



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

(11) PI 0411068-4 B1

(22) Data do Depósito: 26/05/2004

(45) Data de Concessão: 26/12/2017



* B R P I 0 4 1 1 0 6 8 B 1 *

(54) Título: ANÁLOGOS DE COLCHICOSÍDEOS

(51) Int.Cl.: C07H 15/248; A61K 31/704; A61P 21/00

(30) Prioridade Unionista: 06/06/2003 IT MI2003 A 001144

(73) Titular(es): INDENA S.P.A

(72) Inventor(es): EZIO BOMBARDELLI; GABRIELE FONTANA

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "ANÁLOGOS DE COLCHICOSÍDEOS".

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a derivados da colchicina, em particular, a derivados da 3-desmetil- e 3-desmetiltio-colchicina com atividade de relaxante muscular, antiinflamatório e antigota.

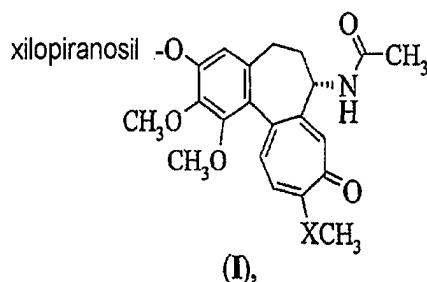
Antecedentes Tecnológicos

As drogas relaxantes reduzem o tônus muscular e são utilizadas na terapia para o tratamento de contraturas e espasmo muscular. O espasmo muscular é um dos fatores principais responsáveis pela dor crônica; este caracteriza várias patologias do aparelho locomotor assim como patologias reumáticas inflamatórias e ortopédicas degenerativas; quando afeta as articulações, além da dor, causa rigidez, que reduz a mobilidade e a flexibilidade das juntas na parte afetada. Por estas razões, o estudo de moléculas dotadas de propriedades relaxantes muscular e antiespasmódicas ainda produz um interesse clínico notável.

Como é conhecida, a colchicina é um pseudoalcalóide que foi amplamente utilizado durante algum tempo para o tratamento da gota. O uso do 3-desmetil-tiocolchicina glicosídeo, do tiocolchicosídeo, é ainda bem espalhado na terapia para o tratamento de contraturas e de condições inflamatórias que afetam o sistema muscular (Ortopedia e traumatologia Oggi XII, Nº 4, 1992). Foi mostrado recentemente que a atividade do tiocolchicosídeo é causada por sua capacidade de interagir com os receptores de glicina sensíveis à estriquinina; portanto, os compostos que possuem atividade que imita a glicina podem ser utilizados no campo reumatológico-ortopédico, devido as suas propriedades de relaxante muscular.

Descrição da Invenção

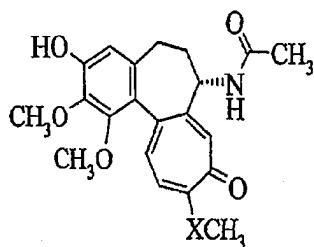
A presente invenção refere-se aos derivados da colchicina da fórmula geral (I):



em que X é oxigênio ou enxofre.

Para as finalidades da presente descrição, o composto em que X é oxigênio é referido como (Ia), enquanto que o composto da fórmula (I) em que X é enxofre é referido como (Ib). Os isômeros D e L são compreendidos nos compostos da fórmula (I). Os isômeros D e L do composto (Ib), 3-O-β-D-xilopiranosil-3-O-desmetilticolchicina e 3-O-β-L-xilopiranosil-3-O-desmetilticolchicina são particularmente preferidos.

Os compostos da presente invenção são preparados através da reação de D- ou L-xilopiranosil-fluoreto com 3-O-desmetilticolchicina (IIa) e 3-O-desmetilticolchicina (IIb).



de acordo com o método geral divulgado na EP 0 789 028.

Em maiores detalhes, a 3-O-desmetilticolchicina (IIa) ou a 3-O-desmetilticolchicina (IIb) são reagidas com D- ou L-xilopiranosil-fluoreto (III) ou uma forma protegida do mesmo, preferencialmente peracetato. Esta reação é realizada em solventes apróticos polares, preferencialmente selecionados da acetonitrila e de solventes clorinados, a temperaturas que variam de 0°C até a temperatura de ebulição do solvente, preferencialmente à temperatura ambiente e na presença de uma base, preferencialmente

1,1,3,3-tetrametilguanidina. A reação está geralmente completa em um período que varia de 10 minutos até 2 horas. A hidrólise dos grupos protetores pode ser realizada sem a recuperação dos intermediários.

Em particular, foi observado que o β -D isômero do composto (Ib) possui uma atividade de relaxante muscular significativa, maior que a do isômero de tiocolchicosídeo correspondente e é ainda dotado de uma atividade antiinflamatória e antigota significativa.

A atividade de relaxante muscular foi avaliada com o teste de rota-rod. Camundongos machos suíços pesando 20-25 g foram tratados de forma intraperitoneal com o isômero- β -D do composto (Ib) em doses de 1-3-10 mg/kg, trinta minutos antes do teste. A atividade relaxante sobre os músculos estriados foi avaliada através do teste da resistência dos camundongos aos estímulos de um plano de rotação em ciclo em taxa crescente, de 2 até 50 r.p.m. Os resultados relatados na tabela a seguir mostram que o composto da presente invenção é mais eficiente que o tiocolchicosídeo utilizado como o composto de referência.

Tabela 1

Tratamento	Dose (mg/kg i.p.)	Tempo de resistência (s $M \pm S.E.$)	DE ₅₀ mg/kg
Controles		400 $\pm$ 27	
Isômero β -D do composto (Ib)	1	270 $\pm$ 19	
	3	175 $\pm$ 14	2,23 (1,84 – 2,82)
	10	80 $\pm$ 10	
Isômero β -D do tiocolchicosídeo	1	345 $\pm$ 20	
	3	265 $\pm$ 17	4,47 (3,16 – 7,01)
	10	110 $\pm$ 12	

Além disso, o composto da invenção é significativamente menos tóxico. Na verdade, sua DL₅₀ é de 80 (63-94) mg/kg i.p., enquanto que a DL₅₀ do tiocolchicosídeo é de 20 mg/kg. Estes resultados mostram que o composto da invenção, além de ser mais ativo, possui uma proporção de

dose tóxica/ativa significativamente mais favorável que o tiocolchicosídeo.

Tabela 2

Tratamento	DE ₅₀ mg/kg i.p.	DL ₅₀ mg/kg i.p.	DL ₅₀ /DE ₅₀
Isômero β-D do composto (Ib)	2,23	80	35,87
Isômero β-D do tiocolchicosídeo	4,47	20	4,47

Os compostos da invenção podem ser incorporados nas formulações farmacêuticas pretendidas para a administração oral, intravenosa, intramuscular, transdermal e tópica com excipientes e métodos convencionais, tais como os relatados em Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, XVII Ed., Mack Pub., N.Y., E.U.A. Entre os excipientes úteis para a preparação das formas lipossomiais para a administração parenteral ou tópica, fosfolipídeos naturais e sintéticos são particularmente preferidos. As doses podem variar de 5 até 50 mg ao dia dependendo da doença e da via de administração.

A invenção será agora ilustrada em maiores detalhes através de alguns exemplos.

SEÇÃO EXPERIMENTAL

Os pontos de fusão foram medidos com um aparelho Buchi 510. Os espectros de RMN foram registrados com um Bruker AC 200.

Exemplo 1 – 3-O-(2',3',4'-O-triacetil-β-D-xilopiranosil)-3-O-desmetiltiocolchicina

A 3-O-Desmetiltiocolchicina (IIb) (0,5 mmol) e o fluoreto de 2,3,4-O-triacetil-α-D-xilopiranosila (0,75 mmoles), preparados de acordo com Hayashi e outros (*Chemistry Lett.* 1984, 1747), foram suspensos em acetonitrila seca à temperatura ambiente (10 mL), sob nitrogênio e com agitação. A 1,1,3,3-Tetrametilguanidina (1,5 mmol) foi adicionada e a suspensão ficou vermelha translúcida. O trifluoreto eterato de boro (4 mmoles) foi adicionado, depois disso, a solução ficou incolor. A reação foi monitorada por TLC (CH₂Cl₂:MeOH 9:1). Após o desaparecimento dos produtos de partida (30 min), a reação foi resfriada rapidamente adicionando uma solução saturada

de bicarbonato de sódio (10 mL). As fases foram separadas e a aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com uma solução saturada de hidrogenossulfato de potássio (15 mL), salmoura (15 mL) e secas em sulfato de magnésio. Após a evaporação do solvente, os produtos da reação foram separados por cromatografia em sílica-gel. Alternativamente, o produto bruto foi submetido diretamente à desproteção.

^1H -RMN (CDCl_3) - α (ppm) 7,06 (NH, d, 7,4 Hz), 7,06 (H12, d, 10,3 Hz), (H11, d, 10,3 Hz), 7,33 (H8, s), 6,71 (H4, s), 4,71-4,55 (H7, m), 2,60-1,90 (H5-H6, m), 3,90 (2-OMe, s), 3,66 (1-OMe, s), 2,44 (SMe, s), 2,00 (acetamida), 5,28-5,18, 5,08-4,98 (H1', H2', H3', H4', m), 4,30 (H5'a, ddd, 4,3, 7,0, 12,1 Hz), 3,58 (HS'b, ddd 4,3, 7,0, 12,1 Hz), 2,12 (OAc), 2,11 (OAc), 2,10 (OAc).

Exemplo 2 – 3-O-(2',3',4'-O-triacetil- β -L-xilopiranosil)-3-O-desmetiltiocolchicina

A 3-O-Desmetiltiocolchicina (IIb) (0,5 mmol) e o fluoreto de 2,3,4-O-triacetil- α -L-xilopiranosila (0,75 mmol), preparados de acordo com Takanashi e outros (*Liebigs Ann. Chem.* 1997, 1081), foram suspensos em acetonitrila seca à temperatura ambiente (10 mL), sob nitrogênio e com agitação. A 1,1,3,3-Tetrametilguanidina (1,5 mmol) foi então adicionada e a suspensão ficou vermelha translúcida. Após a adição do trifluoreto eterato de boro (4 mmoles) a solução ficou incolor. A reação foi monitorada por TLC (CH_2Cl_2 :MeOH 9:1). Após o desaparecimento do material de partida (2 horas), a reação foi resfriada rapidamente através da adição de uma solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL). As fases foram separadas e a aquosa foi extraída com acetato de etila (3 x 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com uma solução saturada de hidrogenossulfato de potássio (15 mL), salmoura (15 mL) e secas em sulfato de magnésio. Após a evaporação do solvente, os produtos da reação foram separados por cromatografia em sílica-gel. Alternativamente, o produto bruto foi submetido diretamente à desproteção.

^1H -RMN (CDCl_3) - α (ppm) 7,34 (NH, d, 7,9 Hz), 7,07 (H12, d,

10,7 Hz), 7,30 (H11, d, 10,7 Hz), 7,37 (H8, s), 6,71 (H4, s), 4,71-4,55 (H7, m), 2,60-1,80 (H5-H6, m), 3,88 (2-OMe, s), 3,64 (1-OMe, s), 2,44 (SMe, s), 2,00 (acetamida), 5,28-5,18 e 5,10-4,90 (H1', H2', H3', H4' m), 4,25 (H5'a, ddd, 4,3, 4,4, 12,1 Hz), 3,58 (H5'b, ddd 4,3, 4,4, 12,1 Hz), 2,14 (OAc), 2,11
5 (OAc), 2,10 (OAc).

Exemplo 3 – Método geral para a desproteção em etanol

O produto bruto (0,5 mmol teórico) do exemplo 1 ou 2 foi dissolvido em etanol (4 mL) e NaOH a 1 N (2 mL) à temperatura ambiente. A reação foi verificada por TLC. Após o desaparecimento do produto de partida, o
10 solvente foi evaporado e o resíduo foi submetido à cromatografia em sílica-gel. O produto pode ainda ser cristalizado de metanol/isopropanol.

Exemplo 4 – Método geral para a desproteção em acetona

O produto bruto do exemplo 1 ou 2 (1 mmol teórico) foi suspenso com carbonato de potássio em acetona (30 mL) e água (10 mL). A mistura
15 foi submetida ao refluxo até o desaparecimento do produto de partida. O solvente foi evaporado e o produto foi recuperado por cromatografia. O produto pode ainda ser cristalizado de metanol e éter diisopropílico.

Exemplo 5 – 3-O-β-D-xilopiranosil-3-O-desmetiltiocolchicina

O produto foi obtido de acordo com o método de desproteção do
20 exemplo 3 ou 4 com 45% de rendimento, após a cromatografia em sílica-gel eluindo com um gradiente de CH₂Cl₂/MeOH.

p.f. 193°C; [α]_D²²-201 (c 1, MeOH);

¹H-RMN (CDCl₃): ppm 8,64 (NH, d, 7,6 Hz), 7,15 (H12, d, 10,6 Hz), 7,28 (H11, d, 10,6 Hz), 7,03 (H8, s), 6,85 (H4, s) 4,37-4,25 (H7, m),
25 2,60-1,80 (H5-H6, m), 3,84 (2-OMe, s), 3,55 (1-OMe, s), 2,42 (SMe, s), 1,86 (acetamida), 4,97 (H1', 6,6 Hz), 3,20-3,90 (H2',H3',H4',H5', m), 4,40-5,60 (OH).

Exemplo 6 – 3-O-β-L-xilopiranosil-3-O-desmetiltiocolchicina

O produto foi obtido de acordo com o método de desproteção do
30 exemplo 3 ou 4 com 45% de rendimento, após a cromatografia em sílica-gel eluindo com um gradiente de CH₂Cl₂/MeOH.

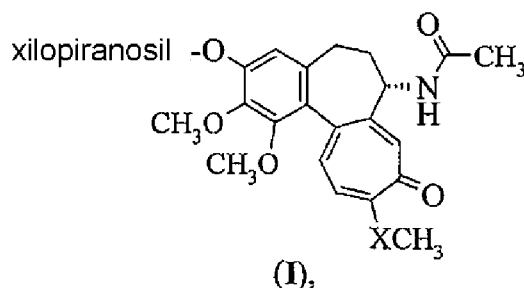
p.f. 220°C; [α]_D²²-176 (c 1, MeOH);

¹H-RMN (CDCl₃): ppm 8,64 (NH, d, 7,3 Hz), 7,17 (H12, d, 10,2 Hz), 7,29 (H11, d, 10,2 Hz), 7,03 (H8, s), 6,87 (H4, s) 4,23-4,41 (H7, m), 2,70-1,90 (H5-H6, m), 3,84 (2-OMe, s), 3,55 (1-OMe, s), 2,42 (SMe, s), 1,86 (acetamida), 5,02 (H1', 6,9 Hz), 3,20-3,90 (H2', H3', H4', H5', m), 4,90-5,60 (OH).

REIVINDICAÇÕES

1. Compostos, caracterizados pelo fato de que são da fórmula geral

(I)



5 em que X é oxigênio ou enxofre.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que X é oxigênio.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que X é enxofre.

10 4. Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é selecionado de:

3-O-β-D-xilopiranosil-3-O-desmetiltiocolchicina e

3-O-β-L-xilopiranosil-3-O-desmetiltiocolchicina.

15 5. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de medicamentos relaxantes musculares.

6. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de medicamentos antiinflamatórios.

20 7. Uso de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de medicamentos antigota.

25 8. Composições farmacêuticas, caracterizadas pelo fato de que contém um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 4 em mistura com excipientes e/ou veículos adequados.

9. Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 8, caracterizadas pelo fato de que é para uso tópico.

10. Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 8, caracterizadas pelo fato de que é para uso parenteral.

11. Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 9 ou 10, caracterizadas pelo fato de que os excipientes são selecionados de
5 fosfolipídeos naturais e sintéticos.