 são tomados juntos para formar um anel de 3 a 6 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em ainda um outro aspecto da presente invenção, é fornecido um composto da fórmula I onde R^1 e R^2 são tomados juntos para que formem um anel carbocíclico saturado de 3 a 6 membros. Em outras modalidades, R^1 e R^2 da fórmula I são tomados juntos para que formem um anel ciclopropílico.

Em certas modalidades, a porção n da fórmula I é 0-1. Em outras modalidades a porção n da fórmula I é 1.

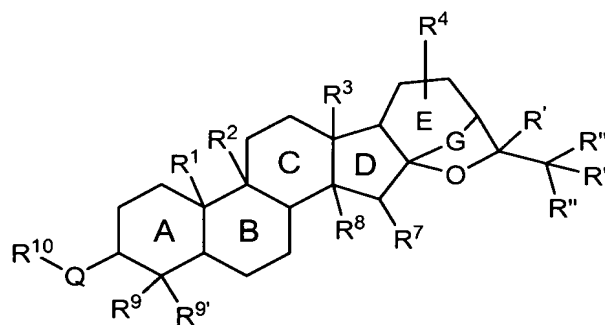
Conforme definido de maneira geral acima, o grupo R^5 da fórmula I é $T-C(R')_3$, $T-C(R')_2C(R'')_3$, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO_2R , OSO_2R , $N(R)_2$, um grupo amino protegido adequadamente, $NR(CO)R$, $NR(CO)(CO)R$, $NR(CO)N(R)_2$, $NR(CO)OR$, $(CO)OR$, $O(CO)R$, $(CO)N(R)_2$ ou $O(CO)N(R)_2$ onde cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-6} alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-. Em algumas modalidades, cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-4} alquilideno linear ou ramificada, onde uma unidade de metileno de T é opcionalmente substituída por -O-, -N(R)- ou -S-. Em outras modalidades, cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-4} alquilideno linear ou ramificada. Em outras modalidades, cada T é uma ligação de valência.

Quando o grupo R^5 da fórmula I é $T-C(R')_3$, $T-C(R')_2C(R'')_3$, cada R' e R'' é independentemente selecionado de R, OR, SR, SO_2R , OSO_2R , $N(R)_2$, $NR(CO)R$, $NR(CO)(CO)R$, $NR(CO)N(R)_2$, $NR(CO)OR$, $(CO)OR$, $O(CO)R$, $(CO)N(R)_2$ ou $O(CO)N(R)_2$. Em certas modalidades, cada R' e R'' é independentemente R, OR, $OC(O)R$, SR ou $N(R)_2$. Em outras modalidades, cada R' e R'' é independentemente R, OR ou $OC(O)R$. Grupos exemplificativos de R' e R'' incluem hidrogênio, CH_3 , OH e $OC(O)CH_3$.

Como definido acima de maneira geral, quando o grupo R^5 é $T-C(R')_3$, $T-C(R')_2C(R'')_3$, então R^6 e um grupo R' em R^5 são opcionalmente tomados juntos para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em certas modalidades, R^5 é $T-C(R')_3$ ou $T-C(R')_2C(R'')_3$, e R^6 e um grupo R' em R^5 são tomados juntos para formar um anel saturado com 5 a 7 membros tendo de 1 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em outras modalidades, R^5 é $T-C(R')_3$, $T-C(R')_2C(R'')_3$, e R^6 e um grupo R' em R^5 são tomados juntos para formar um anel saturado com 6 membros tendo 1 átomo de oxigênio. Tais compostos, quando T é uma ligação de valência, têm a fórmula IIa, quando R^5 é $T-C(R')_3$, e IIb, quando R^5 é $T-C(R')_2C(R'')_3$:



IIa



IIa

15 onde cada R' , R'' , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , R^9 , R^9' , Q e R^{10} são como definidos de maneira geral acima e nas classes e subclasses definidas aqui e acima.

Conforme definido aqui de maneira geral, o grupo R^5 da fórmula I é, entre outros, um grupo hidroxila protegido adequadamente, um grupo tiol protegido adequadamente, ou um grupo amino protegido adequadamente. Grupos protetores de hidroxila são bem-conhecidos no estado da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, 3ª Edição, John Wiley & Sons, 1999, cujo teor é incorporado aqui a título de referência, na íntegra. Exemplos de grupos hidroxila protegidos adequadamente do grupo R^5 da fórmula I também incluem, mas sem limitação, ésteres, éteres alílicos, éteres, éteres silílicos, éteres alquílicos, éteres arilalquílicos e éteres alcoxialquílicos. Exemplos de tais ésteres incluem formiatos, acetatos, carbonatos, e sulfonatos. Exemplos específicos incluem o formiato, formiato de benzoíla, cloroacetato, trifluoroacetato, metoxiacetato, trifenilmetoxiacetato, p-clorofenoxiacetato, 3-fenilpropionato, 4-oxopentanoato, 4,4-(etilenoditio)pentanoato, pivaloato (trimetil-acetila), crotonato, 4-metoxicrotonato, benzoato, p-benil-benzoato, 2,4,6-trimetilbenzoato e carbonatos tais como metila, 9-fluorenilmetila, etila, 2,2,2-tricloroetila, 2-(trimetilsilil)etila, 2-(fenilsulfonil)etila, vinila, alila e p-nitrobenzila. Exemplos de tais éteres silílicos incluem éteres de de trimetil-silila, trietil-silila, t-butil-dimetil-silila, t-butil-difenil-silila, triisopropilsilílicos e outros éteres tri-alquilsilílicos. Éteres alquílicos incluem éteres metílicos, benzílicos, p-metoxibenzílicos, 3,4-metoxibenzílicos, tritílicos, t-butílicos, alílicos e de aliloxycarbonílicos ou derivados. Éteres alcoxialquílicos incluem acetais como metoximetila, metil-tiometila, (2-metoxietóxi)metila, benzilóxi-metila, beta-(trimetilsilil)etóximetila e tetra-hidropiranila. Exemplos de éteres de arilalquílicos incluem benzílicos, p-metoxibenzílicos (MPM), 3,4-dimetóxi-benzílicos, O-nitro-benzílicos, p-nitrobenzílicos, p-halobenzílicos, 2,6-diclorobenzílicos, p-cianobenzílicos e 2- e 4-picolílicos.

Grupos protetores de tiol são bem-conhecidos do estado da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, 3ª Edição, John Wiley & Sons, 1999, cujo teor é incorporado aqui a título de referência, na íntegra.

Grupos de tiol protegidos adequadamente da porção R⁵ da fórmula I incluem, sem limitação, dissulfetos, tioéteres, silil tioéteres, tioésteres, tiocarbonatos, tiocarbamatos e similares. Exemplos de tais grupos incluem, sem limitação, tioéteres alquílicos, benzílicos e tioéteres benzílicos substituídos, tioéteres trifenilmetílicos, tricloroetoxicarbonílicos, citando apenas alguns.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, a porção R⁵ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é removível sob condições neutras, por exemplo, com AgNO₃, HgCl₂ e similares. Outras condições neutras incluem redução utilizando-se um agente redutor apropriado. Agentes redutores apropriados incluem ditioneitol (DTT), mercaptoetanol, ditionita, glutati-
10 ona reduzida, glutarredoxina reduzida, tiorredoxina reduzida, fosfinas substituídas tais como a tris-carboxietil fosfina (TCEP) e qualquer outro agente redutor com base orgânica ou em peptídeos, ou outros reagentes conhecidos daqueles com conhecimento ordinário versado na técnica. Ainda, de
15 acordo com outro aspecto da presente invenção, a porção R⁵ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é "fotoclivável". Tais grupos protetores de tiol adequados são conhecidos do estado da técnica e incluem, mas sem limitação, um grupo nitrobenzila, um grupo tetra-hidropiranila (THP), um grupo tritila, -CH₂SCH₃ (MTM), dimetilmetoximetila, ou -CH₂-S-S-piridin-2-ila. A-
20 queles versados na técnica é capaz de reconhecer que muitos grupos protetores de hidroxila adequados, como descritos aqui, são também grupos protetores de tiol adequados.

Em certas modalidades, o grupo R⁵ da fórmula I é um grupo amino protegido adequadamente. Grupos protetores de amino são bem-
25 conhecidos do estado da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, 3^a Edição, John Wiley & Sons, 1999, cujo teor é incorporado aqui a título de referência, na íntegra. Grupos amino protegidos adequadamente da porção R⁵ incluem, mas sem limitação, aralquilaminas, carbamatos, imidas cíclicas, alil aminas, amidas e similares. Exemplos de tais grupos incluem t-
30 butiloxicarbonila (BOC), etiloxicarbonila, metiloxicarbonila, tricloroetiloxicarbonila, aliloxicarbonila (Alloc), benziloxicarbonila (CBZ), alila, ftalimida, ben-

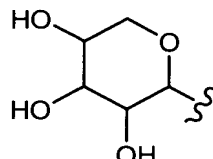
zila (Bn), fluorenilmetilcarbonila (Fmoc), formila, acetila, cloroacetila, dicloroacetila, tricloroacetila, fenil-acetila, trifluoroacetila, benzoila e similares. Em certas modalidades, o grupo protetor de amino da porção R^5 é ftalimido. Em ainda outras modalidades, o grupo protetor de amino da porção R^5 é um grupo 5 terc-butiloxicarbonila (BOC).

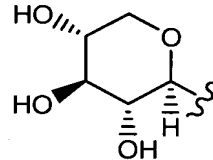
Como definido acima de maneira geral, o grupo Q da fórmula I é uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-4} alquilideno, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente substituída, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas 10 por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-. Em certas modalidades, Q é uma cadeia de C_{1-2} alquilideno, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente substituída, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-. Em outras modalidades, Q é -O-.

15 Como definido acima de maneira geral, o grupo R^{10} da fórmula 1 é R, um grupo hidroxila protegido adequadamente, um grupo tiol protegido adequadamente, um grupo amino protegido adequadamente, um anel monocíclico de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados inde- 20 pendentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; um anel bicíclico de 8 a 10 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; uma porção detectável, um resíduo de polímero, um peptídeo, ou uma porção contendo açúcar ou similar a açúcar.

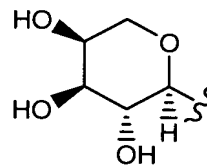
25 Em certas modalidades, o grupo R^{10} da fórmula I é um grupo que contém açúcar. Tais grupos que contêm açúcar são bem-conhecidos por aqueles versados na técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em "Essentials of Glycobiology" Editado por Varki, A., et al, Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, N. Y., 2002. Em certas modalida- 30 des, o grupo R^{10} da fórmula I é um glicosídeo. Exemplos de grupos R^{10} incluem arabinopiranosídeos e xilopiranosídeos. Em certas modalidades, o grupo R^{10} da fórmula I é uma xilopiranosídeo. Em certas modalidades, o

grupo R^{10} da fórmula I é um arabinopiranosídeo. Em certas modalidades, o grupo R^{10} da fórmula I é um xilopiranosídeo. Em certas modalidades, o grupo R^{10} da fórmula I é uma arabinopiranosida. Em ainda outra modalidade, o

grupo R^{10} da fórmula I é . De acordo com outra modalidade, o

grupo R^{10} da fórmula I é . Outra modalidade fornece um com-

posto da fórmula I onde R^{10} é



De acordo com outro aspecto da presente invenção, o grupo R^{10} da fórmula I é açúcar-mimético. Tais açúcar-miméticos são bem-conhecidos por um técnico no assunto e incluem aqueles descritos em detalhes em "Essentials of Glycobiology". Por exemplo, grupos açúcar-miméticos contemplados pela presente invenção incluem ciclitolis e similares. Em certas modalidades, R^{10} é uma porção ciclitol, onde tal ciclitol é um cicloalcano que contém um grupo hidroxila em cada um dos três ou mais átomos do anel, conforme definido pela convenção IUPAC. Em outras modalidades, tais frações ciclitol incluem inositóis tal qual o cilo-inositol.

Adicionalmente, frações similares a açúcar adequadas do grupo R^{10} da fórmula I incluem grupos de açúcares acíclicos. Tais grupos incluem alquitóis lineares e eritritóis, para citar apenas alguns. Deve ser notado que grupos de açúcar podem existir tanto na forma cíclica quanto na forma acíclica. Assim, formas acíclicas de um grupo de açúcar são contempladas pela presente invenção como uma porção similar a açúcar adequada do grupo R^{10} da fórmula I.

Em certas modalidades, o grupo R^{10} da fórmula I é uma porção detectável. Em outras modalidades, o grupo R^{10} da fórmula I é um marcador fluorescente, um corante fluorescente, ou um fluoróforo como definido aqui,

supra.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, o grupo R^{10} da fórmula I é um resíduo de polímero. Resíduos de polímero são bem conhecidos da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em "Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking" Shan S. Wong, CRC Press. Boca Raton, Florida. 1991. Resíduos de polímero adequados do grupo R^{10} da fórmula I incluem poli(óxidos de alquilenos), como PEG, poli(aminoácidos) e outros resíduos de polímero capazes de conjugar um composto da presente invenção.

Como definido de maneira geral acima, o grupo R^{10} da fórmula I é, entre outros, um grupo hidroxila protegido adequadamente, um grupo tiol protegido adequadamente, ou um grupo amino protegido adequadamente. Grupos protetores de hidroxila são bem conhecidos da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, 3ª edição, John Wiley & Sons, 1999, cujo teor é incorporado aqui a título de referência, na íntegra. Exemplos de grupos hidroxila protegidos adequados do grupo R^{10} da fórmula I também incluem, mas sem limitação, ésteres, éteres alílicos, éteres, éteres silílicos, éteres alquílicos, éteres arilalquílicos e éteres alcoxialquílicos. Exemplos de tais ésteres incluem formiatos, acetatos, carbonatos, e sulfonatos. Exemplos específicos incluem formiato, formiato de benzoíla, cloroacetato, trifluoroacetato, metoxiacetato, trifenilmetoxiacetato, p-clorofenoxiacetato, 3-fenilpropionato, 4-oxopentanoato, 4,4-(etilenoditio)pentanoato, pivaloato (trimetil-acetila), crotonato, 4-metoxicrotonato, benzoato, p-benilbenzoato, 2,4,6-trimetilbenzoato e carbonatos de tais quais metila, 9-fluorenilmetila, etila, 2,2,2-tricloroetila, 2-(trimetil-silil)etila, 2-(fenil-sulfonil)etila, vinila, alila e p-nitrobenzila. Exemplos de tais éteres silílicos incluem éteres trimetil-silílicos, trietil-silílicos, t-butil-dimetil-silílicos, t-butil-difenil-silílicos, triisopropilsilílicos e outros éteres de trialquil-silílicos. Éteres alquílicos incluem éteres metílicos, benzílicos, p-metoxibenzílicos, 3,4-dimetoxibenzílicos, tritílicos, t-butílicos, alílicos e de aliloxicarbonílicos ou derivados. Éteres alcoxialquílicos incluem acetais tais como metoximetilílicos, metil-tiometilílicos, (2-metoxietóxi)metilílicos, benzi-

loximetílicos, beta-(trimetilsilil)etoximetílicos e tetra-hidropiranílicos. Exemplos de éteres arilalquílicos incluem benzílicos, p-metoxibenzílicos (MPM), 3,4-dimetoxibenzílicos, O-nitro-benzílicos, p-nitro-benzílicos, p-halobenzílicos, 2,6-dicloro-benzílicos, p-cianobenzílicos e 2- e 4-picolílicos.

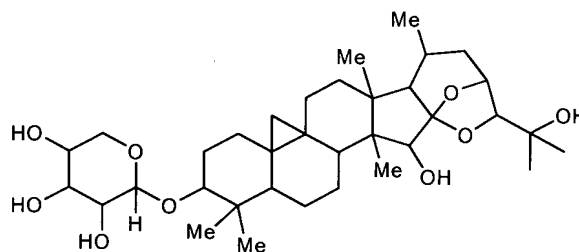
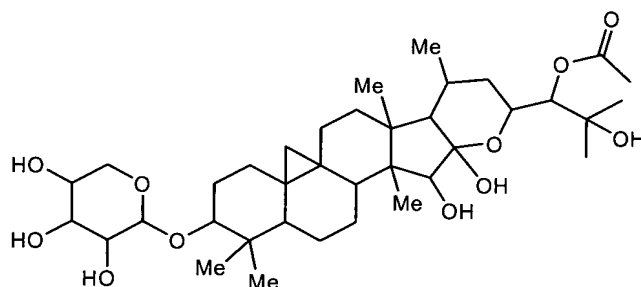
5 Grupos protetores de tiol são bem-conhecidos da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, 3ª edição, John Wiley & Sons, 1999, cujo teor é incorporado aqui a título de referência, na íntegra. Grupos de tiol protegidos adequados da porção R¹⁰ da fórmula I incluem, mas sem limitação,
10 ção, dissulfetos, tioéteres, silil tioéteres, tioésteres, tiocarbonatos, tiocarbamatos e similares. Exemplos de tais grupos incluem, mas sem limitação, tioéteres alquílicos, benzílicos e tioéteres benzílicos substituídos, tioéteres tri-fenil-metílicos, tricloro-etóxi-carbonílicos, para citar apenas alguns.

De acordo com um outro aspecto da presente invenção, a porção R¹⁰ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é removível sob condições neutras, por exemplo, com AgNO₃, HgCl₂ e similares. Outras condições neutras incluem redução utilizando-se um agente redutor apropriado. Agentes redutores apropriados incluem ditioneitol (DTT), mercaptoetanol, ditionita, glutathiona reduzida, glutarredoxina reduzida, tiorredoxina reduzida, fosfinas substituídas tal como a tris carboxietil fosfina (TCEP) e qualquer outro agente redutor com base orgânica ou em peptídeos, ou outros reagentes conhecidos daqueles com conhecimento ordinário da técnica. Ainda, de acordo com um outro aspecto da presente invenção, a porção R¹⁰ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é "fotoclivável". Tais grupos protetores de
15 ção R¹⁰ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é removível sob condições neutras, por exemplo, com AgNO₃, HgCl₂ e similares. Outras condições neutras incluem redução utilizando-se um agente redutor apropriado. Agentes redutores apropriados incluem ditioneitol (DTT), mercaptoetanol, ditionita, glutathiona reduzida, glutarredoxina reduzida, tiorredoxina reduzida, fosfinas substituídas tal como a tris carboxietil fosfina (TCEP) e qualquer outro agente redutor com base orgânica ou em peptídeos, ou outros reagentes conhecidos daqueles com conhecimento ordinário da técnica. Ainda, de acordo com um outro aspecto da presente invenção, a porção R¹⁰ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é "fotoclivável". Tais grupos protetores de
20 nas substituídas tal como a tris carboxietil fosfina (TCEP) e qualquer outro agente redutor com base orgânica ou em peptídeos, ou outros reagentes conhecidos daqueles com conhecimento ordinário da técnica. Ainda, de acordo com um outro aspecto da presente invenção, a porção R¹⁰ da fórmula I é um grupo protetor de tiol que é "fotoclivável". Tais grupos protetores de
25 tiol adequados são conhecidos da técnica e incluem, sem limitação, um grupo nitrobenzila, um grupo tetra-hidropiranila (THP), um grupo tritila, -CH₂SCH₃ (MTM), dimetilmetoximetila, ou -CH₂-S-S-piridin-2-ila. Aqueles versados na técnica é capaz de reconhecer que muitos grupos protetores de hidroxila adequados, como descritos aqui, são também grupos protetores de
30 tiol adequados.

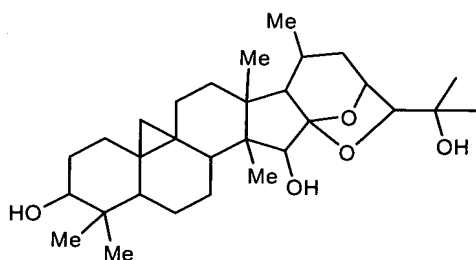
Em certas modalidades, o grupo R¹⁰ da fórmula I é um grupo amino protegido adequadamente. Grupos protetores de amino são bem-

conhecidos da técnica e incluem aqueles descritos em detalhes em *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene e P. G. M. Wuts, 3ª edição, John Wiley & Sons, 1999, cujo teor é incorporado aqui a título de referência, na íntegra. Grupos de amino protetores adequados da dita porção R¹⁰ incluem ainda, mas sem limitação, aralquilaminas, carbamatos, imidas cíclicas, alil aminas, amidas e similares. Exemplos de tais grupos incluem t-butiloxicarbonila (BOC), etiloxicarbonila, metiloxicarbonila, tricloroetiloxicarbonila, aliloxicarbonila (Alloc), benziloxicarbonila (CBZ), alila, ftalimida, benzila (Bn), fluorenil-metil-carbonila (Fmoc), formila, acetila, cloroacetila, dicloroacetila, tricloroacetila, fenilacetila, trifluoroacetila, benzoíla e similares. Em certas modalidades, o grupo protetor de amino da porção R¹⁰ é ftalimido. Em outras modalidades, o grupo protetor de amino da porção R¹⁰ é um grupo terc-butilóxi-carbonila (BOC).

Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um composto da fórmula I, onde tal composto é outro que qualquer um de, dois ou três dos que seguem:

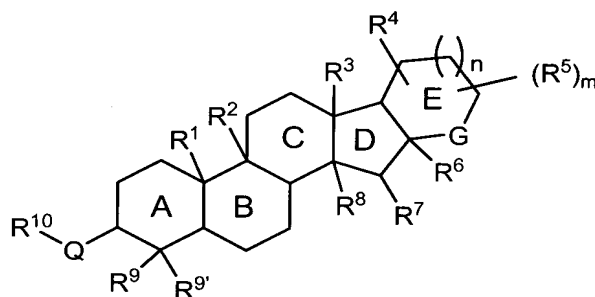


OU



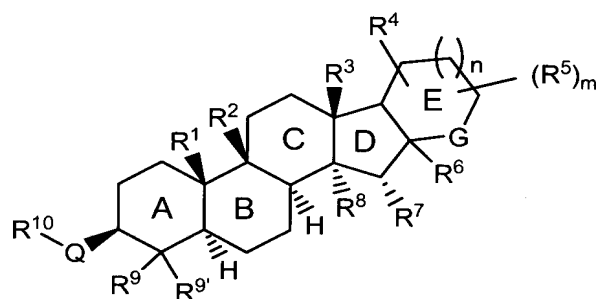
, incluindo-se cada estereoisômero destes.

Como descrito acima de maneira geral, a presente invenção proporciona um composto da fórmula I:



ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima em classes e subclasses descritas aqui e acima. Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um composto da fórmula I tendo a estereoquímica retratada na fórmula I-a:

5



I-a

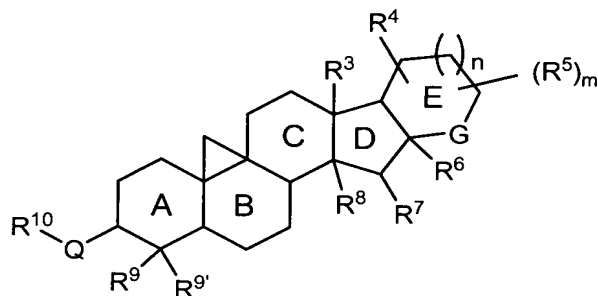
ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

10

Em algumas modalidades, os grupos R^1 e R^2 da fórmula I são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em outras modalidades, os grupos R^1 e R^2 da fórmula I são tomados juntos para formar um anel car-

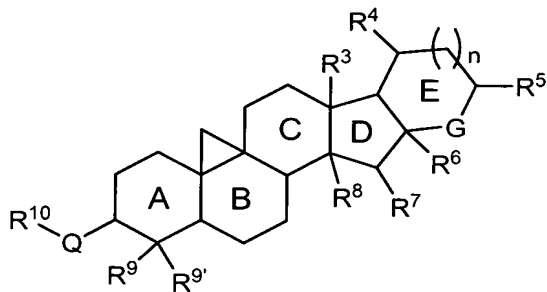
15

bocíclico saturado com 3 a 6 membros. Ainda, de acordo com outro aspecto da presente invenção, um composto da fórmula I-b é proporcionado:



I-b

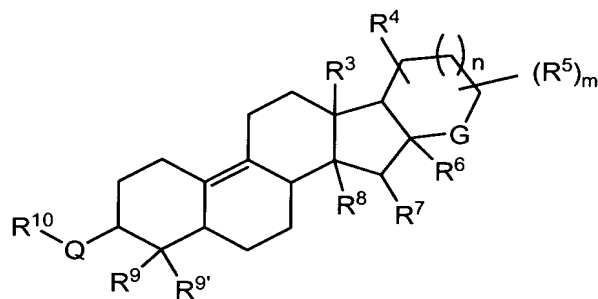
ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I. Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um composto da fórmula I-c:



I-c

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

Como definido acima de maneira geral, cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático. Em certas modalidades, o Anel B é insaturado e R¹ e R² estão ausentes, formando assim um composto da fórmula II:

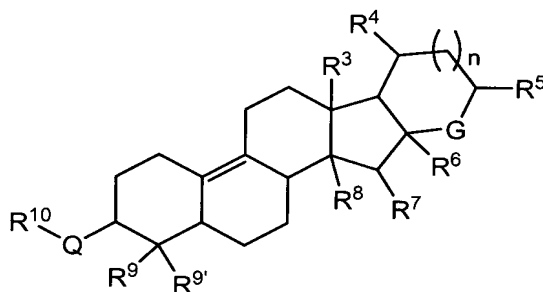


II

ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

- 5 Em certas modalidades, o grupo n da fórmula II é 0-1 e o grupo G da fórmula III é oxigênio.

De acordo com outro aspecto, a presente invenção proporciona um composto de fórmula II-a:

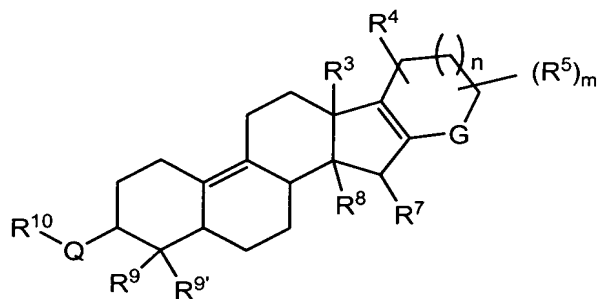


II-a

- 10 ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes em subclasses descritas aqui e acima para os compostos de fórmula I.

Em certas modalidades, o grupo n da fórmula II-a é 0-1 e o grupo G da fórmula II-a é oxigênio.

- 15 Em outras modalidades, o Anel B e o Anel D são ambos insaturados e R^1 , R^2 e R^3 estão ausentes, formando assim um composto de fórmula III:

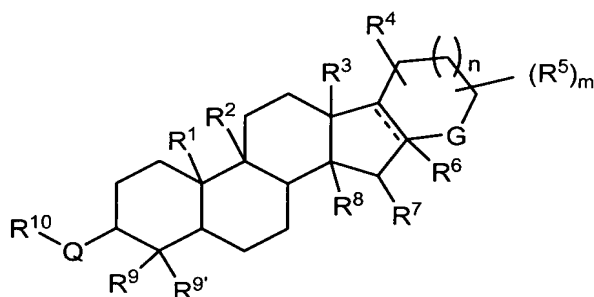


III

ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

- 5 Em certas modalidades, o grupo n da fórmula III é 0-1 e o grupo G da fórmula II é oxigênio.

De acordo com outras modalidades, a presente invenção proporciona um composto de fórmula IV:

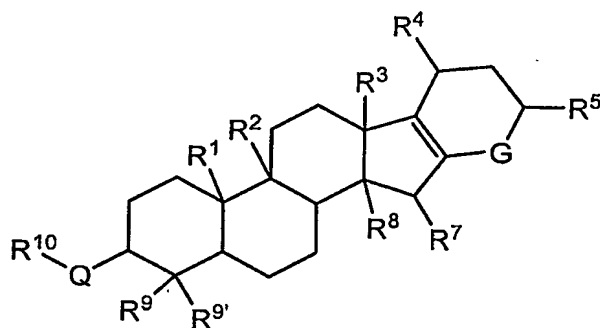


IV

- 10 ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I. Como utilizado aqui, \equiv designa uma ligação simples ou dupla. Deve ser entendido por aqueles versados na técnica que quando \equiv designa uma ligação dupla, então R^6 estará ausente. Em contraste, quando \equiv designa uma ligação simples, então R^6 estará presente. Por conseguinte, em
- 15 certas modalidades, \equiv designa uma ligação dupla e R^6 está ausente. Em outras modalidades, \equiv designa uma ligação simples e R^6 é como definido acima.

De acordo com outro aspecto, a presente invenção proporciona

um composto de fórmula IV-a.



IV-a

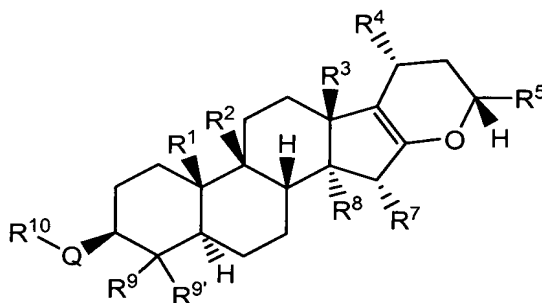
ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

5

Em certas modalidades, o grupo G de fórmula IV-a é oxigênio. Em outras modalidades, o grupo R⁴ de fórmula IV-a é R, OR ou um grupo hidroxila protegido adequadamente. Ainda, em outras modalidades, o grupo R⁴ de fórmula IV-a é R.

10

Ainda um outro aspecto da presente invenção se refere a um composto da fórmula IV-b:



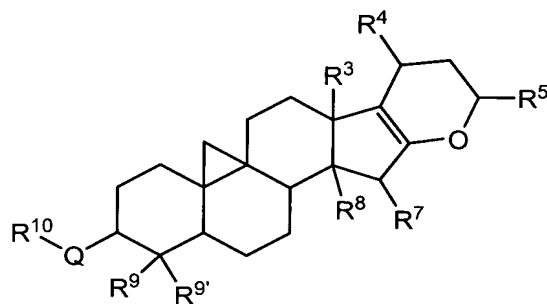
IV-b

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

15

Em algumas modalidades, os grupos R¹ e R² da fórmula IV-b são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em outras modalidades,

os grupos R^1 e R^2 da fórmula IV-b são tomados juntos para formar um anel saturado com 3 a 6 membros tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre. Em outras modalidades, os grupos R^1 e R^2 da fórmula IV-b são tomados juntos para formar um anel carbocíclico saturado com 3 a 6 membros. De acordo ainda com um outro aspecto da presente invenção, um composto de fórmula IV-c é proporcionado:

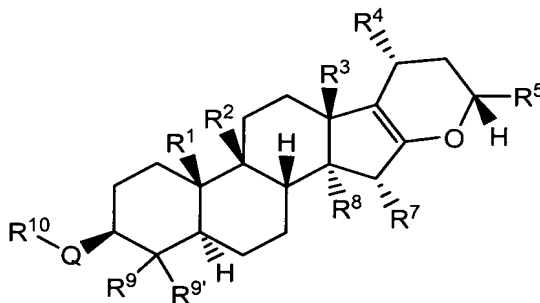


IV-c

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

Em certas modalidades, o grupo R^7 da fórmula IV-c é -OH.

De acordo ainda com um outro aspecto da presente invenção, um composto de fórmula IV-d é proporcionado:



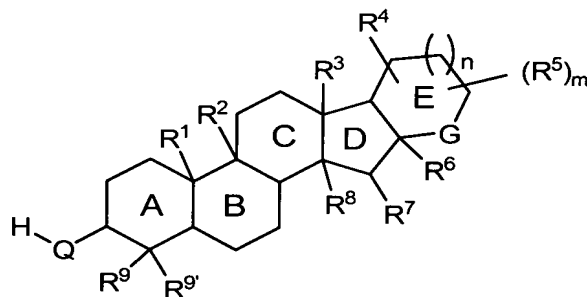
IV-d

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é definida acima e em classes e subclasses descritas aqui e acima para compostos da fórmula I.

Em certas modalidades, o grupo R^7 da fórmula IV-d é -OH.

Em outras modalidades, a presente invenção fornece um com-

posto de fórmula V:



V

ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde:

5 cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR ou O;

R¹ e R² são cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, N(R)₂ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

15 cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído, ou um anel de 3 a 8 membros saturado opcionalmente substituído parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde:

20 dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

n é 0-2;

25 R³, R⁴, R⁷ e R⁸ são cada um independentemente selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino protegido adequadamente, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂,

NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

m é 0-2;

R⁵ é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino protegido adequadamente, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente substituída, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-;

cada R' e R'' é independentemente selecionado de R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

R₆ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

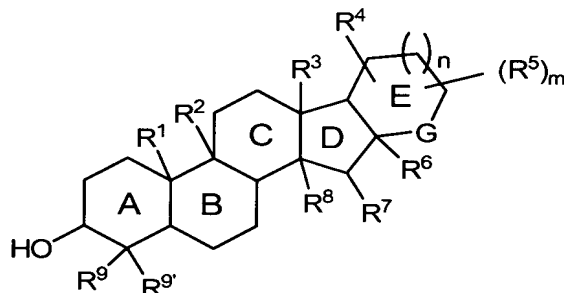
R⁹ e R^{9'} são, cada um, independentemente, selecionados de R, OR, SR ou N(R)₂, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado ou, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; e

Q é uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-.

As modalidades descritas aqui para os compostos da fórmula I se aplicam a cada variável dos compostos da fórmula V, tanto unicamente quanto em combinação.

Em certas modalidades, Q é -O-. Em outras modalidades, Q é -NH-;

Em outras modalidades, a presente invenção fornece um método para preparar de um composto de fórmula V-a:



V-a

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde:

- 5 cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR ou O;

- R¹ e R² são, cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, N(R)₂ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

- 15 cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ substituído opcionalmente, ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde:

- 20 dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

n é 0-2;

- 25 R³, R⁴, R⁷ e R⁸ são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino

protegido adequadamente, $\text{NR}(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$, $\text{NR}(\text{CO})\text{OR}$, $(\text{CO})\text{OR}$, $\text{O}(\text{CO})\text{R}$, $(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$ ou $\text{O}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$;

m é 0-2;

R^5 é $\text{T-C}(\text{R}')_3$, $\text{T-C}(\text{R}')_2\text{C}(\text{R}'')_3$, R , OR , um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR , um grupo tiol protegido adequadamente, SO_2R , OSO_2R , $\text{N}(\text{R})_2$, um grupo amino protegido adequadamente, $\text{NR}(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$, $\text{NR}(\text{CO})\text{OR}$, $(\text{CO})\text{OR}$, $\text{O}(\text{CO})\text{R}$, $(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$ ou $\text{O}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$; ou

cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-6} alquilideno, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente substituída, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{R})-$, $-\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})-$ ou $-\text{S}(\text{O})_2-$;

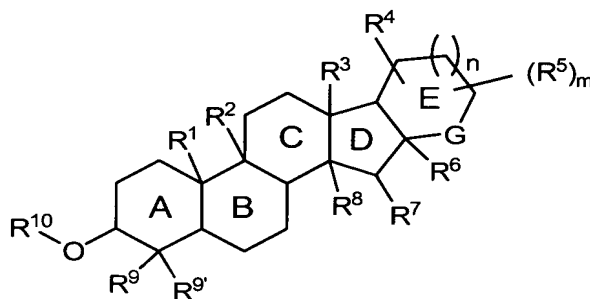
cada R' e R'' é, independentemente, selecionado de R , OR , SR , SO_2R , OSO_2R , $\text{N}(\text{R})_2$, $\text{NR}(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$, $\text{NR}(\text{CO})\text{OR}$, $(\text{CO})\text{OR}$, $\text{O}(\text{CO})\text{R}$, $(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$ ou $\text{O}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$;

R^6 é halogênio, R , OR , SR , SO_2R , OSO_2R , $\text{N}(\text{R})_2$, $\text{NR}(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})(\text{CO})\text{R}$, $\text{NR}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$, $\text{NR}(\text{CO})\text{OR}$, $(\text{CO})\text{OR}$, $\text{O}(\text{CO})\text{R}$, $(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$ ou $\text{O}(\text{CO})\text{N}(\text{R})_2$; e

R^9 e $\text{R}^{9'}$ são cada um independentemente selecionados de R , OR , SR ou $\text{N}(\text{R})_2$, ou R^1 e R^2 são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre,

compreendendo as etapas de:

(a) proporcionar um composto da fórmula V-b:



V-b

ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

5 G é S, CH₂, NR ou O;

R¹ e R² são, cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, N(R)₂ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, 10 parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde: 15

dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 átomos de carbono, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; 20

n é 0-2;

R³, R⁴, R⁷ e R⁸ são, cada um, independentemente selecionado de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino protegido adequadamente, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂; 25

m é 0-2;

R⁵ é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino protegido adequadamente, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou 30

O(CO)N(R)₂: ou

cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, opcionalmente substituída, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-;

cada R' e R" é independentemente selecionado de R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

R⁶ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

R⁹ e R^{9'} são, cada um, independentemente, selecionados de R, OR, SR ou N(R)₂, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; e

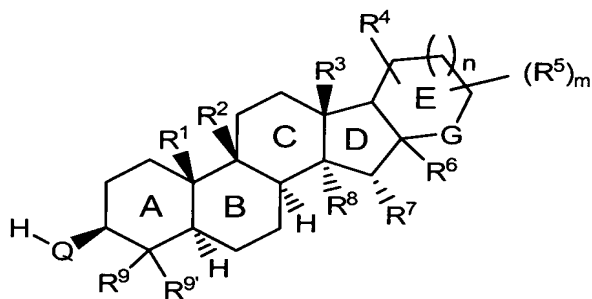
R¹⁰ é uma porção contendo açúcar ou similar a açúcar, e

(b) tratamento do composto da fórmula V-b com uma enzima adequada para formar um composto da fórmula V-a.

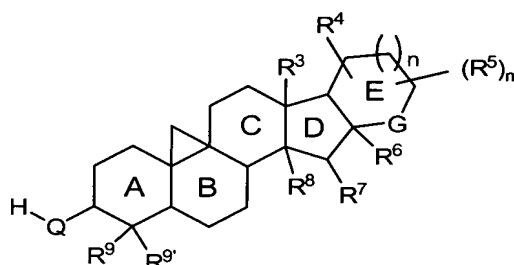
Modalidades descritas aqui se aplicam às variáveis dos compostos das fórmulas V-a e V-b sozinhas ou em combinação.

Como utilizado aqui, o termo "enzima adequada" se refere a qualquer enzima capaz de remover a porção de açúcar de R¹⁰ de um composto da fórmula V-b para formar um composto da fórmula V-a, ou seja, capaz de hidrolisar ligações de glicosídeo. Tais enzimas são conhecidas por aqueles versados na técnica. Em certas modalidades, uma enzima adequada é uma celulase, uma xilanase, uma xilosidase, hidrolase de ácido glicirrizínico ou glucuronidase. Em certas modalidades, a enzima adequada é a celulase. Em outras modalidades, a porção de açúcar do grupo R¹⁰ de fórmula V-b é um arabinopiranosídeo ou uma xilopiranosídeo. Detalhes desta transformação são revelados na seção de exemplos, a seguir.

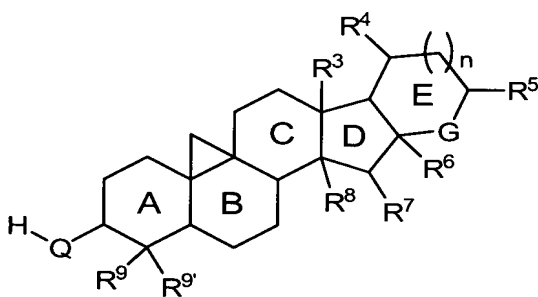
Em certas modalidades, a presente invenção fornece um composto de qualquer uma das fórmulas V-c, V-d, V-e, V-f, V-g ou V-h:



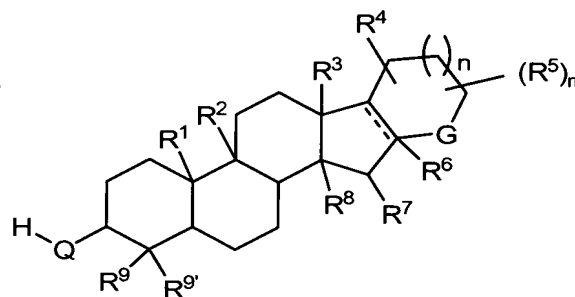
V-c



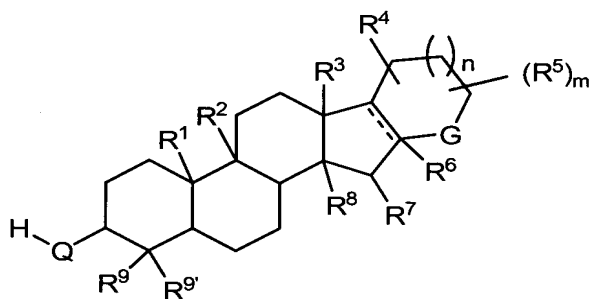
V-d



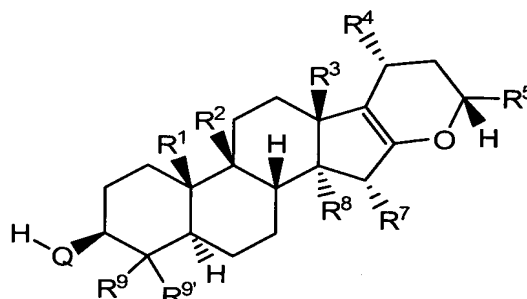
V-e



V-f



V-g

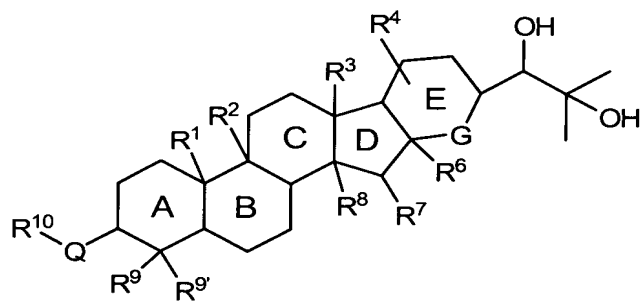


V-h

5

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é como definida aqui para os compostos da fórmula I.

De acordo com outro aspecto, a presente invenção fornece um composto de fórmula VI:



VI

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR ou O;

- 5 R¹ e R² são cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, N(R)₂ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;
- 10

- cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído ou um anel tendo de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde:
- 15

- dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado; ou arila de 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;
- 20

- R³, R⁴, R⁷ e R⁸ são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino protegido adequadamente, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;
- 25

- R⁶ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂

ou $O(CO)N(R)_2$;

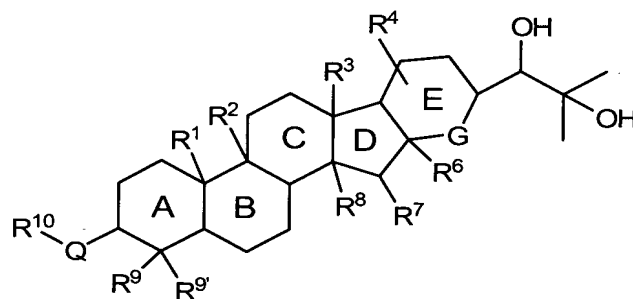
R^9 e $R^{9'}$ são cada um independentemente selecionados dentre halogênio, R, OR, SR ou $N(R)_2$, ou R^1 e R^2 são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

Q é uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-6} alquilideno, opcionalmente substituída, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-; e

R^{10} é R, um grupo hidroxila protegido adequadamente, um grupo tiol protegido adequadamente, um grupo amino protegido adequadamente, um anel monocíclico de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, saturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; um anel bicíclico de 8 a 10 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; uma porção detectável, um resíduo de polímero, um peptídeo, ou uma porção contendo açúcar ou similar ao açúcar.

As modalidades descritas aqui com respeito aos compostos da fórmula I se aplicam a compostos da fórmula VI, tanto simplesmente quanto em combinação.

Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método para a preparação de um composto de fórmula VI:



25

VI

ou um sal farmacêuticamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR ou O;

R¹ e R² são, cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, N(R)₂ ou um grupo amino protegido adequadamente, ou R₁ e R₂ são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ substituído opcionalmente ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre, onde:

dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com tal átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

R³, R⁴, R⁷ e R⁸ são, cada um, selecionados independentemente de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila protegido adequadamente, SR, um grupo tiol protegido adequadamente, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino protegido adequadamente, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

R⁶ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂ ou O(CO)N(R)₂;

R⁹ e R^{9'} são, cada um, independentemente, selecionados de R, OR, SR ou N(R)₂, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado; ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre;

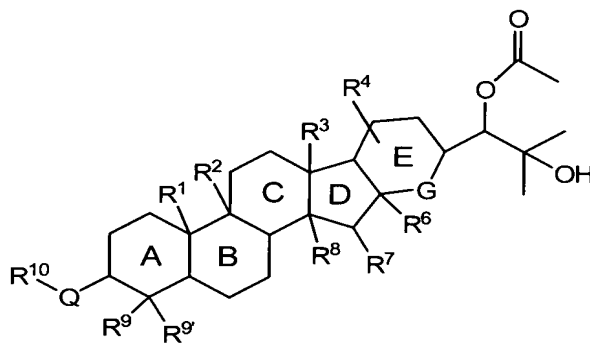
Q é uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno,

opcionalmente substituída, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)- ou -S(O)₂-; e

- R¹⁰ é R, um grupo hidroxila protegido adequadamente, um grupo tiol protegido adequadamente, um grupo amino protegido adequadamente, um anel monocíclico de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; um anel bicíclico de 8 a 10 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo 0 a 4 heteroátomos selecionados independentemente de nitrogênio, oxigênio ou enxofre; uma porção detectável, um resíduo de polímero, um peptídeo, ou uma porção contendo açúcar ou similar ao açúcar,

compreendendo as etapas de:

- (a) proporcionar um composto da fórmula IV-a:



VI-a

- ou um sal deste, onde cada variável é como definida para os compostos de fórmula VI acima, e

(b) remover o grupo acetila da fórmula VI-a para formar um composto da fórmula VI.

- As modalidades descritas aqui com respeito aos compostos da fórmula I se aplicam aos compostos da fórmula VI-a, tanto simplesmente quanto em combinação.

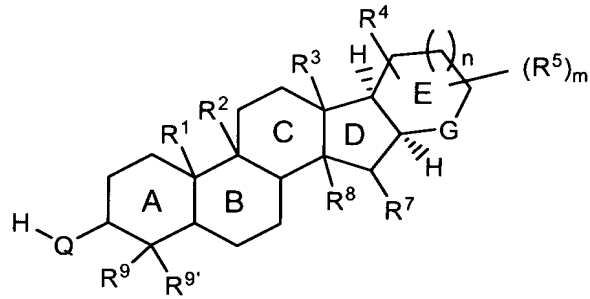
- Em certas modalidades, a remoção do grupo acetila na etapa (b) é realizada através de tratamento com uma base adequada. Em outras modalidades, a remoção do grupo acetila na etapa (b) é realizada através de aquecimento com um solvente adequado. Ainda, em outras modalidades, a

remoção do grupo acetila na etapa (b) é realizada através do aquecimento a de cerca de 40 a cerca de 115°C. Em outras modalidades, a etapa (b) é realizada a de cerca de 60 a cerca de 90°C.

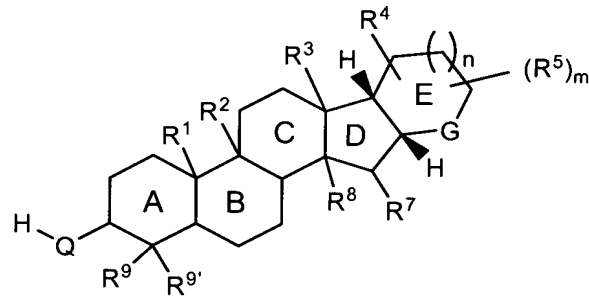
Um solvente adequado é um solvente único ou uma mistura de solventes que podem facilitar o progresso da reação. O solvente adequado pode solubilizar um ou mais dos componentes da reação ou, alternativamente, o solvente adequado pode facilitar a agitação de uma suspensão de um ou mais componentes da reação. Exemplos de solventes adequados úteis para a presente invenção são um solvente prótico, um hidrocarboneto halogenado, um éter, um éster, um hidrocarboneto aromático, um solvente aprótico polar ou não-polar ou qualquer mistura destes. Tais misturas incluem, por exemplo, misturas de solventes próticos e apróticos como benzeno/metanol/água; benzeno/água; DME/água; e similares. Em certas modalidades, o solvente adequado é um solvente aprótico polar, como um álcool.

Uma base adequada é um reagente que é suficientemente básico para conseguir a remoção do grupo acetila de um composto da fórmula VI-a para formar um composto da fórmula VI. Em certas modalidades, a base adequada é o próprio solvente adequado. A título de exemplo, verificou-se que uma solução metanólica de um composto da fórmula VI-a era suficientemente básico para conseguir realizar a remoção do grupo acetila de um composto da fórmula VI. Detalhes desta transformação são revelados na seção de exemplos a seguir. Em outras modalidades, o solvente adequado é uma base orgânica. Ainda, em outras modalidades, a base adequada é um hidróxido ou alcóxido alcalino ou alcalino terroso. Tais bases incluem o metóxido de sódio ou o hidróxido de sódio. Em outras modalidades, a base adequada é amônia.

Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um composto de fórmula VII ou VIII:



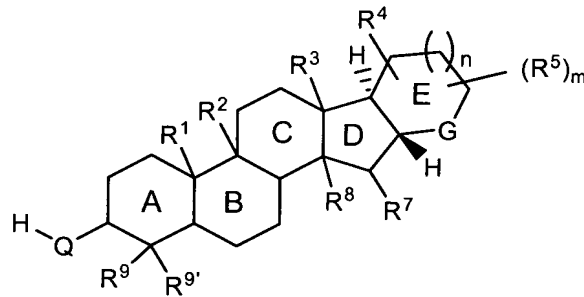
VII



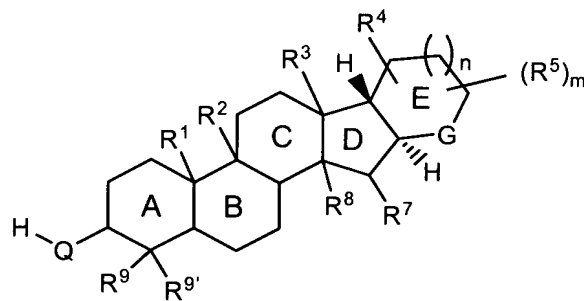
VIII

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é como definida aqui para os compostos da fórmula I.

Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um
5 composto de fórmula IX ou X:



IX

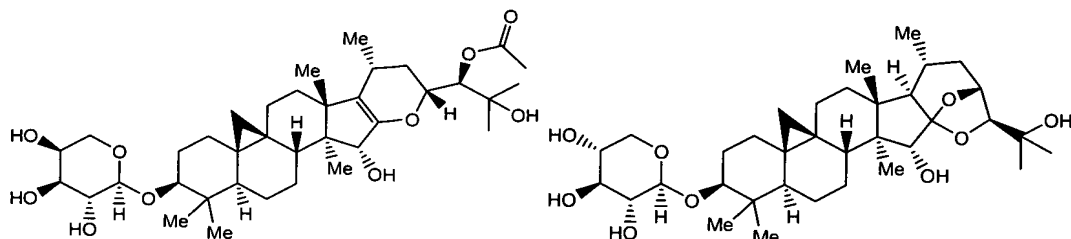


X

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde cada variável é como definida aqui para os compostos da fórmula I.

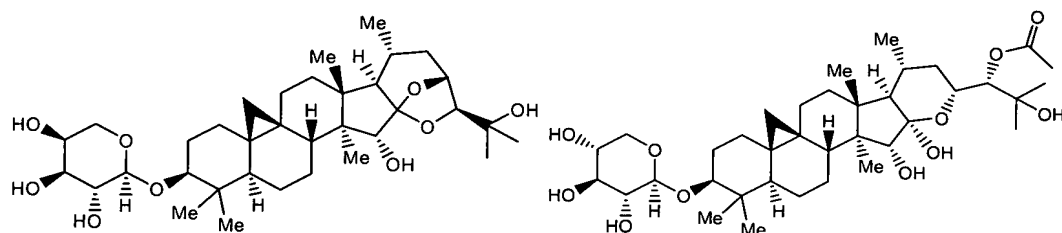
Compostos que exemplificam a presente invenção são mostrados na Tabela 1 a seguir:

Tabela 1. Exemplos de compostos da fórmula I



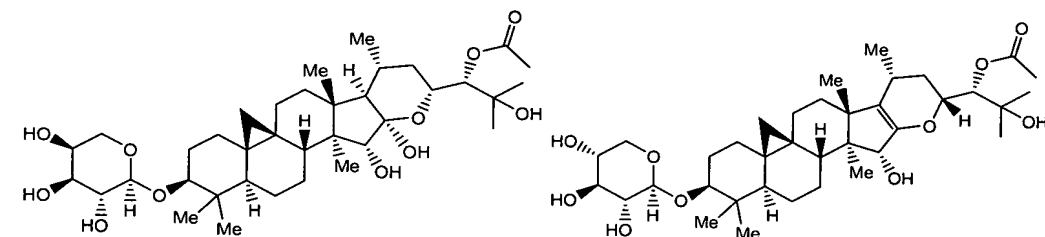
I-1

I-2



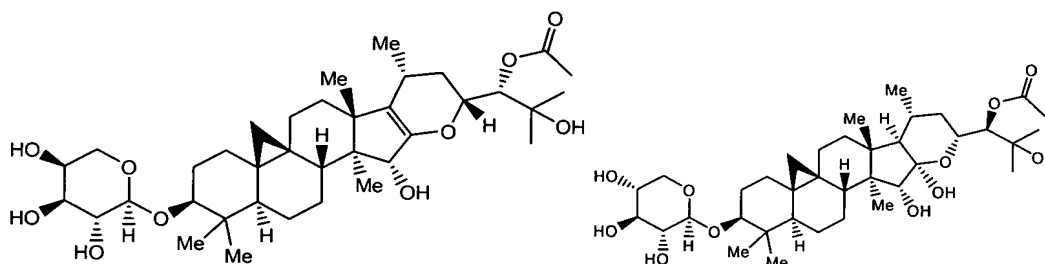
I-3

I-4



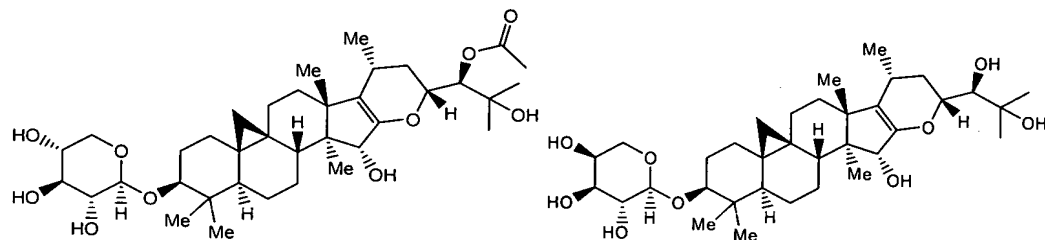
I-5

I-6

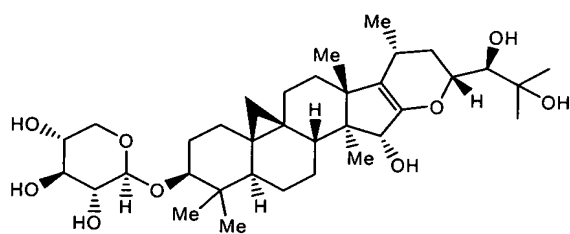


I-7

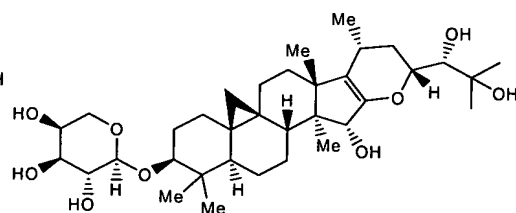
I-8



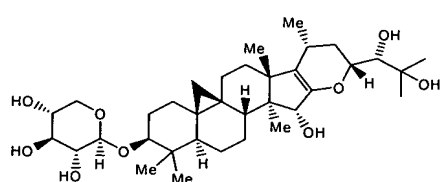
I-9



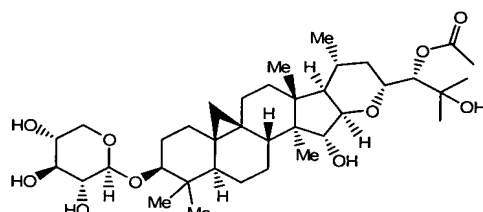
I-10



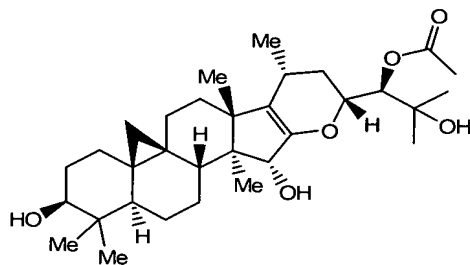
I-11



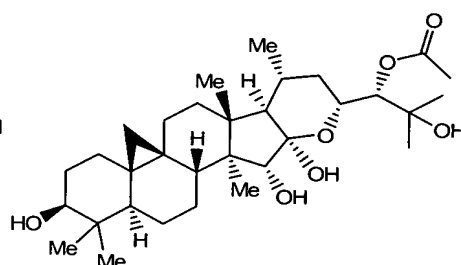
I-12



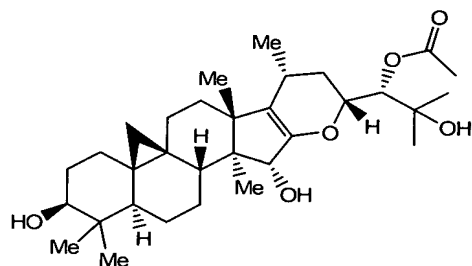
I-13



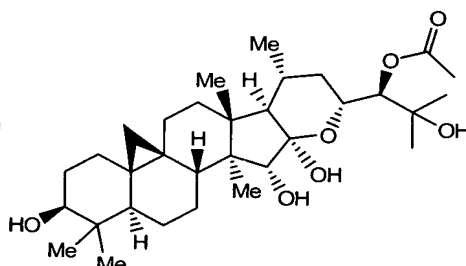
I-14



I-15

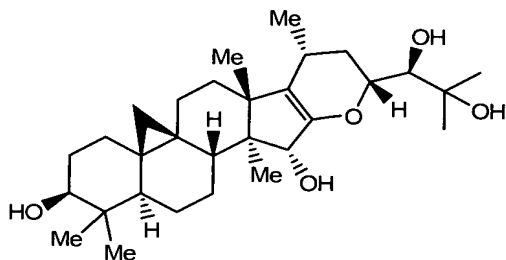


I-16

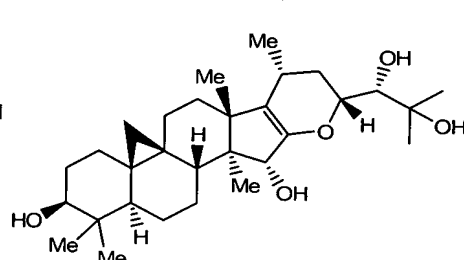


5

I-17



I-18

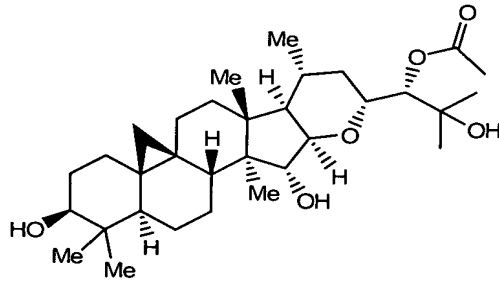


I-19

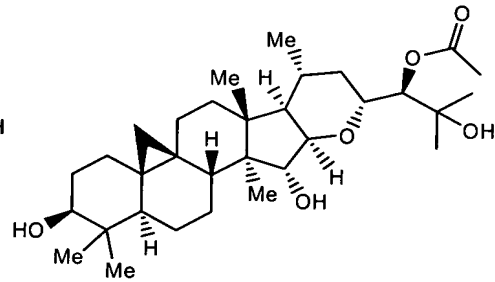


I-20

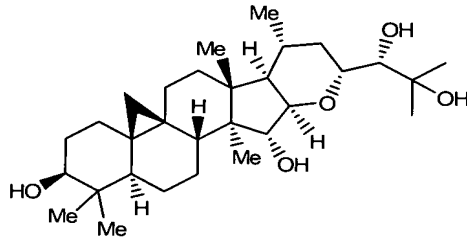




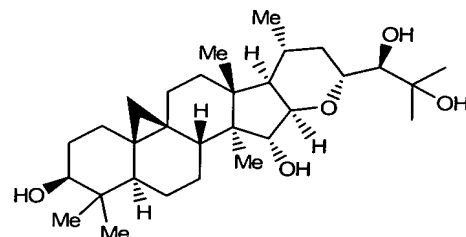
I-21



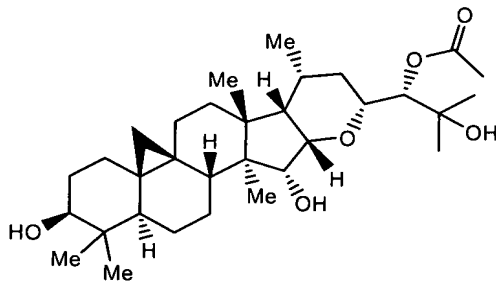
I-22



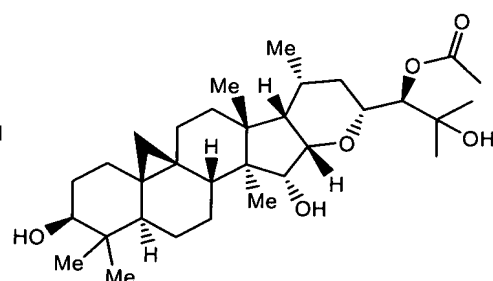
I-23



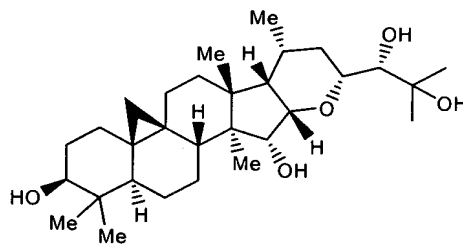
I-24



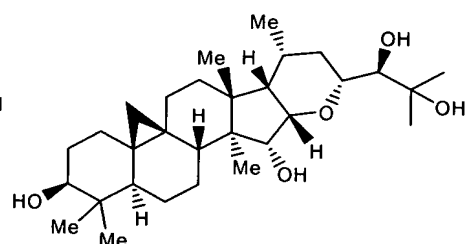
I-25



I-26



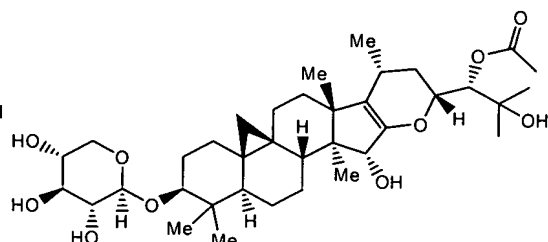
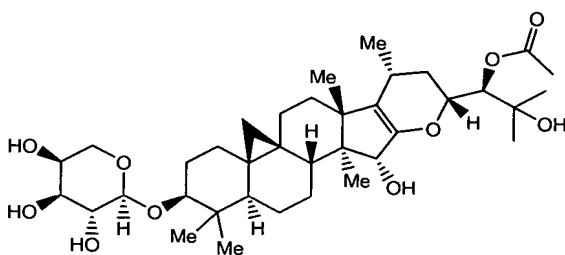
I-27



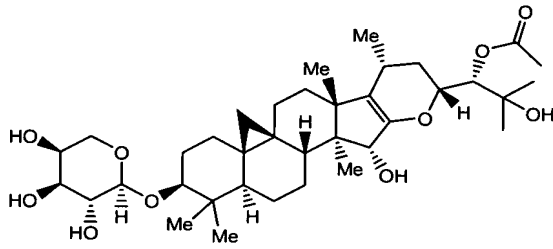
I-28

5

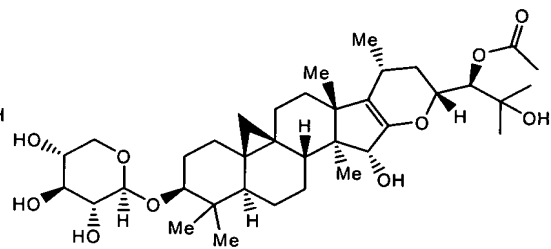
Exemplos de compostos de formulas IV-a e V-g são mostrados na Tabela 2, abaixo:



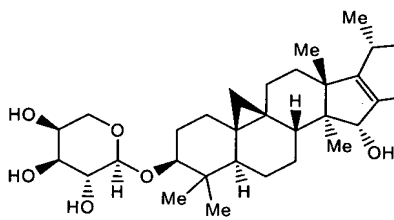
I-1



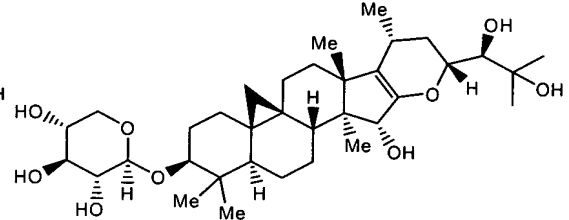
I-6



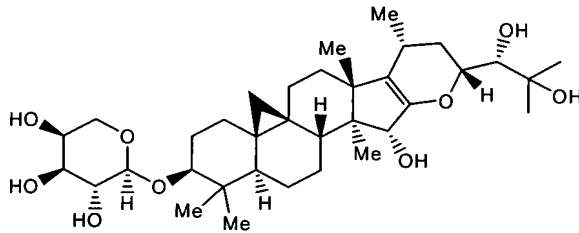
I-7



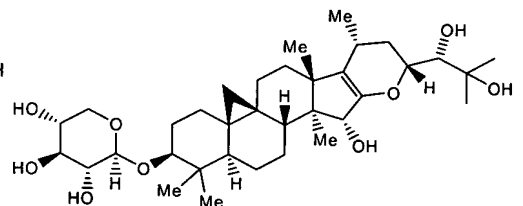
I-9



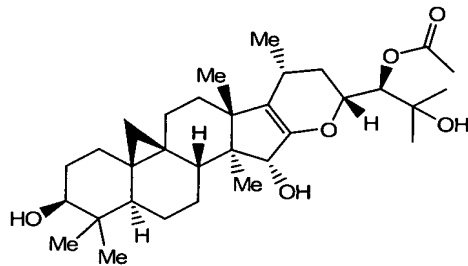
I-10



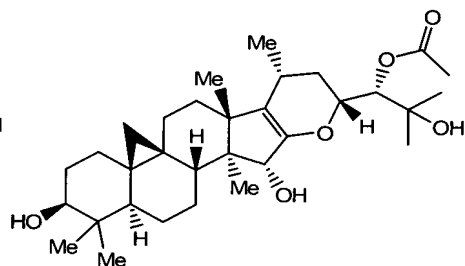
I-11



I-12

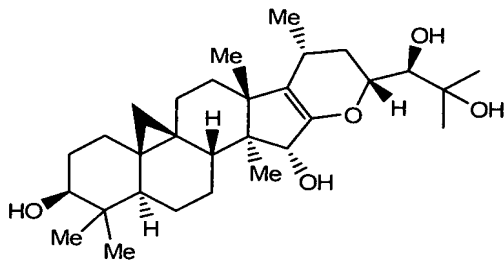


I-13

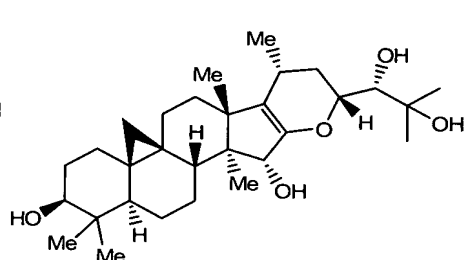


5

I-15



I-19



I-21



I-22



4. Métodos Gerais Para Proporcionar os Presentes Compostos:

Os compostos desta invenção podem ser preparados ou isolados em geral através de métodos sintéticos e/ou semisintéticos conhecidos pelos versados na técnica para compostos análogos e pelos métodos descritos em detalhes nos Exemplos a seguir.

Isolamento dos componentes ativos

Certos compostos da presente invenção foram isolados da raiz de erva de São Cristóvão, também conhecida como cimicifuga racemosa ou acteia racemosa, e a estrutura destes compostos foi elucidada. Cápsulas, pós e extratos de raiz de erva de São Cristóvão, comerciais, são úteis na modulação e/ou inibição da produção do peptídeo beta-amiloide. Em particular, certos compostos foram isolados da raiz de erva de São Cristóvão e identificados, sendo esses compostos úteis na modulação e/ou inibição da produção do peptídeo amiloide-beta, especialmente do peptídeo amiloide-beta (1-42). Tais compostos são englobados pela fórmula I. Esses compostos podem ser isolados e utilizados em uma forma substancialmente livre de qualquer outro composto normalmente encontrado na raiz. Alternativamente, um extrato pode ser preparado a partir da raiz, onde tal extrato é enriquecido com um composto da presente invenção.

Como descrito aqui e acima, certos compostos da presente invenção são isolados de extratos padrão da raiz e rizomas da erva de São Cristóvão, cultivada ou selvagem. Também é contemplado que os presentes compostos podem ser isolados do tecido da raiz da planta cultivada em uma cultura ou do meio da cultura do tecido de planta de cultura. Tais métodos de cultivo de tecido de raiz de planta em cultura são bem-conhecidos por aqueles versados na técnica incluem os descritos em Hairy Roots, Culture and Applications, editado por Pauline M. Doran, publicado por Harwood Academic Publishers, Amsterdã, Holanda. Copyright 1997 OPA (Overseas Publishers Association) Amsterdã B. V. ISBN 90-5702-117-X, cujo teor é aqui incorporado a título de referência.

Alternativamente, os compostos da presente invenção podem ser preparados por processos semisintéticos a partir de outros compostos

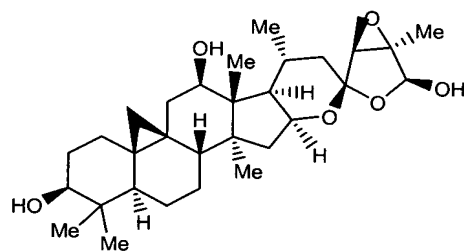
encontrados em extratos de erva de São Cristóvão e espécies de cimicifuga relacionadas, seja de raízes e rizomas ou de partes aéreas destas plantas. Aquele versado na técnica reconhecerá que precursores sintéticos podem ser obtidos a partir de uma ou mais espécies de cimicifuga incluindo, sem
5 limitação, *Cimicifuga racemosa*, *Cimicifuga dahurica*, *Cimicifuga foetida*, *Cimicifuga heracleifolia*, *Cimicifuga japonica*, *Cimicifuga acerina*, *Cimicifuga acerina*, *Cimicifuga simplex*, e *Cimicifuga elata*, *Cimicifuga calthaefolia*, *Cimicifuga frigida*, *Cimicifuga laciniata*, *Cimicifuga mairei*, *Cimicifuga rubifolia*, *Cimicifuga americana*, *Cimicifuga biternata* e *Cimicifuga bifida* ou uma varie-
10 dade destas. Isso pode ser realizado tanto por transformação química quanto biológica de um composto isolado e uma porção do extrato ou mistura de compostos. A transformação química pode ser realizada, mas sem limitação, por manipulação da temperatura, pH, e/ou tratamento com vários solventes. A transformação biológica pode ser realizada, sem limitação, por tratamento
15 de um composto isolado ou uma porção do extrato ou mistura de compostos com o tecido da planta, extratos do tecido da planta, outros organismos microbiológicos ou uma enzima isolada de qualquer organismo.

Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um extrato de raiz de erva de São Cristóvão onde tal extrato compreende pelo
20 menos 10% em peso de um composto da presente invenção. Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um extrato de raiz de erva de São Cristóvão onde tal extrato compreende de cerca de 10% a cerca de 50% em peso de um composto da presente invenção. Ainda, em outras modalidades, a presente invenção proporciona um extrato de raiz de erva de
25 São Cristóvão onde tal extrato compreende de cerca de 10% em peso a cerca de 50% em peso de um composto da presente invenção, onde tal extrato é substancialmente isento de acteína.

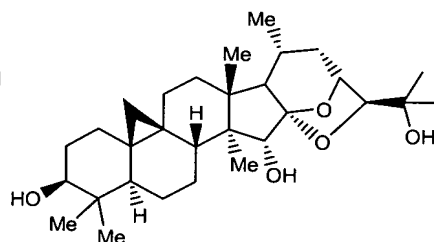
De acordo com uma outra modalidade, a presente invenção proporciona um composto de fórmula I substancialmente isento de outros com-
30 postos encontrados na raiz de erva de São Cristóvão. Como utilizado aqui, o termo "substancialmente isento" significa que o composto é feito de uma proporção significativamente maior de um composto da fórmula I quando

comparado com o composto encontrado na raiz da erva de São Cristóvão ou extratos desta. Em algumas modalidades, a presente invenção proporciona um composto da fórmula I em uma quantidade que vai de cerca de 1% em peso a 99% em peso. Em certas modalidades, o composto da fórmula I é fornecido com uma pureza química superior a 80%. Em outras modalidades, o composto da fórmula I é fornecido com uma pureza química superior a 90%. Em outras modalidades, o composto da fórmula I contém não mais do que cerca de 10,0 de área percentual no cromatograma de HPLC de outros componentes de erva de São Cristóvão relativo à área total do cromatograma de HPLC, e, ainda, em outras modalidades, não mais do que 3% de área percentual.

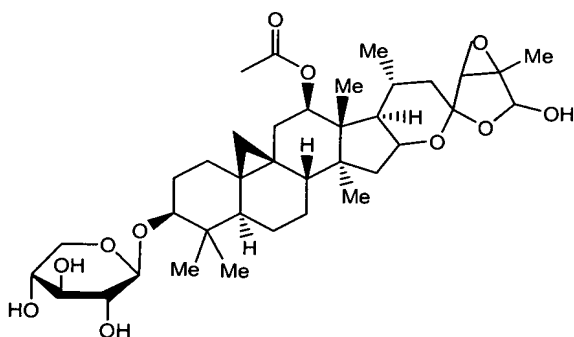
Métodos para determinar se os compostos da presente invenção estão em uma forma substancialmente isenta de outros compostos normalmente encontrados na raiz de erva de São Cristóvão são conhecidos por aquele com conhecimento ordinário na técnica, conforme descrição abaixo. Compostos que foram previamente isolados e identificados a partir da erva de São Cristóvão incluem certos triterpenos baseados em cicloartanol, incluindo-se o acteol, acetilacteol, 26-deoxiacteol, cimigenol, acteína, 26-deoxiacteína e cimicifugosídeo. Ácido (E)-isoferúlico e a formononetina de isoflavona também foram isolados e identificados. As seguintes estruturas representam estes compostos:



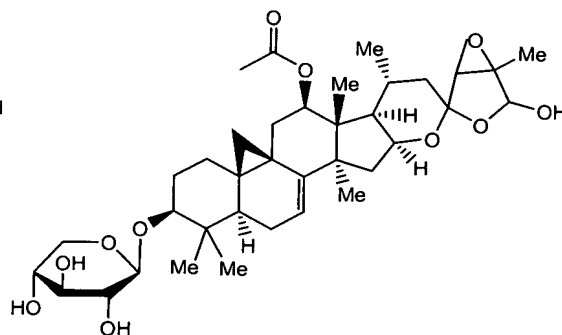
acteol



cimigenol



acteína



cimicifugosídeo

Por conseguinte, uma outra modalidade da presente invenção proporciona um composto de fórmula I substancialmente isento de um ou mais de acteol, acetilacteol, 26-desoxiacteol, cimigenol, acteína, 26-desoxiacteína e cimicifugosídeo. Em certas modalidades, a presente invenção fornece um composto de fórmula I substancialmente isento de acteol, acetilacteol, 26-desoxiacteol, cimigenol, acteína, 26-desoxiacteína e cimicifugosídeo.

De acordo com uma outra modalidade, a presente invenção fornece um extrato de raiz de erva de São Cristóvão enriquecido com o composto da fórmula I com uma quantidade diminuída de um ou mais de acteol, acetilacteol, 26-desoxiacteol, cimigenol, acteína, 26-desoxiacteína e cimicifugosídeo. De acordo com ainda outra modalidade, a presente invenção fornece um extrato de raiz de São Cristóvão enriquecido com o composto da fórmula I com uma quantidade diminuída de cada um de acteol, acetilacteol, 26-desoxiacteol, cimigenol, acteína, 26-desoxiacteína e cimicifugosídeo.

Várias técnicas são bem-conhecidas da técnica para extrair, isolar e/ou purificar componentes ativos individuais de raiz de erva de São Cristóvão. A presente invenção engloba tanto a identificação de tais componentes ativos conforme descritos aqui, como também a incorporação de tais componentes às composições da presente invenção conforme descritos aqui.

Componentes ativos individuais do extrato de erva de São Cristóvão podem ser identificados conforme aqui descrito e podem ser isolados e/ou purificados utilizando-se quaisquer técnicas conhecidas da técnica. O componente ativo pode ser purificado a partir da própria raiz em qualquer

forma de decocção de uma mistura de um extrato da presente invenção ou extrato comercialmente disponível, entre outros. Várias técnicas podem ser empregadas na purificação, incluindo filtração, precipitação seletiva, extração com solventes orgânicos, extração com solventes aquosos, cromatografia em coluna (sílica-gel), cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e outros métodos conhecidos por aqueles versados na técnica.

De acordo com certas modalidades, os presentes extratos são aqueles que utilizam uma porção isolada a partir da raiz de erva de São Cristóvão. Uma porção isolada significa uma quantidade subsidiária de substâncias da raiz que foram removidas, por exemplo, através de cromatografia, destilação, precipitação, extração, filtração ou de outras formas da própria raiz. Em outras modalidades, os extratos e frações da raiz são removidos desta por meio de cromatografia, destilação, precipitação ou extração. Tais técnicas de isolamento e extração são bem-conhecidas por uma pessoa versada na técnica. Os detalhes de algumas destas técnicas são descritos na seção de Exemplos a seguir.

De acordo com outras modalidades da presente invenção, a presença e a pureza do composto ativo são avaliadas por métodos químicos incluindo a espectroscopia magnética nuclear (RMN), espectroscopia de massa, espectroscopia no infravermelho (IR), espectroscopia no ultravioleta visível, análise elementar e polarimetria, refractometria, para citar somente alguns. Tais métodos de análise são conhecidos por uma pessoa versada na técnica. Em outras modalidades, a estrutura química do composto ativo isolado a partir da raiz de erva de São Cristóvão é determinada por métodos conhecidos por uma pessoa versada na técnica, incluindo-se RMN, espectroscopia de massa, espectroscopia no infravermelho (IR), espectroscopia no ultravioleta visível, análise elementar, polarimetria, refractometria e cristalografia de raios X, para citar somente alguns.

Ainda que certas modalidades exemplares sejam descritas acima e aqui, deve ser notado que os extratos de raiz da presente invenção podem ser preparados de acordo com os métodos descritos acima utilizando materiais de partida apropriados por métodos geralmente disponíveis a uma

pessoa versada na técnica.

5. Usos, Formulação e Administração

Composições farmacologicamente aceitáveis

De acordo com um outro aspecto da presente invenção, composições farmacologicamente aceitáveis são proporcionadas, onde essas composições compreendem quaisquer compostos descritos aqui, e compreendem opcionalmente um veículo ou adjuvante farmacologicamente aceitável. Em certas modalidades, essas composições também compreendem opcionalmente um ou mais agentes terapêuticos adicionais.

Também será notado que certos compostos da presente invenção podem existir na forma livre para tratamento ou, onde apropriado, como um sal farmacologicamente aceitável destes.

Como utilizado aqui, o termo "sal farmacologicamente aceitável" se refere àqueles sais que são, dentro do escopo do critério médico justo, adequados para uso em contato com os tecidos humanos e animais inferiores sem toxicidade indevida, irritação, resposta alérgica e similares, e proporcionam uma razão risco/benefício razoável. Um "sal farmacologicamente aceitável" significa qualquer sal ou sal de éster atóxico de um composto desta invenção que, ao ser administrado a um recipiente, é capaz de prover, seja direta ou indiretamente, um composto dessa invenção ou um metabólito farmacologicamente aceitável ou um resíduo deste. Como utilizado aqui, o termo "metabólito farmacologicamente ativo ou resíduo deste" significa que um metabólito ou resíduo deste também é um composto farmacologicamente ativo em conformidade com a presente invenção.

Sais farmacologicamente aceitáveis são bem-conhecidos da técnica. Por exemplo, S. M. Berge et al. descrevem sais farmacologicamente aceitáveis em detalhes em *J. Pharmaceutical Sciences*, 1977, 66, 1-19, aqui incorporado a título de referência. Sais farmacologicamente aceitáveis dos compostos desta invenção incluem aqueles derivados de ácidos e bases orgânicos e inorgânicos. Exemplos de sais de adição de ácido atóxicos, farmacologicamente aceitáveis, são sais de um grupo amino formado com ácidos inorgânicos como o ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido fosfórico,

ácido sulfúrico e ácido perclórico, ou com ácidos orgânicos como o ácido acético, ácido oxálico, ácido maléico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico ou ácido malônico ou através do uso de outros métodos utilizados na técnica como troca iônica. Outros sais farmacologicamente aceitáveis incluem

5 adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenossulfonato, benzoato, bissulfato, borato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, ciclopentenopropionato, digliconato, dodecilsulfato, etanossulfonato, formiato, fumarato, glicoeptonato, glicerofosfato, gliconato, hemissulfato, heptanoato, hexanoato, hidriodeto, 2-hidroxietanossulfonato, lactobionato, lactato, laurato, sulfato de

10 laurila, malato, maleato, malonato, metanossulfonato, 2-naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenossulfonato, undecanoato, sais de valerato e similares. Sais derivados de bases apropriadas incluem sais de metais

15 alcalinos, metais alcalino-terrosos, amônio e $N+(C_{1-4} \text{ alquila})_4$. Esta invenção também prevê a quaternização de qualquer grupo que contém nitrogênio básico dos compostos revelados aqui. Produtos solúveis em água ou em óleo ou dispersáveis podem ser obtidos através da dita quaternização. Sais de metais alcalinos ou alcalino-terrosos incluem sódio, lítio, potássio, cálcio,

20 magnésio e similares. Sais farmacologicamente aceitáveis adicionais incluem, quando apropriado, amônio atóxico, amônio quaternário e cátions de amina formados utilizando-se contraíons como o haleto, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquila inferior e sulfonato de arila.

As composições da presente invenção podem adicionalmente

25 compreender um adjuvante ou veículo farmacologicamente aceitável, que, como utilizados aqui, incluem quaisquer e todos os solventes, diluentes e outros veículos líquidos, auxiliares de dispersão ou de suspensão, agentes tensoativos, agentes isotônicos, agentes espessantes ou emulsificantes, conservantes, ligantes sólidos, lubrificantes e similares, conforme adequado

30 à forma de dosagem em particular desejada. Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª Edição, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) descreve vários veículos utilizados na formulação de composições farma-

ceuticamente aceitáveis e técnicas conhecidas de preparação destas. Exce-
to quando qualquer meio veicular convencional for incompatível com os com-
postos da presente invenção, tal como quando é produzido qualquer efeito
biológico indesejável ou ao interagir de maneira prejudicial com qual-
5 quer(quaisquer) outro(s) componente(s) da composição farmacêuticamente
aceitável, o seu uso é contemplado pelo escopo da presente invenção. Al-
guns exemplos de materiais que podem servir como veículos farmacêutica-
mente aceitáveis incluem, sem limitação, trocadores de íons, alumina, estea-
rato de alumínio, lecitina, proteínas do soro, tais como a albumina sérica
10 humana, substâncias tampão tal como fosfatos, glicina, ácido sórbico ou
sorbato de potássio, misturas parciais de glicerídeos de ácidos graxos ani-
mais saturados, água, sais ou eletrólitos, como o sulfato de protamina, hi-
drogênio-fosfato de dissódico, difosfato de potássio, cloreto de sódio, sais de
zinco, sílica coloidal, trissilicato de magnésio, polivinil pirrolidona, poliacrila-
15 tos, ceras, polímeros bloqueadores de polietileno-polipropileno, gordura de
lã, açúcares como a lactose, glicose e sacarose; amidos como o amido de
milho e amido de batata; celulose e seus derivados como a sódio carboxime-
til celulose, etilcelulose e acetato de celulose; tragancanto em pó; malte; ge-
latina; talco; excipientes como manteiga de cacau e ceras para supositórios;
20 óleos com óleo de amendoim; óleo de girassol; óleo de gergelim; óleo de
oliva; óleo de milho e óleo de soja; glicóis como o propileno glicol ou o polie-
tileno glicol; ésteres como oleato de etila e laurato de etila; ágar; agentes
tampões como o hidróxido de magnésio e hidróxido de alumínio. Ácido algí-
nico e água isenta de pirogênio; soro isotônico; solução de Ringer; álcool
25 etílico e soluções de tampão de fosfato assim como outros lubrificantes
compatíveis atóxicos como o lauril sulfato de sódio e o estearato de magné-
sio, bem como agentes corantes, agentes de liberação, agentes de revesti-
mento, agente adoçantes, aromatizantes e perfumantes, conservantes e an-
tioxidantes, também podem estar presentes na composição, de acordo com
30 o critério do formulador.

As composições fornecidas pela presente invenção podem ser
empregadas em terapias de combinação, significando que as presentes in-

venções podem ser administradas concorrentemente, anteriormente, subsequentemente a um ou mais agentes terapêuticos ou procedimentos médicos desejáveis. A combinação particular de terapias (procedimentos ou agentes terapêuticos) a ser empregada em um regime de combinação levará em consideração a compatibilidade dos procedimentos e/ou agentes terapêuticos e o efeito terapêutico que se deseja conseguir. Deve ser também notado que as terapias empregadas podem conseguir um efeito desejado para o mesmo distúrbio (por exemplo, um composto descrito aqui pode ser administrado concorrentemente com um outro agente terapêutico usado para tratar o mesmo distúrbio) ou podem conseguir efeitos distintos (por exemplo, controle de qualquer efeito colateral).

Por exemplo, agentes conhecidos úteis para o tratamento de distúrbio neurodegenerativos podem ser combinados com as composições desta invenção para tratar distúrbios neurodegenerativos, como o mal de Alzheimer. Exemplos de tais agentes conhecidos úteis para o tratamento de distúrbios neurodegenerativos incluem, mas sem limitação, tratamentos para o mal de Alzheimer como inibidores de acetilcolinesterase, incluindo donepezil, memantina (e compostos relacionados como os inibidores de NMDA), Exelon®; tratamento para o mal de Parkinson como a L-DOPA/carbidopa, entacapona, ropinerol, pramipexol, bromocriptina, pergolida, triexofendila e amantadina; agentes para o tratamento da esclerose múltipla (MS) tais como beta-interferon (por exemplo, Avonex® e Rebif®), Copaxone® e mitoxantrolina; riluzol e agentes antiParkinson. Para uma discussão mais ampla sobre terapias atualizadas úteis para o tratamento de distúrbios neurodegenerativos, vide uma lista dos fármacos aprovados pela FDA em <http://www.fda.gov>, e The Merck Manual, 17ª Edição, 1999, cujo teor é aqui incorporado a título de referência.

Em outras modalidades, os compostos da presente invenção são combinados com outros agentes úteis para o tratamento de distúrbios neurodegenerativos, como o mal de Alzheimer, onde tais agentes incluem inibidores de beta-secretase, inibidores de gama-secretase, inibidores de agregação, quelantes de metais, antioxidantes e neuroprotetores.

Como utilizado aqui, os termos "combinação", "combinado" e termos relacionados se referem à administração simultânea ou sequencial de agentes terapêuticos em conformidade com esta invenção. Por exemplo, um composto da presente invenção pode ser administrado com um outro agente terapêutico simultânea ou sequencialmente em formas de dosagens unitárias separadas ou juntas em uma única forma de dosagem unitária. Por conseguinte, a presente invenção proporciona uma forma de dosagem unitária compreendendo um composto da fórmula I, um agente terapêutico adicional e um veículo ou adjuvante farmacologicamente aceitável.

Outros exemplos de agentes inibidores desta invenção podem também ser combinados com, por exemplo: tratamentos para asma tais como albuterol e Singulair®; agentes para o tratamento da esquizofrenia tais como zyprexa, risperdal seroquel e haloperidol; agentes antiinfpasta fluidatórios tais como corticosteroides, bloqueadores de TNF, IL-1 RA, azatioprina, ciclofosfamida e sulfasalazina; agentes imunomoduladores e imunossuppressores como a ciclosporina, tacrolimus, rapamicina, micofenolato mofetil, interferons, corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina, e sulfasalazina; fatores neurotróficos tais como inibidores de acetilcolinesterase, inibidores de MAO, interferons, anticonvulsivos, bloqueadores de canal de íons, agentes para o tratamento de doenças cardiovasculares tais como beta-bloqueadores, inibidores da ECA, diuréticos, nitratos, bloqueadores de canal de cálcio e estatinas; agentes para o tratamento de doenças do fígado tais como corticosteroides, colestiramina, interferons e agentes antivirais; agentes para o tratamento de distúrbios do sangue como corticosteroides, agentes antileucemia e fatores do crescimento e agentes para o tratamento de distúrbios de imunodeficiência como a gamaglobulina.

A quantidade de agente terapêutico adicional presente nas composições dessa invenção não será maior que a quantidade que seria normalmente administrada em uma composição compreendendo aquele agente terapêutico como o único agente ativo. Em certas modalidades, a quantidade de agente terapêutico nas presentes composições estará na faixa de cerca de 50% a 100% da quantidade normalmente presente em uma composição

compreendendo aquele agente como o único agente terapêuticamente ativo.

Em uma modalidade alternativa, os métodos desta invenção que utilizam composições que não contêm um agente terapêutico adicional, compreendem a etapa adicional de administrar separadamente ao paciente um agente terapêutico adicional. Quando esses agentes terapêuticos adicionais são administrados separadamente, eles podem ser administrados ao paciente antes, sequencialmente ou depois da administração das composições da presente invenção.

As composições farmacologicamente aceitáveis desta invenção podem ser administradas a seres humanos e outros animais de forma oral, retal, parenteral, intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como pó, pomadas ou gotas), bucal como um spray oral ou nasal; ou similares, dependendo da gravidade do distúrbio sendo tratado. Em certas modalidades, os compostos da invenção podem ser administrados de forma oral ou parenteral em níveis de dosagem vão de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 50 mg/kg e preferivelmente de cerca de 1 mg/kg a cerca de 25 mg/kg, do peso corporal do paciente por dia, uma ou mais vezes por dia, para que se obtenha o efeito terapêutico desejado.

Formas de dosagem líquidas para administração incluem, sem limitação, emulsões, microemulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacologicamente aceitáveis. Além dos compostos ativos, as formas de dosagem líquidas podem conter diluentes inertes comumente usados na técnica tal como, por exemplo, água ou outros solventes, emulsificantes e agentes solubilizadores tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de benzila, propileno glicol, 1,3-butileno glicol, dimetil-formamida, óleos (em particular, óleos de semente de algodão, amendoim, milho, gérmen, oliva, rícino e gergelim), glicerol, álcool tetra-hidrofurfurílico, polietileno glicóis e éteres de ácidos graxos de sorbitano e misturas destes. Além de diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes como agentes molhantes, agentes emulsificantes e suspensores, agentes perfumantes, flavorizantes e adoçantes.

Preparações injetáveis, por exemplo, suspensões aquosas ou oleaginosas injetáveis podem ser formuladas de acordo com as técnicas conhecidas utilizando-se agentes molhantes ou dispersantes e agentes suspensores. A preparação injetável estéril pode também ser uma emulsão, suspensão ou solução injetável, estéreis, em um diluente ou solvente parenteralmente aceitável tal como, por exemplo, uma solução em 1,3-butanodiol. Dentre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados estão água, solução de Ringer, U.S.P e solução de cloreto de sódio isotônica. Adicionalmente, óleos fixos e estéreis podem ser empregados, incluindo-se mono ou diglicerídeos. Adicionalmente, ácidos graxos, tal como o ácido oléico, são utilizados na preparação de injetáveis.

As formulações injetáveis podem ser esterilizadas, por exemplo, por filtração através de um filtro que retém bactérias ou por incorporação de agentes esterilizantes na forma de composições sólidas estéreis, as quais podem ser dissolvidas ou dispersas em água estéril ou outro meio estéril injetável antes do uso.

Para que se prolongue o efeito de um composto da presente invenção, é frequentemente desejável que se desacelere a absorção do composto a partir de injeções subcutâneas ou intramusculares. Isto pode ser conseguido pelo uso de uma suspensão líquida de material amorfo ou cristalino com baixa solubilidade em água. A taxa de absorção do composto depende então de sua taxa de dissolução que, por sua vez, pode depender do tamanho do cristal e da forma cristalina. Alternativamente, absorção demorada de um composto administrado de forma parenteral é conseguida ao se dissolver ou suspender o composto em um veículo de óleo. Formas de depósitos injetáveis são feitas formando-se matrizes microencapsuladas do composto em polímeros biodegradáveis como polilactídeo-poliglicolídeo. Dependendo da taxa de composto para polímero e da natureza do polímero empregado, a taxa de liberação do composto pode ser controlada. Exemplos de outros polímeros biodegradáveis incluem poli(ortoésteres) e poli(anidridos). Formulações de depósitos injetáveis também são preparadas ao se reter o composto em lipossomos ou microemulsões que são compati-

veis com os tecidos do corpo.

Composições para administração retal ou vaginal são preferivelmente supositórios que podem ser preparados pela mistura de compostos desta invenção com excipientes ou veículos não irritantes adequados, tais como manteiga de cacau, polietileno glicol ou uma cera para supositório, os quais são sólidos à temperatura ambiente, mas líquidos à temperatura do corpo, e, portanto, derretem na cavidade vaginal ou retal e liberam o composto ativo.

Formas de dosagem sólidas para administração oral incluem cápsulas, comprimidos, pílulas, pós e grânulos. Em tais formas sólidas de dosagem, o composto ativo é misturado com pelo menos um excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável inerte tal qual citrato de sódio ou fosfato de dicálcio e/ou a) cargas ou diluentes como amidos, lactose, sacarose, glicose, manitol e ácido silicílico, b) ligantes tais como, por exemplo, carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinil-pirrolidona, sacarose e goma arábica, c) umectantes como glicerol, d) agentes desintegradores como ágar—ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou de tapioca, ácido algínico, certos silicatos e carbonato de sódio, e) agentes retardadores de solução tal como a parafina, f) aceleradores de absorção tais como compostos de amônio quaternário, g) agentes molhantes tais como, por exemplo, álcool cetílico e monoestearato de glicerol, h) absorventes tais como caulim e argila de bentonita, e i) lubrificantes tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietileno glicóis sólidos, lauril sulfato de sódio e misturas destes. No caso das cápsulas, comprimidos e pílulas, a forma de dosagem também pode compreender agentes tampão.

Composições sólidas de tipo similar podem também ser empregadas como cargas em cápsulas de gelatina preenchida dura e mole utilizando-se tais excipientes como a lactose ou açúcar de leite bem como polietileno glicóis de alto peso molecular, e similares. As formas sólidas de dosagem de comprimidos, drágeas, cápsulas, pílulas e grânulos podem ser preparadas com revestimentos e invólucros tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos bem-conhecidos na técnica de formulação farmacêuti-

ca. Elas podem opcionalmente conter agentes opacificantes e também podem ser uma composição que libera o ingrediente ativo somente, ou preferivelmente em uma determinada parte do trato intestinal, opcionalmente, de uma forma retardada. Exemplos de composições incorporadas que podem ser usadas incluem ceras e substâncias poliméricas.

Formas de dosagem para administração tópica ou transdérmica de um composto desta invenção incluem pomadas, pastas, cremes, loções, géis, pós, soluções, sprays, inalantes e adesivos. O composto ativo é misturado sob condições estéreis com um veículo farmacologicamente aceitável e quaisquer conservantes necessários ou tampões conforme requeridos. Formulação oftálmica, gotas auriculares e colírios também são contemplados por esta invenção. Adicionalmente, a presente invenção contempla o uso de adesivos transdérmicos, que têm a vantagem adicional de proverem liberação controlada de um composto ao corpo. Tais formas de dosagem podem ser feitas ao se dissolver ou dispensar o composto em um meio adequado. Intensificadores de absorção também podem ser utilizados para aumentar o fluxo do composto através da pele. A taxa pode ser controlada pelo fornecimento de uma membrana controladora da taxa ou pela dispersão do composto em um gel ou matriz de polímero.

Em algumas modalidades, a presente invenção fornece uma composição contendo um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X em uma quantidade de cerca de 1% em peso a cerca de 99% em peso. Em outras modalidades, a composição contendo um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X contém não mais que cerca de 10,0 de área percentual no cromatograma da HPLC de outros componentes de raiz de erva de São Cristóvão em relação à área total do cromatograma da HPLC. Em outras modalidades, a composição contendo um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X contém não mais que cerca de 8,0 de área percentual HPLC de outros componentes de raiz de São Cristóvão em relação à área total do cromatograma da HPLC, ainda, em outras modalidades, não mais que 3 de área percentual.

Usos dos Compostos e Composições Farmaceuticamente Aceitáveis

Os compostos da presente invenção são úteis para modular e/ou inibir a produção do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente. Por conseguinte, os compostos da presente invenção são úteis para tratar ou diminuir a gravidade de distúrbios associados à produção do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente.

Os compostos, extratos e composições de acordo com o método da presente invenção podem ser administrados utilizando-se qualquer quantidade e qualquer via de administração eficaz para tratar ou diminuir a gravidade de um distúrbio neurodegenerativo. A quantidade exata exigida vai variar de paciente para paciente, dependendo da espécie, idade e condição geral do paciente, gravidade da infecção, o agente em particular, seu modo de administração e similares.

Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um método para modular e/ou inibir a produção do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmaceuticamente aceitável compreendendo tal composto. Em outras modalidades, a presente invenção fornece um método para modular e/ou inibir seletivamente a produção do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmaceuticamente aceitável deste. Ainda, em outras modalidades, a presente invenção fornece um método para reduzir os níveis do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmaceuticamente aceitável deste. Em outras modalidades, a presente invenção fornece um método para reduzir os níveis do peptídeo beta-amiloide (1-42) em uma célula, compreendendo contatar tal célula com um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI,

VII, VIII, IX ou X. Uma outra modalidade fornece um método para reduzir o beta-amiloide (1-42) em uma célula onde os níveis do peptídeo beta-amiloide (1-40) na célula sejam substancialmente reduzidos, compreendendo contatar a dita célula com um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X. Ainda, uma outra modalidade fornece um método para diminuir o beta-amiloide (1-42) em uma célula e aumentar pelo menos um de beta-amiloide (1-37) e beta-amiloide (1-39) na célula, compreendendo contatar tal célula com um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

Como utilizado aqui, o termo "reduzindo" ou "reduzir" se refere à diminuição relativa em uma quantidade de beta-amiloide atingida através da administração de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X quando comparada com a quantidade de beta-amiloide na ausência da administração de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X. Como exemplo, uma redução de beta-amiloide (1-42) significa que a quantidade de beta-amiloide (1-42) na presença de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X é menor que a quantidade de beta-amiloide (1-42) na ausência de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X.

Ainda, em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método para reduzir os níveis do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Em determinadas modalidades, a presente invenção proporciona um método para diminuir os níveis do peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente onde os níveis do peptídeo beta-amiloide (1-40) sejam substancialmente reduzidos, onde tal método compreende administrar ao paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um método para reduzir o beta-amiloide (1-42) em um paciente e aumentar pelo menos um de beta-amiloide (1-37) e beta-amiloide (1-39), onde tal método compreende administrar ao paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

Como utilizado aqui, o termo "aumentando" ou "aumentar" em referência a uma quantidade de beta-amiloide refere-se ao aumento relativo na quantidade de um beta-amiloide obtido através da administração de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X (ou contatando uma célula com um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X) em comparação com a quantidade de beta-amiloide na ausência da administração de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X (ou contatando uma célula com um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X). Como exemplo, um aumento de beta-amiloide (1-37) significa que a quantidade de beta-amiloide (1-37) na presença de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X é maior que a quantidade de beta-amiloide (1-37) na ausência de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X. Por exemplo, as quantidades relativas tanto de beta-amiloide (1-37) quanto de beta-amiloide- (1-39) podem ser aumentadas tanto por uma maior produção aumentada tanto de beta-amiloide-(1-37) quanto de beta-amiloide (1-39) ou por uma diminuída produção de peptídeos beta-amiloide mais longos, por exemplo, beta-amiloide (1-40) e/ou beta-amiloide (1-42). Adicionalmente, deve ser apreciado que o termo "aumentar" ou "aumentando", como utilizado aqui em referência a uma quantidade de beta-amiloide-, refere-se ao aumento relativo em uma quantidade de beta-amiloide obtida através da administração de um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X. Assim, em certas modalidades, a presente invenção fornece um método para aumentar o nível absoluto de pelo menos um de beta-amiloide (1-37) e beta-amiloide (1-39),

onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método para aumentar o nível de pelo menos um de beta-amiloide(1-37) e beta-amiloide (1-39), onde o aumento é relativo à quantidade de peptídeos beta-amiloides mais longos, por exemplo, beta-amiloide (1-40) e/ou beta-amiloide (1-42), onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

Uma pessoa versada na técnica notará que a taxa geral de peptídeos beta-amiloides é significativa onde a redução seletiva de beta-amiloide (1-42) é especialmente vantajosa. Em certas modalidades, os presentes compostos reduzem a razão geral do peptídeo beta-amiloide (1-42) para peptídeo beta-amiloide (1-40). Assim, um outro aspecto da presente invenção proporciona um método para reduzir a razão do peptídeo beta-amiloide (1-42) para o peptídeo beta-amiloide (1-40) em um paciente, compreendendo administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Em certas modalidades, a razão do peptídeo beta-amiloide (1-42) para o peptídeo beta-amiloide (1-40) é reduzida de uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 0,4 a uma faixa de cerca de 0,05 a cerca de 0,08.

Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método para reduzir a razão do peptídeo beta-amiloide (1-42) para o peptídeo beta-amiloide (1-40) em uma célula, compreendendo contatar tal célula com um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Em certas modalidades, a razão do peptídeo beta-amiloide (1-42) para o peptídeo beta-amiloide (1-40) é reduzida de uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 0,4 a uma faixa de cerca de 0,05 a cerca de 0,08.

De acordo com um aspecto, a presente invenção proporciona um método para tratar ou diminuir a gravidade de um distúrbio associado ao

peptídeo beta-amiloide (1-42), onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Tais distúrbios incluem distúrbios neurodegenerativos como o mal de Alzheimer, mal de Parkinson e síndrome de Down.

Tais distúrbios também incluem miosite corporal inclusiva (deposição de A-beta nos músculos periféricos, resultando em neuropatia periférica), angiopatia amiloide cerebral (amiloide nos vasos sanguíneos no cérebro) e comprometimento cognitivo leve.

"A-beta42 alto" é uma condição mensurável que precede a doença sintomática, especialmente em pacientes familiares, baseado no plasma, medições de CSF e/ou monitoramento genético. Esse conceito é análogo à relação entre o colesterol elevado e a doença cardíaca. Assim, outro aspecto da presente invenção fornece um método para prevenir um distúrbio associado ao peptídeo beta-amiloide (1-42), onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

Em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método para o tratamento de doenças onde a amiloidose A-beta pode ser um agente subjacente ou um fator co-existente e exacerbador, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

Ainda, em outras modalidades, a presente invenção proporciona um método para o tratamento de distúrbios em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste, e onde tal distúrbio é a demência corporal de Lewy (associada à deposição de alfa-sinucleína nos corpos de Lewy em neurônios cognitivos; a a-sinucleína é mais comumente associada às deposições nos neurônios motores e à etiologia do mal de Parkinson), mal

de Parkinson, catarata (onde a-beta se agrega às lentes do olho), Tauopatias (por exemplo, demência frontotemporal), doença de Huntington, doença de ALS/Lou Gerhig, diabetes do tipo 2 (agregados de IAPP em ilhotas pancreáticas, é similar em tamanho e sequência ao A-beta e possuindo diabetes tipo 2 aumenta o risco de demência), doença amiloide transtirretiniana (TTR, um exemplo desta doença é o músculo cardíaco contribuindo para a cardiomiopatia), doença de príon (incluindo a doença de Creutzfeldt-Jakob, a síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insônia familiar fatal e kuru) e doença de CJD.

10 Em outras modalidades, a presente invenção fornece um método para tratar ou diminuir a severidade do mal de Alzheimer em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

15 Sonderer se prender a qualquer teoria em particular, acredita-se que os presentes compostos sejam moduladores da gama-secretase, a qual seletivamente reduz os níveis de beta-amiloide (1-42). Por conseguinte, outra modalidade da presente invenção proporciona um método para modular a gama-secretase em um paciente, compreendendo administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Em certas modalidades, os presentes compostos são inibidores da gama-secretase. Tal método é útil para tratar ou diminuir a gravidade de qualquer distúrbio ligado à gama-secretase. Tais distúrbios incluem, sem limitação, distúrbios neurodegenerativos como, por exemplo, o mal de Alzheimer.

25 A via de sinalização "Notch"/Delta é altamente conservada entre as espécies e é amplamente utilizada durante o desenvolvimento tanto de vertebrados quanto de invertebrados para regular o destino celular no embrião em desenvolvimento. Vide Gaiano e Fishell, "The Role of "Notch" in Promoting Glial and Neural Stem Cell Fates" *Annu. Rev. Neurosci.* 2002, 30 25:471-90. "Notch" interage com o complexo gama-secretase e possui interações com várias outras proteínas e vias sinalizadoras. "Notch"1 compete

com a proteína precursora de amiloide para a gama-secretase e a ativação da via de sinalização "Notch" infrarregula a expressão do gene PS-1. Vide Lleo et al, "'Notch"1 with the Amyloid Precursor Protein for γ -Secretase and Down-regulates Presenilin-1 Gene Expression" *Journal of Biological Chemistry* 2003, 48:47370-47375 . Receptores "Notch" são processados pela gama-secretase agindo em sinergia com a sinalização de receptores de célula T e assim sustentam a ativação de células T periféricas. "Notch"1 pode regular diretamente Tbx21 através de complexos formados no promotor de Tbx21. Vide Minter et al., "Inhibitors of γ -secretase block in vivo and in vitro T helper type 1 polarization by preventing "Notch" upregulation of Tbx21", *Nature Immunology* 2005, 7:680-688. *In vitro*, inibidores de gama-secretase extinguiram a expressão de "Notch", interferon-gama e Tbx21 em células CD4+ polarizadas TH1. *In vivo*, a administração de inibidores de gama-secretase impediu substancialmente a progressão da doença mediada por TH1 no modelo encefalomielite autoimune experimental em camundongos de esclerose múltipla, sugerindo a possibilidade de uso de tais compostos para tratar autoimunidade mediada por TH1. Vide Id. Inhibition of gamma-secretase can alter lymphopoiesis and intestinal cell differentiation (Wong et al., "Chronic Treatment with the γ -Secretase Inhibitor LY-411,575 Inhibits β -Amyloid Peptide Production and Alters Lymphopoiesis and Intestinal Cell differentiation (Wong et al., "Chronic Treatment with the γ -Secretase Inhibitor LY-411,575 Inhibits β -Amyloid Peptide Production and Alters Lymphopoiesis and Intestinal Cell Differentiation" *Journal of Biological Chemistry* 2004, 26:12876–12882), including the induction of goblet cell metaplasia. Vide Milano et al., "Modulation of "Notch" Processing by γ -Secretase Inhibitors Causes Intestinal Goblet Cell Metaplasia and Induction of Genes Known to Specify Gut Secretory Lineage Differentiation" *Toxicological Sciences* 2004, 82:341–358.

Estratégias que podem alterar o processamento da proteína precursora de amiloide ("APP") e reduzir a produção de formas patogênicas de beta-amiloide sem afetar o processamento de "Notch" são altamente desejáveis. Ademais, conforme descrito acima, mostrou-se que a inibição de gama-secretase *in vitro* e *in vivo* inibe a polarização de células Th e é, assim, útil

para tratar distúrbios associados às células Th1. Células Th1 estão envolvidas na patogênese de vários distúrbios autoimunes específicos de órgãos, doença de Crohn, úlcera péptica induzida por *Helicobacter pylori*, rejeição a aloenxerto nos rins aguda e abortos recorrentes não explicados, para citar
5 alguns.

De acordo com uma modalidade, a invenção se refere a um método para inibir a formação de células Th1 em pacientes, compreendendo a etapa de administrar ao paciente um composto da presente invenção, ou uma composição contendo tal composto. Em certas modalidades, a presente
10 invenção proporciona um método para tratar um ou mais distúrbios autoimunes, incluindo distúrbio da bexiga irritável, doença de Crohn, artrite reumatoide, psoríase, úlcera péptica induzida por *Helicobacter pylori*, rejeição a aloenxerto nos rins aguda, esclerose múltipla ou lúpus eritematoso sistêmico, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de
15 quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X, preparado de acordo com a presente invenção, ou uma composição farmacêuticamente aceitável compreendendo tal composto.

Em certas modalidades, a presente invenção fornece um método para modular e/ou inibir a produção do peptídeo beta-amiloide, sem afetar o
20 processamento de "Notch" em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X, ou uma composição farmacêuticamente aceitável compreendendo tal composto.

Em certas modalidades, a presente invenção fornece um método
25 para inibir a produção do peptídeo beta-amiloide, sem afetar o processamento de "Notch" em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X, ou uma composição farmacêuticamente aceitável compreendendo tal composto.

30 Em certas modalidades, a presente invenção proporciona um método para reduzir os níveis do peptídeo beta-amiloide-(1-42) em um paciente e aumentar pelo menos um de beta-amiloide (1-37) e beta-amiloide (1-

39), sem afetar o processamento de "Notch" em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V, VI, VII, VIII, IX ou X, ou uma composição farmacologicamente aceitável deste.

5 Por conseguinte, outro aspecto da presente invenção proporciona um método para reduzir a taxa do peptídeo beta-amiloide (1-42) para o peptídeo beta-amiloide (1-40) em um paciente, sem afetar o processamento de "Notch" em um paciente, onde tal método compreende administrar a tal paciente um composto de quaisquer das fórmulas I, II, III, IV-a, IV-b, IV-c, V,
10 VI, VII, VIII, IX ou X, ou uma composição farmacologicamente aceitável deste. Em certas modalidades, a taxa do peptídeo beta-amiloide (1-42) para o peptídeo beta-amiloide (1-40) é reduzida de uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 0,4 a uma faixa de cerca de 0,05 a cerca de 0,08.

Os compostos da presente invenção são preferivelmente formulados em uma forma de dosagem unitária para facilitar a administração e uniformidade da dose. A expressão "forma de dosagem unitária" como utilizada aqui, refere-se a uma unidade fisicamente discreta do agente apropriado para o tratamento do paciente. Deve ser entendido, entretanto, que a dosagem diária total dos compostos e composições da presente invenção será
15 decidida pelo médico assistente dentro do escopo do critério médico seguro. O nível da dose eficaz específico para qualquer paciente ou organismo em particular vai depender de vários fatores, incluindo o distúrbio que está sendo tratado e a gravidade do distúrbio; a atividade do composto específico empregado; a composição específica empregada; a idade, peso do corpo,
20 saúde geral, sexo e dieta do paciente; o tempo de administração, via de administração e taxa de excreção do composto especificamente empregado; a duração do tratamento; fármacos usados em combinação ou concomitantemente com o composto específico empregado e fatores similares bem-conhecidos na área médica. O termo "paciente", como aqui utilizado, significa um animal, preferivelmente um mamífero e, mais preferivelmente, um ser
25 humano.

30

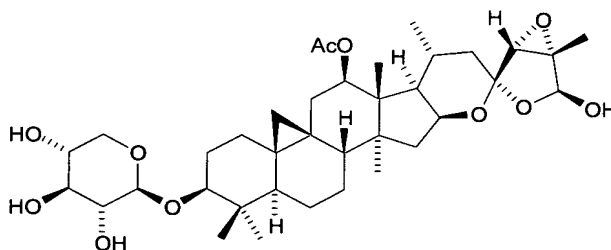
Exemplos

A erva de São Cristóvão, utilizada no protocolo de separação descrito abaixo, foi obtido por um pedido padrão para Boehringer Ingelheim Nutriceuticals. Esse extrato é substancialmente equivalente à preparação USP de extrato de erva de São Cristóvão, onde cerca de 50% de etanol aquoso é utilizado para extrair raiz e rizoma em pó e é então concentrado até quase *secura*.

Como utilizado aqui, os números de compostos citados abaixo correspondem aos seguintes compostos:

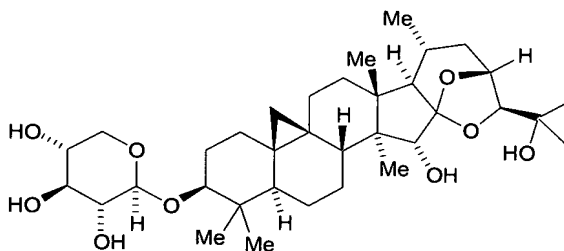
Composto 1: β -D-Xilopiranosídeo, (3,12,16,23R,24R,25S,26S)-12-(acetilóxi)-16,23:23,26:24,25-triepóxi-26-hidróxi- 9,19-ciclolanostan-3-ila.

Também conhecido como "acteína." C₃₇H₅₆O₁₁; Peso molecular: 676,83; Registro 18642-44-9.



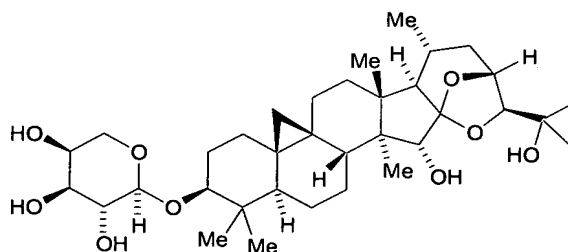
1

Composto 2: Cimigenol 3- β -D-xilopiranosida; C₃₅H₅₆O₉, Peso molecular: 620,81; Registro 27994-11-2.



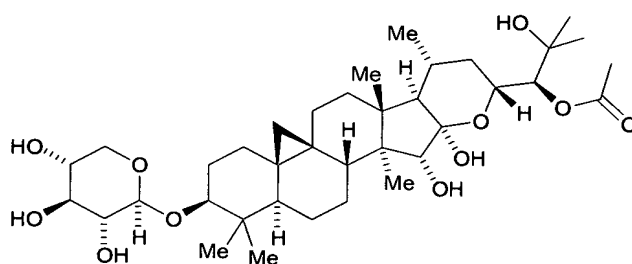
2

Composto 3: Cimigenol 3- α -L-arabinosídeo. C₃₅H₅₆O₉, Peso molecular: 620,81; Registro 256925-92-5.



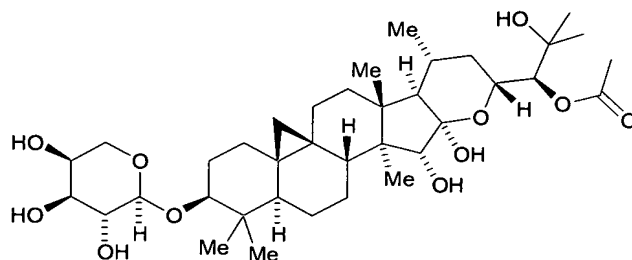
3

Composto 4: 24-O-Acetil-hidroshengmanol 3- β -D-xilopiranosídeo.
C₃₇H₆₀O₁₁, Peso molecular: 680,87; Registro 78213-32-8.



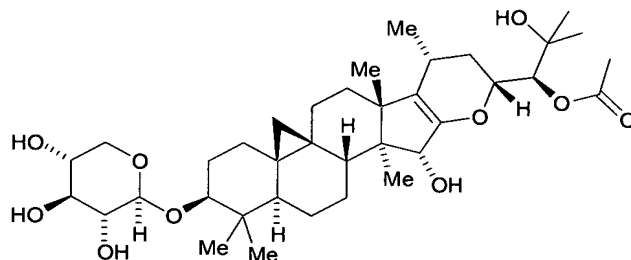
4

5 Composto 5: 24-O-Acetil-hidroshengmanol 3- α -L-arabinopiranosídeo.
C₃₇H₆₀O₁₁, Peso molecular: 680,87.



5

Composto 6: Éter 24-O-acetil-hidroshengmanol 3- β -D-xilopiranosídeo (delta-16,17)-enólico. C₃₇H₅₈O₁₀, Peso molecular: 662,85.

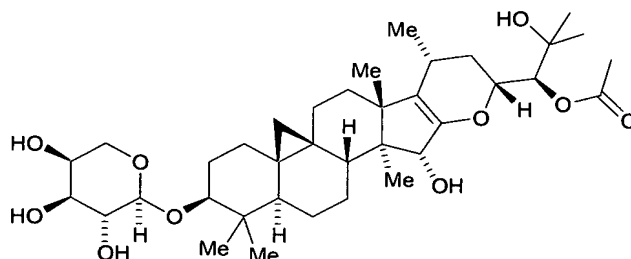


6

10

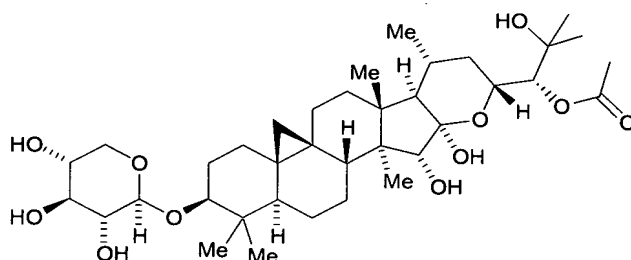
Composto 7: Éter 24-O-acetil-hidroshengmanol 3- α -L-arabinopiranosídeo

(delta-16,17)-enólico. C₃₇H₅₈O₁₀, Peso molecular: 662,85.



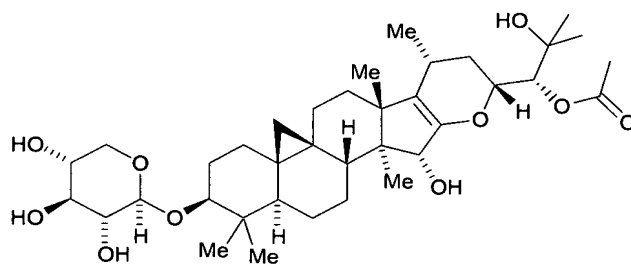
7

Composto 8: 24-epi-24-O-Acetil-hidroshengmanol 3-β-D-xilopiranosídeo. C₃₇H₆₀O₁₁, Peso molecular: 680,87.



8

Composto 9: Éter 24-epi-24-O-acetil-hidroshengmanol 3-β-D-xilopiranosida (delta-16,17)-enólico. C₃₇H₅₈O₁₀, Peso molecular: 662,85.



9

Protocolo de isolamento 1

10 Cromatografia em coluna instantânea

Extrato de erva de São Cristóvão (15,6 g) foi suspenso em 150 mL de uma mistura de metanol-água 4:1 (v/v) a 25°C. Utilizando-se um agitador mecânico, a pasta fluida resultante foi agitada vigorosamente por 30 minutos a esta temperatura, o que resultou em uma emulsão marrom. A essa emulsão, 51 g de sílica-gel (sílica ICN 32-63 60 Å) foi adicionada com agitação contínua. A mistura foi concentrada a 25°C *in vacuo* utilizando-se

um evaporador rotativo, até que um pó marrom-bege bem homogêneo foi obtido. Este material foi submetido à cromatografia em coluna de sílica-gel (sílica ICN 32-63 60 Å) utilizando-se uma coluna longa de vidro de 60 cm com 50 mm de diâmetro interior.

5 Na preparação para a cromatografia em coluna de sílica-gel, 500 mL de uma mistura 20:1 de diclorometano-metanol e a pasta fluida resultante foram vertidos na coluna de vidro. A sílica-gel ficou 30 minutos em repouso, e foi coberta com uma camada de areia de 1 cm de espessura. A seguir, o extrato absorvido pela sílica foi vertido na mistura 20:1 de diclorometano-
10 metanol, e a pasta fluida resultante foi vertida na camada de areia no topo da coluna. A coluna de sílica foi então eluída com as seguintes misturas de solventes sob uma pressão de 40 kPa (0,4 bar) (argônio);

1,0 mL de diclorometano-metanol 20 a 1, seguido por
770 mL de diclorometano-metanol 10 a 1, seguido por
15 800 mL de diclorometano-metanol 7 a 1, seguido por
550 mL de diclorometano-metanol 5 a 1.

Oito frações de 200 mL (rotulados como sat14-0 a sat14-7) foram coletadas, seguido por onze frações de 100 mL (rotuladas sat14-8 a sat14-18). Todas as frações foram analisadas por cromatografia xs camada
20 fina (TLC), utilizando-se placas de sílica Bakerflex eluída com uma mistura de solvente 5:1 de diclorometano-metanol. Após a revelação, as placas de sílica-gel foram coloridas com corante de anisaldeído. Baseado nos resultados das análises por TLC, as frações sat14-9 a sat14-12 foram evaporadas até secar in vacuo a 25°C, e amostras de 10 mg dessas frações foram anali-
25 sadas por espectroscopia de RMN ¹H, utilizando-se CD₃OD como solvente. Vide as Figuras 1 e 2, respectivamente. O espectro foi analisado com relação à presença de amplos picos múltiplos a 2,53 ppm e um pico duplo a 2,2 Hz e 4,86 ppm, porque esses sinais são característicos dos compostos 7 e 6. O espectro dqf-COSY adicional dessas quatro amostras confirmou que os
30 sinais a 2,53 e 4,86 ppm de fato pertenciam aos compostos 7 e 6. Do espectro de RMN ¹H da porção sat14-10, conclui-se que esta amostra continha a maior concentração de compostos 7 e 6, enquanto quantidades ligeiramente

menores dos compostos foram detectadas nas frações sat14-9. A porção sat-14-11 pareceu conter traços de 7 e 6 enquanto tais compostos não foram detectados na amostra sat14-12. Baseado nesses resultados, a porção sat14-10 foi escolhida para purificação adicional por HPLC. Alternativamente, a amostra sat14-9 poderia ser usada, para obter quantidades adicionais dos compostos 4 a 7 conforme necessário.

O principal componente da porção sat14-10 era a acteína (1) (JNP 2002, 65, 601-605), que se cristalizou a partir de uma solução metanólica na amostra. Acteína pura foi obtida através de recristalização. Os principais componentes das amostras sat14-11 eram cimigenil beta-D-xilopiranosida (2) e cimigenol alfa-L-arainosida (3), que se cristalizou desta amostra como uma mistura de cerca de 2:1 (JNP 2000, 65, 905-910 e 1391-1397).

Fracionamento por HPLC de fase reversa em coluna C-18

A porção sat14-10 foi dissolvida em 3,5 mL de metanol. Esta solução foi fracionada por HPLC usando-se uma coluna SUPELCO Discovery 18 (25 cm de comprimento, 10 mm de diâmetro interno) e o sistema de HPLC série AGILENT 1100, incluindo um autoinjeter e um detector de diodo em série, utilizado para detecção de comprimentos de onda de 190 a 400 nm. Um gradiente de solvente foi empregado, começando com 30% (v/v) de água em metanol pelos primeiros 2 minutos, seguido por uma diminuição linear da quantidade de água até que 100% de metanol fossem atingidos aos 20 minutos. Após 2 minutos, a 100% de etanol, a quantidade de água foi elevada para 30% e mantida nessa concentração por 8 minutos. Para a separação da amostra sat14-10 inteira, 100 injeções de 35 µl cada foram necessárias. Nove frações foram coletadas e rotuladas sat15-1 a sat15-9. Vide as Figuras 3 e 4, respectivamente. Os compostos 4 a 7 foram eluídos nas frações sat15-1, sat15-2, sat15-4 e sat15-5. Os espectros de RMN ¹H das frações sat15-1, sat15-2, sat15-4 e sat15-5 são mostrados nas figuras 4a e 4b.

Fracionamento por HPLC de fase reversa em coluna C-8 para o isolamento de 6,4 e 9

A porção sat15-5 foi dissolvida em 1,5 mL de metanol. Esta solução foi fracionada por HPLC usando-se uma coluna SUPELCO supelcosil LC-8 (25 cm de comprimento, 10 mm de diâmetro interno) e o sistema de HPLC série AGILENT 1100 descrito acima. Um gradiente de solvente foi empregado, começando com 40% (v/v) de água em metanol pelos primeiros 2 minutos, seguido por uma diminuição linear da quantidade de água até que 100% de metanol fossem atingidos aos 20 minutos. Após 2 minutos a 100% de etanol, a quantidade de água foi elevada para 40% e mantida nessa concentração por 8 minutos. Para a separação da amostra sat15-5 inteira, 50 injeções de 30 µl cada foram necessárias. Cinco frações foram coletadas e rotuladas sat16-1 a sat16-5 (figura 5). O composto 6 foi eluído na amostra sat16-3, enquanto o composto 4 foi eluído na amostra sat16-1. Uma pequena quantidade de 9 puro foi obtida na amostra sat15-5. A Figura 6 mostra o espectro de RMN ¹H de 9,8 mg do composto 6 com 98% de pureza obtido.

Fracionamento por HPLC de fase reversa em coluna C-8 para o isolamento de 8

A porção sat15-8 foi dissolvida em 0,65 mL de metanol. Esta solução foi fracionada por HPLC usando-se uma coluna SUPELCO supelcosil LC-8 (25 cm de comprimento, 10 mm de diâmetro interno) e o sistema de HPLC série AGILENT 1100 descrito acima. Um gradiente de solvente foi empregado, começando com 40% (v/v) de água em metanol pelos primeiros 2 minutos, seguido por uma diminuição linear da quantidade de água até que 100% de metanol fossem atingidos aos 20 minutos. Após 2 minutos a 100% de etanol, a quantidade de água foi elevada para 40% e mantida nessa concentração por 8 minutos. Sete frações foram coletadas e rotuladas sat18-1 a sat18-7. O composto 8 foi eluído na porção sat18-6. A análise por espectroscopia de RMN, incluindo os espectros NOESY, mostrou que em solução metabólica, o composto 8 se interconverte com a cetona correspondente. Soluções metanólicas diluídas contêm cerca de 4% de cetona e 96% da forma hemicetal.

Fracionamento por HPLC de fase reversa em coluna C-8 para o isolamento de 7 e 5

A porção sat15-2 foi dissolvida em 0,5 mL de metanol. Esta solução foi fracionada por HPLC usando-se uma coluna SUPELCO supelcosil LC-8 (25 cm de comprimento, 10 mm de diâmetro interno) e o sistema de HPLC série AGILENT 1100 descrito acima. Um gradiente solvente foi empregado, começando com 40% (v/v) de água em metanol pelos primeiros 2 minutos, seguido por uma diminuição linear da quantidade de água até que 100% de metanol fossem atingidos aos 20 minutos. Após 2 minutos a 100% de etanol, a quantidade de água foi elevada para 40% e mantida nessa concentração por 8 minutos. Cinco frações foram coletadas e rotuladas sat19-3 a sat19-7. O composto 7 puro foi obtido na porção sat19-7, enquanto o composto 5 puro foi obtido na porção sat19-5.

Protocolo de Isolamento 2

Um protocolo alternativo de isolamento/purificação é revelado abaixo para isolar o composto 6. Uma pessoa versada na técnica verá que durante o isolamento do composto 6, outros compostos da presente invenção são enriquecidos e/ou isolados por esse processo. O sumário do processo de isolamento é retratado na figura 7.

Esse protocolo de purificação utilizou o seguinte equipamento:

- (a) Sistema de HPLC Hitachi com detector de diodo em série (DAD)
- (b) Nova Prep™ 8000 Semipreparative HPLC Semipreparativa com Controlador Remoto PC usando LC ReSponder™ Application Software
- (c) Detector UV Hitachi L-7400
- (d) Detector de difusão luminosa evaporativa (ELSD) Sedex 55
- (e) Coluna de sílica 75L Biotage (KP-Sil; P/N FKO-1107-19073; Lote 027075L)
- (f) Coluna C18 75L Biotage (Bakerbond, 40 μ)
- (g) Coluna C18 75S Biotage (Vydac, 40 μ)
- (h) Coluna HPLC analítica: Phenomenex Luna C18, 3 μ , 4,6 x 100 mm
- (i) Coluna HPLC semipreparativa : coluna Phenomenex Luna C8 HPLC], 20 x 250 mm

(j) Coluna HPLC semipreparativa : coluna YMC AQ C18 HPLC, 21,2 x 250 mm; e

(k) Coluna HPLC preparativa: ES Industries Coluna C18 de 5 x 25 cm de HPLC preparativa.

5 O método analítico utilizado para determinar a pureza do composto 6 é o que segue:

Coluna:	Phenomenex Luna C18, 3m, 4,6 x 100 mm
Fase móvel:	Eluição isocrática com A. 35% Acetonitrila; B. 30% água Nanopura contendo 0,05% de ácido acético; e C. 35% de MeOH
10 Vazão:	1 mL/min
Detecção:	205, 230 nm, DAD; e ELSD
Tempo de execução:	8 min
Temperatura da coluna:	32°C

15 Esse método foi usado para a análise do extrato, amostras e produto final.

O composto 6 elui a cerca de 5,5 minutos sob essas condições.

20 50 g de extrato de erva de São Cristóvão ("BCE") foi fracionado em um cartucho Biotage Silica (7,5 x 30 cm). Após o carregamento, o cartucho foi eluído com 5% de MeOH/DCM (10 L) e 10% de MeOH/DCM (5 L), e amostras de 500 mL foram coletadas. A vazão foi de 150 a 200 mL/min. O HPLC (UV a 230 nm) revelou que o composto 6 estava presente nas amostras 23 (2,6 g) e 24 (2,3 g). A amostra 23 (F23) foi selecionada para purificação adicional em uma coluna C8 semipreparativa.

25 Dez corridas foram realizadas para que se obtivesse aproximadamente 10 mg do composto 6. 50 mg de F23 em 0,3 mL de MeOH foram carregados em uma coluna semiprep Phenomenex Luna C-8 (21,2 x 250 mm, 10 μ , 100 A). A coluna foi eluída a uma taxa de escoamento de 9,9 mL/min com MeOH a 70% em H₂O com monitoramento de UV a 205 nm. Os picos eluindo em 35 min. e 38 min. como mostrados pelo traço de HPLC
30 semi-prep (figura 8) foram separadamente coletados.

As frações coletadas para os picos aos 35 min das 10 corridas foram reunidas e os solventes evaporaram à temperatura ambiente. Os sólidos

dos resultantes foram secos em um liofilizador para que rendessem 10,3 mg do composto 6 (2609-165-7). O HPLC (Figura 9) do produto 2609-165-7 revelou um pico de impureza polar (11,3%) com tempo de retenção (RT) em 4,5 min. embora o HPLC de amostras individuais tenha mostrado somente
5 um pico principal (Figura 10). Aparentemente, o composto 6 se converteu vagarosamente durante o processo em um composto mais polar. Descobriu-se que o composto mais polar era o derivado de deacetila do composto 6, como deixa claro o SSI-MS que mostrou um pico de $[M+Na]^+$ intenso a m/z 643 (Figura 11) e RMN de próton (Figura 12) da impureza isolada a 4,5 min
10 onde o pico único para a acetil metila estava ausente.

Alguns experimentos de estabilidade com o composto 6 indicaram que a desacetilação ocorreu na solução de MeOH, que é ligeiramente básico. Entretanto, era estável em solução ligeiramente ácida. Assim, 2609-165-7 foi reprocessado na coluna C8 Luna usando 70% de MeOH/30% de
15 água contendo 0,05% de AcOH como eluente para render 3,4 mg do composto 6 (2609-172-11). Um cromatograma de HPLC de 2609-172-11 é mostrado na Figura 13. O RMN de próton (em CD_3OD) e SSI-MS são mostrados nas Figuras 14 e 15.

Em um outro processo, 250 g de extrato de erva de São Cristóvão (BCE) foram agitadas com 1.250 mL de MeOH por 1 hora à temperatura
20 ambiente em um béquer. Nem todos os sólidos se dissolveram mas a análise HPLC do filtrado indicou que todo o composto 6 no extrato inicial se dissolveu (~250 mg). Não obstante a mistura não filtrada foi adicionada a 750 g de sílica-gel (ICN, 60-200 μ) em um balão de fundo redondo de 5 L. O MeOH foi removido do rotovap com a ajuda de vácuo para um pó seco pesando
25 1.100 g com 9% de MeOH residual.

O BCE secou na preparação de sílica foi dividido em quatro partes de aproximadamente 270 g cada. A mistura foi carregada no SIM e primeiramente lavada com 500-600 mL de cloreto de metileno para remover
30 MeOH residual e apolar. O SIM foi conectado à coluna de sílica de 75 L (KP-Sil; P/N FK0-1107-19073; Lote 027075L; 7,5 x 25 cm ou 1.750 mL). A coluna principal foi comprimida radialmente a 413,69 kPa (60 psi). O sistema foi elu-

ido com acetona a uma vazão de 100 mL/min, e amostras de 500 a 1.000 mL foram coletadas. Após a eluição do composto 6, a coluna foi lavada com 1,0 L de MeOH e re-equilibrada com 2 L de acetona. Observou-se que o composto 6 eluiu primariamente a amostra 3 (1.000 mL) depois que aproximadamente 900 a 1.000 mL de acetona havia eluído da coluna nas frações 1 e 2. As primeiras 4 corridas renderam aproximadamente 224 mg do composto 6. Uma segunda batelada de material partida para a sílica Biotage foi preparada a partir de 100 g de BCE e 500 mL de MeOH e 300 g de sílica. Duas corridas adicionais de Biotage (5 e 6) foram feitas de modo similar às primeiras quatro, com o material de partida rendendo outros 93 mg do composto 6. As reuniões do produto das 6 corridas foram combinadas e evaporaram, transformando-se em um sólido seco sob pressão reduzida.

Os sólidos secos (90 g) da sílica Biotage foram dissolvidos em 720 mL de MeOH e 480 mL de H₂O foram adicionados vagarosamente com agitação. Alguns sólidos escuros semelhantes a alcatrão se precipitaram e foram removidos com um filtro. O filtrado turvo foi carregado em uma coluna C18 Bakerbond 60 Å, 40 µ Biotage (7,5 x 25 cm) de 75 L. Após o carregamento, que no teste deu negativo para o composto 6, a coluna foi lavada com 5 L de 60% (v/v) MeOH/H₂O seguido por 4 L de 70% MeOH/H₂O, e então eluída com o composto 6 utilizando-se 4 L de 80% de MeOH/H₂O. Após a eluição, a coluna foi lavada com 2 L de MeOH. A vazão foi de cerca de 60 mL/min total e as fases móveis de MeOH/H₂O continham 0,05% de ácido acético para prevenir a degradação do composto 6. A união de produtos (4 L) foi concentrada sob pressão reduzida até que essencialmente todo o MeOH tivesse sido retirado, e os sólidos precipitados resultantes foram coletados com um funil Buchner e secos com a ajuda de alto vácuo à temperatura ambiente.

Os sólidos, tipo semelhantes a alcatrão, removidos por filtração da primeira preparação C18 em larga escala, contendo cerca de 32 mg do composto 6 foi dissolvido em 2 L de mistura de lavagem de MeOH do primeiro experimento em larga escala, e que continha cerca de 22 mg do Composto 6. A mistura foi evaporada até 1 L e misturada com 0,67 L de água. Al-

guns sólidos escuros semelhantes a alcatrão precipitaram e foram coletados com um filtro, dissolvidos em 200 mL de MeOH e misturados com 134 mL de água. Esta mistura também foi filtrada para remover uma pequena quantidade de semelhantes a alcatrão, e o filtrado foi combinado com o primeiro filtrado e carregado em uma coluna C18 75S (7,5 x 9,0 cm; 400 mL) Vydac 300 Å, 40 µ Biotage. A coluna foi lavada com 1 L de MeOH/H₂O a 80% (fases móveis também continham 0,05% de ácido acético). A união de produtos foi evaporado e os sólidos foram coletados por filtração de modo similar ao

5
10 A primeira combinação de produto (16,69 g) da coluna de Biotage C18 foi misturada com 70 mL de MeOH. A mistura foi sonicada e o precipitado foi removido por filtração. O filtrado foi cromatografado (5 corridas, 14 mL cada) em uma coluna C18 ES Industries Chromegabond WR a uma vazão de 177 mL/min utilizando-se 70% de MeOH/30% de água contendo
15 0,05% de AcOH como eluente. As frações dos minutos 6-14 de cada corrida foram combinadas e evaporadas para remover o MeOH. O precipitado após a remoção do MeOH foi coletado por centrifugação, e seco em um liofilizante para render 6,6 g dos sólidos secos 2609-173-16 (composto 6, 3,2%).

A segunda combinação de produtos (4,3 g) da coluna C18 Biotage foi processado de maneira similar para render 2,0 g dos sólidos secos 2609-173-27 (composto 6, 3,06%). 2609-173-16 e 2609-176-27 foram combinados para que rendessem 8,6 g de 2609-174-6.

2609-174-6 (400 mg) foi dissolvido em 1,3 mL de MeOH contendo 0,1% de AcOH. A solução foi carregada em uma coluna C8 Phenomenex
25 Luna, a qual foi eluída a uma vazão de escoamento de 24 mL/min com 68% MeOH/32% água contendo 0,05% de AcOH.

Baseado no HPLC analítico, as frações a partir dos minutos 15,8 a 19,8 de cada corrida (total de 22 corridas) foram combinadas, evaporadas para remover o MeOH, e liofilizadas até a secura para render 2609-174-28
30 (1,4 g contendo 12,6% do composto 6). 2609-174-28 foi utilizado para o isolamento final do composto 6 em uma coluna C18 YMC-AQ. Um total de 28 corridas foi realizado.

2609-174-28 (50 mg) foi dissolvido em 0,25 mL de MeOH contendo 0,1% de AcOH. A solução foi injetada na coluna C18 YMC AQ. A coluna foi eluída a 9,9 mL/min. com 70% de MeOH/30% de água contendo 0,05% de AcOH. Baseado nos perfis de HPLC analítico, as amostras selecionadas de 28 corridas, tipicamente entre os minutos 48,4 a 50,5, foram reunidas, evaporadas e liofilizadas para que rendessem o composto 6 (2609-176-30, 85 mg).

As frações que foram coletadas imediatamente antes dos 48,4 minutos e continham principalmente o composto 6 também foram combinadas e secas, para que rendessem 2609-176-35 (50 mg). 2609-176-35 foi reprocessado (3 corridas) utilizando a mesma coluna e fase móvel para render outro lote do composto 6, que foi combinado com 2609-176-30 para render 102 mg de produto (2609-177-10) com ~95% de pureza de cromatografia. Os cromatogramas de HPLC (UV a 205, 230 nm e ELSD) e espectro de RMN de próton do composto 6 (2609-176-10) são mostrados nas figuras 16, 17, 18 e 19, respectivamente. O RMN de próton de 2609-176-10 foi consistente com aquele de uma amostra padrão do composto 6. O SSI-MS do composto 6 (Figura 20) mostrou um pico de $[M+Na]^+$ intenso a m/z 685, consistente com a fórmula $C_{37}H_{58}O_{10}$ do composto 6.

Remoção de Carboidratos Enzimáticos

O composto 6 (10 mg) foi dissolvido em 5 mL de MeOH. Um tampão de fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0, 10 mL) foi adicionado à solução de MeOH. Celulase (produto Sigma # C0615, 20 mg) foi dissolvido em 10 mL da solução tampão de fosfato de potássio. A solução do composto 6 foi então adicionada à solução de celulase e a mistura foi incubada por 3 dias a 37°C.

A progressão da reação foi monitorada por HPLC da maneira como a seguir: uma alíquota da mistura de reação (20 mL) foi adicionada a MeOH (80 mL) contendo 0,1% de ácido acético (v/v). A amostra foi então analisada em uma coluna HPLC de fase reversa ID SUPELCOSIL LC-8 de 25 cm x 4,6 mm empregando-se um gradiente de MeOH-água de 20 minutos.

Após a incubação de 3 dias, 20 mL de CH₂Cl₂ foram adicionados à mistura reacional, que foi agitada vigorosamente seguido por centrifugação a 2.000 rpm por 3 minutos. A camada aquosa foi retirada e extraída por mais duas vezes com 20 mL de CH₂Cl₂. As camadas orgânicas foram combinadas e o solvente foi removido para render 9,6 mg de produto bruto. O produto bruto foi dissolvido em um volume mínimo de CH₂Cl₂-MeOH a 20:1 e cromatografado sobre uma coluna de sílica eluída com a mesma mistura de solvente. O desenvolvimento da coluna foi monitorado por TLC utilizando-se o corante de molibdato de cério (1% de CeSO₄, 5% de (NH₄)Mo₇O₂₄.4H₂O (p/v) e 10% de H₂SO₄ concentrado (v/v)) e uma mistura de solvente CH₂Cl₂-MeOH a 15:1. As frações contendo material com um R_f de 0,26 foram reunidas para que rendessem o composto I-16 (número do composto da Tabela 1 acima).

Desacetilação do Composto 6

O composto 6 (88% de pureza por cromatografia) foi tratado com 1% de amônia para produzir o composto I-13 (número do composto da Tabela 1, acima).

O composto 6 (88% de pureza por cromatografia) foi aquecido a 85°C por 1 hora para render o composto I-13 (número do composto da Tabela 1 acima).

Ensaio biológicos

A. Ensaio para Determinar a Capacidade de um Composto da Fórmula I de Inibir A β -42

Os compostos da presente invenção e extratos contendo tais compostos podem ser ensaiados como inibidores do peptídeo beta-amiloide (1-42) *in vitro* ou *in vivo*. Tais métodos de ensaio são descritos em detalhes na Patente US 6.649.196, cujo teor é aqui incorporado a título de referência, na íntegra.

Descobriu-se que os compostos da presente invenção reduzem o peptídeo beta-amiloide (1-42) de forma seletiva, de acordo com ensaio baseado em célula realizado substancialmente da mesma forma que descrito em US 6.649.196.

B. Ensaio para Determinar a Capacidade de um Composto da Fórmula I de Afetar a Razão total de A β .

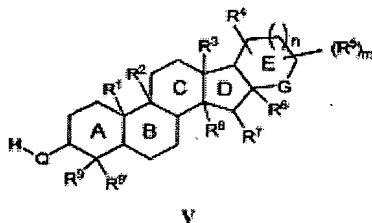
Os compostos da presente invenção foram ensaiados pra que se determinassem seus efeitos razão total do peptídeo beta-amiloide (1-42) *in vitro* utilizando-se um protocolo de ensaio substancialmente similar ao descrito por Wang et al, *J. Biol. Chem.* 1996, 50:31894-31902, The Profile of Soluble Amyloid b Protein in Cultured Cell Media, cujo teor é aqui incorporado a título de referência. Esse ensaio quantifica a proteína beta-amiloide usando espectrometria de imunoprecipitação e de massa (IP-MS). Utilizando o composto 6 para exemplificar, descobriu-se que este composto reduziu o peptídeo beta-amiloide (1-42), ao mesmo tempo onde aumentou o peptídeo beta-amiloide (1-37) e o peptídeo beta-miloide (1-39). Esses resultados são retratados na Figura 21.

O composto 6 foi ensaiado também de acordo com o método descrito por Wang et al, 7 cavidades de células (APP_p) e células 7PA2 (APPv717f). As mutações APP₇₁₇ aumentam o nível relativo do peptídeo beta-amiloide (1-42). Nesse ensaio, mostrou-se que o composto 6 reduz o peptídeo beta-amiloide- β (1-42), ao mesmo tempo onde aumenta o peptídeo beta-amiloide (1-39). Esses resultados são retratados na figura 22.

Embora tenhamos descrito diversas modalidades desta invenção, é aparente que nossos exemplos básicos podem ser alterados para que forneçam outras modalidades que utilizam os compostos e métodos desta invenção. Assim, deve ser notado que o escopo desta invenção deve ser definido pelas reivindicações anexadas e não pelas modalidades específicas que foram aqui apresentadas como exemplos.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula I:



ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D, e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

5

G é S, CH₂, NR, ou O;

R¹ e R² são, cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, N(R)₂, ou um grupo amino adequadamente protegido, ou R¹ e R² são

10 tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre;

cada R é, independentemente, hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído, ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre, onde:

15

dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre;

20

n é 0 a 2;

R³, R⁴, R⁷, e R⁸ são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

25

m é 0 a 2;

R⁵ é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

cada T é, independentemente, uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;

cada R' e R'' é, independentemente, selecionado de R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

R⁶ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, N(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

R⁹ e R^{9'} são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, SR, ou N(R)₂, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre; e

Q é uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de Q são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)-, ou -S(O)₂-.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, onde:

G é O; e

R¹ e R² são, cada um, independentemente, R ou OR.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 2, onde R¹ e R² são, cada um, independentemente, R onde R é hidrogênio ou um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído.

4. Composto, de acordo com a reivindicação 2, onde R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 6 membros, saturado, parcialmente saturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos independentemente

selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre.

5. Composto, de acordo com a reivindicação 4, onde:

R^5 é $T-C(R')_3$ ou $T-C(R')_2C(R'')$;:

cada T é independentemente uma ligação de valência ou uma cadeia de C_{1-4}

5 alquilideno, linear ou ramificada,

onde uma unidade de metileno de T é opcionalmente substituída por $-O-$, $-N(R)-$, ou $-S-$; e

cada R' e R'' é independentemente R, OR, $OC(O)R$, SR, ou $N(R)_2$.

6. Composto, de acordo com a reivindicação 5, onde:

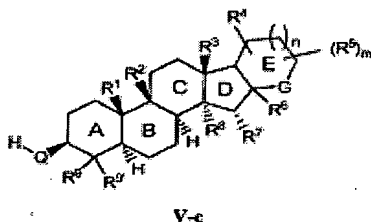
10 Q é uma cadeia de C_{1-2} alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até um unidade de metileno de Q é opcionalmente substituída por $-O-$, $-N(R)-$, ou $-S-$.

6. Composto, de acordo com a reivindicação 5, onde:

15 Q é uma cadeia de C_{1-2} alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até uma unidade de metileno de Q é opcionalmente substituída por $-O-$, $-N(R)-$, ou $-S-$.

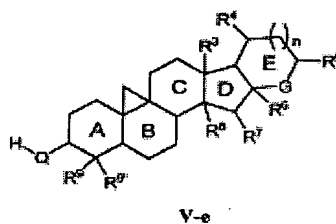
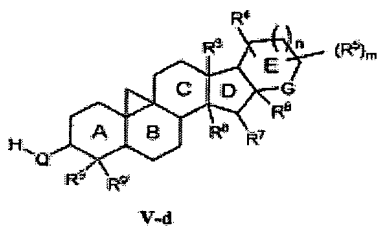
7. Composto, de acordo com a reivindicação 6, onde Q é $-O-$.

8. Composto, de acordo com a reivindicação 1, onde o dito composto é de fórmula V-c:



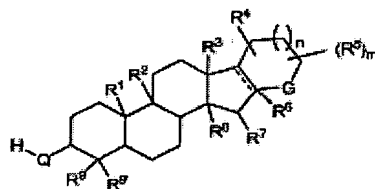
20 ou um sal farmacologicamente aceitável deste.

9. Composto, de acordo com a reivindicação 1, onde o dito composto é de fórmula V-d ou V-e:



ou um sal farmacologicamente aceitável deste.

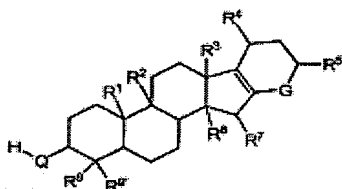
10. Composto, de acordo com a reivindicação 1, onde o dito composto é de fórmula V-f:



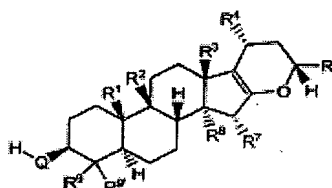
V-f

ou um sal farmacologicamente aceitável deste.

11. Composto, de acordo com a reivindicação 10, onde o dito composto é de fórmula V-g ou V-h:



V-g

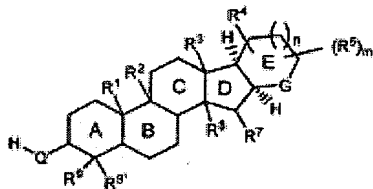


V-h

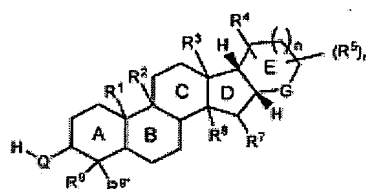
ou um sal farmacologicamente aceitável deste.

12. Composto, de acordo com a reivindicação 11, onde R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel carbocíclico de 3 a 6 membros, saturado e R⁷ é -OH.

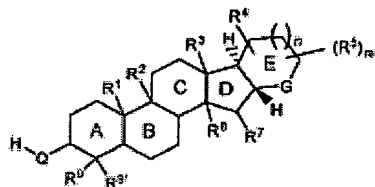
13. Composto, de acordo com a reivindicação 1, onde o dito composto é selecionado de um composto de fórmula VII, VIII, IX, ou X:



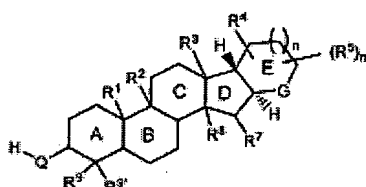
VII



VIII

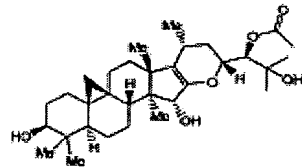


X ou

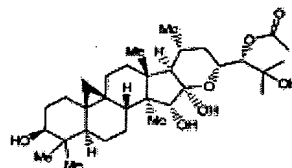


X.

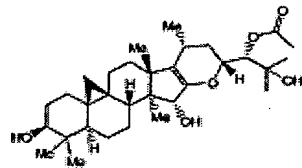
14. Composto selecionado de:



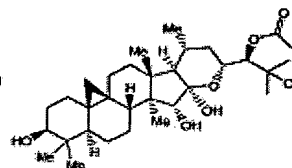
I-15



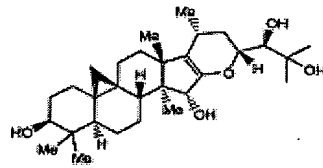
I-16



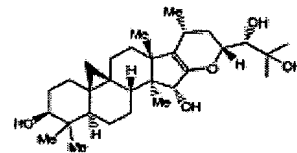
I-17



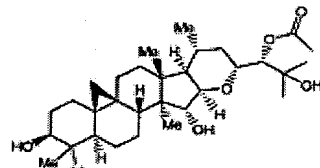
I-18



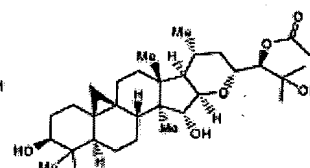
I-19



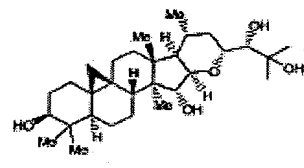
I-20



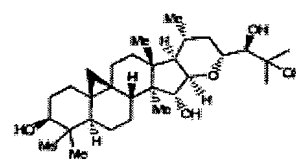
I-21



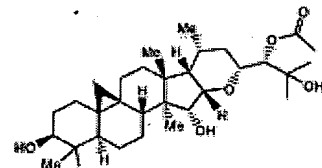
I-22



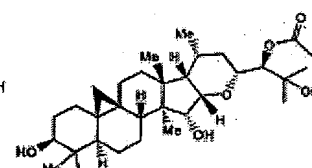
I-23



I-24



I-25

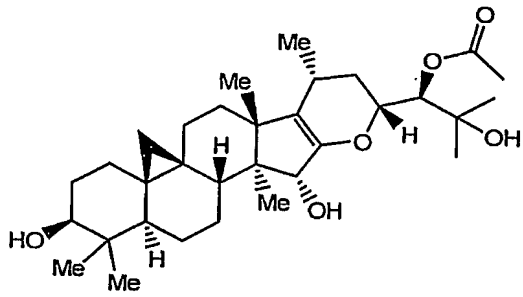


I-26

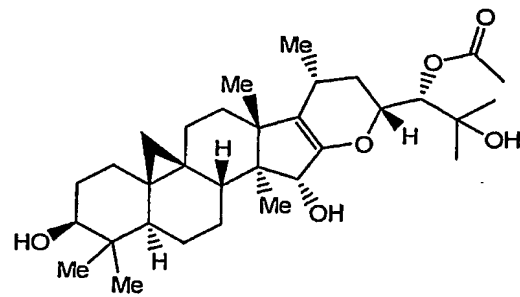
I-27 e

I-28.

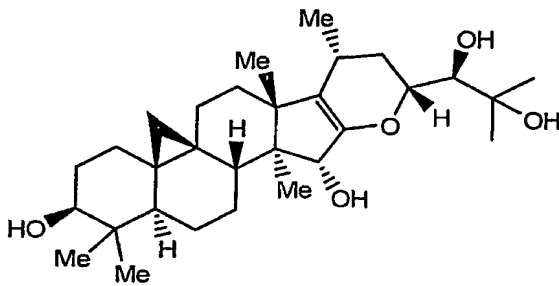
15. Composto de acordo com a reivindicação 14, em que o referido composto é selecionado de:



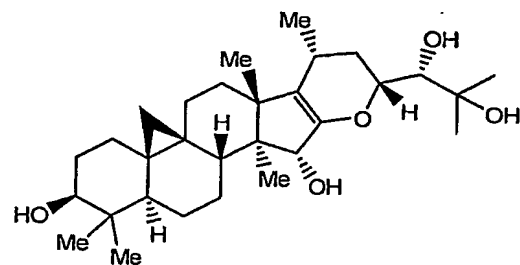
I-15



I-19

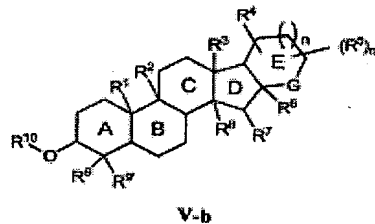


I-21



e I-22.

16. Método para preparar um composto de fórmula V-a:



V-b

ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D, e Anel E é independentemente saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

5 G é S, CH₂, NR, ou O;

R¹ e R² são, cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, N(R)₂, ou um grupo amino adequadamente protegido, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre;

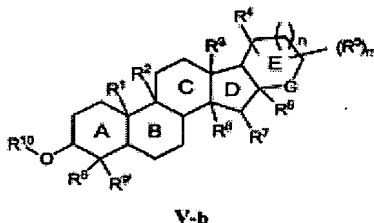
10 cada R é, independentemente, hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído, ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído,

saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre, onde:

- dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre;
- n é 0 a 2;
- R³, R⁴, R⁷, e R⁸ são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;
- m é 0 a 2;
- R⁵ é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;
- cada T é, independentemente, uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e independentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;
- cada R' e R'' é, independentemente, selecionado de R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;
- R⁶ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;
- R⁹ e R^{9'} são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, SR, ou N(R)₂, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre,

compreendendo as etapas de:

(a) proporcionar um composto de fórmula V-b:



ou um sal farmacologicamente aceitável deste, onde:

cada um de Anel A, Anel B, Anel C, Anel D, e Anel E é, independentemente, saturado, parcialmente insaturado ou aromático;

G é S, CH₂, NR, ou O;

R¹ e R² são, cada um, independentemente, halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, N(R)₂, ou um grupo amino adequadamente protegido, ou R¹ e R² são

tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre;

Cada R é independentemente hidrogênio, um grupo alifático C₁₋₆ opcionalmente substituído, ou um anel de 3 a 8 membros, opcionalmente substituído, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre, onde:

dois R no mesmo átomo de nitrogênio são opcionalmente tomados juntos com o dito átomo de nitrogênio para formar um anel de 3 a 8 membros, saturados, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 1 a 4 heteroátomos independentemente selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre;

n é 0 a 2;

R³, R⁴, R⁷, e R⁸ são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

m é 0 a 2;

R⁵ é T-C(R')₃, T-C(R')₂C(R'')₃, R, OR, um grupo hidroxila adequadamente protegido, SR, um grupo tiol adequadamente protegido, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, um grupo amino adequadamente protegido, NR(CO)R,
 5 NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

cada T é, independentemente, uma ligação de valência ou uma cadeia de C₁₋₆ alquilideno, opcionalmente substituída, linear ou ramificada, saturada ou insaturada, onde até duas unidades de metileno de T são opcional e inde-
 10 pendentemente substituídas por -O-, -N(R)-, -S-, -C(O)-, -S(O)-, ou -S(O)₂-;
 cada R' e R'' é, independentemente, selecionado de R, OR, SR, SO₂R, O-SO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, NR(CO)(CO)R, NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

R⁶ é halogênio, R, OR, SR, SO₂R, OSO₂R, N(R)₂, NR(CO)R, N(CO)(CO)R,
 15 NR(CO)N(R)₂, NR(CO)OR, (CO)OR, O(CO)R, (CO)N(R)₂, ou O(CO)N(R)₂;

R⁹ e R^{9'} são, cada um, independentemente, selecionados de halogênio, R, OR, SR, ou N(R)₂, ou R¹ e R² são tomados juntos para formar um anel de 3 a 7 membros, saturado, parcialmente insaturado, ou arila tendo de 0 a 2 heteroátomos selecionados de nitrogênio, oxigênio, ou enxofre; e

20 R¹⁰ é uma porção contendo açúcar ou similar ao açúcar,
 e

(b) tratar o composto de fórmula V-b com uma enzima adequada para formar o composto de fórmula V-a.

25 17. Método, de acordo com a reivindicação 16, onde a enzima adequada é uma celulase, uma xilanase, uma xilosidase, ácido glicirrizínico hidrolase, ou uma glucuronidase.

18. Composição que compreende um composto como definido na reivindicação 1, e um carreador, adjuvante, ou veículo farmacologicamente aceitável.

30 19. Método para inibição de produção de peptídeo beta-amiloide em um paciente, onde o dito método compreende administrar ao dito paciente uma composição como definida na reivindicação 18.

20. Método para inibir a produção de peptídeo beta-amiloide (1-42) em um paciente, onde o dito método compreende administrar ao dito paciente uma composição como definida na reivindicação 18.

21. Método, de acordo com a reivindicação 19, onde o dito método não afeta o processamento do "Notch".

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, onde níveis de peptídeos beta-amiloide (1-42) são reduzidos e níveis de beta-amiloide (1-40) não são substancialmente reduzidos.

23. Método, de acordo com a reivindicação 22, onde o nível de pelo menos um de beta-amiloide (1-37) e beta-amiloide (1-39) é aumentado.

24. Método para tratar ou diminuir a gravidade de um distúrbio associado a um peptídeo beta-amiloide (1-42), onde o método compreende administrar a um paciente uma composição como definido na reivindicação 18.

25. Método, de acordo com a reivindicação 24, onde o distúrbio é mal de Alzheimer, mal de Parkinson, síndrome de Down, miosite do corpo incluso, angiopatia amiloide cerebral, comprometimento cognitivo moderado, demência do corpo de Lewy, catarata, uma tauopatia, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ALS/doença de Lou Gerhig), diabetes tipo 2, doença transtirretina amiloide, doença de príon (inclusive doença de Creutzfeldt-Jakob, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insônia familiar fatal, e Kuru).

26. Método, de acordo com a reivindicação 25, onde o dito distúrbio é mal de Alzheimer, mal de Parkinson, ou síndrome de Down.

27. Método para reduzir níveis de peptídeo beta-amiloide (1-42) em uma célula, que compreende contatar a dita célula com um composto como definido na reivindicação 1.

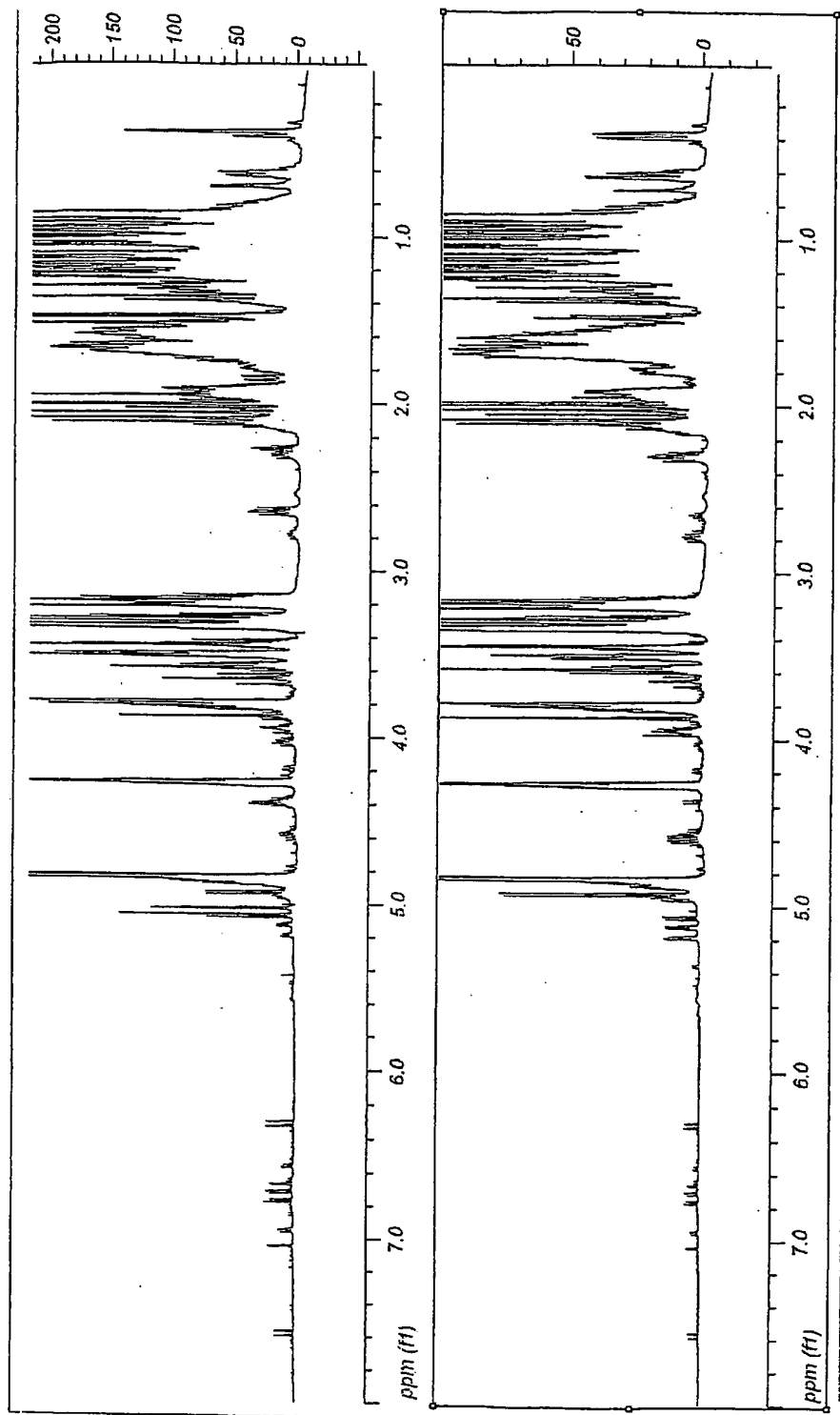


FIG 1

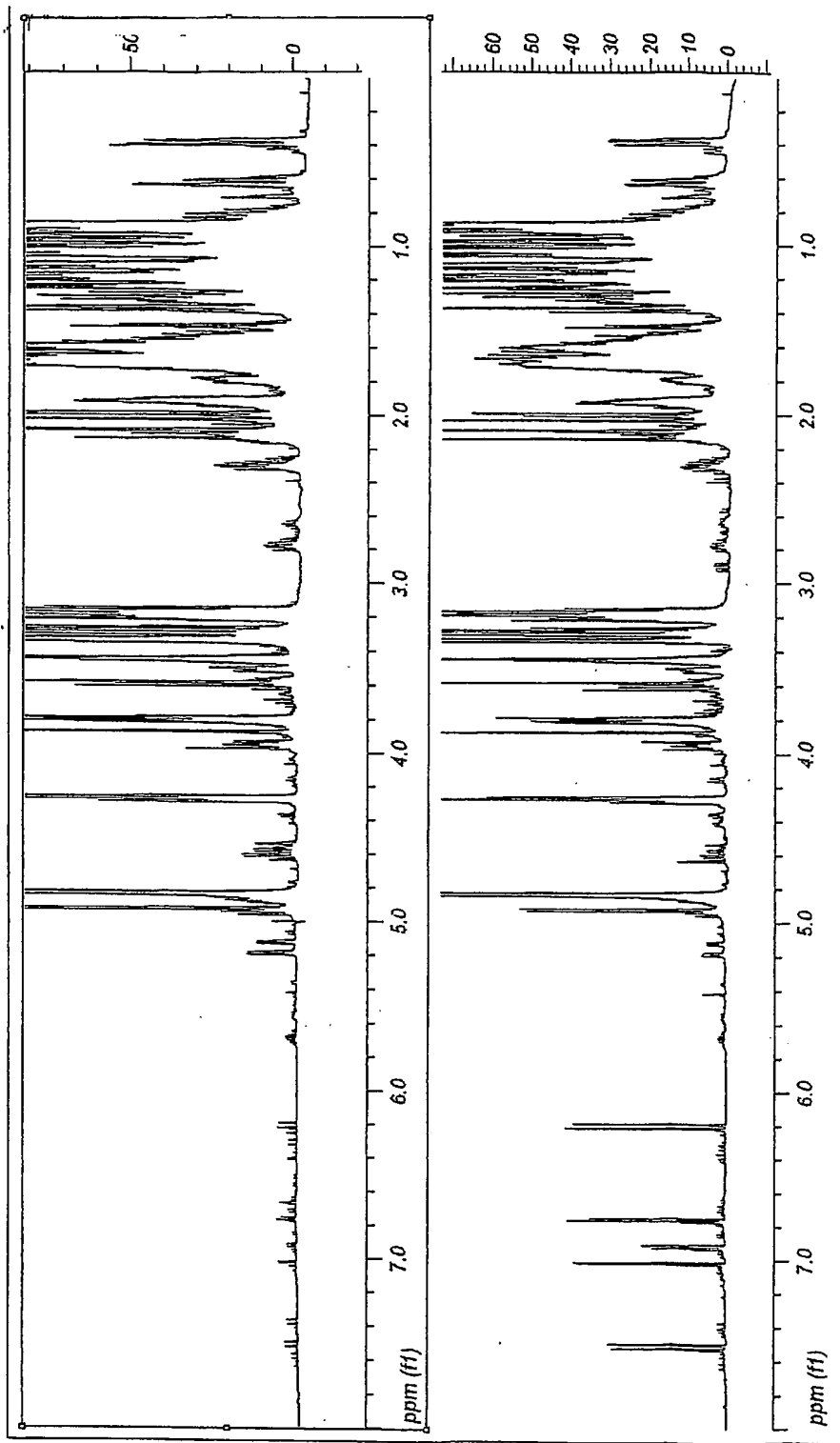


FIG 2

3/22

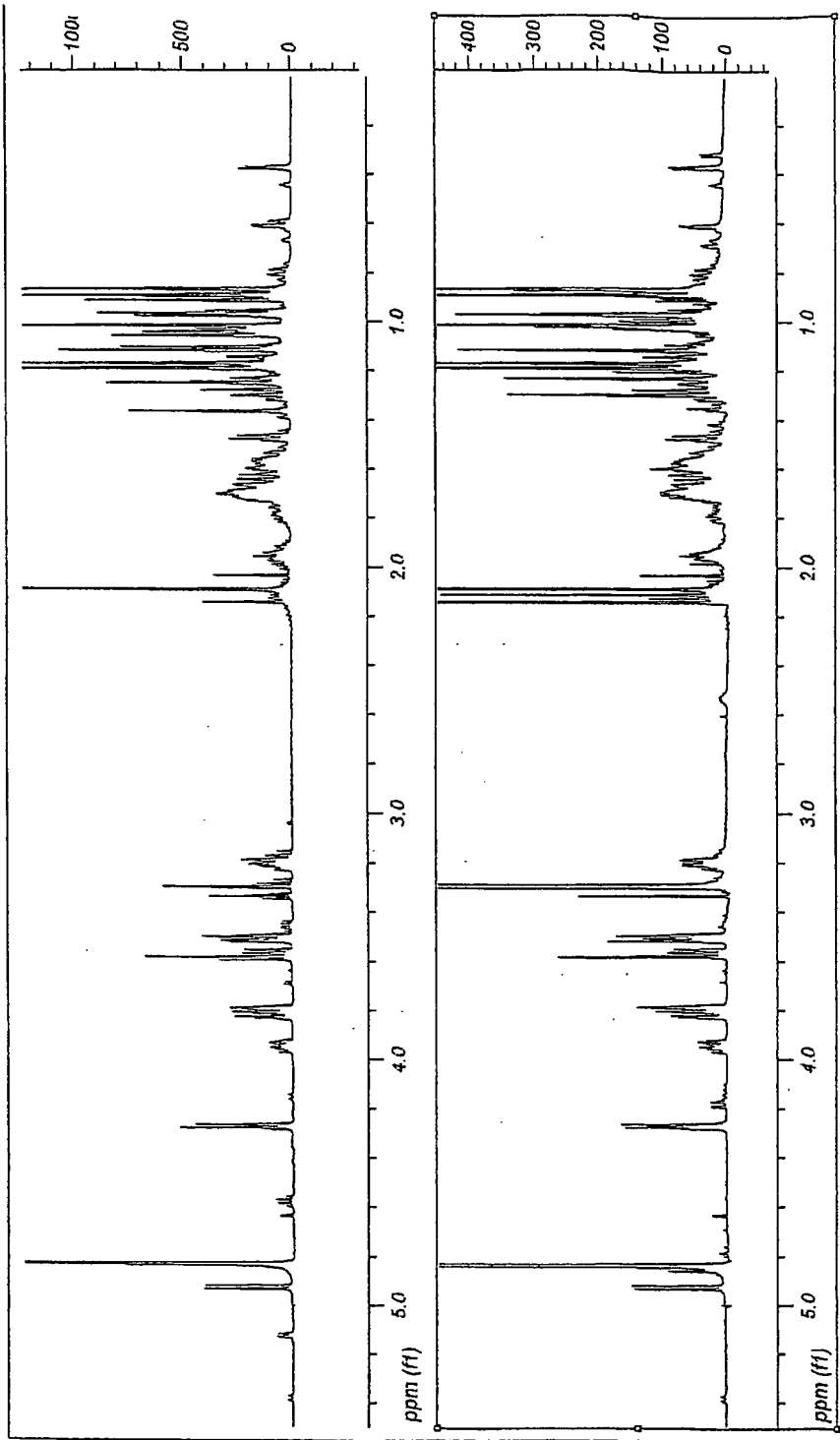


FIG 3

4/22

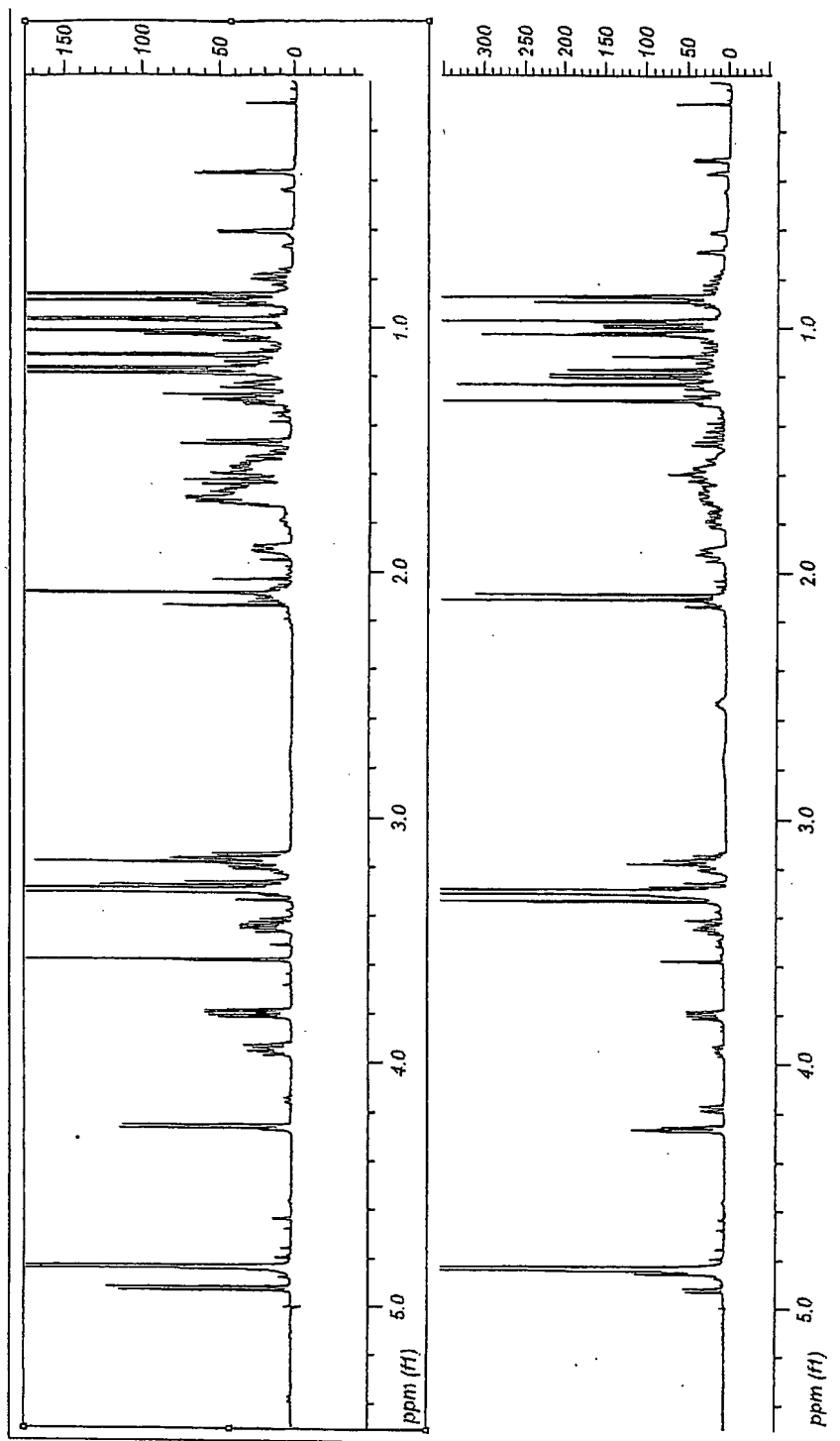


FIG 4

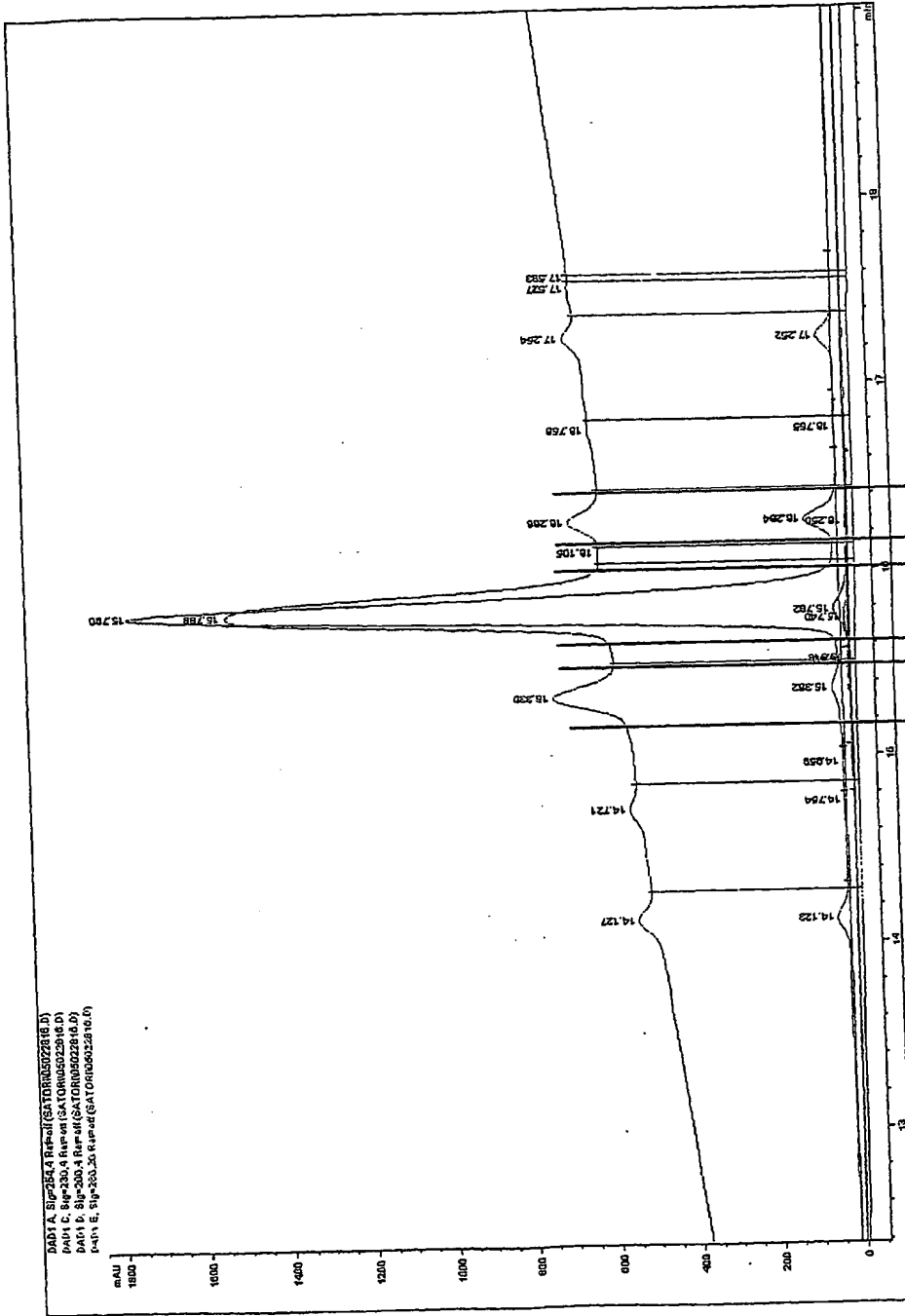


FIG 5

6/22

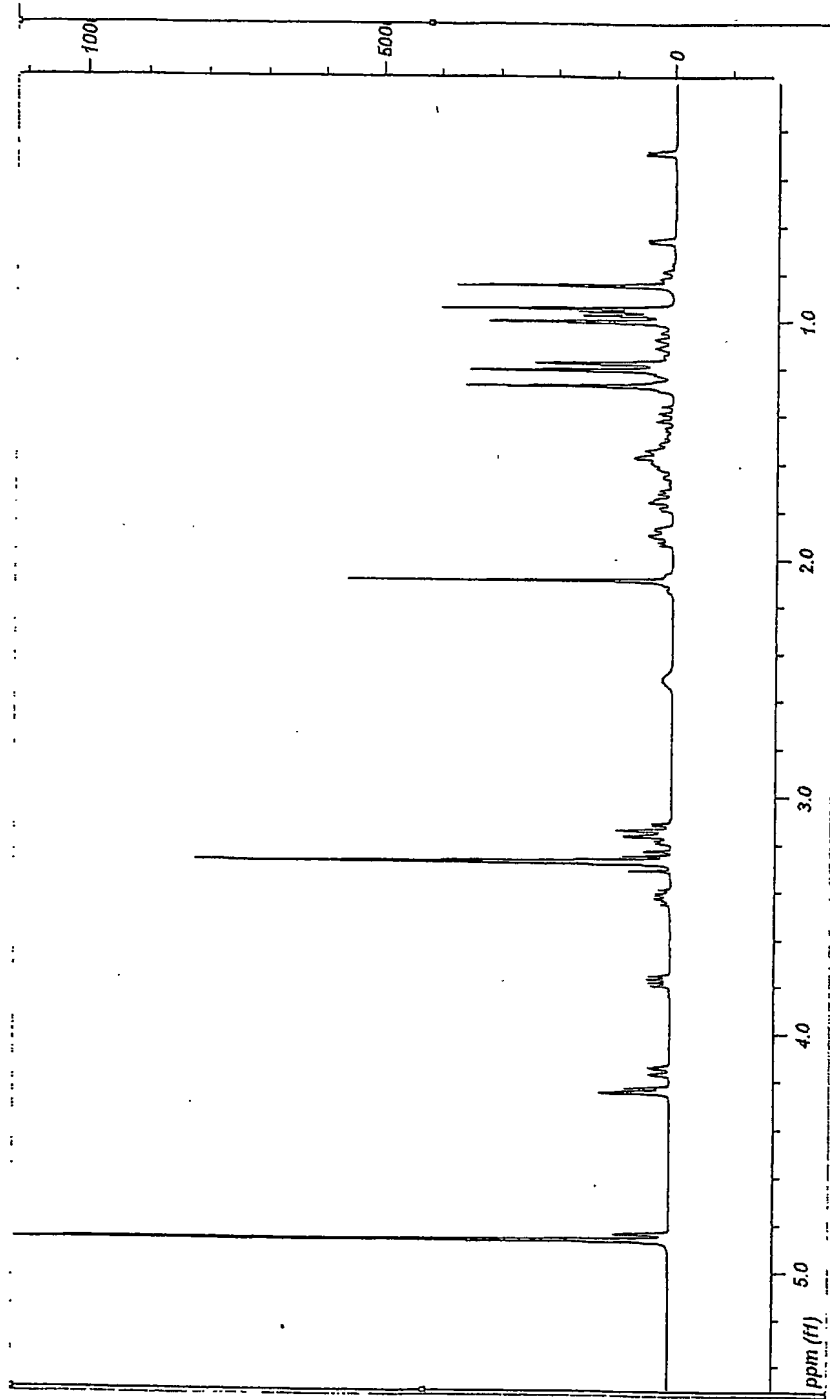
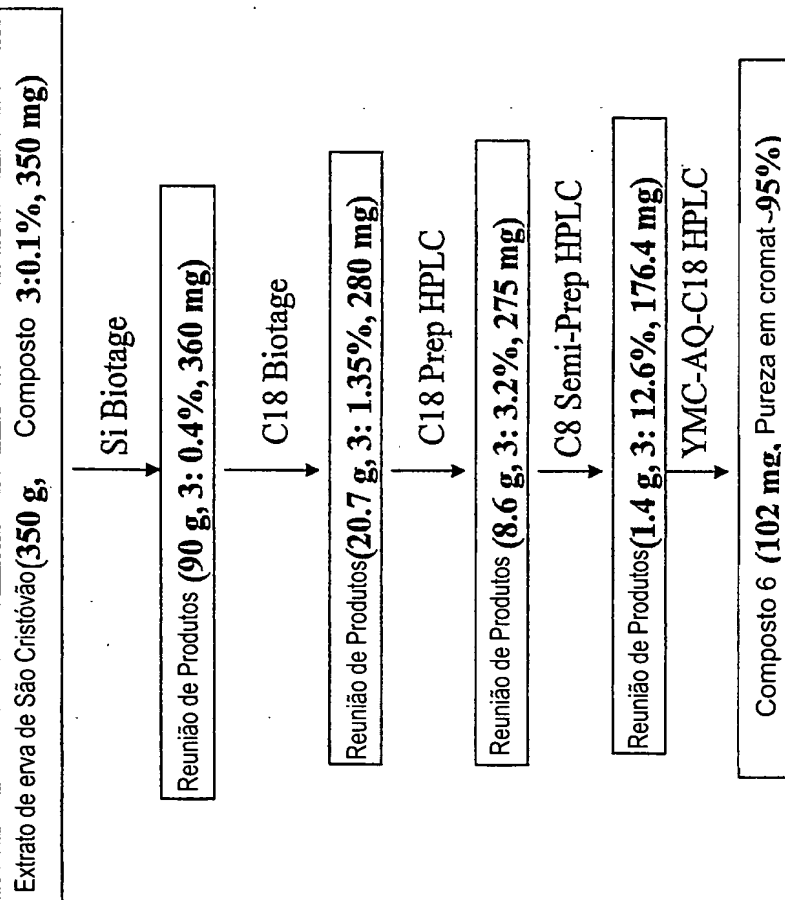


FIG 6

SUMÁRIO DE ISOLAMENTO DO COMPOSTO 6**FIG 7**

8/22

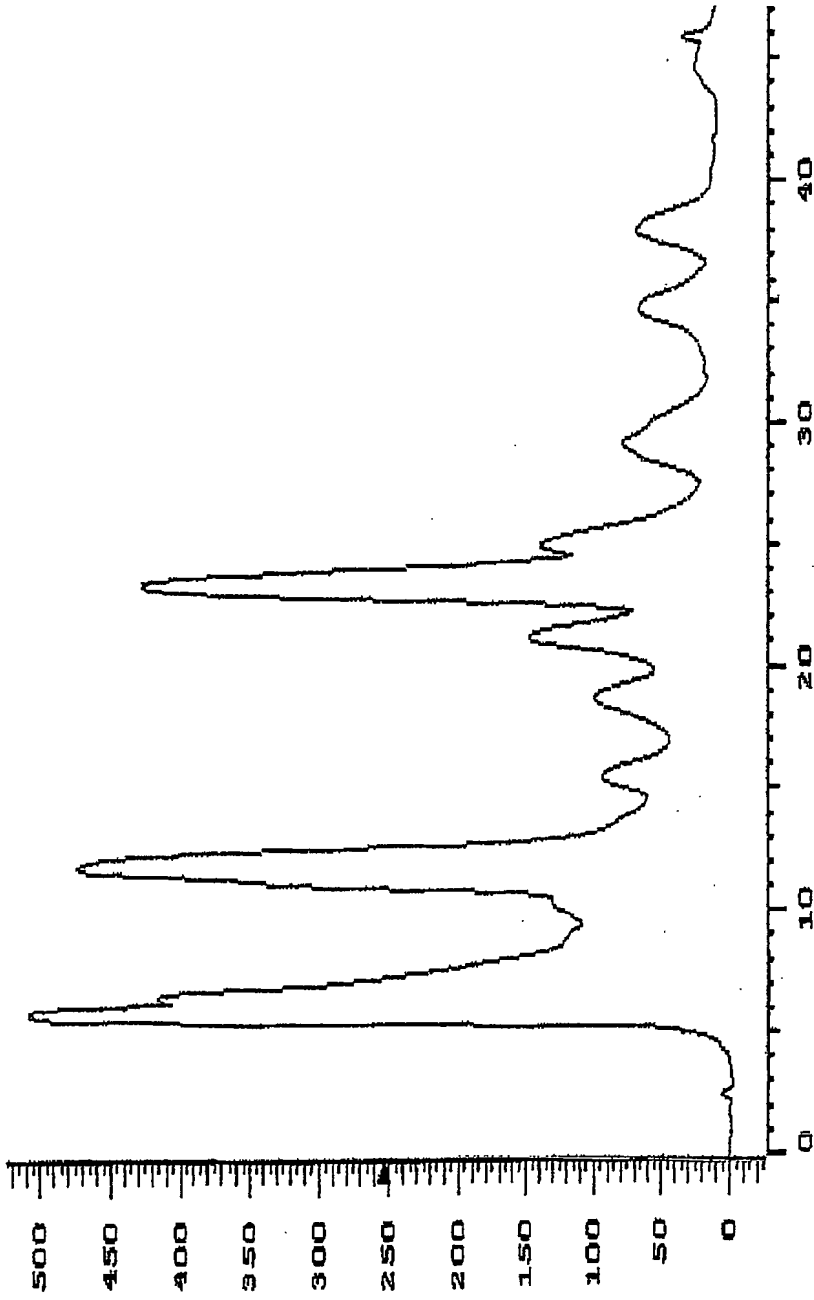


FIG 8

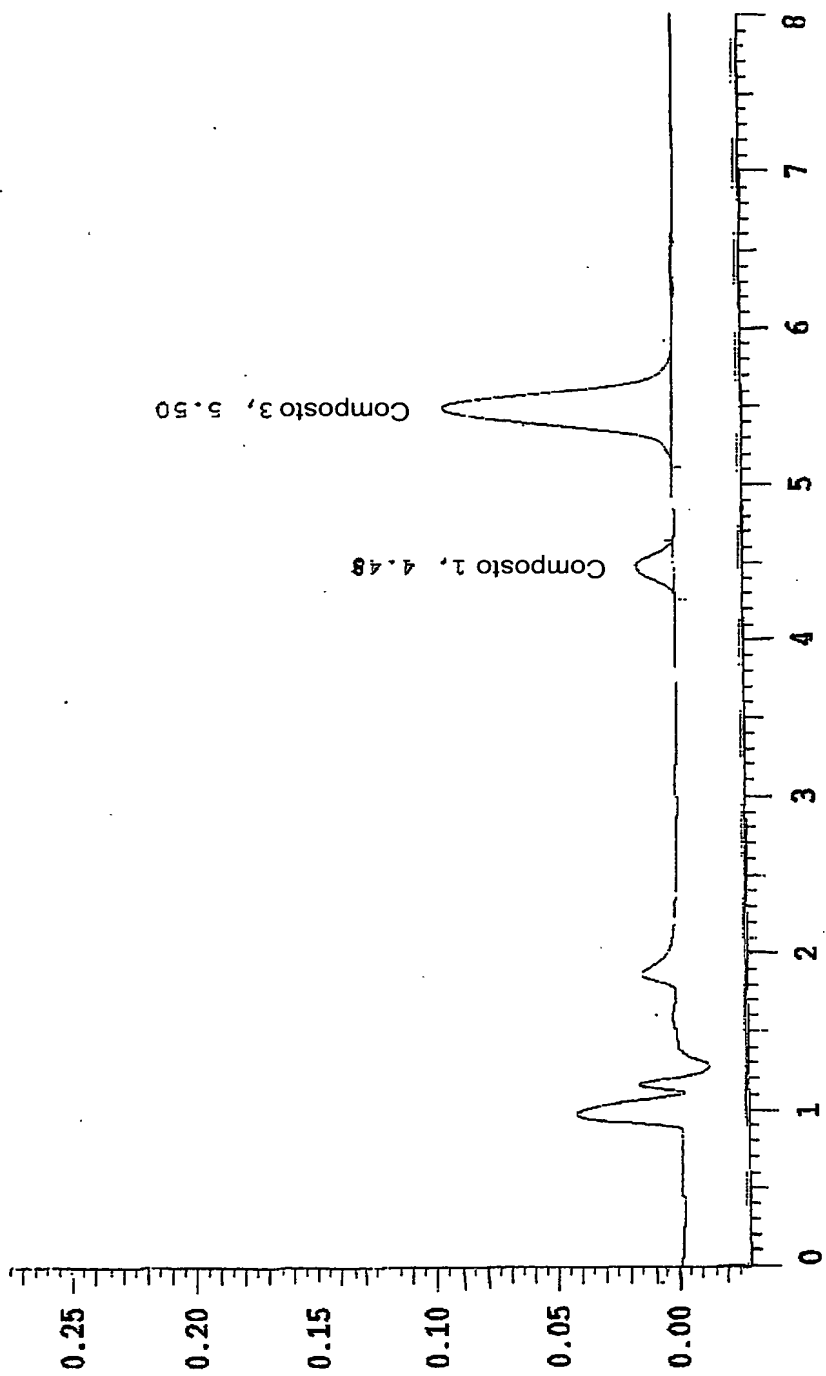


FIG 9

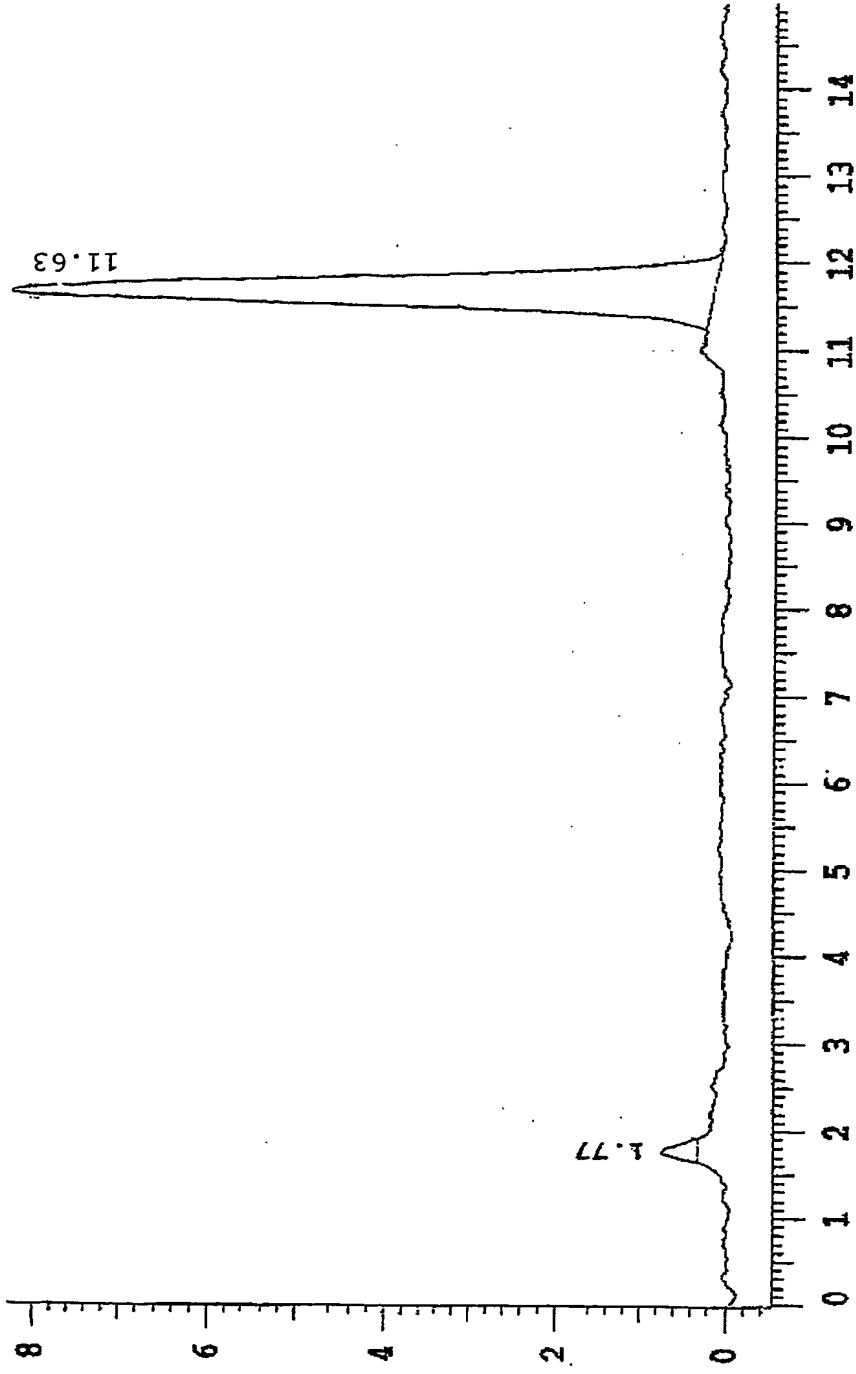


FIG 10

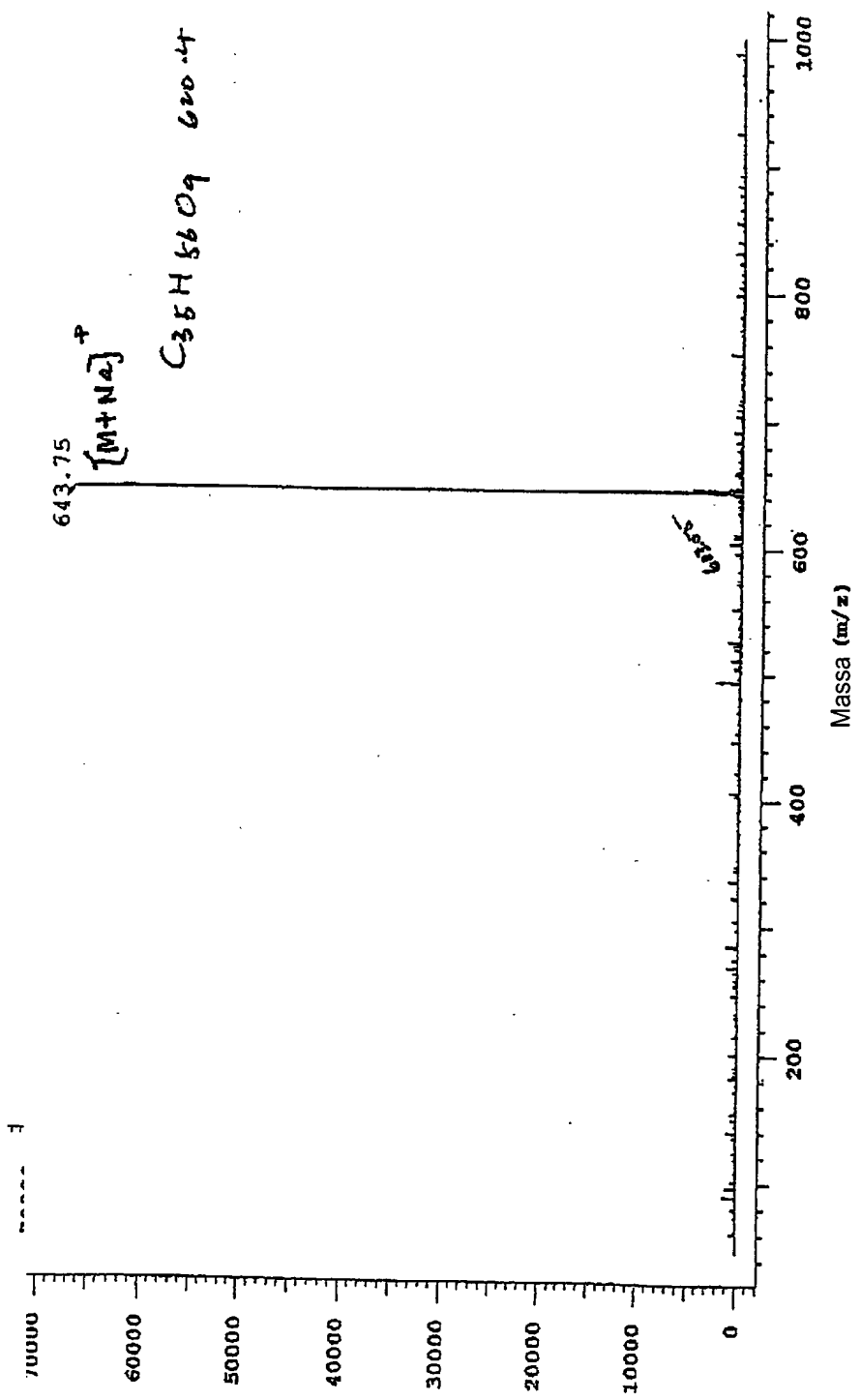


FIG 11

12/22

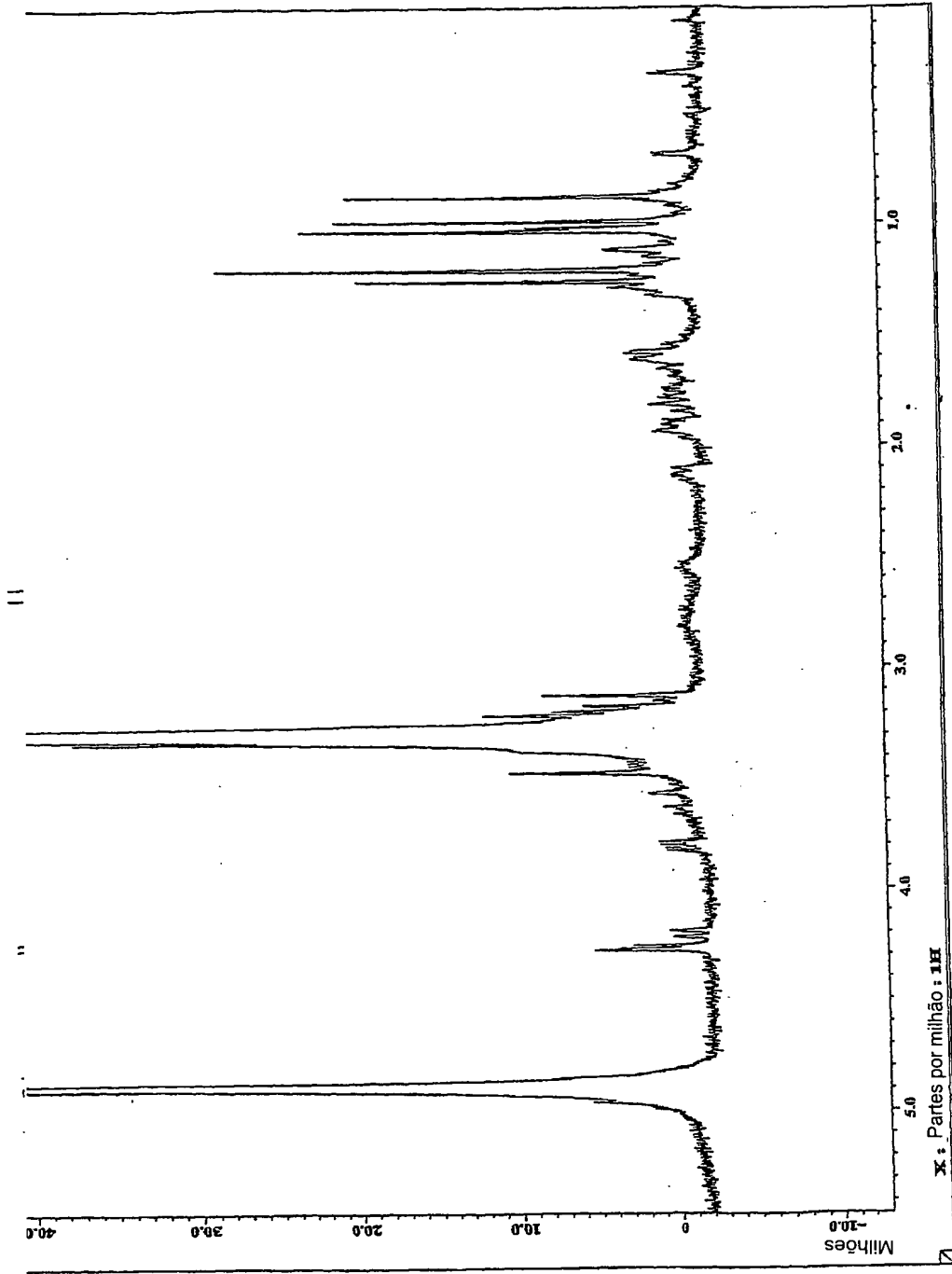


FIG 12

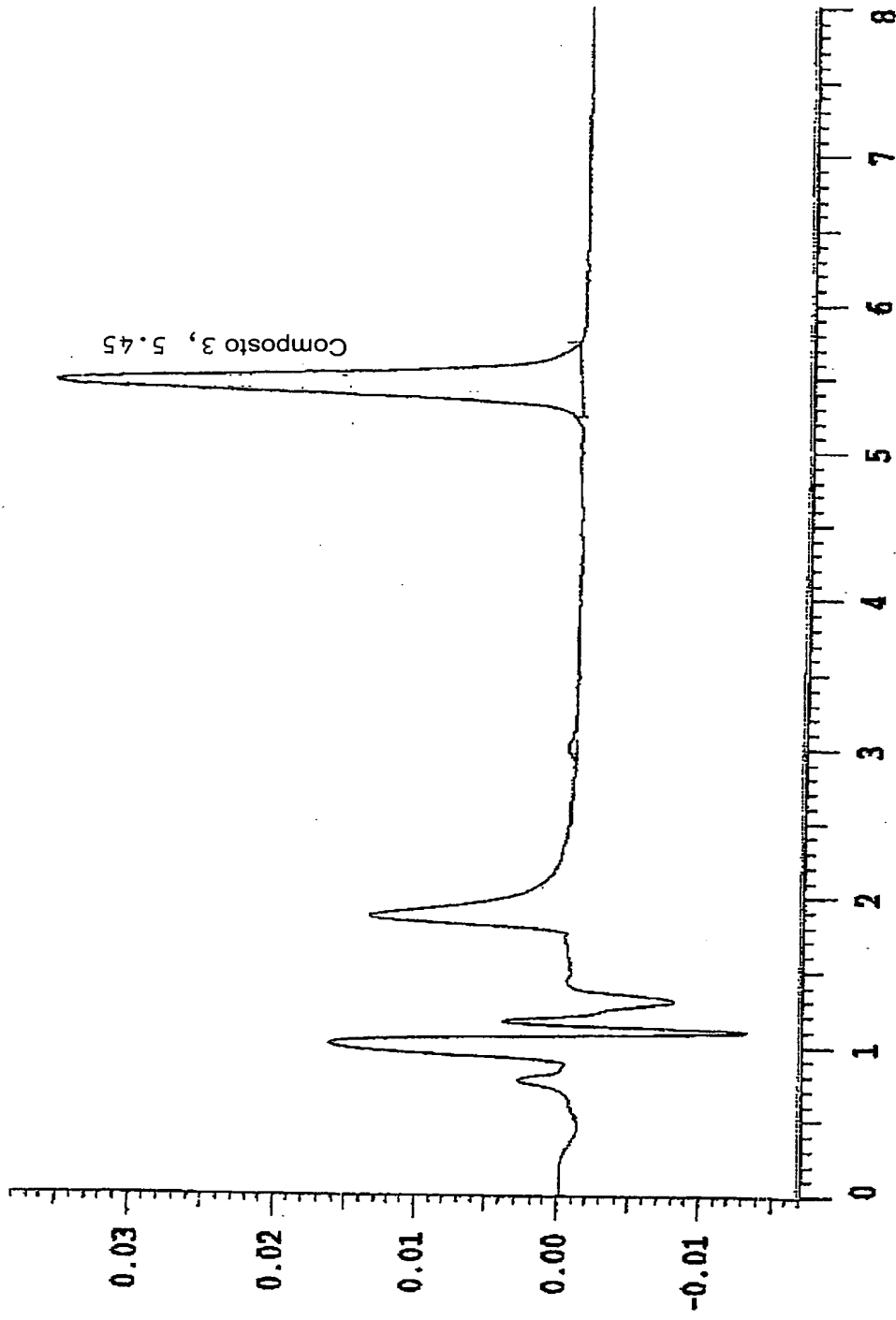


FIG 13

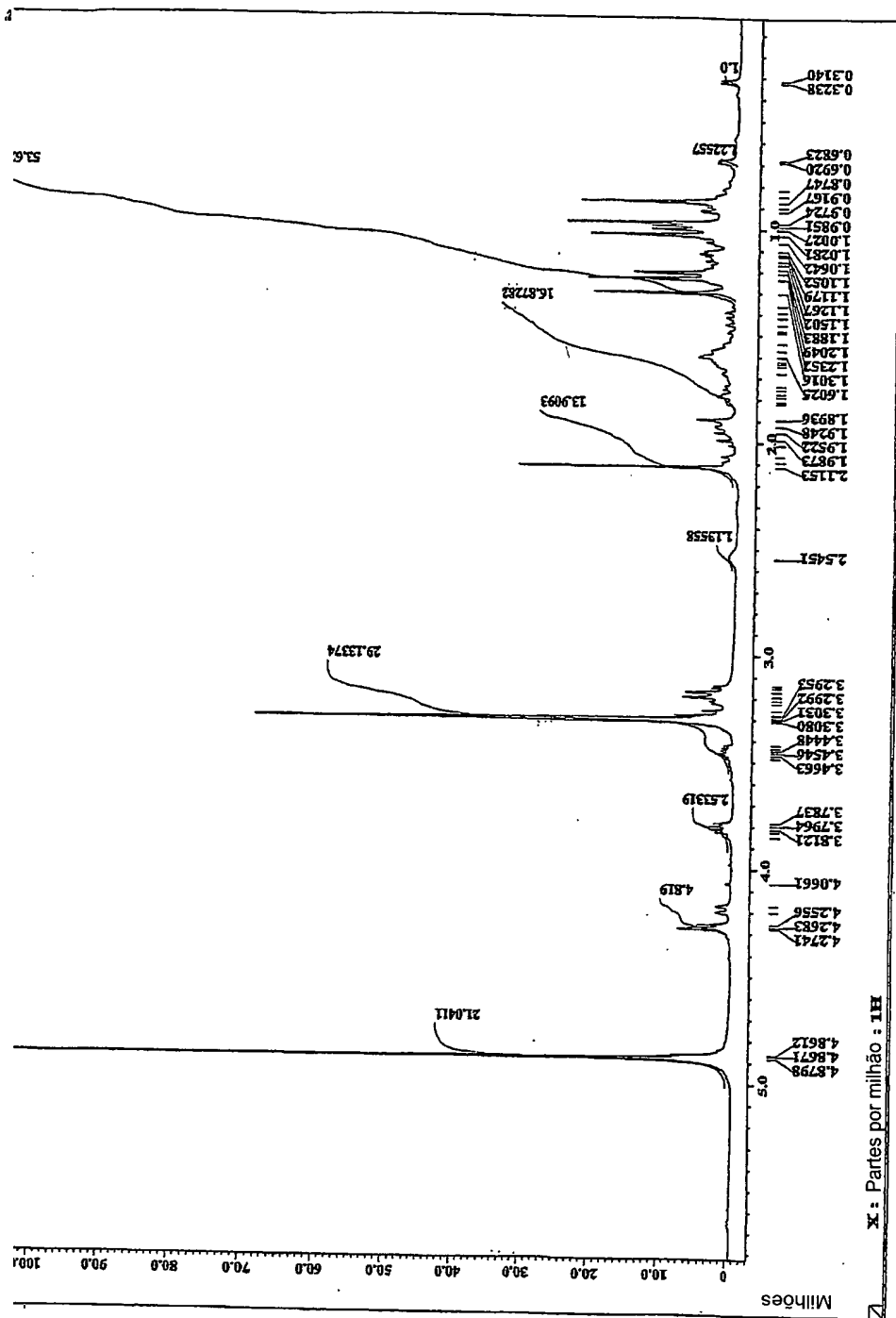


FIG 14

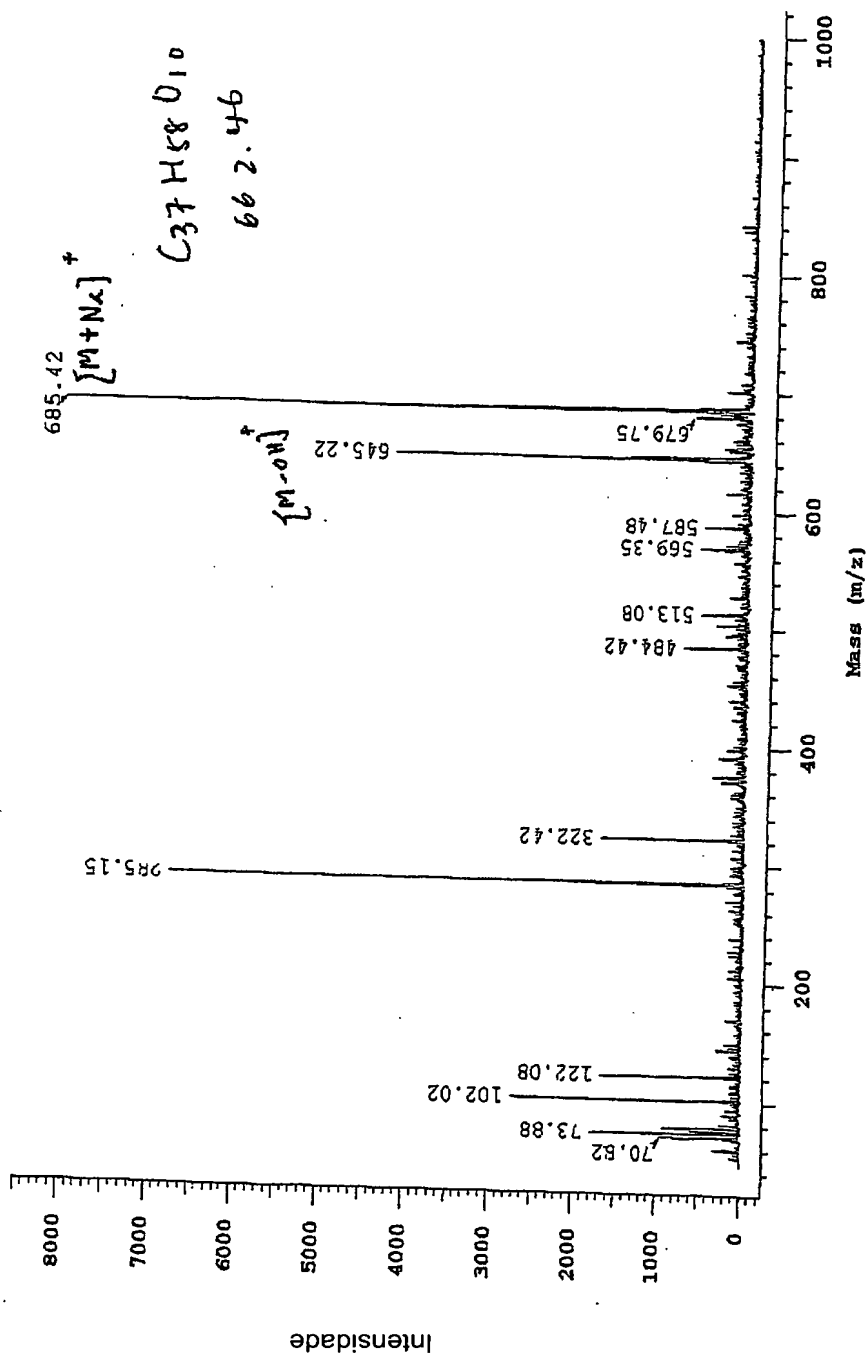


FIG 15

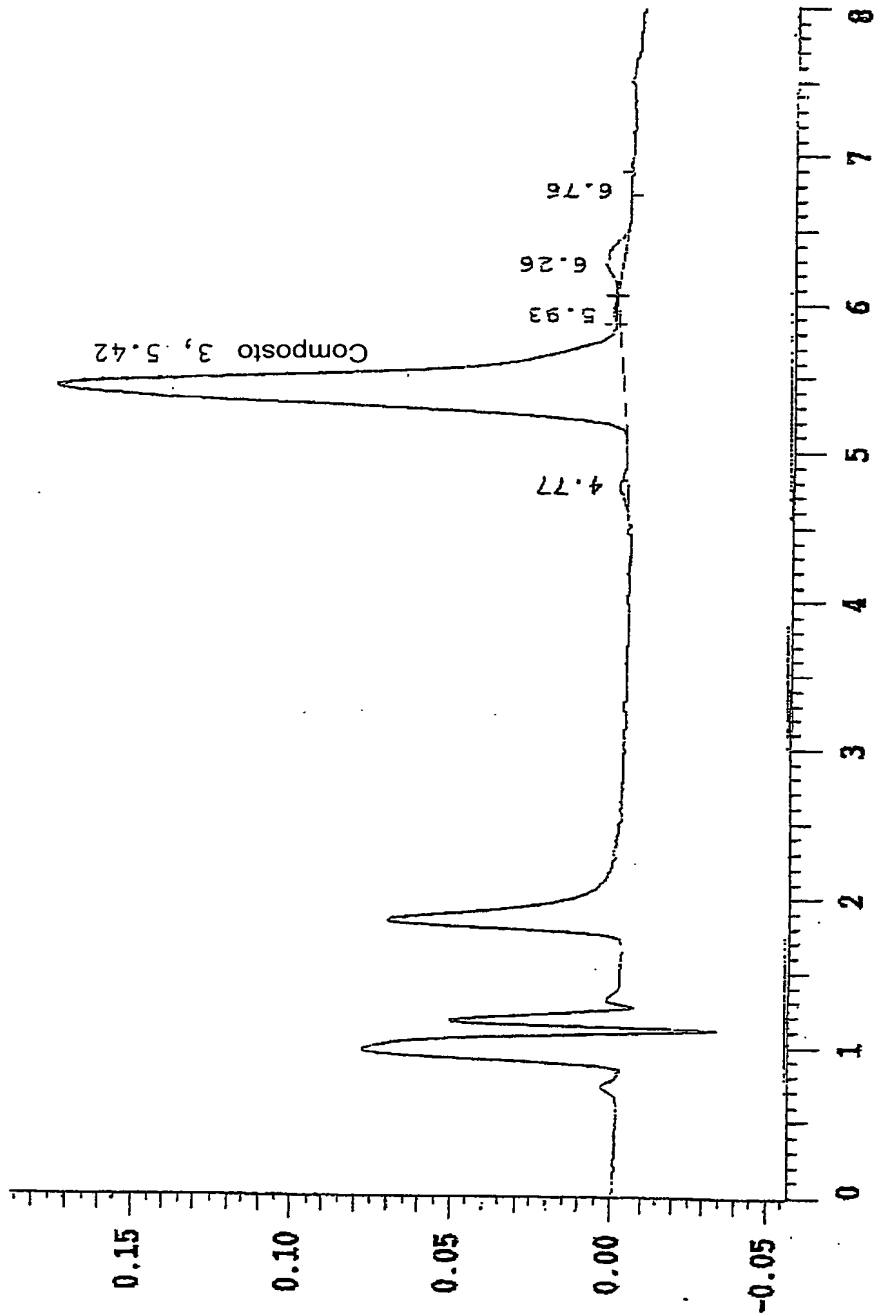


FIG 16

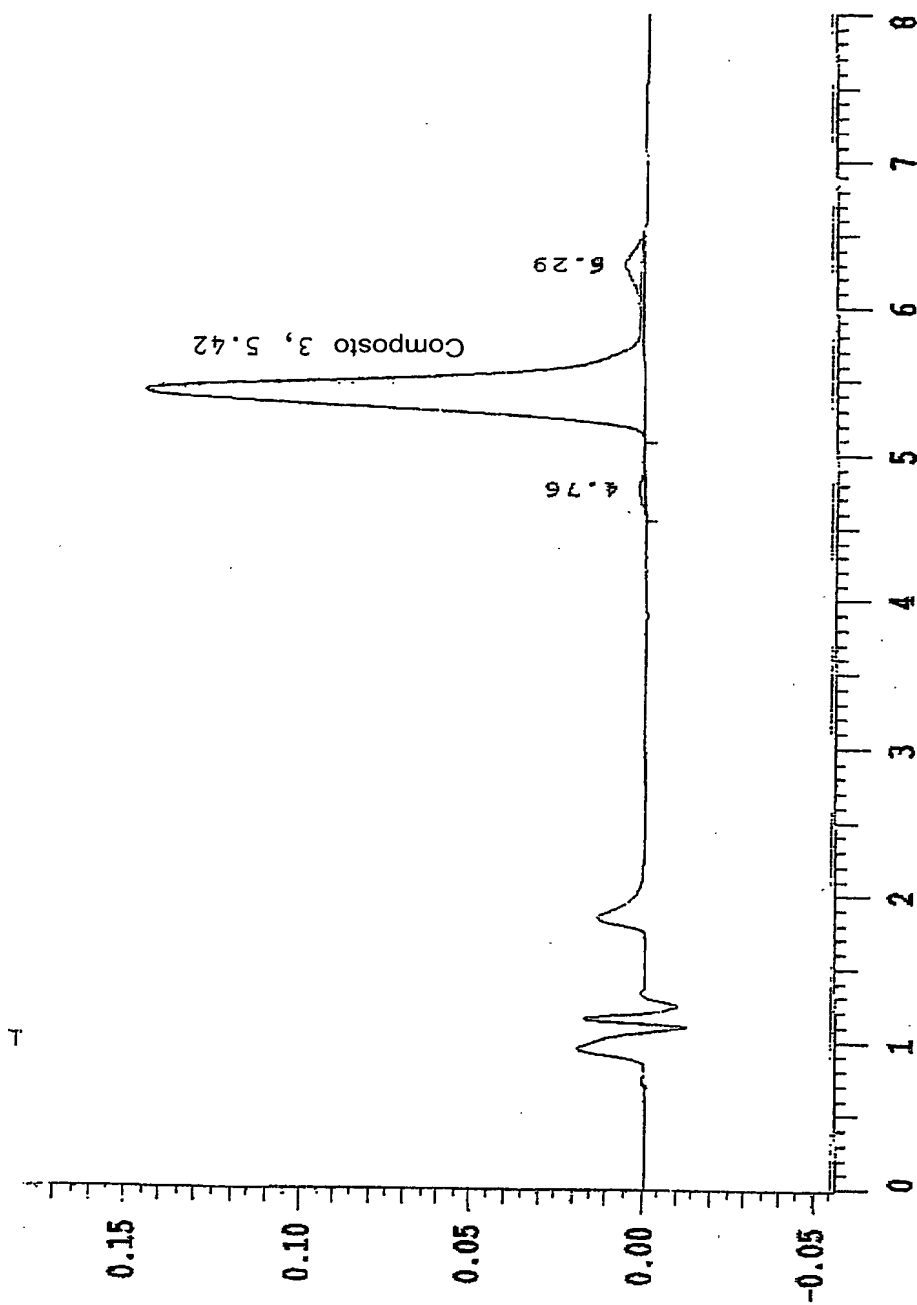


FIG 17

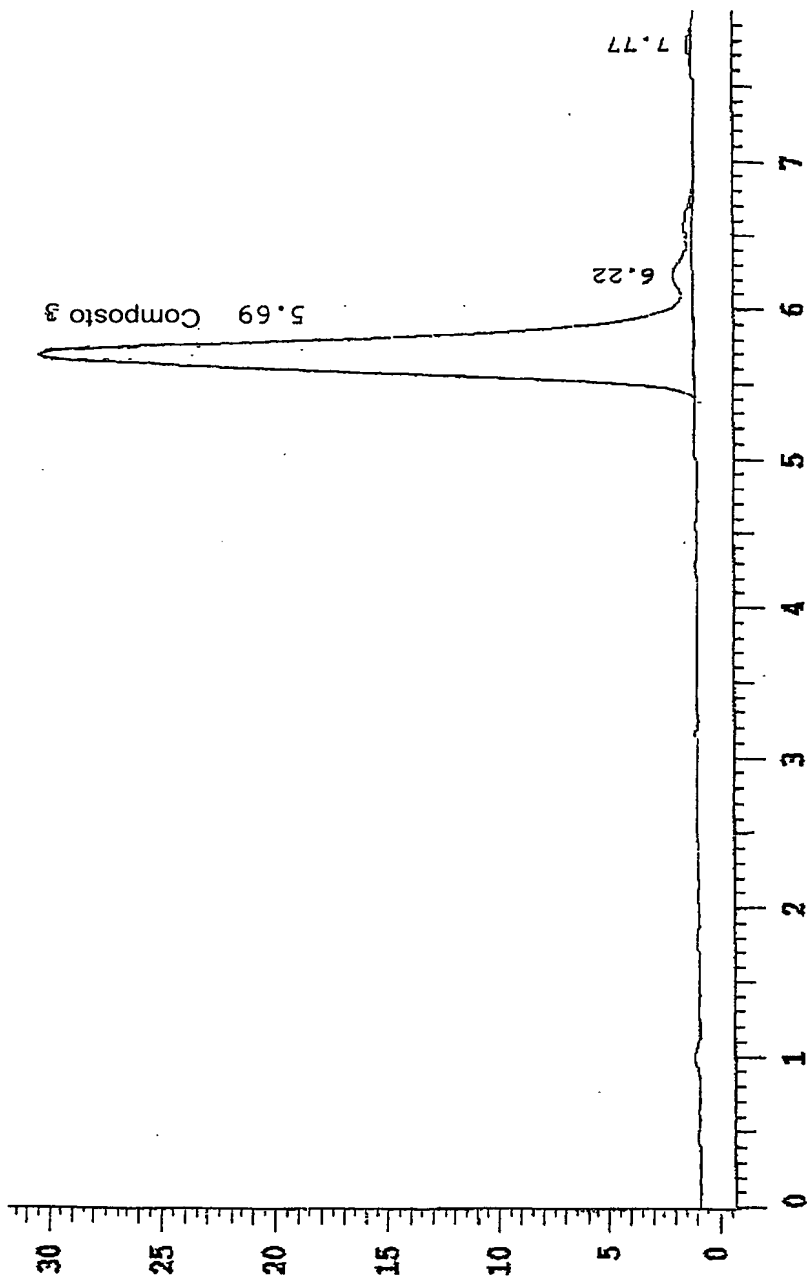


FIG 18

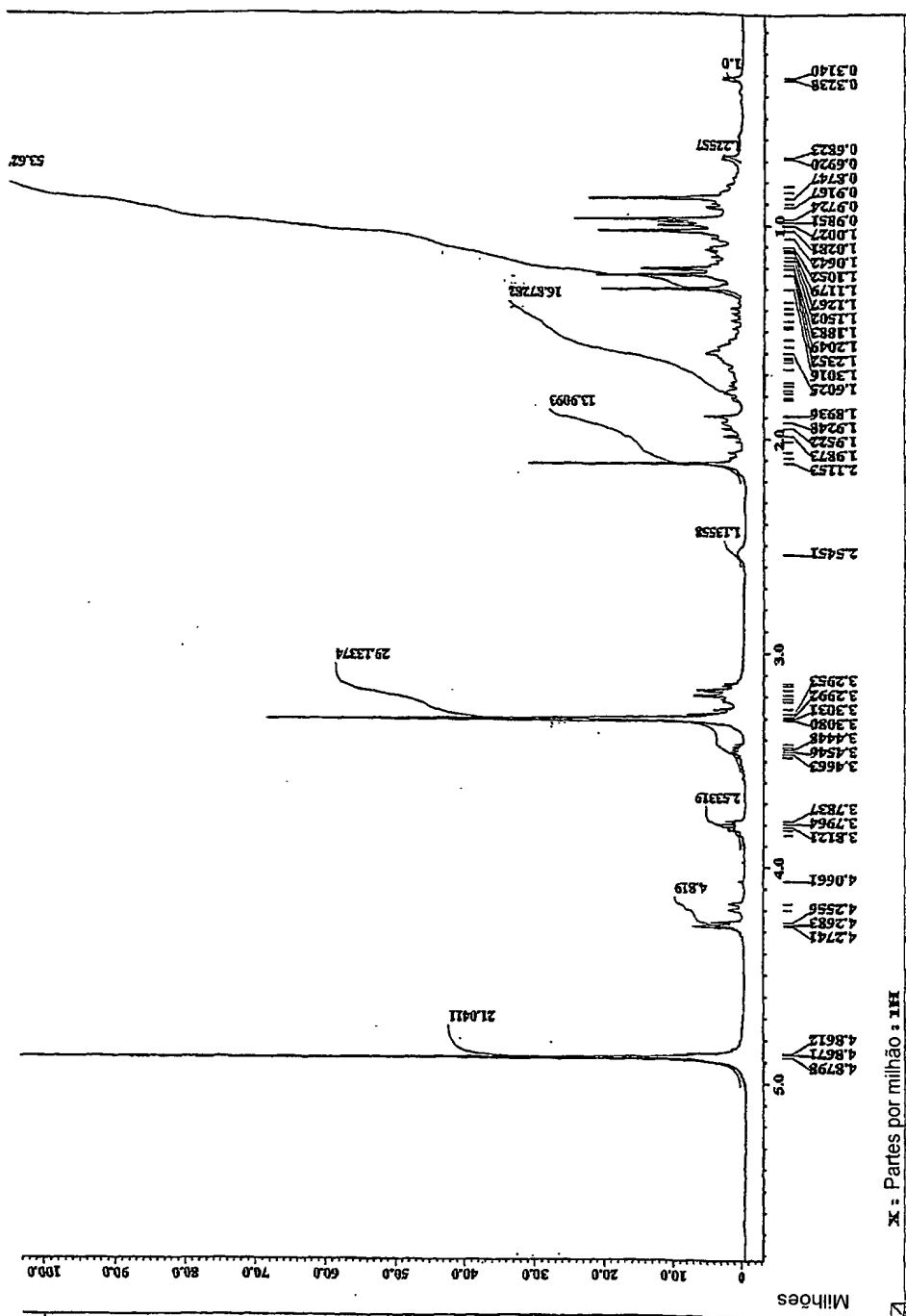


FIG 19

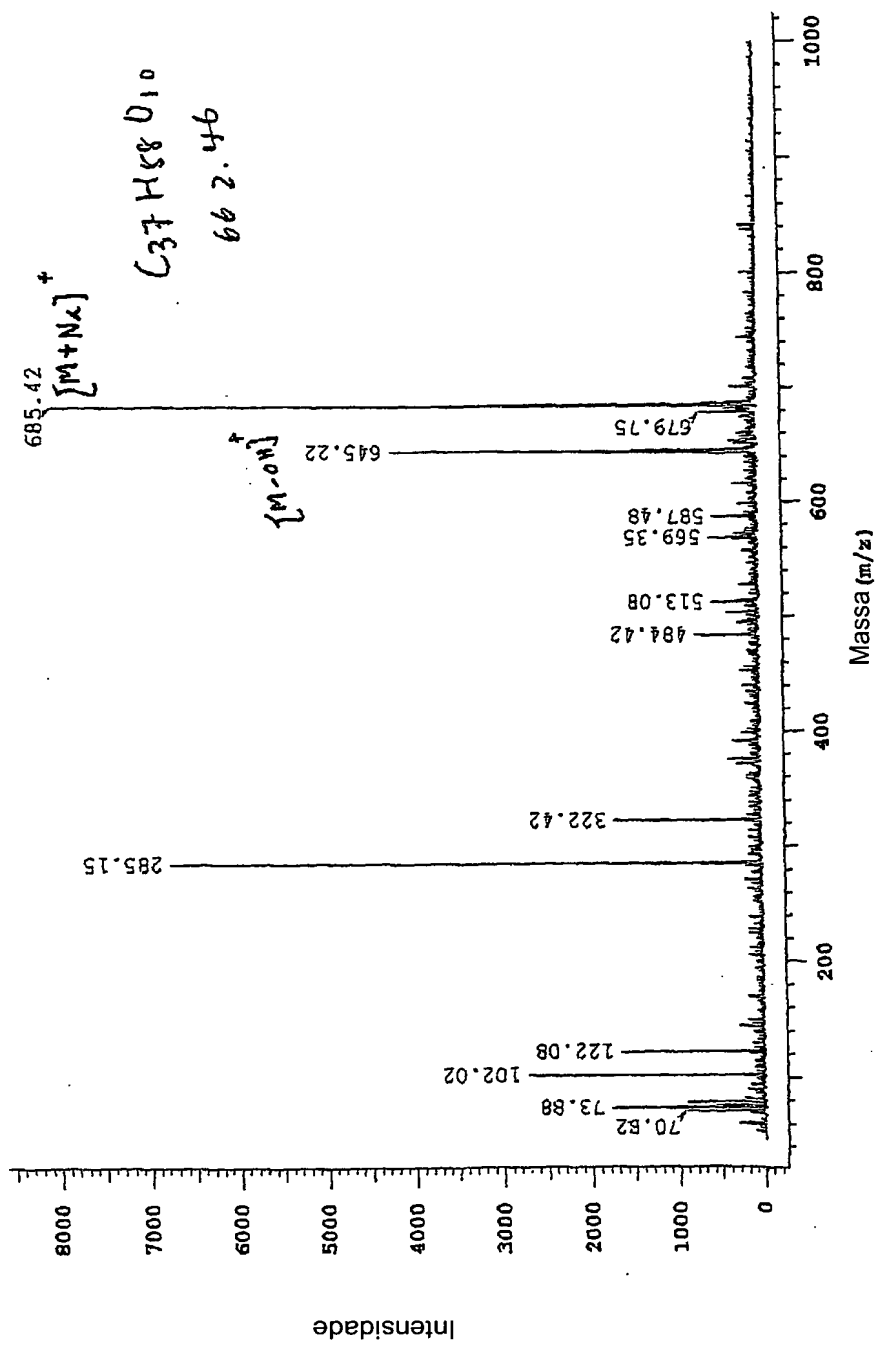


FIG 20

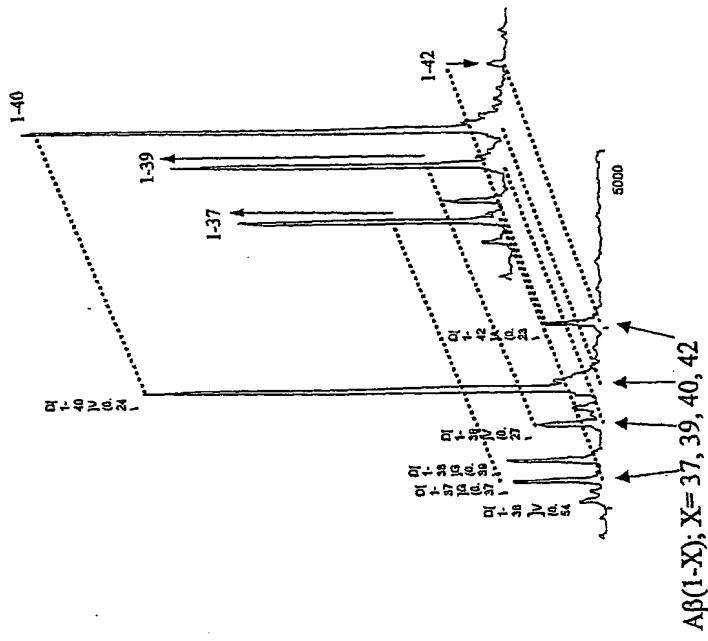


FIG 21

IP-MS: Efeito do Composto 6 no w.t & mutante APP

Células não tratadas ou tratadas com 1M do Composto 6

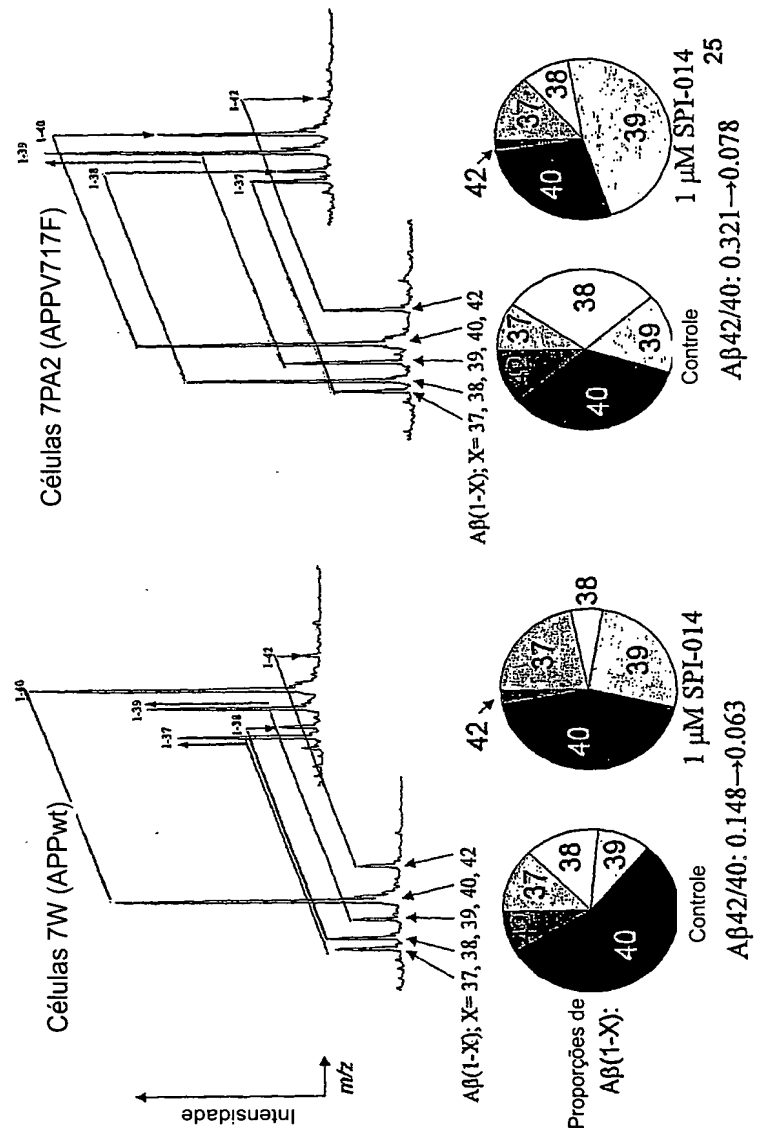


FIG 22

RESUMO

Patente de Invenção: "COMPOSTOS ÚTEIS PARA TRATAR DISTÚRBIOS NEURODEGENERATIVOS".

5 A presente invenção refere-se a compostos que úteis para tratar ou diminuir a gravidade de um distúrbio neurodegenerativo. A presente invenção proporciona também métodos para tratar ou diminuir a gravidade de tais distúrbios, onde o método compreende administrar a um paciente um composto da presente invenção, ou uma composição deste. O dito método é útil para tratar ou diminuir a gravidade de, por exemplo, mal de Alzheimer.