

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

(21) **PI0614758-5 A2**

(22) Data de Depósito: 11/08/2006
(43) Data da Publicação: 12/04/2011
(RPI 2101)



(51) *Int.Cl.:*
C07F 9/6561
A61K 31/5383
A61K 31/675
A61P 19/00
A61P 31/04
C07D 498/18

(54) Título: **RIFAMICINAS FOSFONADAS E USOS DESTAS PARA A PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE INFECÇÕES NA ARTICULAÇÃO E OSSO**

(30) Prioridade Unionista: 11/08/2005 US 60/707,145

(73) Titular(es): TARGANTA THERAPEUTICS INC.

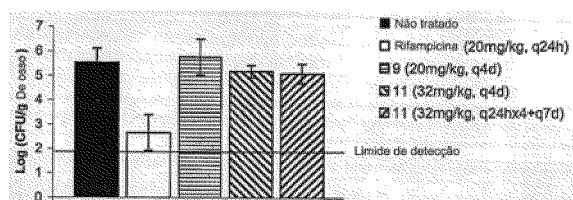
(72) Inventor(es): ADEL RAFAI FAR, EVELYNE DIETRICH, RANGA REDDY, STEPHANE CIBLAT, TING KANG, YANICK LAFONTAINE, YANNICK STEPHANE ROSE

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

(86) Pedido Internacional: PCT IB2006004128 de 11/08/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/096703 de 30/08/2007

(57) Resumo: RIFAMICINAS FOSFONADAS E USOS DESTAS PARA A PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE INFECÇÕES NA ARTICULAÇÃO E OSSO A presente invenção refere-se às Rifamicinas fosfonadas e métodos de preparar e empregar tais compostos. Estes compostos são úteis como antibióticos para profilaxia e/ou para o tratamento de infecções na articulação e osso, especialmente para a profilaxia e/ou tratamento de osteomielite.



PI06147585

020080054585
20.11.01 2009

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"RIFAMICINAS FOSFONADAS E USOS DESTAS PARA A PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE INFECÇÕES DA ARTICULAÇÃO E OSSO"**.

REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

5 O pedido presente reivindica benefício ao pedido provisório U.S. número 60/707.145, depositado em 11 de agosto de 2005, que é incorporado aqui em sua totalidade.

ANTECEDENTE DA INVENÇÃO

A) Campo da invenção

10 A presente invenção refere-se à Rifamicinas fosfonadas. Estes compostos são úteis como antibióticos para profilaxia e/ou tratamento de infecções da articulação e osso, especialmente para a profilaxia e/ou tratamento de osteomielite.

B) Breve descrição da técnica anterior

15 Osteomielite é uma inflamação de osso causada por uma variedade de microorganismos, principalmente *Staphylococcus aureus* (Carek e outros, American Family Physician (2001), Vol 12, 12:2413-2420). Esta doença debilitante e dolorosa ocorre mais geralmente em crianças. Dentro da população de adulto, pacientes em diálise renal e diabéticos são da mesma
20 forma vulneráveis. A forma aguda da doença é tratável com antibióticos, mas requer um período prolongado de terapia diária. Pode, entretanto, reverter em uma forma repetida ou crônica que requer permanências em hospital repetidas e regimes de tratamento pesados.

25 As Rifamicinas são uma classe de ansamicinas antibacterianas semi-sintéticas, vários membros dos quais são atualmente clinicamente empregados ou estão sob avaliação clínica (Burman e outros, Clin. Pharmacokinet. (2001), 40:327-341). Rifamicinas alvejam o RNA polimerase dependente de DNA bacteriano com 2-4 ordens de magnitude de maior afinidade do que para as enzimas eucarióticas equivalentes (Floss e Yu, Chem.
30 Ver. (2005), 105:621-632). Rifamicinas agem ligando um sítio bem-definido na subunidade β de holoenzima RNA polimerase, e como resultado, interferem com e inibem a fase inicial de síntese de RNA. O andaime estrutural comum

destes de inibidores apresenta uma posição bem-definida da qual permite a modulação de suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas sem alterar substancialmente seu modo de ligação. Isto tem resultado em vários compostos bem investigados dentro da classe, incluindo Rifampicina (US 3.342.810), Rifapentina (US 4.002.752), Rifandina (US 4.353.826), Rifabutinaa (US 4.219.478), Rifalazil (US 4.983.602) e Rifaximina (US 4.341.785). Recentemente, vários análogos de 25-deacetila também demonstraram ser antibacterianos atrativos (pedido de patente US 2005/043298). Rifamicinas são extremamente potentes contra patógenos Gram positivos, desse modo menos contra os Gram negativos, e exibem efeitos colaterais geralmente apenas em dose alta ou na presença de inibidores de Citocromo P3A. Sua única capacidade de afetar bactérias em um estado quiescente, que pode originar-se de sua necessidade de explosões curtas de síntese de RNA mesmo na ausência de crescimento, torna-os I candidatos principais para infecções crônicas, freqüentemente em combinação para evitar uma freqüência relativamente alta de resistência. Neste respeito, Rifampicina, geralmente em combinação com outros antibacterianos, resultou em resultados atrativos no tratamento de infecções da articulação e osso (Darley e McGowan, J. Antimicrob. Chemother. (2004) 53, 928-935; Widmer e outros, Clin. Infect. Dis. (1992) 14, 1251-1253).

Bisfosfonatos são agentes de procura de osso bem-caracterizados. Estes compostos são reconhecidos por ter uma afinidade alta aos ossos devido a sua capacidade de ligar os íons de Ca^{2+} encontrados na hidroxiapatita que forma os tecidos ósseos (Hirabayashi e Fujisaki, Clin. Pharmacokinet. (2003) 42(15): 1319-1330). Portanto, muitos tipos diferentes de compostos conjugados de bisfosfonato foram feitos para alvejar os fármacos seletivamente ao osso, incluindo proteínas (Uludag e outros, Biotechnol Prog. (2000) 16:1115-1118), vitaminas (US 6.214.812, US 2003/0129194 e WO 02/083150), inibidores de tirosina cinase (WO 01/44258 e WO 01/44259), hormônios (US 5,183,815 e US 2004/0116673) e agentes de varredura de osso (US 4.810.486). Estes e outros derivados de bisfosfonato foram empregados como agentes

terapêuticos para doenças de osso tal como artrite (US 4.746.654), osteoporose (US 5.428.181 e US 6.420.384), hipercalcemia (US 4.973.576), e cânceres ósseos (US 6.548.042).

5 Várias estratégias foram da mesma forma investigadas para liberação alvejada de antibióticos (US 5.900.410, US 2002/0142994; US 2004/0033969, US 2005/026864). Para liberação alvejada por osso de antibióticos, alguns suggestionaram o uso de antibióticos bisfosfonados. Porém, apenas alguns de tais compostos estão atualmente sendo sintetizados, incluindo tetraciclina, β -lactams e fluoroquinolonas
10 (US 5.854.227; US 5.880.111; DE 195 32 235; Pieper e Keppler, Phosphorous, Sulfur and Silicon (2001) 170:5-14; e Herczegh e outros J. Med. Chem (2002) 45:2338-41). Além disso, nenhum destes compostos foi administrado *in vivo* ou mostrou ter qualquer atividade de alvejamento de osso.

15 Apesar do progresso que foi feito nos últimos anos, a liberação específica de osso está ainda limitada pelos únicos aspectos anatômicos dos ossos. Embora a modificação de bisfosfonato possa ser um método promissor, não há nenhuma certeza de sucesso porque várias décadas de progresso demonstram que derivados de bisfosfonato terapeuticamente
20 otimizado têm que ser projetada e otimizado em uma base de composto-para-composto (Hirabasashi e Fujisaki, Clin Pharmacokinet (2003), 42(15):1319-1330).

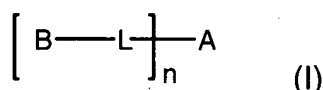
Na visão da anterior, há uma necessidade quanto a melhores fármacos administráveis para a prevenção e tratamento de infecções da
25 articulação e osso. Mais particularmente, há uma necessidade quanto a derivados fosfonados altamente ativos de Rifamicinas capazes de obter igualmente liberação de fármaco espacialmente controlada (ou alvejada) e controlada por tempo (ou contínua) aos ossos.

A presente invenção cumpre estas necessidades e da mesma
30 forma outras necessidades ficarão evidentes por aqueles versados na técnica ao ler o relatório descritivo.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção é direcionada aos compostos antimicrobianos que têm uma afinidade para ligar os ossos. Mais particularmente, a invenção é direcionada às Rifamicinas fosfonadas. Estes compostos são úteis como antibióticos para a profilaxia e/ou tratamento de infecções da articulação e osso, especialmente para a profilaxia e/ou tratamento de osteomielite.

Em uma modalidade, os compostos da invenção são representados pela Fórmula (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável ou pró-fármaco deste:



em que:

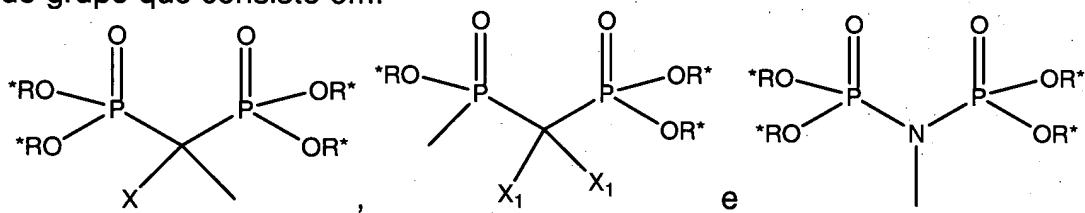
B é um grupo fosfonato;

L é um ligante clivável para acoplar **B** em **A**;

n tem 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7, preferivelmente 1, 2 ou 3; e

A é uma Rifamicina.

Em uma modalidade preferida, **B** é um grupo fosfonato que tem uma afinidade alta para tecidos ósseos. Preferivelmente **B** é um bisfosfonato. Mais preferivelmente, **B** é um bisfosfonato selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

cada **R *** é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois **R *** seja H;

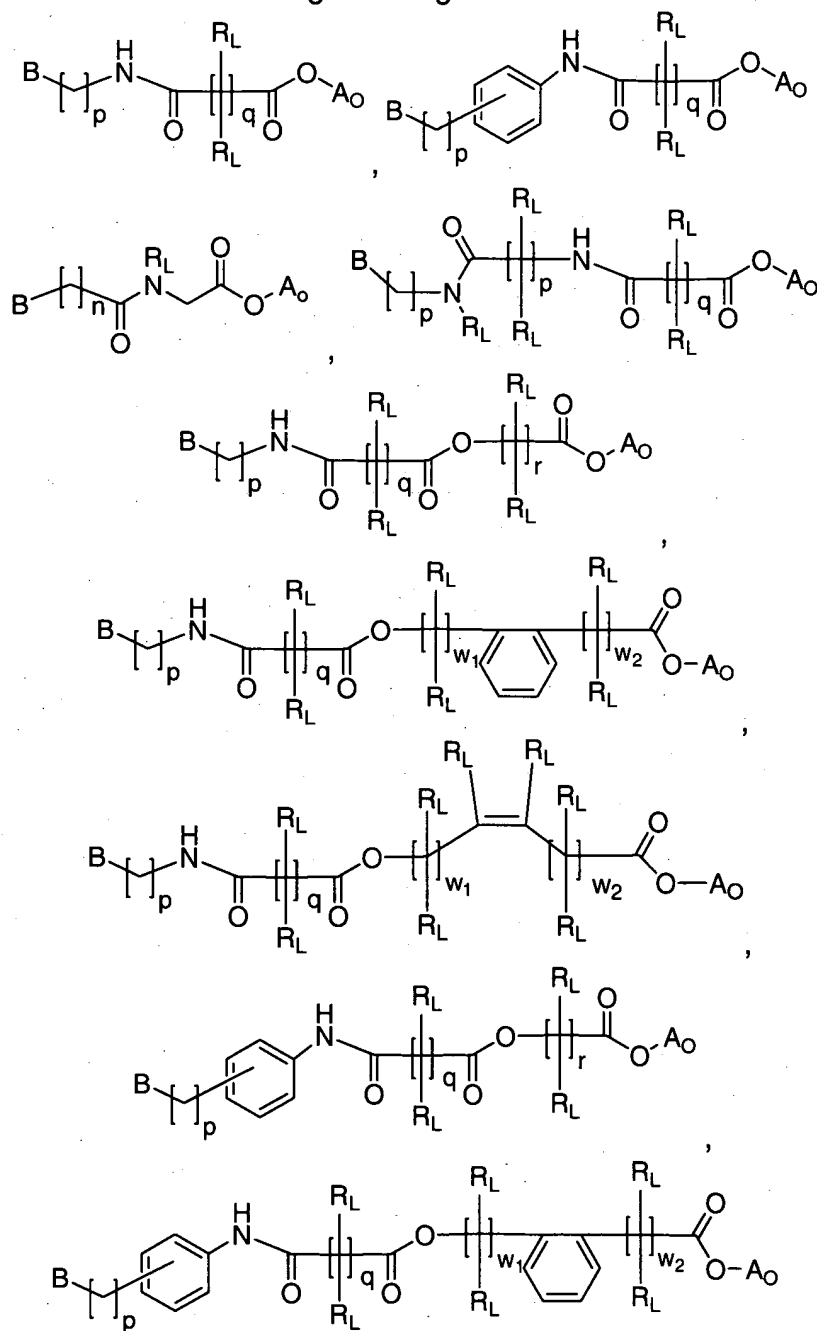
X é H, OH, NH₂, ou um grupo halo; e

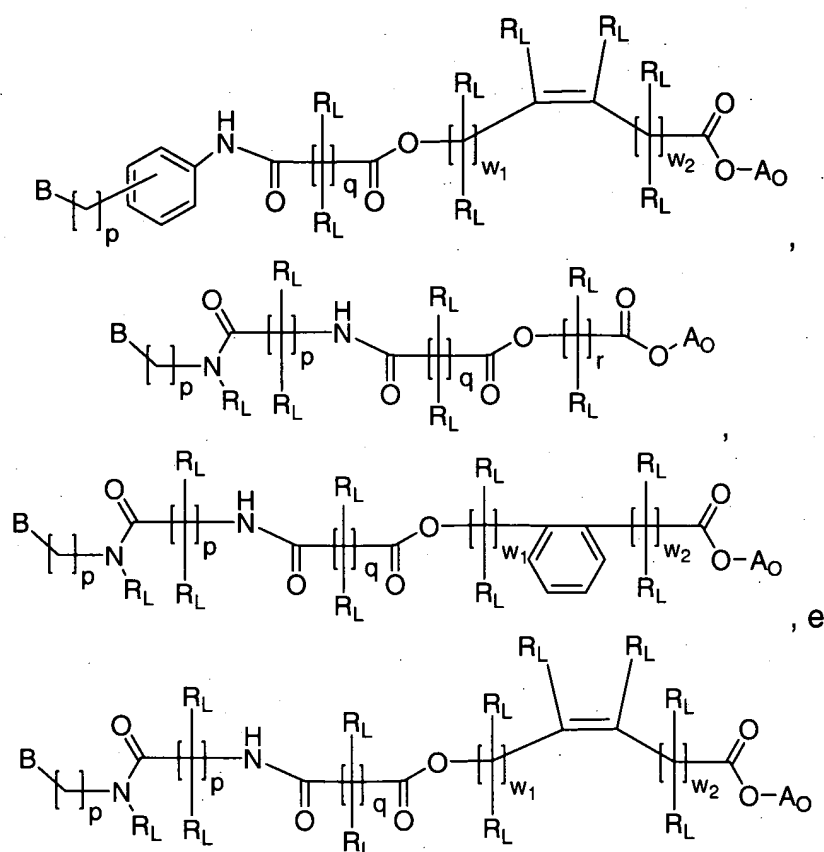
X₁ é igualmente H, ou cada qual é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, OH, NH₂, e um grupo halo.

Em outra modalidade preferida, **L** é um ligante clivável para

covalentemente e reversivelmente acoplar **B** a **A**.

Preferivelmente, **L** acopla **B** a **A** através de um ou mais grupos hidroxila em **A**, através de um ou mais átomos de nitrogênio em **A**, ou através de um ou mais grupos hidroxila e um ou mais átomos de nitrogênio em **A**. Quando **L** acopla **B** a **A** através de um grupo hidroxila em **A**, preferivelmente **L** é um dos seguintes ligantes:





em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente

0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

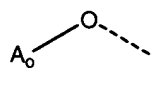
q é 2 ou 3

r é 1, 2, 3, 4 ou 5,

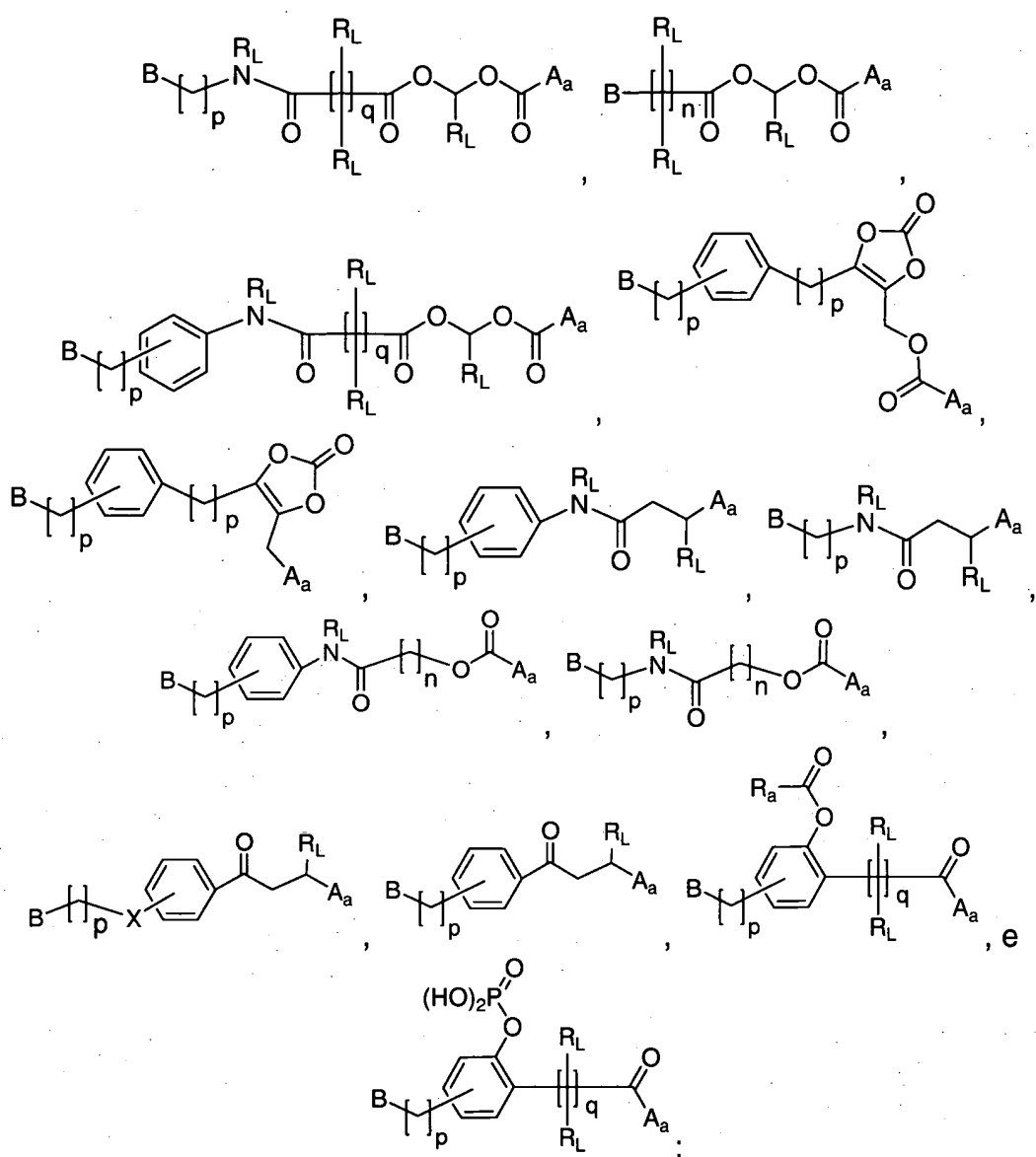
w_1 e w_2 são números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3

cada R_L é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

B representa o grupo fosfonado;

e a sub-estrutura  do ligante representa a porção hidroxila de **A**.

Quando **L** acopla **B** a **A** através de um átomo de nitrogênio em **A**, preferivelmente **L** é um dos seguintes ligantes:



em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente

5 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

q é 2 ou 3;

cada R_L é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

R_a é C_xH_y , onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1

10 a $2x+1$;

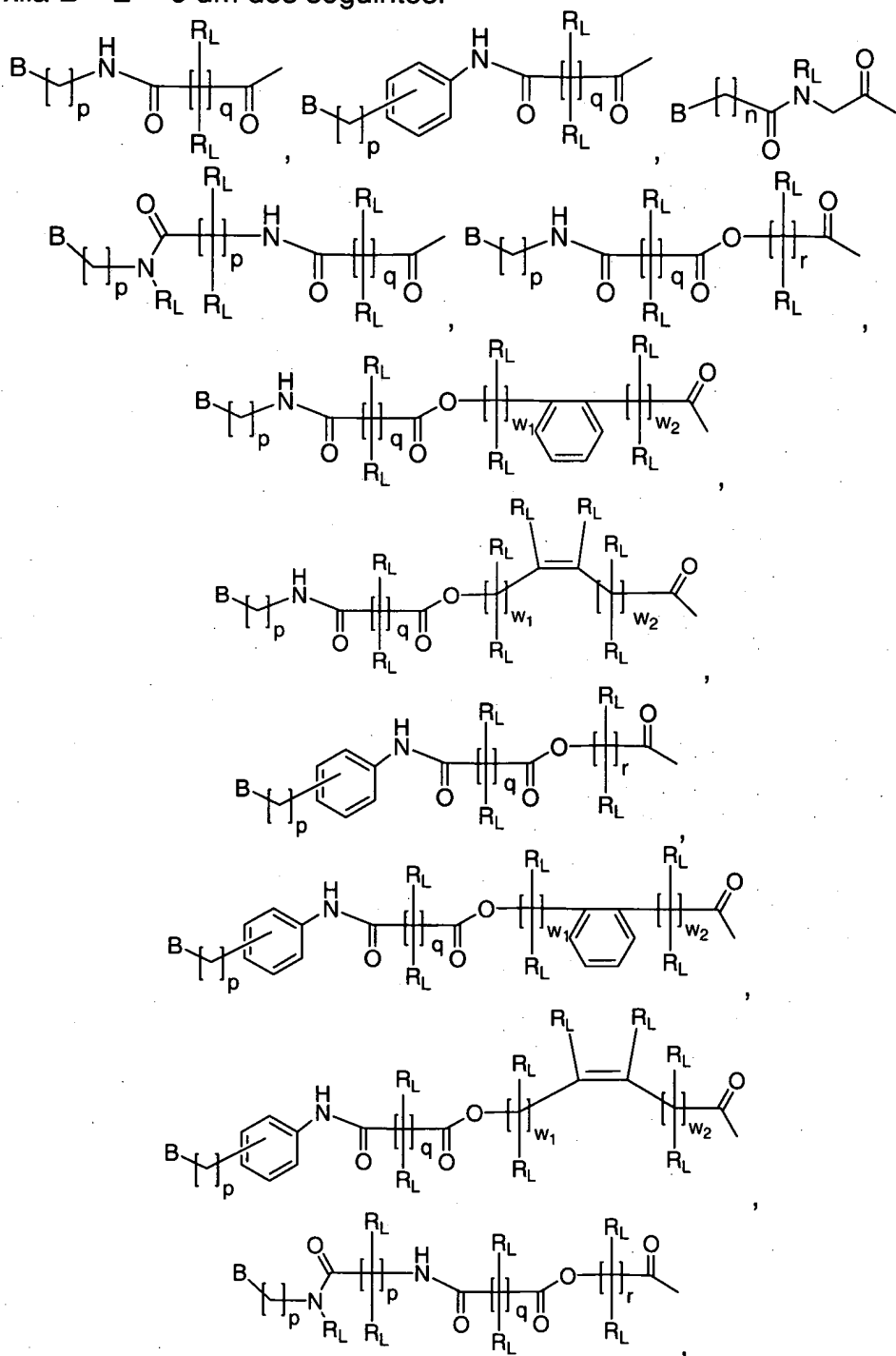
X é CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2$, ou $-CO-O-$;

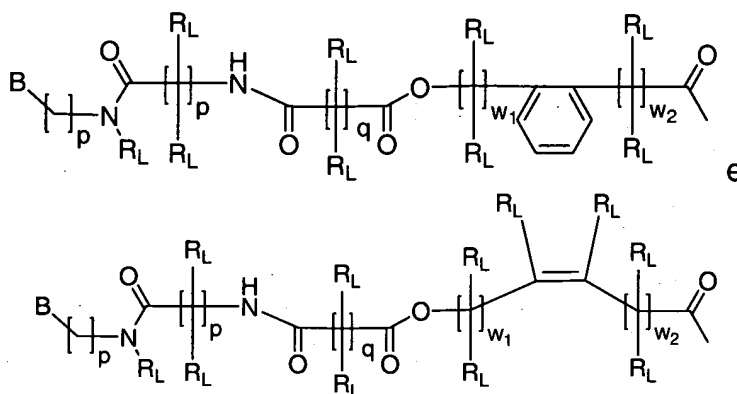
B representa o grupo fosfonado; e

A_a representa o átomo de nitrogênio em **A**.

Em outra modalidade preferida, pelo menos um dentre **B—L—** é acoplado a uma funcionalidade de hidroxila na Rifamicina **A**.

5 Preferivelmente, quando **B—L—** for acoplado a uma funcionalidade de hidroxila **B—L—** é um dos seguintes:





em que:

B representa um grupo fosfonado;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

5 cada **R_L** é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

q é 2 ou 3;

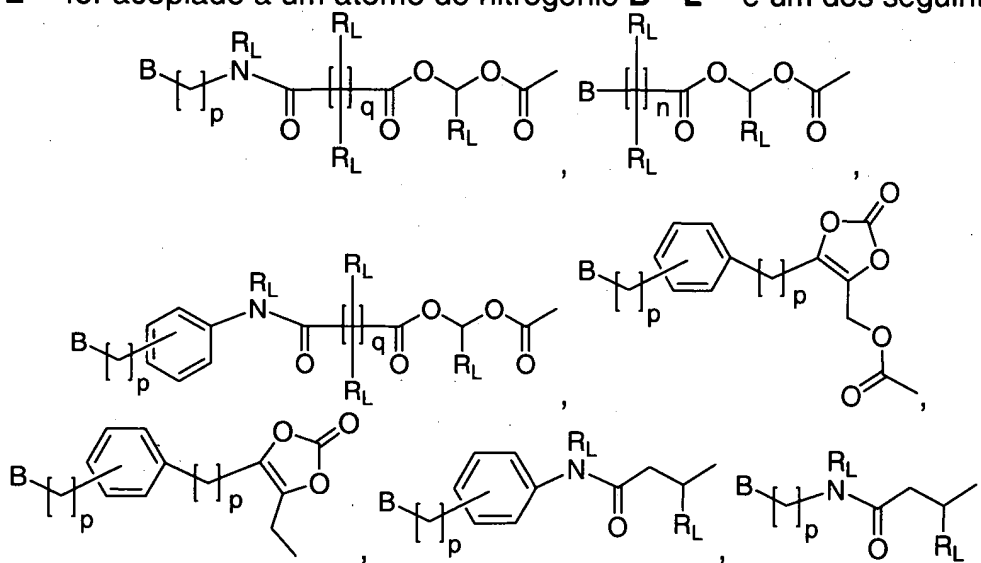
n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

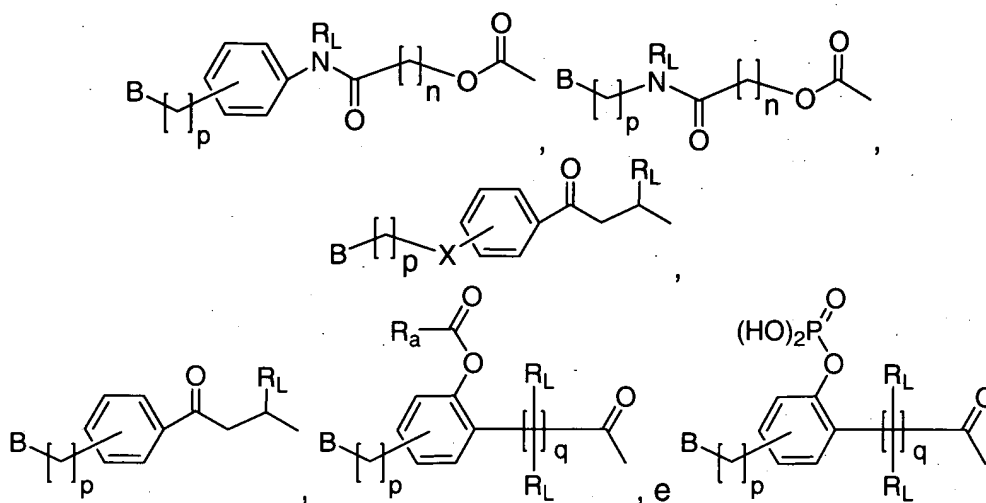
10 **r** é 1, 2, 3, 4 ou 5; e

w₁ e **w₂** são cada qual números inteiros ≥ 0 tal que sua soma (**w₁** + **w₂**) é 1, 2 ou 3.

Em outra modalidade preferida, pelo menos um dentre **B—L—** é acoplado a um átomo de nitrogênio na Rifamicina **A**. Preferivelmente, quando

15 **B—L—** for acoplado a um átomo de nitrogênio **B—L—** é um dos seguintes:





em que:

B representa o referido grupo fosfonado;

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

5 cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

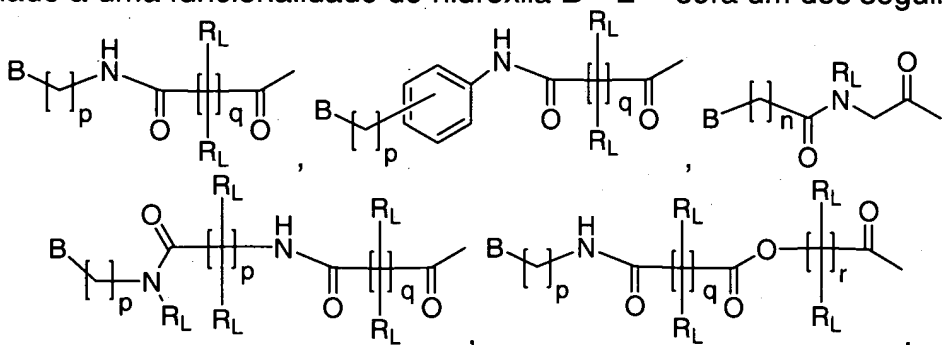
cada R_L é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

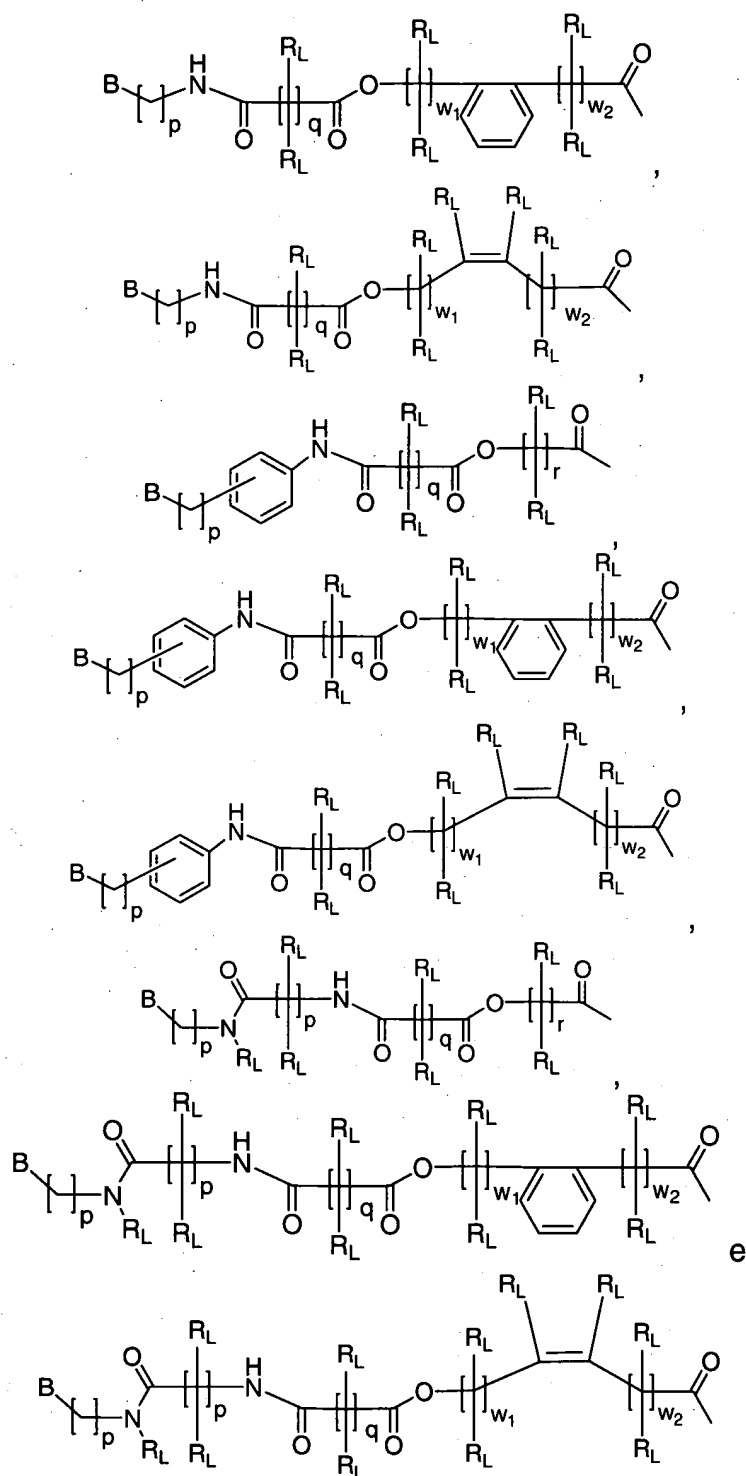
q é 2 ou 3;

10 **X** é CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$, ou $-CO-O-$; e

R_a é C_xH_y onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1 a $2x+1$.

Em uma modalidade preferida adicional, n é um número inteiro de 2 a 7, pelo menos um dentre **B—L—** é acoplado a uma funcionalidade de hidroxila na Rifamicina **A**, e pelo menos um dentre **B—L—** é acoplado a um átomo de nitrogênio na Rifamicina **A**. Preferivelmente, quando **B—L—** for acoplado a uma funcionalidade de hidroxila **B—L—** será um dos seguintes:





em que:

B representa um grupo fosfonado;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

- 5 cada **R_L** é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

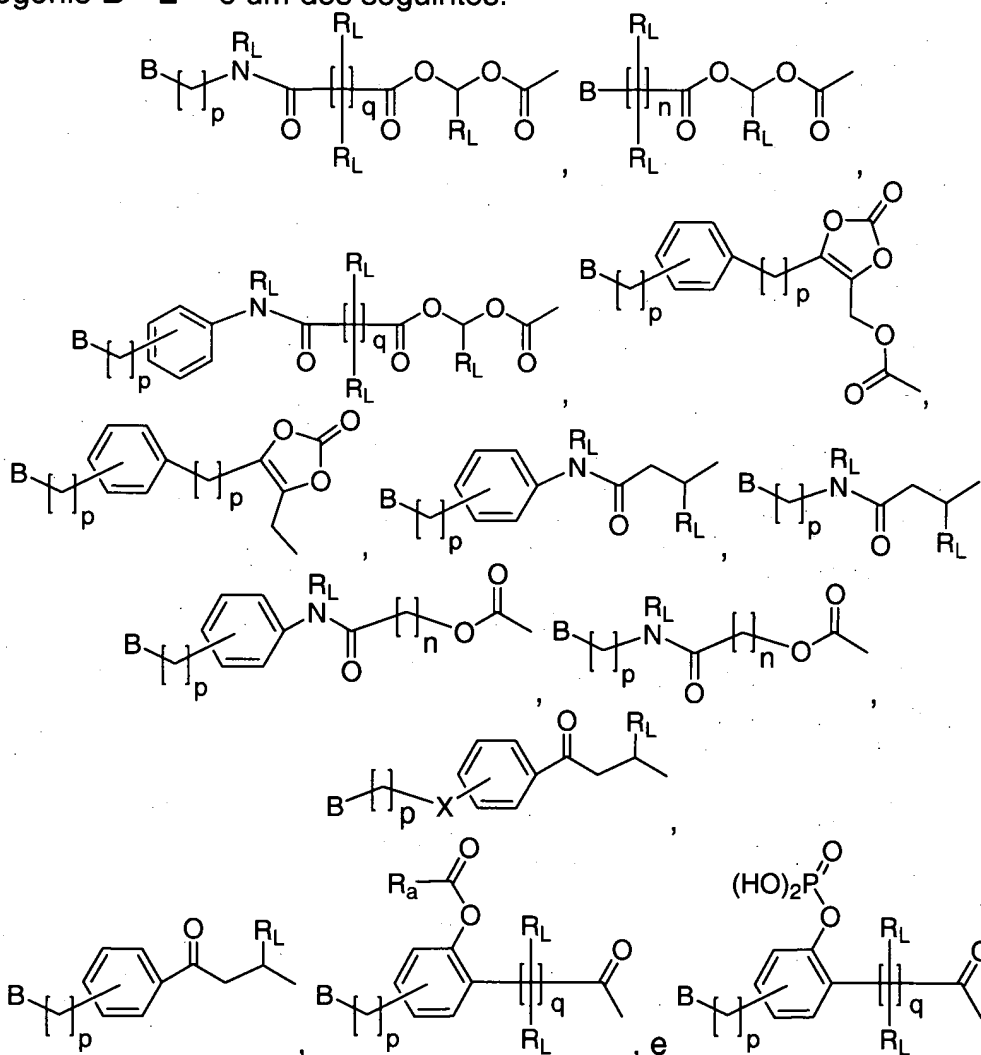
q é 2 ou 3;

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5; e

5 w_1 e w_2 são cada qual números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3.

Preferivelmente, quando B-L é acoplado a um átomo de nitrogênio B-L é um dos seguintes:



em que:

10

B representa dito grupo fosfonato;

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3, ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

cada R_L é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

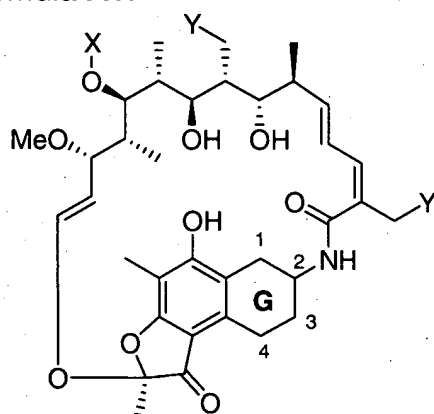
q é 2 ou 3;

X é CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$, ou $-CO-O-$; e

- 5 R_a é C_xH_y onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1 a $2x+1$.

Em uma outra modalidade preferida, n é 1, 2 ou 3.

Preferivelmente, a Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela seguinte Fórmula **A1**:



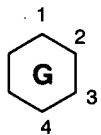
A1

- 10 em que:

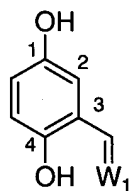
X é H- ou R_1CO- , em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-6 carbonos;

cada Y é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H- e $RO-$, em que R é H-, R_1- , ou R_1CO- , com R_1 definido como

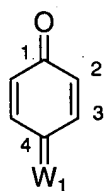
- 15 acima;



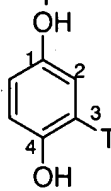
é selecionado a partir do grupo que consiste nas fórmulas **A2-A10**:



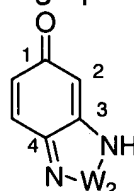
A2



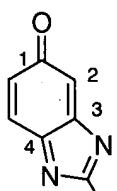
A3



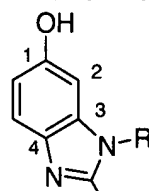
A4



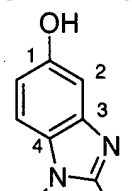
A5



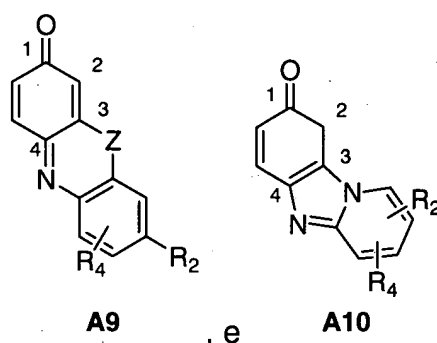
A6



A7



A8



em que:

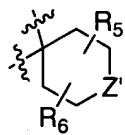
R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-10 carbonos, ou um grupo dialquil amino, preferivelmente o referido grupo dialquil amino é uma piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída;

R_3 é H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos;

W_1 é oxigênio ou $-NR_2$ com R_2 definido como anteriormente;

W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo:



), em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e Z' é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, um carbonila, $-NR_1$

ou

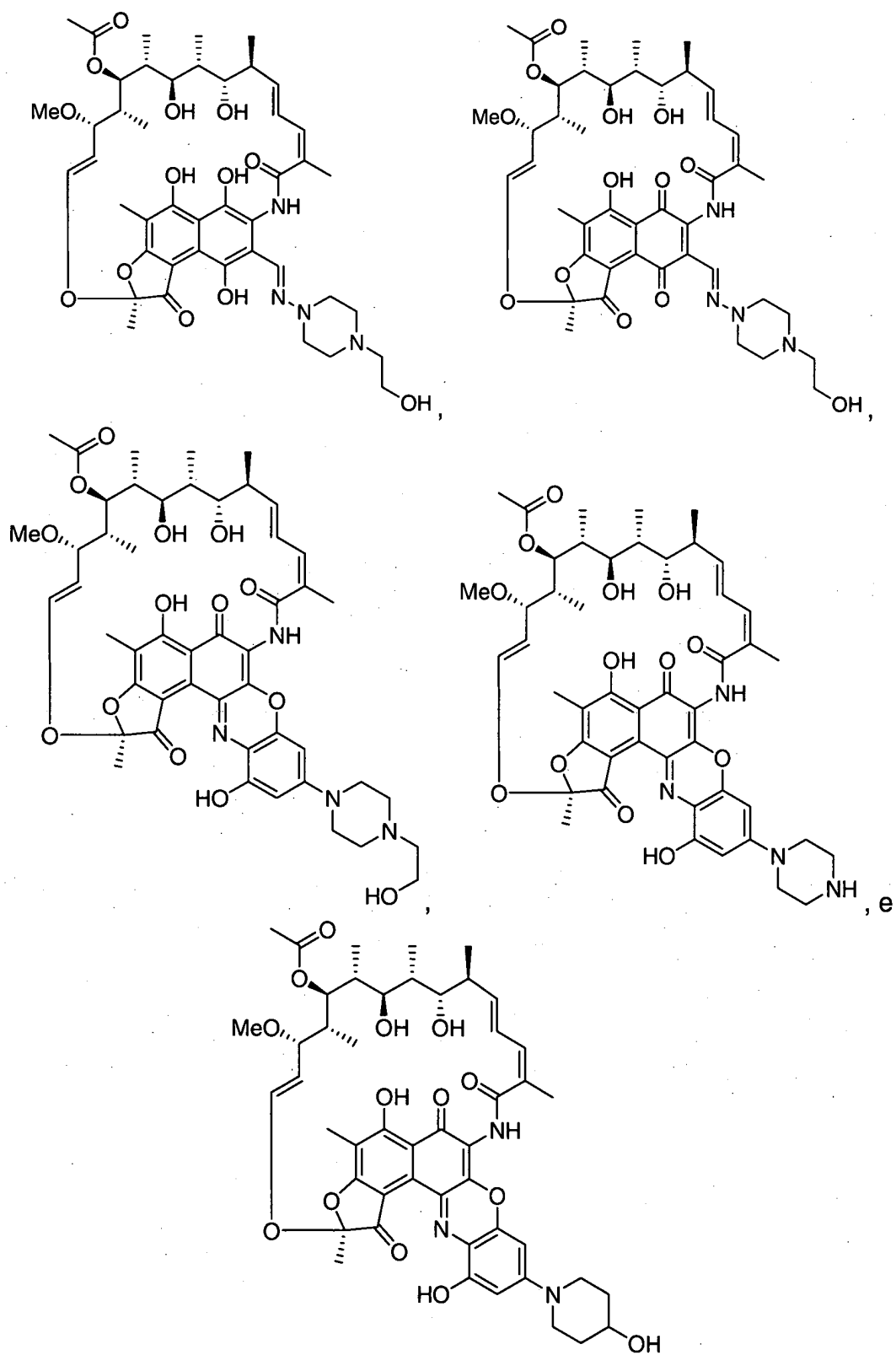
$-N(O)R_1$ onde R_1 é definido como anteriormente;

T é um halogênio ou R_2 , onde R_2 é definido como anteriormente;

e

Z é O, S ou NR_3 , onde R_3 é definido como anteriormente.

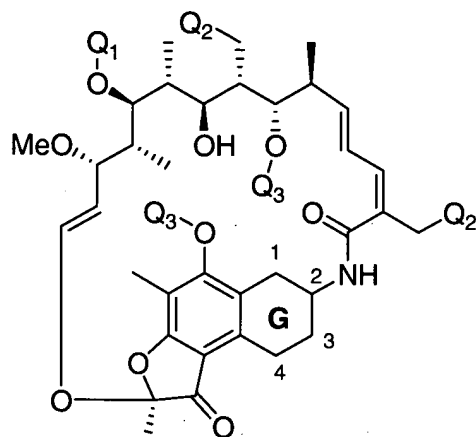
Mais preferivelmente, a Rifamicina **A** tem uma estrutura representada por um das fórmulas seguintes ou um derivado antimicrobiano destas:



Da mesma forma preferivelmente, a Rifamicina **A** é Rifampicina, Rifapentina, Rifabutinaa, Rifalazil, Rifaximina, Rifandina ou um derivado antimicrobiano de um destes compostos.

Em outra modalidade, os compostos da invenção são

representados pela Fórmula (II) ou um sal farmaceuticamente aceitável ou pró-fármaco deste:



(II)

em que:

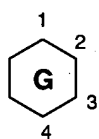
Q_1 é H-, R_1CO - ou L_1 -, em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não

substituída de 1-6 carbonos;

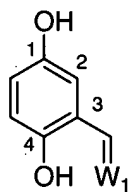
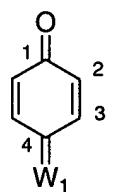
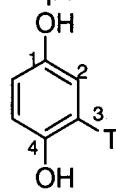
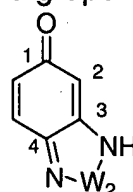
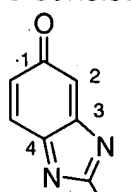
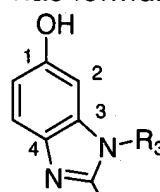
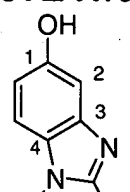
cada Q_2 é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em

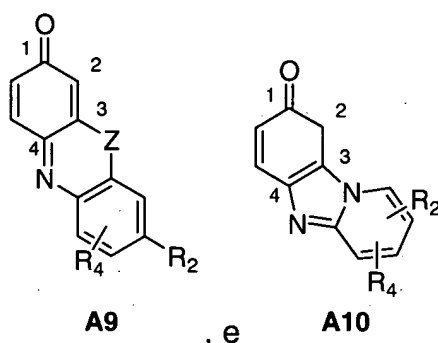
H-, RO - e L_2O -, em que R é H-, R_1 - ou R_1CO -, com R_1 definido como anteriormente;

cada Q_3 é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H- e L_3 -;



é selecionado a partir do grupo que consiste nas fórmulas **A2-A10**:

**A2****A3****A4****A5****A6****A7****A8**



em que

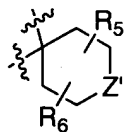
R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-10 carbonos ou um grupo dialquil amino, preferivelmente o referido grupo dialquil amino é um piperidina substituída, uma morfolina substituído ou uma piperazina substituída, em que quando R_2 for uma cadeia de alquila substituída de 1-10 carbonos, uma piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída, o substituinte é um membro selecionado a partir do grupo que consiste em L_4O^- , L_5S^- e $L_6NR_7^-$, em que R_7 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos;

R_3 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos ou L_7^- ;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos, L_8O^- ou L_9S^- ;

W_1 é oxigênio ou $-NR_2$, com R_2 definido como anteriormente;

W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo



, em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e Z' é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, -

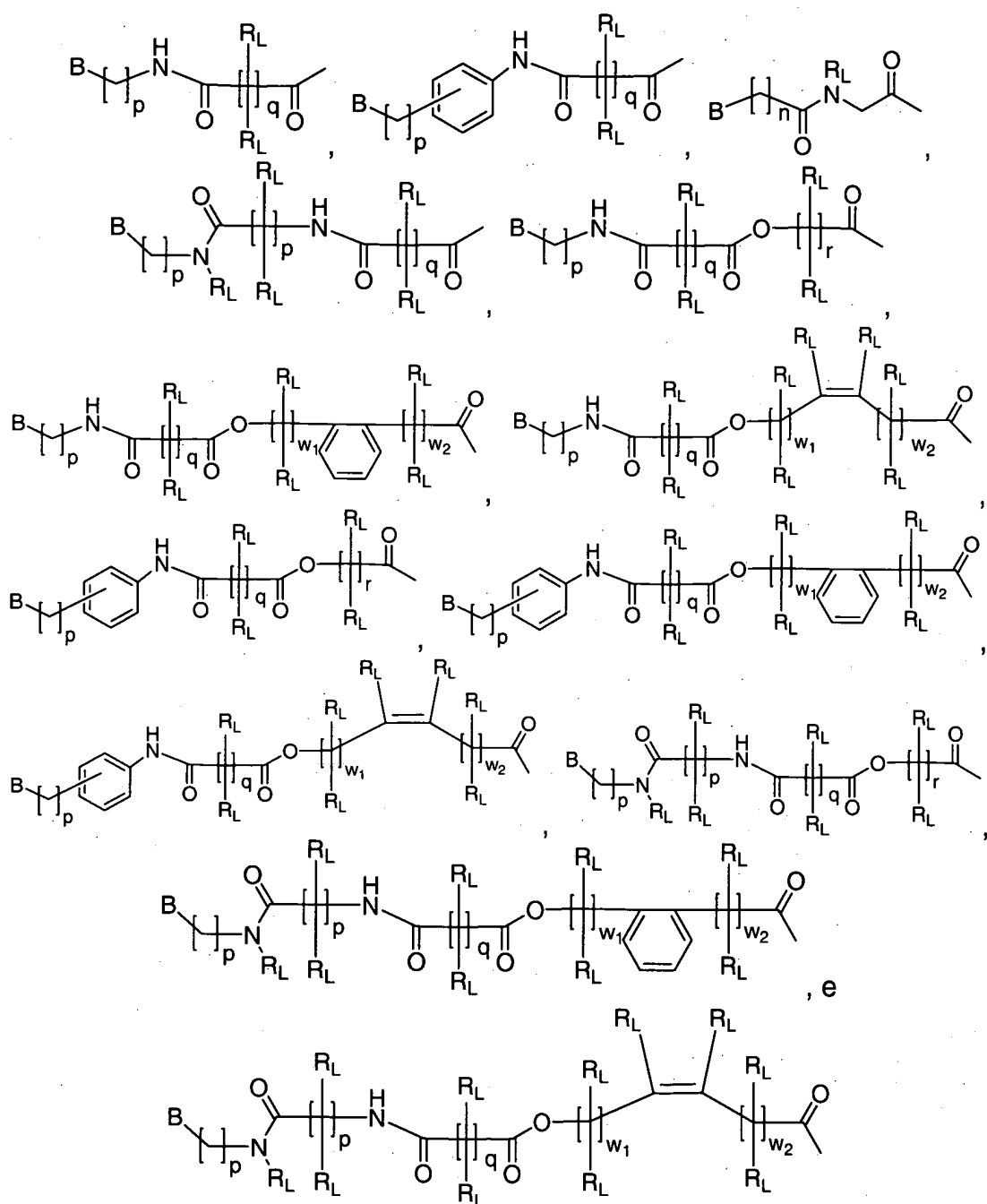
NR_1 ou

$-N(O)R_1$ onde R_1 é definido como anteriormente;

T é um halogênio ou R_2 , onde R_2 é definido como anteriormente;

Z é O, S ou NR_3 , onde R_3 é definido como anteriormente;

cada L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_8 e L_9 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

5 cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

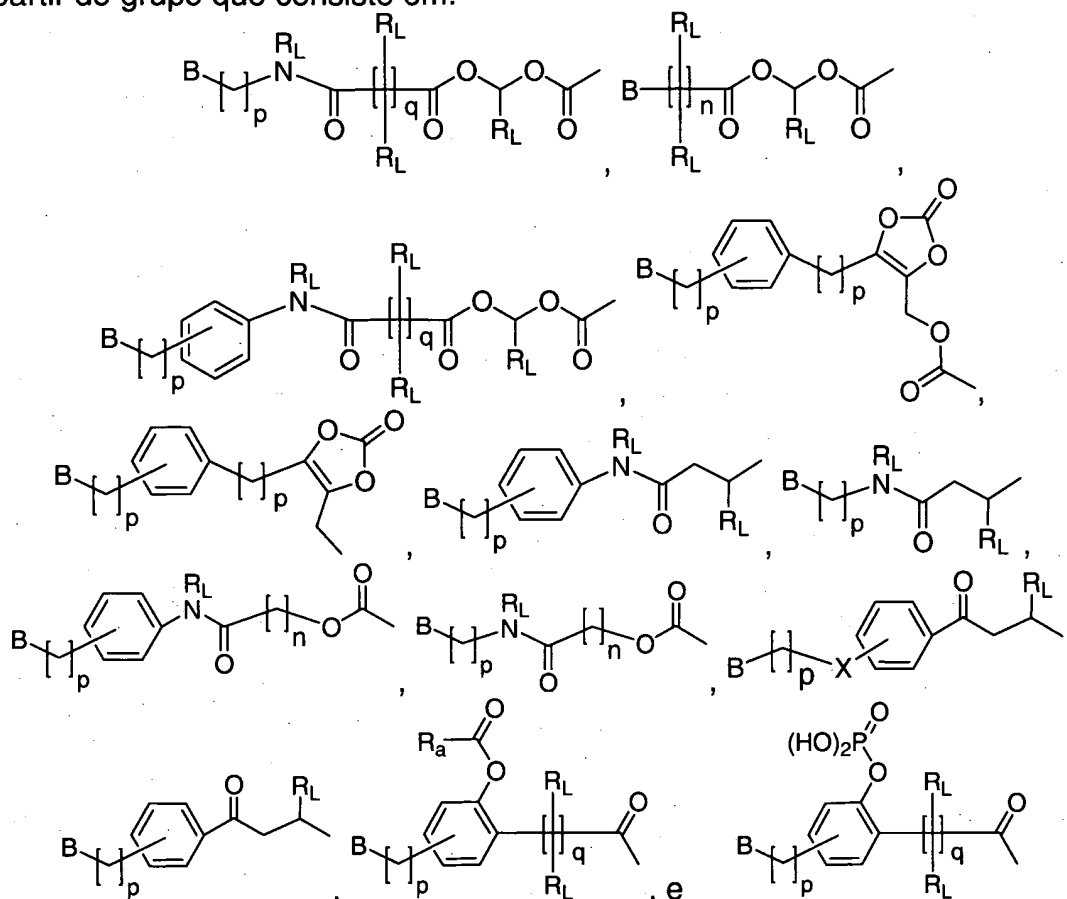
q é 2 ou 3;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5;

w_1 e w_2 são números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3;

cada R_L é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

cada L_6 e L_7 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



5 em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

10 q é 2 ou 3;

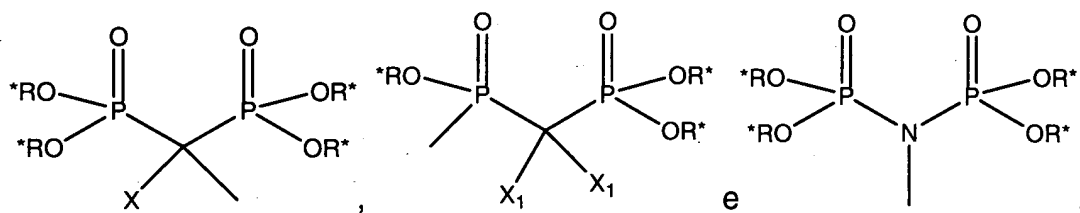
cada R_L é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

R_A é C_xH_y onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1 a $2x+1$; e

15 X é CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$, ou $-CO-O-$;

B é um grupo fosfonato selecionado a partir do grupo que consiste

em:



em que:

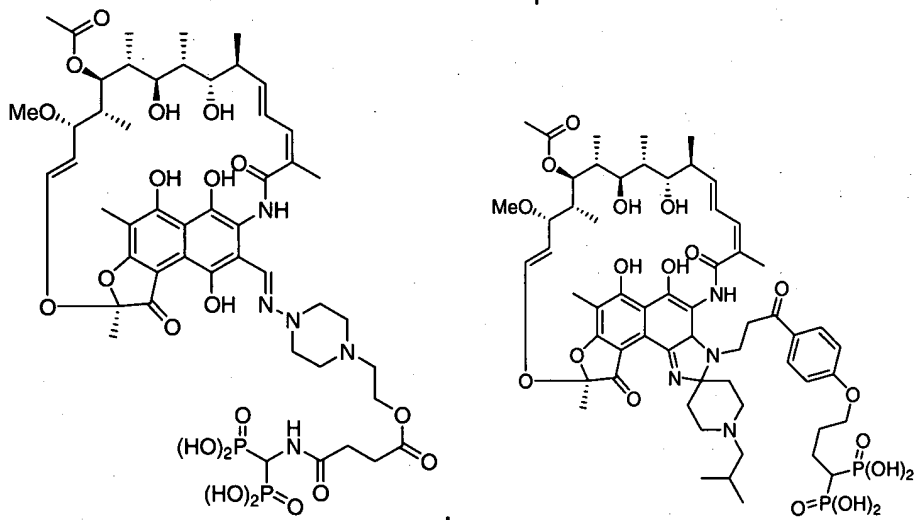
- 5 cada R^* é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois R^* seja H;

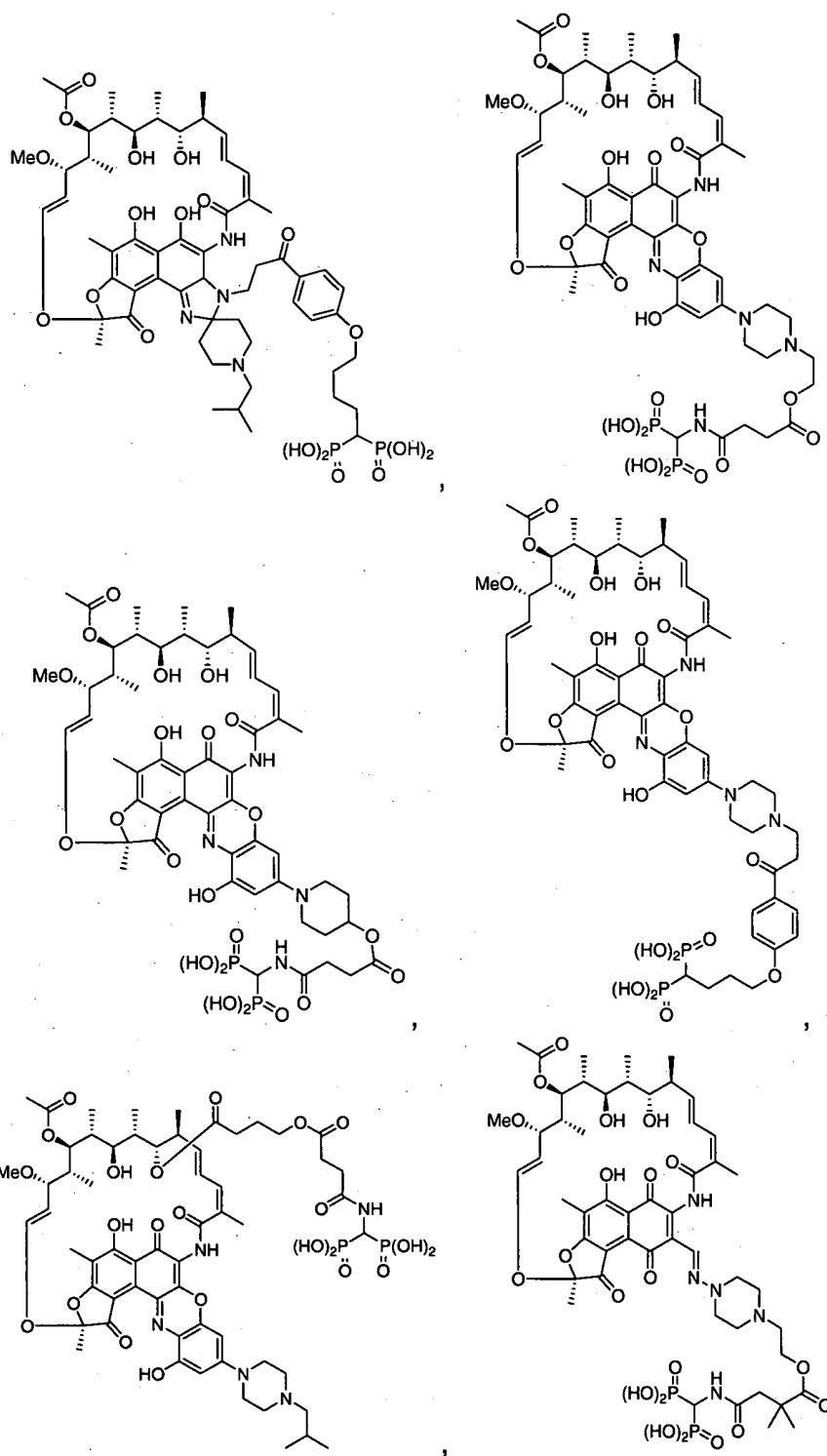
X é H, OH, NH_2 , ou um grupo halo;

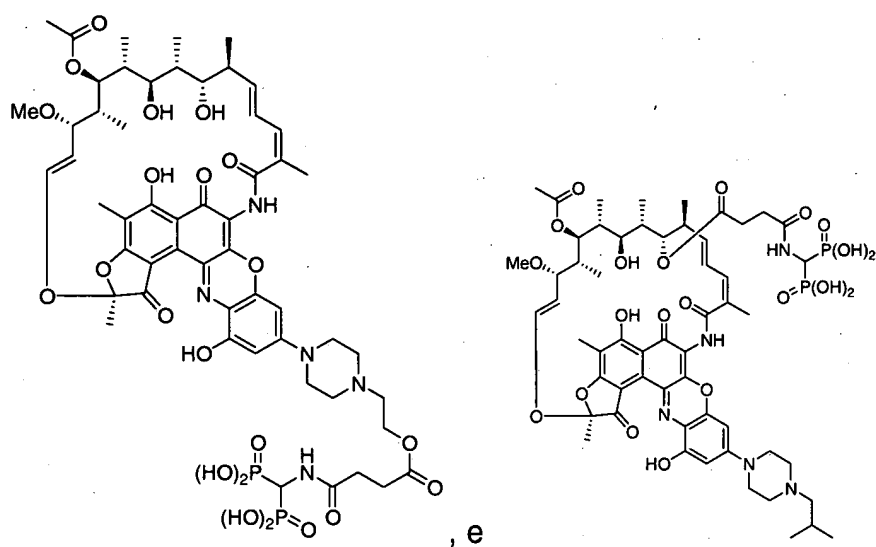
cada X_1 é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em H, OH, NH_2 , e um grupo halo;

- 10 com a condição que pelo menos um dentre L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_6 , L_7 , L_8 e L_9 esteja presente.

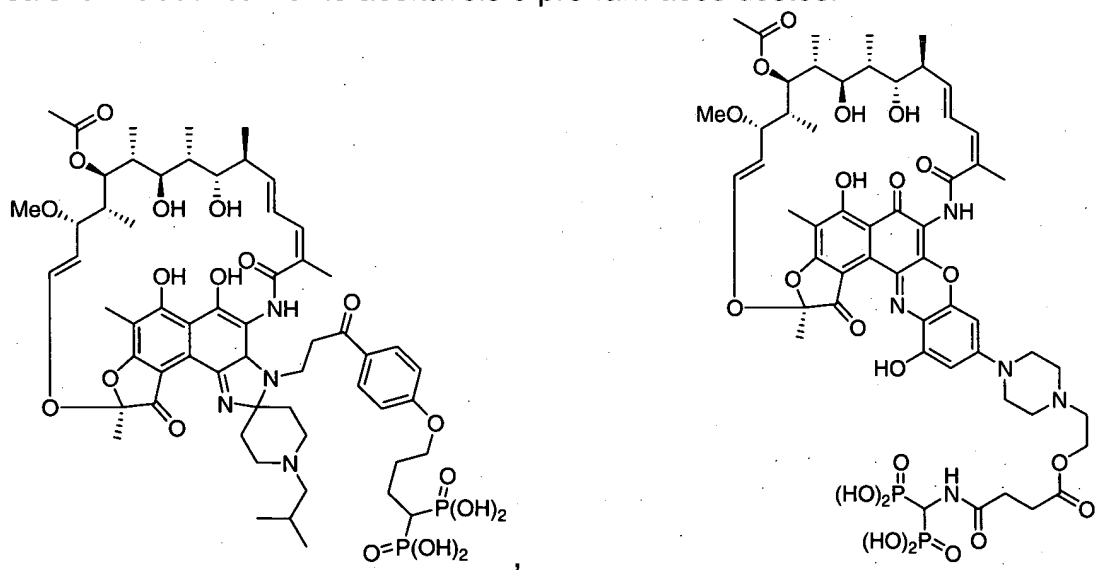
Em outras modalidades preferidas, os compostos da invenção têm uma estrutura selecionada entre as estruturas ilustradas abaixo, bem como sais farmaceuticamente aceitáveis e pró-fármacos destes:

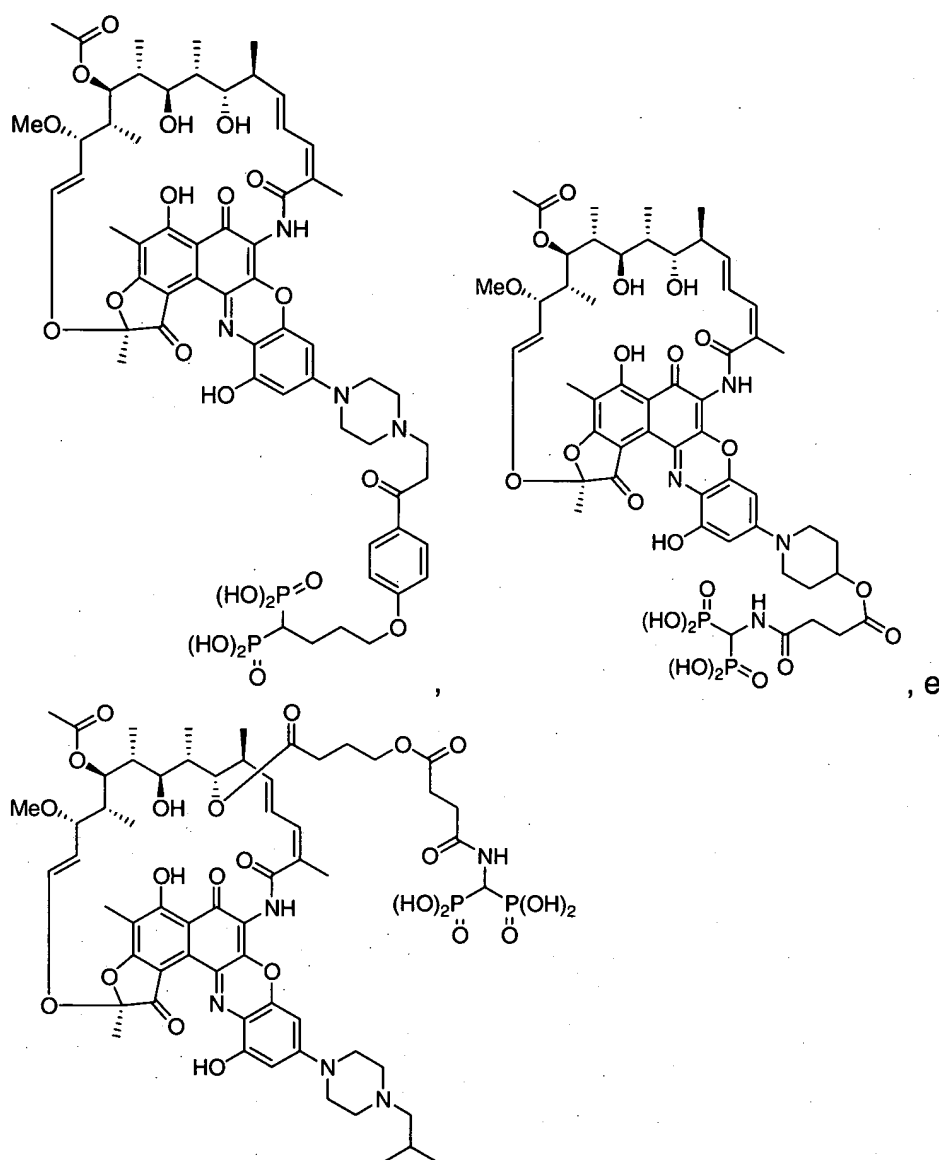






Compostos particularmente preferidos da presente invenção têm uma estrutura selecionada entre as estruturas ilustradas abaixo, bem como sais farmaceuticamente aceitáveis e pró-fármacos destes:





Em outro aspecto da presente invenção, são descritos composições farmacêuticas que compreendem um ou mais dos compostos como definidos aqui e um excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

A presente invenção da mesma forma abrange métodos para tratar uma infecção bacteriana em um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo tendo uma infecção bacteriana ou de outra maneira em necessidade de tal tratamento uma quantidade farmacêuticamente eficaz de um ou mais dos compostos como definido aqui, ou uma composição farmacêutica como definida aqui. O indivíduo pode ser um animal, preferivelmente um mamífero, mais preferivelmente um ser humano.

A presente invenção também abrange métodos para profilaxia

para uma infecção bacteriana em um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade profilaticamente eficaz de um ou mais dos compostos como definido aqui, ou uma composição farmacêutica como definida aqui. A quantidade profilaticamente eficaz dos compostos ou
5 composição farmacêutica pode ser administrada a um indivíduo antes, durante, ou depois de um tratamento médico invasiva. O indivíduo pode ser um animal, preferivelmente um mamífero, mais preferivelmente um ser humano.

A presente invenção da mesma forma abrange métodos para
10 tratar uma infecção bacteriana em um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo tendo uma infecção bacteriana ou de outra maneira em necessidade de tal tratamento uma quantidade farmaceuticamente eficaz de um ou mais dos compostos como definido aqui, ou uma composição farmacêutica como definida aqui, e administrar simultaneamente um
15 segundo agente terapêutico. Preferivelmente, o segundo agente terapêutico é um antibiótico. Mais preferivelmente, o segundo agente terapêutico é um antibiótico selecionado a partir do grupo que consiste em tetraciclina, um agente antibacteriano derivado de tetraciclina, glicilciclina, um agente antibacteriano derivado de glicilciclina, minociclina, um agente antibacteriano
20 derivado de minociclina, um agente antibacteriano de oxazolidinona, um agente antibacteriano de aminoglicosídeo, um agente antibacteriano de quinolona, vancomicina, um agente antibacteriano derivado de vancomicina, uma teicoplanina, um agente antibacteriano derivado de teicoplanina, eremomicina, um agente antibacteriano derivado de eremomicina,
25 cloroeremomicina, um agente antibacteriano de cloroeremomicina, daptomicina, e um agente antibacteriano derivado de daptomicina.

A invenção da mesma forma fornece um método para acumular uma Rifamicina em um osso de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo um ou mais dos compostos como definido aqui, ou uma
30 composição farmacêutica como definida aqui. Tal método para acumular uma Rifamicina em um osso de um indivíduo pode da mesma forma ser empregado para prolongar a presença de uma Rifamicina em um osso de

um indivíduo. Em cada exemplo, o indivíduo pode ser um animal, preferivelmente um mamífero, mais preferivelmente um ser humano.

Em um outro aspecto da presente invenção é fornecido processos para a preparação de uma Rifamicina fosfonada, preferivelmente
5 uma Rifamicina fosfonada de Fórmula (I) e/ou Fórmula (II) como definido aqui.

Uma vantagem da invenção é que fornece compostos antimicrobianos tendo uma afinidade de ligação aumentada para o osso. A invenção da mesma forma fornece métodos para a necessidade médica não
10 atendida de prevenção e tratamento de infecções da articulação e osso.

Objetivos, vantagens e aspectos adicionais da presente invenção tornar-se-ão mais evidentes ao ler a seguinte descrição não restritiva de modalidades preferidas com referência aos desenhos
15 acompanhantes que são exemplares e não devem ser interpretados como limitantes do escopo da presente invenção.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

Figura 1 é um gráfico de barra que mostra o teste de 20 mg/kg de derivado de Rifamicina **9** e o pequeno efeito mas não estatisticamente
20 significativo (versus o controle não-tratado) de 32 mg/kg de seu pró-fármaco bisfosfonado de origem **11** sobre o título bacteriano em infecção de osso quando empregado cada quatro dias ou em quatro dias sucessivos e em seguida todas as semanas durante 4 semanas pós-infecção.

Figura 2 é um gráfico de barra que mostra o teste de 20 mg/kg de Rifabutinaa e o pequeno efeito mas estatisticamente significativo (versus o
25 controle não-tratado) de 33,4 mg/kg de seu pró-fármaco bisfosfonato de origem **36** sobre o título bacteriano em infecção de osso quando empregado cada quatro dias durante 4 semanas pós-infecção.

Figura 3 é um gráfico de barra que mostra o teste de 20 mg/kg de benzoxazinorrifamicina **56** e o pequeno efeito mas estatisticamente
30 significativo (versus tanto o controle não-tratado quanto a benzoxazinorrifamicina **56**) de 26 mg/kg de seu pró-fármaco bisfosfonado de origem **62** sobre o título bacteriano em infecção de osso quando empregado

durante quatro dias sucessivos e em seguida cada quatro dias durante 4 semanas pós-infecção.

Figura 4 é um gráfico de barra que mostra o teste de 20 mg/kg de derivado de benzoxazinorrifamicina **69** e o pequeno efeito mas estatisticamente significativo (versus tanto o controle não-tratado quanto a benzoxazinorrifamicina **69**) de 28 mg/kg de seu pró-fármaco bisfosfonado de origem **71** sobre o título bacteriano em infecção de osso quando empregado durante quatro dias sucessivos e em seguida cada quatro dias durante 4 semanas pós-infecção.

Figura 5 é um gráfico de barra que mostra o teste de 20 mg/kg de rifalazil e o pequeno efeito mas estatisticamente significativo (versus tanto o controle não-tratado quanto rifalazil) de 27,6 mg/kg de seu pró-fármaco bisfosfonado de origem **81** sobre o título bacteriano em infecção de osso quando empregado durante quatro dias sucessivos e em seguida cada quatro dias durante 4 semanas pós-infecção.

Figura 6 é um gráfico de barra que mostra o efeito de 20 mg/kg de derivado de Rifampicina, Rifabutinaa e Rifamicina **9** sobre o título bacteriano em infecção de osso quando empregado uma vez por dia durante quatro semanas pós-infecção.

Figura 7 é um gráfico em linha que mostra a concentração de composto **11** na tíbia, fêmur e mandíbula do rato em 1h a 14 dias depois de uma injeção de bolo IV em 32 mg/Kg.

Figura 8 é um gráfico mostrando a concentração do composto **36** na tíbia de rato em ½ h em 14 dias depois de uma injeção de bolo IV em 15,5 mg/kg.

Figura 9 é um gráfico de linha mostrando concentração do composto **62** na tíbia de rato em 1 a 7 dias depois de uma injeção de bolo IV em 26 mg/kg.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A) Avaliação geral da invenção

A presente invenção descreve Rifamicinas fosfonadas, em particular, aqueles compostos fosfonados definidos na Fórmula (I) e na

Fórmula (II) como definido acima e em seguida. Estes compostos são os agentes antimicrobianos úteis eficazes contra vários patógenos humanos e veterinários. Um grupo fosfonado é reversivelmente acoplado a uma Rifamicina por meio de um ligante clivável.

- 5 Rifamicinas fosfonadas foram sintetizadas e demonstraram ter uma afinidade aumentada para materiais ósseos. Estes compostos fosfonados *in vivo* acumulam-se em ossos em quantidades maiores do que quantidades de equivalentes não fosfonados. A presença de Rifamicinas nos ossos pode ser prolongada administrando-se Rifamicinas fosfonadas de acordo com a
- 10 invenção. Além disso, proteção *in vivo* significativa contra infecção óssea foi demonstrada durante pelo menos três dias antes da infecção para animais injetados com Rifamicinas fosfonadas de acordo com a invenção. Desta maneira, os compostos da invenção são particularmente úteis para a profilaxia e/ou tratamento de infecções relacionadas às articulações e osso e
- 15 doenças relacionadas ao osso tal como osteomielite.

B) Definições

A fim de fornecer um entendimento mais consistente e ainda mais claro da invenção, incluindo o escopo dado aqui em termos particulares, as seguintes definições gerais são fornecidas:

- 20 O termo "**alquila**" refere-se a grupos saturados alifáticos incluindo grupos cíclicos de cadeia linear, cadeia ramificada, e combinações destes, tendo o número de átomos de carbono especificado, ou se nenhum número for especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente, 1 a 6). Exemplos de grupos alquila incluem, porém, não são limitados a grupos tal
- 25 como metila, etila, n-propila, isopropila, n-butila, isobutila, sec-butila, t-butila, n-pentila, neopentila, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, cicloexila, ciclobutimetila, ciclobutiletila, ciclopentimetila, ciclopentiletila, e adamantila. Grupos alquila cíclicos (por exemplo, cicloalquila ou heterocicloalquila) podem consistir em um anel, incluindo, porém não-limitados a, grupos tais
- 30 como cicloeptila, ou anéis fundidos múltiplos, incluindo, porém não-limitados a, grupos tais como adamantila ou norbornila.

O termo "**alquilarila**" refere-se a um grupo alquila tendo o número

de átomos de carbono designado, anexado a um, dois, ou três grupos arila.

O termo "**N-alquilaminocarbonila**" refere-se ao radical $-C(O)NHR$ onde R é um grupo alquila.

O termo "**N,N-dialquilaminocarbonila**" se refere ao radical -
 5 $C(O)NR_aR_b$ onde R_a e R_b são cada qual independentemente um grupo alquila.

O termo "alquiltio" se refere ao radical $-SR$ onde R é um grupo alquila.

O termo "alcóxi" quando aqui empregado refere-se a uma alquila,
 10 alquenila, ou alquinila ligada a um átomo de oxigênio e tendo o número de átomos de carbono especificado, ou se nenhum número for especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente 1 a 6). Exemplos de grupos alcóxi incluem, porém não são limitados a, grupos tais como metóxi, etóxi, terc-butóxi, e alilóxi. O termo "**alcoxycarbonila**" refere-se ao radical -
 15 $C(O)OR$ onde R é uma alquila. O termo "alquilsulfonila" se refere ao radical $-SO_2R$ onde R é um grupo alquila.

O termo "alquilenio" significa que um grupo alifático divalente saturado incluindo grupos cíclicos de cadeia linear, cadeia ramificada, e combinações destes, tendo o número de átomos de carbono especificado,
 20 ou se nenhum número for especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente 1 a 6), por exemplo, metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metil-propileno, butileno, pentileno, ciclopentilmetileno, e similares.

O termo "**alquila substituída**" significa um grupo alquila como
 25 definido acima que é substituído por um ou mais substituintes, preferivelmente um a três substituintes, em que os substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em halogênio, alquila, arila, alcóxi, acilóxi, amino, mono ou dialquilamino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, fenila, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi,
 30 carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida, ou uma funcionalidade que pode ser bloqueada adequadamente, se necessário para propósitos da invenção, com um grupo de proteção. O grupo fenila pode opcionalmente ser

substituído por um a três substituintes, em que os substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em halogênio, alquila, arila, alcóxi, acilóxi, amino, mono ou dialquilamino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida. Exemplos de grupos alquila substituídos incluem, porém não são limitados a $-CF_3-CF_2-CF_3$, hidroximetila, 1- ou 2-hidroxietila, metoximetila, 1- ou 2-etoxietila, carboximetila, 1- ou 2-carboxietila, metoxycarbonilmetila, 1- ou 2-metoxycarbonil etila, benzila, pirdinilmetila, tiofenilmetila, imidazolinilmetila, dimetilaminoetila e similares.

- 10 O termo "**alquilenos substituídos**" significa um grupo alquilenos como definido acima que é substituído por um ou mais substituintes, preferivelmente um a três substituintes, em que os substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em halogênio, alquila, arila, alcóxi, acilóxi, amino, mono ou dialquilamino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, fenila, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida, ou uma funcionalidade que pode ser bloqueada adequadamente, se necessário para propósitos da invenção, com um grupo de proteção. O grupo de fenila pode opcionalmente ser substituído por um a três substituintes, em que os substituintes são
- 20 preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em halogênio, alquila, arila, alcóxi, acilóxi, amino, mono ou dialquilamino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida. Exemplos de grupos alquila substituídos incluem, porém não são limitados a $-CF_2-CF_2-CF_2$, hidroximetileno, 1- ou 2-hidroxietileno, metoximetileno, 1- ou 2-etoxietileno, carboximetileno, 1- ou 2-carboxietileno, e similares.

- O termo "**alquenila**" refere-se a grupos alifáticos insaturados incluindo grupos cíclicos de cadeia linear, cadeia ramificada, e combinações destes, enquanto tendo o número de átomos de carbono especificado, ou se nenhum número for especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente 1 a 6), que contêm pelo menos uma ligação dupla ($-C=C-$). Exemplos de grupos alquenila incluem, porém não são limitados a alil vinila,

-CH₂-CH=CH-CH₃, -CH₂-CH₂-ciclopentenila e -CH₂-CH₂-cicloexenila onde o grupo etila pode ser ligado à porção de ciclopentenila, cicloexenila em qualquer valência de carbono disponível.

O termo "alquenileno" refere-se a grupos alifáticos divalentes insaturados incluindo grupos cíclicos de cadeia linear, cadeia ramificada, e combinações destes, tendo o número de átomos de carbono especificado, ou se nenhum número for especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente 1 a 6), que contêm pelo menos uma ligação dupla (-C=C-). Exemplos de grupos alquenileno incluem, porém não são limitados a -CH=CH-, CH₂-CH=CH-CH₂, CH₂-CH(ciclopentenila)- e similares.

O termo "alquinila" refere-se a grupos alifáticos insaturados incluindo grupos cíclicos de cadeia linear, cadeia ramificada, e combinações destes, tendo o número de átomos de carbono especificado, ou se nenhum número for especificado, enquanto tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente 1 a 6), que contêm pelo menos uma ligação tripla (-C≡C-). Exemplos de grupos alquinila incluem, porém não são limitados a acetileno, 2-butinila, e similares.

O termo "alquinileno" refere-se a grupos alifáticos divalentes insaturados incluindo grupos cíclicos de cadeia linear, cadeia ramificada, e combinações destes, tendo o número de átomos de carbono especificado, ou se nenhum número for especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono (preferivelmente 1 a 6), que contêm pelo menos uma ligação tripla (-C≡C-). Exemplos de grupos alquinileno incluem, porém não são limitados a -C≡C-, -C≡C-CH₂-, e similares.

O termo "**alquenila substituída**" ou "**alquinila substituída**" refere-se aos grupos alquenila e alquinila como definido acima que são substituídos com um ou mais substituintes, em que os substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em halogênio, alquila, arila, alcóxi, acilóxi, amino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, fenila, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida, ou uma funcionalidade que pode ser adequadamente bloqueada, se necessário para propósitos da invenção, com um grupo de proteção. Exemplos de grupos

alquenila e alquinila substituídos incluem, porém não são limitados a $\text{CH}=\text{CF}_2$, metoxietenila, metoxipropenila, bromopropinila, e similares.

O termo "**alquenileno substituído**" ou "**alquinileno substituído**" refere-se aos grupos alquenileno e alquinileno como definido acima que são substituídos com um ou mais substituintes, em que os substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em halogênio, alquila, arila, alcóxi, acilóxi, amino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, fenila, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida, ou uma funcionalidade que pode ser adequadamente bloqueada, se necessário para propósitos da invenção, com um grupo de proteção.

O termo "**arila**" ou "**Ar**" refere-se a um grupo carbocíclico aromático de 6 a 14 átomos de carbono tendo um único anel (incluindo porém não-limitado a grupos tal como fenila) ou anéis condensados múltiplos (incluindo porém não-limitados a grupos tais como naftila ou antrila), e inclui grupos arila não-substituídos e substituídos. Arila substituída é um grupo arila que é substituído por um ou mais substituintes, preferivelmente um a três substituintes, em que os substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em alquila, arila, alquenila, alquinila, halogênio, alcóxi, acilóxi, amino, mono ou dialquilamino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, fenila, arilóxi, benzila, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida, ou uma funcionalidade que pode ser adequadamente bloqueada, se necessário para propósitos da invenção, com um grupo de proteção. Exemplos representativos incluem, porém não são limitados a naftila, fenila, clorofenila, iodofenila, metoxifenila, carboxifenila, e similares. O termo "**arilóxi**" refere-se a um grupo arila ligado a um átomo de oxigênio a um dos carbonos de anel. Exemplos de grupos de alcóxi incluem, porém não são limitados, grupos tal como fenóxi, 2-, 3-, ou 4-metilfenóxi, e similares. O termo "**grupo ariltio**" se refere ao radical $-\text{SR}_c$ onde R_c é um grupo arila. O termo "**grupo heteroariltio**" se refere ao radical $-\text{SR}_d$ onde R_d é uma heteroarila.

O termo "**arileno**" refere-se ao dirradical derivado de arila (incluindo

arila substituída) como definido acima e é exemplificado por 1,2-fenileno, 1,3-fenileno, 1,4-fenileno, 1,2-naftileno e similares.

O termo "**amino**" refere-se ao grupo -NH_2 .

O termo "**N-alquilamino**" e "**N,N-dialquilamino**" significa um radical
 5 -NHR e -NRR' respectivamente onde R e R' independentemente representam um grupo alquila como definido aqui. Exemplos representativos incluem, porém não são limitados a N,N-dimetilamino, N-etil-N-metilamino, N,N-di(1-metiletil)amino, N-cicloexil-N-metilamino, N-cicloexil-N-etilamino, N-cicloexil-N-propilamino, N-cicloexilmetil-N-metilamino, N-cicloexilmetil-N-etilamino, e similares.
 10

O termo "tioalcóxi" significa um radical -SR onde R é uma alquila como definido acima por exemplo, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio, e similares.

O termo "**grupo acila**" significa um radical -C(O)R , onde R é
 15 hidrogênio, halogênio, alquila, arila, heteroarila, alcóxi, arilóxi, N-alquilamino, N,N-dialquilamino, N-arilamino, tioalcóxi, tioarilóxi ou alquila substituída em que alquila, arila, heteroarila, e alquila substituída são como definido aqui.

O termo "grupo tioacila" significa um radical -C(S)R , onde R é
 hidrogênio, halogênio, alquila, arila, heteroarila, alcóxi, arilóxi, N-alquilamino, N,N-dialquilamino, N-arilamino, tioalcóxi, tioariloxi ou alquila substituída em
 20 que alquila, arila, heteroarila, e alquila substituída são como definido aqui.

O termo "grupo sulfonila" significa um radical $\text{-SO}_2\text{R}$ onde R é
 hidrogênio, halogênio, alquila, arila, heteroarila, alcóxi, arilóxi, N-alquilamino, N,N-dialquilamino, N-arilamino, tioalcóxi, tioariloxi ou alquila substituída em
 25 que alquila, arila, heteroarila, e alquila substituída são como definido aqui.

O termo "acilóxi" significa um radical -OC(=O)R , onde R é
 hidrogênio, alquila, arila, heteroarila ou alquila substituída em que alquila, arila, heteroarila, e alquila substituída são como definido aqui. Exemplos representativos incluem, porém não são limitados a formilóxi, acetilóxi, cicloexilcarbonilóxi, cicloexilmetilcarbonilóxi, benzoilóxi, benzilcarbonilóxi, e
 30 similares.

O termo "**heteroalquila**", "**heteroalquenila**," e "**heteroalquinila**"

- refere-se a grupos alquila, alquenila, e alquinila respectivamente como definido acima, que contêm o número de átomos de carbono especificado (ou se nenhum número é especificado, tendo 1 a 12 átomos de carbono, preferivelmente 1 a 6) que contêm um ou mais heteroátomos, preferivelmente um a três heteroátomos, como parte das cadeias principais, ramificadas ou cíclicas no grupo. Heteroátomos são independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em —NR—, —NRR, —S—, —S(O)—, —S(O)₂—, —O—, —SR, —S(O)R, —S(O)₂R, —OR —PR—, —PRR, —P(O)R— e —P(O)RR; (onde cada R é hidrogênio, alquila ou arila)
- 5 preferivelmente —NR onde R é hidrogênio ou alquila e/ou O. Grupos heteroalquila, heteroalquenila, e heteroalquinila podem ser ligados ao restante da molécula em um heteroátomo (se uma valência está disponível) ou em um átomo de carbono. Exemplos de grupos heteroalquila incluem, porém não são limitados a, grupos tais como —O—CH₃, —CH₂—O—CH₃, —CH₂—CH₂—O—CH₃, —S—CH₂—CH₂—CH₃, —CH₂—CH(CH₃)—S—CH₃, —CH₂—CH₂—NH—CH₂—CH₃, 1-etil-6-propilpiperidino, 2-etiltiofenila, piperazino, pirrolidino, piperidino, morfolino, e similares. Exemplos de grupos heteroalquenila incluem, porém não são limitados a grupos tais como —CH=CH—CH₂—N(CH₃)₂, e similares.
- 10
- 20 O termo "**heteroarila**" ou "**HetAr**" refere-se a um radical monocíclico, bicíclico ou tricíclico monovalente aromático contendo 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, ou 18 - membros de átomos de anel, incluindo 1, 2, 3, 4, ou 5 heteroátomos, preferivelmente um a três heteroátomos incluindo, porém não-limitados a, heteroátomos tais como N, O, P, ou S, dentro do anel. Exemplos representativos incluem, porém não são limitados ao único anel tal como imidazolila, pirazolila, pirazinila, piridazinila, pirimidinila, pirrolila, piridila, tiofeno, e similares, ou múltiplos anéis condensados tais como indolila, quinolina, quinazolina, benzimidazolila, indolizinila, benzotienila, e similares.
- 25
- 30 Os grupos heteroalquila, heteroalquenila, heteroalquinila e heteroarila podem ser não-substituídos ou substituídos com um ou mais substituintes, preferivelmente um a três substituintes, em que os

substituintes são preferivelmente selecionados a partir do grupo que consiste em alquila, alquenila, alquinila, benzila, halogênio, alcóxi, acilóxi, amino, mono ou dialquilamino, hidroxila, mercapto, carbóxi, benzilóxi, fenila, arilóxi, ciano, nitro, tioalcóxi, carboxaldeído, carboalcóxi e carboxamida, ou uma

5 funcionalidade que pode ser bloqueada adequadamente, se necessário para propósitos da invenção, com um grupo de proteção. Exemplos de tais grupos heteroalquila substituídos incluem, porém, não são limitados a, piperazina, pirrolidina, morfolina, ou piperidina, substituídas em um nitrogênio ou carbono por um grupo fenila ou benzila, e ligados ao restante

10 da molécula por qualquer valência disponível em um carbono ou nitrogênio - NH-S(=O)₂-fenila, -NH-(C=O)O-alquila, -NH-C(=O)O-alkil-arila, e similares. O(s) heteroátomo(s) bem como os átomos de carbono do grupo podem ser substituídos. O(s) heteroátomo(s) pode(m) da mesma forma estar em forma oxidada.

15 O termo "**heteroarileno**" refere-se ao grupo dirradical derivado de heteroarila (incluindo heteroarila substituída), como definido acima, e é exemplificado pelos grupos 2,6-piridinileno, 2,4-piridinileno, 1,2-quinolinileno, 1,8-quinolinileno, 1,4-benzofuranileno, 2,5-piridinileno, 2,5-indolenileno, e similares.

20 O termo "**heteroalquileno**", "**heteroalquenileno**", e "**heteroalquinileno**" refere-se ao grupo dirradical derivado de heteroalquila, heteroalquenila, e heteroalquinila (incluindo heteroalquila substituída, heteroalquenila, e heteroalquinila) como definido acima.

O termo "**carboxaldeído**" significa -CHO.

25 O termo "**carboalcóxi**" significa -C(=O)OR onde R é alquila como definido acima e inclui grupos tais como metoxicarbonila, etoxicarbonila, e similares.

O termo "**carboxamida**" significa -C(=O)NHR ou -C(=O)NRR' onde R e R' são independentemente hidrogênio, arila ou alquila como definido

30 acima. Exemplos representativos incluem grupos tal como aminocarbonila, N-metilaminocarbonila, N,N-dimetilaminocarbonila, e similares.

O termo "**carbóxi**" se refere ao radical -C(O)OH.

O termo "**carbamoila**" se refere ao radical -C(O)NH_2 .

O termo "**halogênio**" ou "**halo**" quando aqui empregado se refere a substituintes de Cl, Br, F ou I, preferivelmente flúor ou cloro.

O termo "**hidróxi**" se refere a um radical de -OH .

5 "**Isômeros**": Compostos que têm a mesma fórmula molecular (ou composição elementar), porém, difere-se na natureza ou seqüência de ligação de seus átomos ou a disposição de seus átomos em espaço são denominados "isômeros". Isômeros em que a conectividade entre átomos é a mesmo porém que diferem na disposição de seus átomos em espaço são
10 denominados "estereoisômeros". Estereoisômeros que não são imagens refletidas um do outro são denominados "diastereômeros" e aqueles que são imagens refletidas não superimponíveis mutuamente são denominados "enantiômeros". Quando um composto tiver um centro assimétrico, por exemplo, que é ligado a quatro grupos diferentes, um par de enantiômeros é
15 possível. Um enantiômero pode ser caracterizado pela configuração absoluta de seu centro assimétrico e é descrito pelas regras de seqüência R- e S- de Cahn, Ingold e Prelog, ou pela maneira em que a molécula gira o plano de luz polarizada e designado como dextrogiatório ou levogiriatório (isto é, como (+) ou (-)-isômeros respectivamente). Um composto quiral pode
20 existir como um enantiômero individual ou como uma mistura deste. Uma mistura que contém proporções iguais dos enantiômeros é chamada uma "mistura racêmica".

Os compostos desta invenção podem possuir um ou mais centros assimétricos. Tais compostos podem, portanto, ser produzidos como (R)- ou
25 (S)-estereoisômeros individuais ou como misturas destes. Por exemplo, os carbonos numerados 20, 22 e 24 em compostos **9**, **11** e **21** como descrito na seção de Exemplificação são cada qual ligado a um átomo de hidrogênio, um grupo metila, e dois grupos metileno diferentes, e portanto, estes carbonos são centros assimétricos. Os compostos **9**, **11** e **21** podem existir
30 como estereoisômeros. A menos que de outra maneira indicado, a descrição ou designação de um composto particular na especificação e reivindicações é pretendida incluir ambos os enantiômeros individuais e misturas,

racêmicas ou de outra maneira, destes. A descrição é da mesma forma pretendida incluir todos os diastereômeros possível e misturas destes. Os métodos para a determinação de estereoquímica e a separação de estereoisômeros são bem-conhecidos na técnica (veja discussão no

5 Capítulo 4 de "Advanced Organic Chemistry", 4ª edição J. March, John Wiley e Sons, New York, 1992).

"**Oticamente puro**": Como geralmente entendido por aqueles versados na técnica, um composto opticamente puro é um que é enantiomericamente puro. Quando aqui empregado, o termo "opticamente

10 puro" é pretendido significar um composto que compreende pelo menos uma quantidade suficiente de um único enantiômero para produzir um composto tendo a atividade farmacológica desejada. Preferivelmente, "opticamente puro" é pretendido significar pelo menos um composto que compreende 90% de um único isômero (80% de excesso enantiomérico), preferivelmente pelo

15 menos 95% (90% e.e.), mais preferivelmente pelo menos 97,5% (95% e.e.), e muito mais preferivelmente pelo menos 99% (98% e.e.). Preferivelmente, os compostos da invenção são opticamente puros.

"**Grupo de proteção**" refere-se a um grupo químico que exhibe as seguintes características: 1) reage seletivamente com a funcionalidade

20 desejada em bem rendimento para produzir um substrato protegido que é estável às reações projetadas para as quais proteção é desejada; 2) é seletivamente removível do substrato protegido para produzir a funcionalidade desejada; e 3) é removível em bom rendimento por reagentes compatíveis com o(s) outro(s) grupo(s) funcional(is) presente(s) ou gerado(s)

25 em tais reações projetadas. Exemplos de grupos de proteção adequados podem ser encontrados em Greene e outros (1991) Protective Groups in Organic Synthesis, 2ª Ed. (John Wiley & Sons, Inc., New York). Grupos de proteção de amino preferidos incluem, porém não são limitados a, benziloxicarbonila (CBz), t-butiloxicarbonila (Boc), t-butildimetilsilila

30 (TBDMS), 9-fluorenilmetil-oxicarbonila (Fmoc), ou grupos de proteção fotolábeis adequados tais como 6-nitroveratriloxi carbonila (Nvoc), nitropiperonila, pirenilmtoxycarbonila, nitrobenzila, dimetil dimetoxibenzila, 5-

bromo-7-nitroindolinila, e similares. Grupos de proteção de hidroxila preferidos incluem acetila (Ac), benzoila (Bz), benzila (Bn), Tetraidropiranila (THP), TBDMS, grupos de proteção fotolábeis (tal como éter de nitroveratril oximetila (Nvom)), Mom (éter de metóxi metila), e Mem (éter de metóxi etóxi metila). Grupos de proteção particularmente preferidos incluem NPEOC (4-nitrofenetiloxicarbonila) e NPEOM (4-nitrofenetilóxi-metiloxicarbonila).

"**Pró-fármacos**": refere-se a um composto que pode sofrer processo para liberar uma molécula de fármaco ativa. Compostos da Fórmula (I) e da Fórmula (II) de acordo com a invenção são pró-fármacos como o ligante L pode ser clivado para liberar uma Rifamicina. Em particular, pró-fármacos da presente invenção incluem compostos que liberam, *in vivo*, um fármaco origem ativo (isto é, compostos da Fórmula A1 como definido aqui) quando tal pró-fármaco é administrado a um indivíduo.

"Pró-fármacos" da mesma forma incluem compostos de pró-fármaco complexos que sofrem dois ou mais eventos no processamento de pró-fármaco. De acordo com esta modalidade, pró-fármacos complexos liberariam, no processamento, um pró-fármaco da Fórmula (I) ou da Formula (II) que sucessivamente sofre clivagem para liberar uma Rifamicina desejada.

Compostos de pró-fármaco complexos de acordo com a presente invenção podem ser preparados modificando-se grupos funcionais presentes em Rifamicinas fosfonadas, tais como grupos hidróxi e aminos. Exemplos de pró-fármacos complexos incluem, porém não são limitados a, ésteres (por exemplo, derivados de acetato, formiato, e benzoato) e carbamatos (por exemplo, N,N-dimetilaminocarbonila) de grupos funcionais hidróxi de Rifamicinas fosfonadas.

Um "pró-fármaco farmaceuticamente aceitável" é pretendido significar pró-fármaco de uma Rifamicina fosfonada, tal como um pró-fármaco de um composto da Fórmula (I) e/ou da Fórmula (II), em uma formulação que pode ser administrada a um indivíduo, tal como um mamífero, preferivelmente um ser humano. Por exemplo, o pró-fármaco pode ser em uma formulação que compreende um excipiente ou veículo

farmaceuticamente aceitável.

Um "**metabólito ativo farmaceuticamente aceitável**" é pretendido significar um produto farmacologicamente ativo produzido através do metabolismo no corpo de um composto da Fórmula (I) ou Fórmulas (II) como
5 definido aqui.

Um "**solvato farmaceuticamente aceitável**" é pretendido significar um solvato que mantém a eficácia biológica e propriedades dos componentes biologicamente ativos de compostos da Fórmula I e/ou Fórmula II. Exemplos de solvatos farmaceuticamente aceitáveis incluem,
10 porém, não são limitados a água, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etila, ácido acético, e etanolamina.

Um "**excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável**" significa qualquer composto, solução, substância ou material que pode ser empregado em uma formulação dos compostos da presente invenção que
15 podem ser administrados a um indivíduo. Em particular, veículos e excipientes da presente invenção são aqueles úteis na preparação de uma composição farmacêutica que é geralmente segura, não-tóxica e nem biologicamente nem de outra maneira indesejável, e que podem apresentar perfis farmacologicamente favoráveis e que incluem veículos e excipientes
20 que são aceitáveis para uso veterinário bem como uso farmacêutico humano. Excipientes e veículos farmaceuticamente aceitáveis são bem-conhecidos na técnica e podem ser determinados por aqueles de experiência na técnica como as permissões de situação clínica. O técnico versado entenderá que diluente está incluído no escopo dos termos veículos
25 e excipientes. Exemplos de excipientes e veículos adequados incluem solução salina, solução salina tamponada, dextrose, água, glicerol, etanol, mais particularmente: (1) solução salina tamponada de fosfato de Dulbecco, pH cerca de 7,4, contendo cerca de 1 mg/ml a 25 mg/ml de albumina de soro humano, (2) 0,9% de solução salina (0,9% de p/v de NaCl), (3) 5% (p/v) de
30 dextrose, e (4) água.

Um "**sal farmaceuticamente aceitável**" é pretendido significar um sal de uma Rifamicina fosfonada, tal como um sal de um composto da

Fórmula (I) e/ou Fórmula (II), em uma formulação que pode ser administrada a um indivíduo, tal como um mamífero, preferivelmente um ser humano. Por exemplo, o sal pode estar em uma formulação que compreende um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

5 **"Sal":** Rifamicinas fosfonadas da presente invenção podem ser na forma de um sal. Sais de Rifamicinas fosfonadas da presente invenção significam um sal que mantém ou melhora a eficácia biológica e propriedades das bases e ácidos livres do composto origem como definido aqui ou que leva vantagem de uma funcionalidade intrinsecamente
10 carregada na molécula e que não é biologicamente ou de outra maneira indesejável. Tais sais incluem o seguinte:

(1) sais de adição de ácido, formados com ácidos inorgânicos tais como ácido clorídrico, ácido hidrobromico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, e similares; ou formados com ácidos orgânicos tais como ácido
15 acético, ácido propiônico, ácido hexanóico, ácido ciclopentanopropiônico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malônico, ácido succínico, ácido málico, ácido maléico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzóico, ácido cinâmico, ácido mandélico, ácido metanossulfônico, ácido etanossulfônico, ácido 1,2-etano-
20 dissulfônico, ácido 2-hidroxietanossulfônico, ácido benzenossulfônico, ácido 4-clorobenzenossulfônico, ácido 2-naftalenossulfônico, ácido 4-toluenossulfônico, ácido canforsulfônico, ácido 3-fenil propiônico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciário, ácido lauril sulfúrico, ácido glicônico, ácido glutâmico, ácido hidroxinaptóico, ácido salicílico, ácido
25 esteárico, ácido mucônico, e similares;

(2) sais formados quando um próton ácido presente no composto origem é substituído por um íon de metal, por exemplo, um íon de metal alcalino, um íon de metal alcalino terroso, ou um íon de alumínio; ou coordenados com uma base orgânica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, e similares; ou
30

(3) sais formados quando uma funcionalidade carregada está presente na molécula e um contra-íon adequado está presente, tal como uma

funcionalidade de tetraalquil(aril)amônio e um íon de metal alcalino, uma funcionalidade de tetraalquil(aril)fosfônio e um íon de metal alcalino, uma funcionalidade de imidazólio e um íon de metal alcalino, e similares.

Quando aqui empregado, os termos "**osso**", "**tecidos de osso**" ou
5 "**tecidos ósseos**" se referem ao tecido conjuntivo denso, semi-rígido, poroso, calcificado formando a porção principal do esqueleto da maioria dos vertebrados. Da mesma forma abrange dentes, tecidos osteo-articulares e calcificações que são freqüentemente vistas nas paredes de vasos ateroscleróticos.

10 Quando aqui empregado, os termos "**Rifamicina**" e "**Rifamicinas**" significam igualmente o composto identificado como a própria Rifamicina, bem como todos os compostos derivados tendo atividade antimicrobiana entendida pelo técnico versado cair dentro da classe de Rifamicina de compostos. Estes compostos derivados podem ser variadamente descritos
15 aqui como "**moléculas antimicrobianas derivadas de Rifamicina**", "**moléculas derivadas de Rifamicina**", "**agentes antibacterianos derivados de Rifamicina**" e "**derivados de Rifamicina**". Tais termos relacionados têm o mesmo significado e se referem a agentes antimicrobianos que são parte da classe bem-conhecida de "**Rifamicinas**"
20 como descrito aqui em mais detalhe. Tais compostos derivados são análogos químicos de Rifamicina que tem atividade antimicrobiana (por exemplo, antibacteriana). Estes derivados serão entendidos pelo técnico versado por ser similares na estrutura para Rifamicina, porém, da mesma forma inclui aqueles compostos químicos não-tradicionalmente definidos
25 como uma Rifamicina. Derivados de Rifamicina incluem, porém, não são limitados àqueles compostos da fórmula (IA) da presente invenção. Exemplos específicos incluem Rifampicina (US 3.342.810), Rifapentina (US 4.002.752), Rifandina (US 4.353.826), Rifabutinaa (US 4.219.478), Rifalazil (US 4.983.602) e Rifaximina (US 4.341.785).

30 O termo "grupo fosfonado" é pretendido significar qualquer composto não-tóxico a seres humanos tendo pelo menos um átomo de fósforo ligado a pelo menos três átomos de oxigênio e tendo uma afinidade

mensurável a tecidos ósseos como descrito em seguida.

O termo "antibacteriano" inclui aqueles compostos que inibem, detem ou reverterem o crescimento de bactérias, aqueles compostos que inibem, detem ou reverterem a atividade de enzimas bacterianas ou trilhas bioquímicas, aqueles compostos que matam ou ferem bactérias, e aqueles compostos que bloqueiam ou reduzem o desenvolvimento de uma infecção bacteriana.

Os termos "**tratar**" e "**tratamento**" são pretendidos significar pelo menos a mitigação de uma condição de doença associada com uma infecção bacteriana em um indivíduo, incluindo mamíferos tal como um ser humano, que é aliviado por uma redução de crescimento, replicação, e/ou propagação de qualquer bactéria tais como organismos Gram-positivos ou Gram-negativos, e inclui cura, cicatrização, inibição, mitigação de, melhora e/ou alívio, no toto ou em parte, da condição de doença.

O termo "**profilaxia**" é pretendido significar pelo menos uma redução na probabilidade que uma condição de doença associada com uma infecção bacteriana desenvolverá em um indivíduo, tal como um mamífero, preferivelmente um ser humano. Os termos "prevenir" e "prevenção" são pretendidos significar bloquear ou parar uma condição de doença associada com uma infecção bacteriana de desenvolver-se em um indivíduo, tal como um mamífero, preferivelmente um ser humano. Em particular, os termos são relacionados ao tratamento de um indivíduo para reduzir a probabilidade ("**profilaxia**") ou prevenir a ocorrência de uma infecção bacteriana, tal como infecção bacteriana que pode ocorrer durante ou depois de uma cirurgia que envolve substituição ou reparação óssea. Os termos da mesma forma incluem a redução da probabilidade ("**profilaxia**") de ou prevenção de uma infecção bacteriana quando o mamífero é constatado estar pré-disposto a ter uma condição de doença, porém, não ainda diagnosticado como tendo. Por exemplo, alguém pode reduzir a probabilidade ou pode prevenir uma infecção bacteriana em um indivíduo administrando um composto da Fórmula (I) e/ou Fórmula (II), ou um pró-fármaco farmacologicamente aceitável, sal, metabólito ativo, ou solvato destes, antes da ocorrência de tal

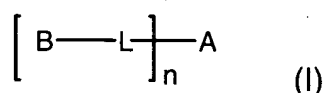
infecção.

O termo "indivíduo" é pretendido significar um animal, tais como pássaros ou mamíferos, incluindo seres humanos e animais de importância veterinária ou agrícola, tais como cachorros, gatos, cavalos, ovelhas, cabras e gado.

C) Compostos da invenção

Como será descrito em seguida na seção de Exemplificação, os inventores têm preparado Rifamicinas fosfonadas tendo uma afinidade de ligação alta para tecidos ósseos.

Em uma modalidade, os compostos da invenção são representados pela Fórmula (I) ou um pró-fármaco ou sal farmaceuticamente aceitável destes:



em que:

B é um grupo fosfonado;

L é um ligante de clivável para acoplar **B** a **A**;

n é 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7, preferivelmente 1, 2 ou 3; e

A é uma Rifamicina.

Como previamente mencionado, a essência da invenção consiste na presença de um de grupo fosfonado reversivelmente acoplado a uma Rifamicina por meio de um ligante clivável para o propósito de aumentar a afinidade, ligação, acúmulo e/ou tempo de retenção da Rifamicina em ou dentro dos ossos, enquanto permitindo sua liberação gradual através do ligante clivável ou liberação do composto do osso.

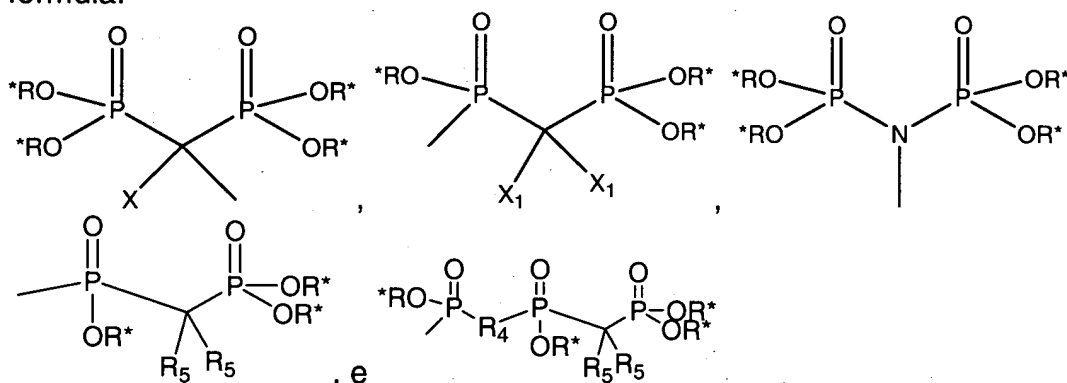
Fosfonatos

Todos os grupos fosfonados não-tóxicos tendo uma afinidade alta ao osso devido a sua capacidade de ligar os íons de Ca^{2+} encontrados na hidroxiapatita formando os tecidos ósseos são adequados de acordo com a presente invenção. Exemplos adequados de grupos fosfonados podem ser encontrados em WO 04/026315 (Ilex Oncology Research), US 6.214.812 (MBC Research), US 5.359.060 (Pfizer), US 5.854.227 e US 6.333.424

(Elizanor Pharm.), US 6.548.042 (Arstad e Skattelbol) e WO 2004/089925 (Semaphore Pharmaceuticals).

Exemplos de grupos bisfosfonato e trifosfonato adequados para a presente invenção incluem, porém, não são limitados àqueles tendo a

5 fórmula:



em que:

10 cada **R*** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois, preferivelmente três, **R*** sejam H;

R₄ é CH₂, O, S, ou NH;

15 cada **R₅** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, **R₆**, **OR₆**, **NR₆**, e **SR₆**, em que **R₆** é H, alquila inferior, cicloalquila, arila, heteroarila ou NH₂;

X é H, OH, NH₂, ou um grupo halo; e

X₁ são igualmente H, ou cada qual é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, OH, NH₂, e um grupo halo.

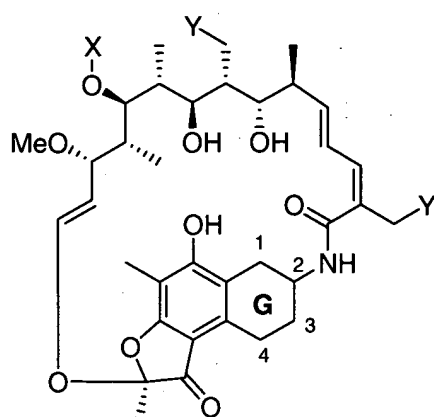
20 Embora monofosfonatos, bisfosfonatos, e tris- ou tetrafosfonatos possam potencialmente ser empregados, bisfosfonatos são preferidos. Mais preferivelmente, o grupo bisfosfonato é o bisfosfonato -CH(P(O)(OH)₂)₂. Como mostrado no Exemplo 3, em seguida, Rifamicinas que possuem um tal grupo bisfosfonato têm uma afinidade de ligação forte para pó de osso. Naturalmente, outros tipos de grupo fosfonado podem ser selecionados e ser
25 sintetizados por aqueles versados na técnica. Por exemplo, o grupo fosfonado pode ser um radical de bisfosfonato ativado por esterase (Vepsäläinen J., Current Medicinal Chemistry, 9, 1201-1208, 2002) ou ser

qualquer outro pró-fármaco adequado deste. Estes e outros grupos fosfonados adequados são abrangidos pela presente invenção.

Rifamicinas

Rifamicinas são uma classe bem-conhecida de agentes antimicrobianos semi-sintéticos. Rifampina (da mesma forma geralmente significada como Rifampicina) (US 3.342.810), Rifapentina (US 4.002.752), Rifabutinaa (US 4.219.478), e Rifalazil (US 4.983.602) estão entre os melhores compostos conhecidos nesta classe. Estes fármacos provaram ser muito bem-sucedidos economicamente e clinicamente. A presente invenção não está restringida a uma Rifamicina específica, porém, abrange Rifamicina derivada de moléculas antimicrobianas tendo uma atividade antimicrobiana adequada incluindo, porém, não-limitada a, Rifandina (US 4.353.826) e Rifaximina (US 4.341.785), bem como outros derivados de Rifamicina e híbridos, tais como aqueles descritos nos pedidos de patente dos Estados Unidos 2003/0105086, 2005/0043298, 2005/0143374, 2005/0203076, 2005/0203085, 2005/0209210, 2005/0256096, 2005/0261262, 2005/0277633, 2006/0019985, e 2006/0019986 ou aqueles descritos nas Patentes de Organização de Propriedade Intelectual Mundial 03045319 e 03051299, bem como pedidos de patente 2004034961 e 2005062882. Aqueles versados na técnica preparará facilmente às moléculas antimicrobianas derivadas de Rifamicina de acordo com a invenção. Se necessário, o técnico versado pode referir-se às numerosas literaturas encontradas na técnica, incluindo as patentes US, pedidos de patente PCT e publicações científicas listadas em seguida, e incorporados aqui por referência.

De acordo com uma modalidade, as Rifamicinas para uso de acordo com a invenção são selecionadas a partir de compostos que incluem-se na seguinte fórmula genérica (A1) ilustrada abaixo:

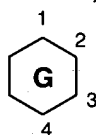


A1

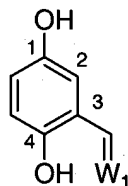
em que:

X é H- ou R_1CO- , em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída a partir de 1 - 6 carbonos;

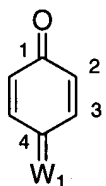
- 5 cada Y é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H- e $RO-$, em que R é H-, R_1- , ou R_1CO- , com R_1 definido como acima;



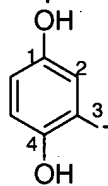
é selecionada a partir do grupo que consiste nas fórmulas **A2-A10**:



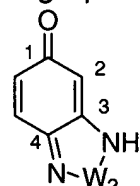
A2



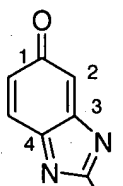
A3



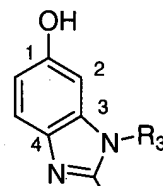
A4



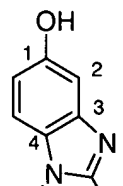
A5



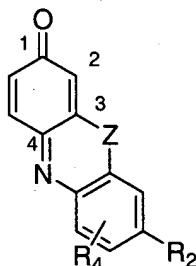
A6



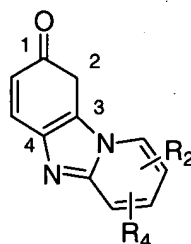
A7



A8



A9



A10

- 10 em que:

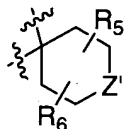
R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 10 carbonos, ou um grupo dialquil amino, preferivelmente o referido grupo dialquil amino é uma piperidina substituída, um morfolina substituída ou uma piperazina substituída;

R_3 é H- ou cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 7 carbonos;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 3 carbonos;

5 W_1 é oxigênio ou $-NR_2$ com R_2 como definido acima;

W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo:



, em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 5 carbonos, e Z' é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, -

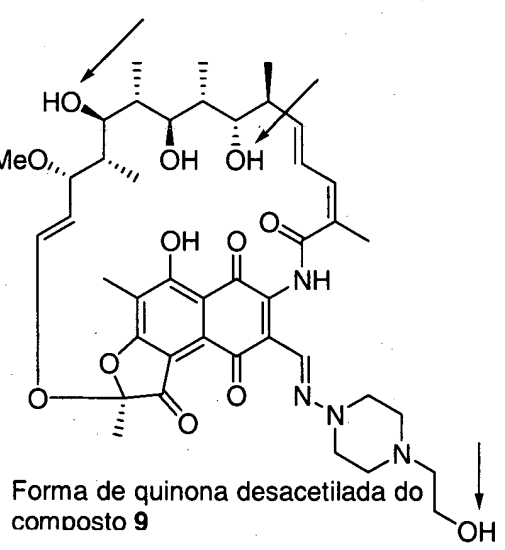
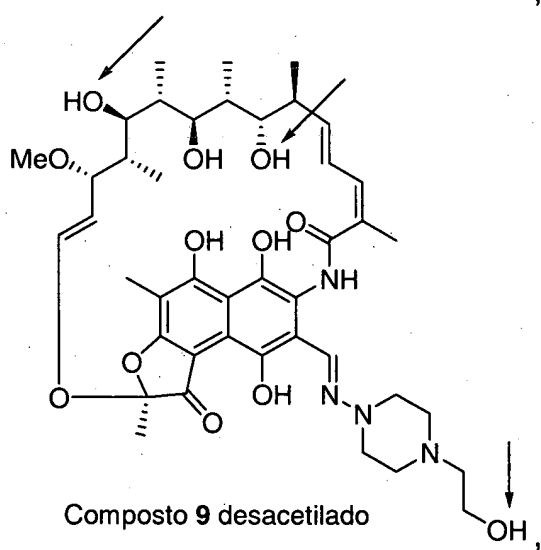
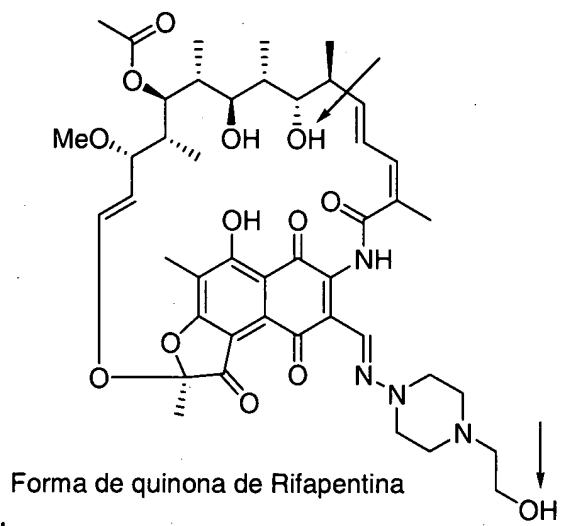
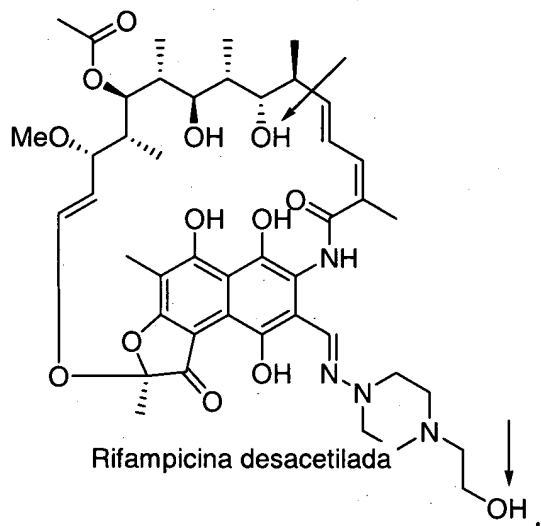
10 NR_1 ou $N(O)R_1$ onde R_1 é como definido acima;

T é um halogênio ou R_2 , onde R_2 é como definido acima; e

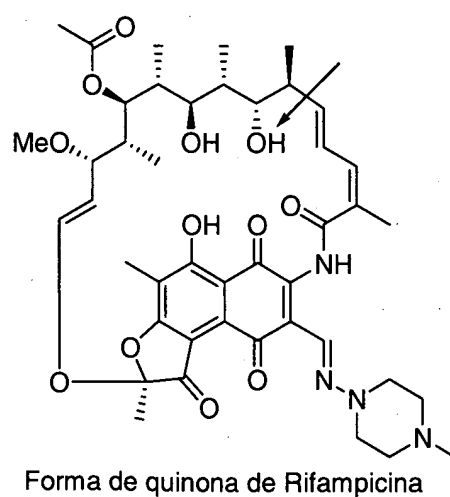
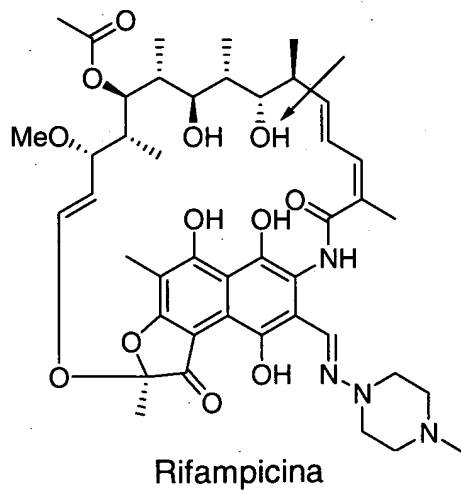
Z é O, S ou NR_3 , onde R_3 é como definido acima.

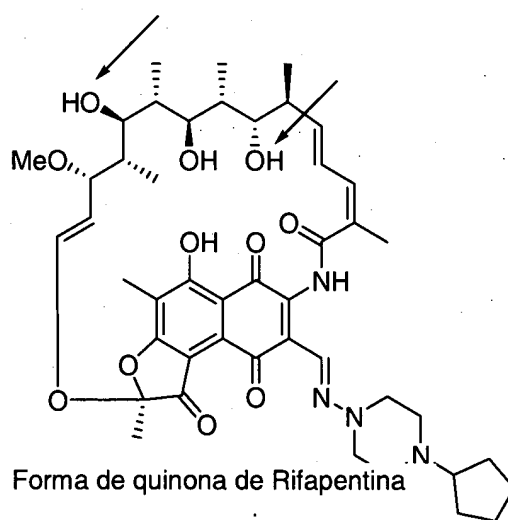
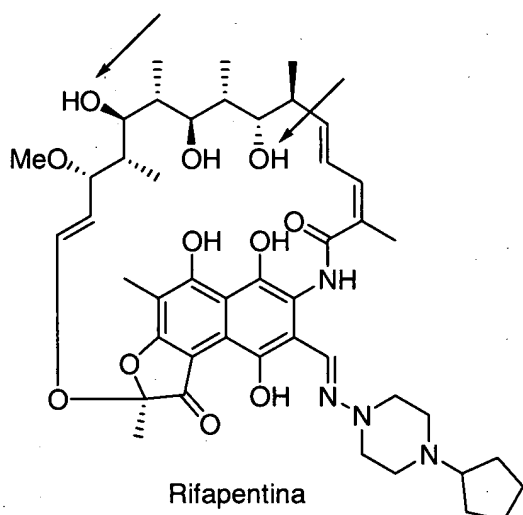
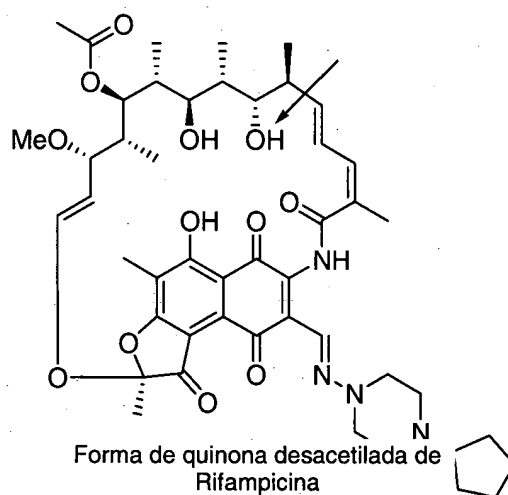
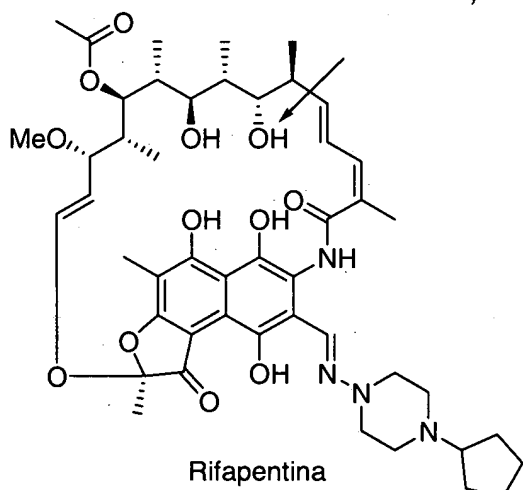
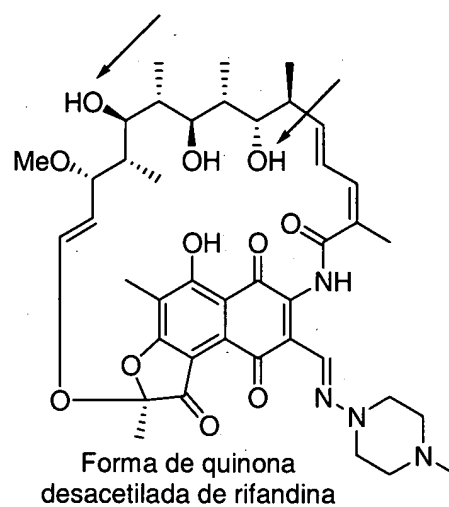
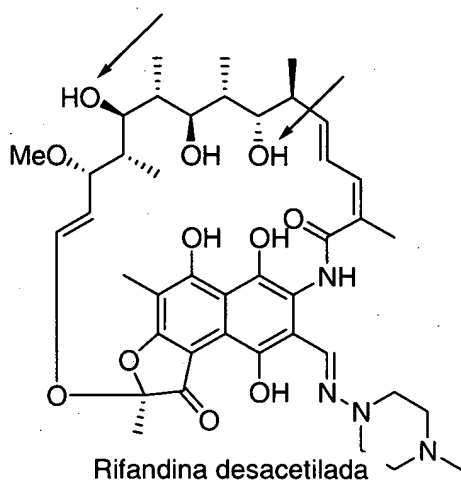
De acordo com uma modalidade particular, a Rifamicina é Rifampicina, sua forma de quinona, suas formas desacetiladas ou a forma desacetilada de sua forma de quinona. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é a hidrazona de 1-amino-4-(2-hidroxi-etil)piperazina e 3-formil Rifamicina S (composto 9 no Exemplo 1), sua forma de quinona, sua forma desacetilada ou sua forma desacetilada de sua forma de quinona. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é Rifabutinaa ou sua forma desacetilada. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é Rifapentina, sua forma de quinona, sua forma desacetilada ou sua forma desacetilada de sua forma de quinona. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é Rifalazil ou sua forma desacetilada. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é Rifamixina ou sua forma desacetilada. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é Rifandina, sua forma de quinona, sua forma desacetilada ou sua forma desacetilada de sua forma de quinona. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é o composto 56 no exemplo 1 ou sua forma desacetilada. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é o composto 63 no exemplo 1 ou sua forma desacetilada. De acordo com outra modalidade particular, a Rifamicina é o composto 69 no exemplo 1 ou sua

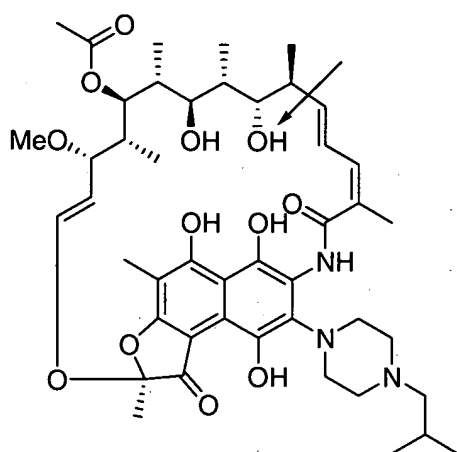
forma desacetilada. As estruturas químicas destas moléculas são ilustradas em seguida. As setas indicam sítios preferidos para ligação do grupo fosfonado.



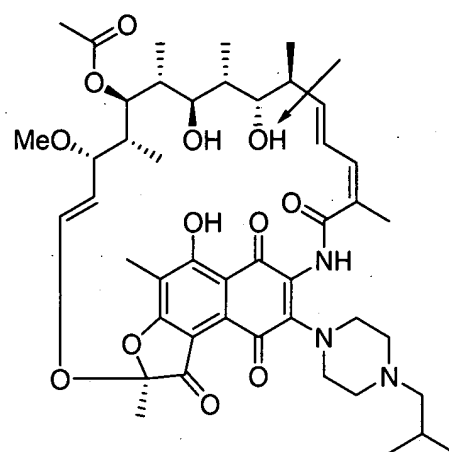
5



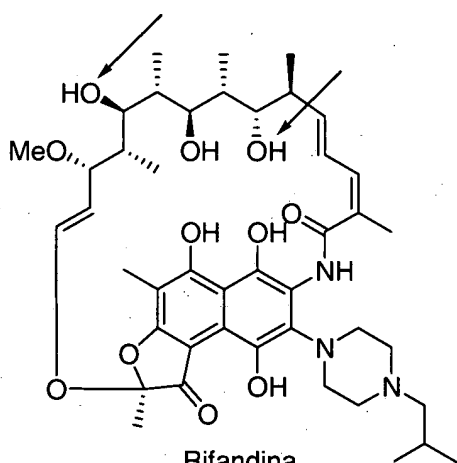




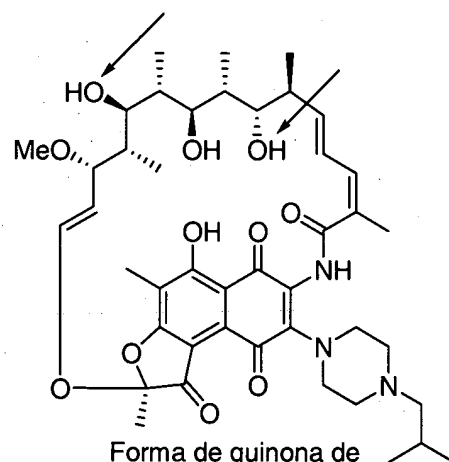
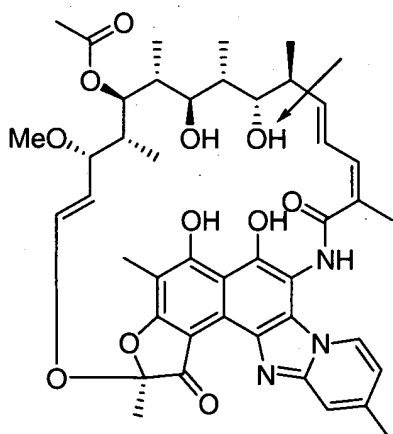
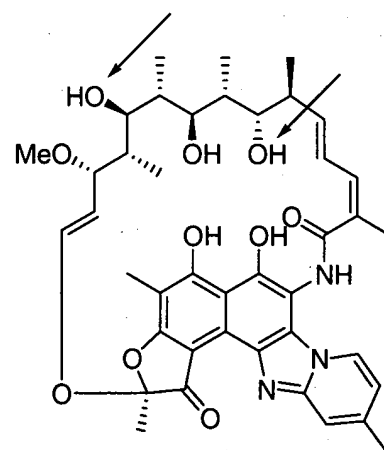
Rifalazil

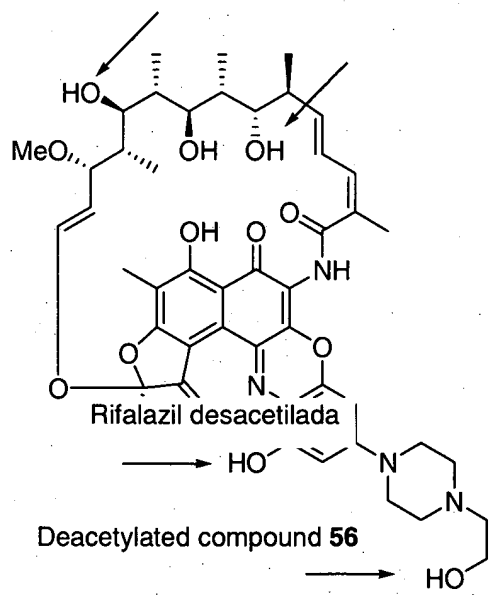
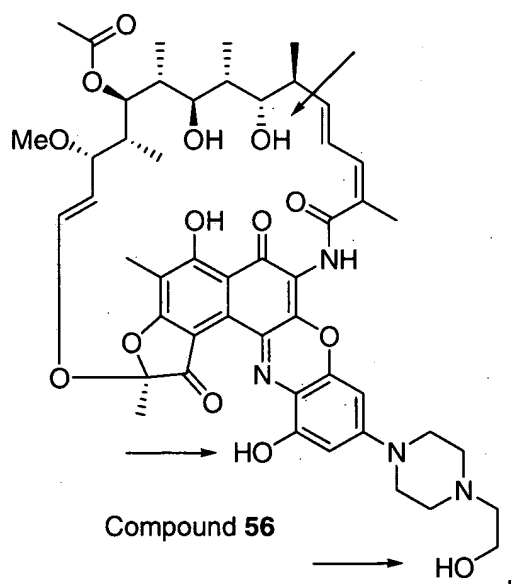
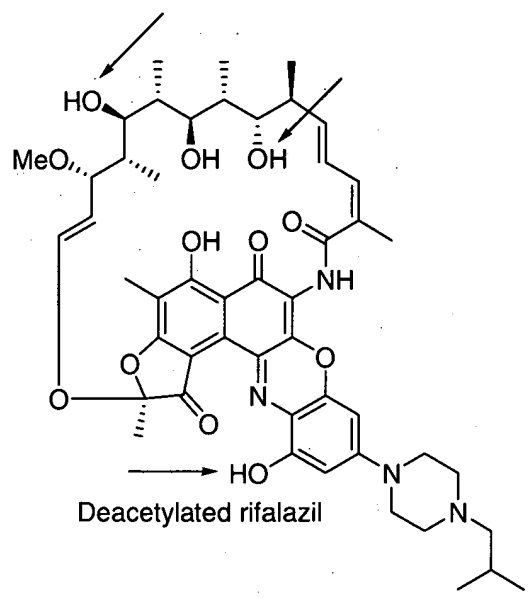
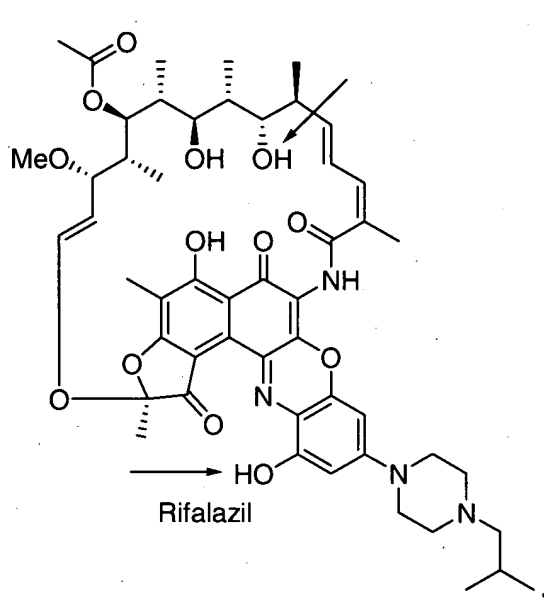


Rif Rifamixina desacetilada

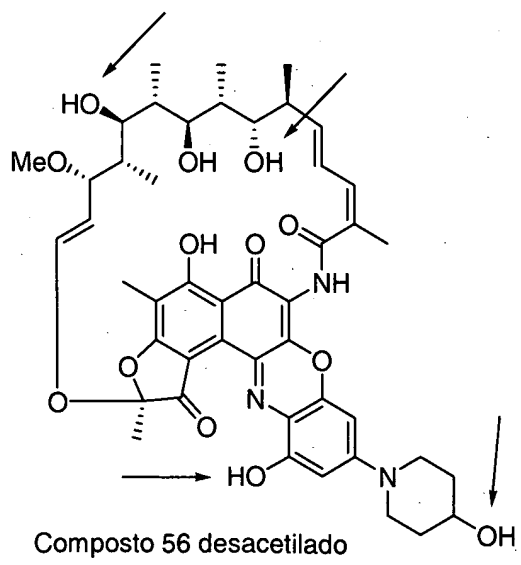
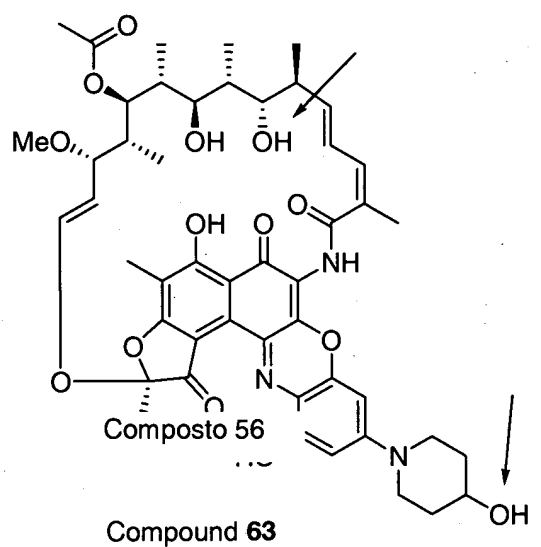


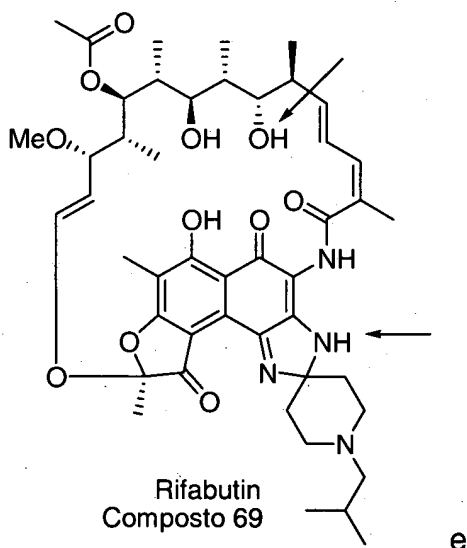
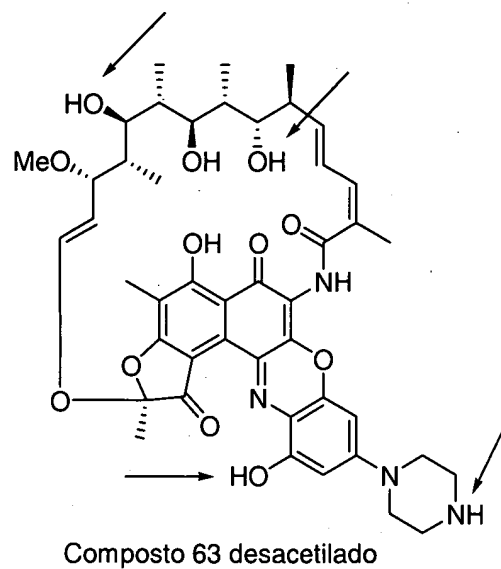
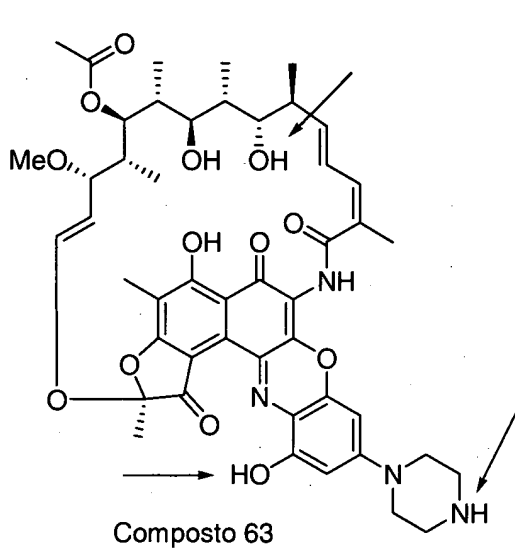
Rifandina

Forma de quinona de
rifandinaRifamixin
Rifampicina desacetiladaForma de quinona
desacetilada de rifapentina

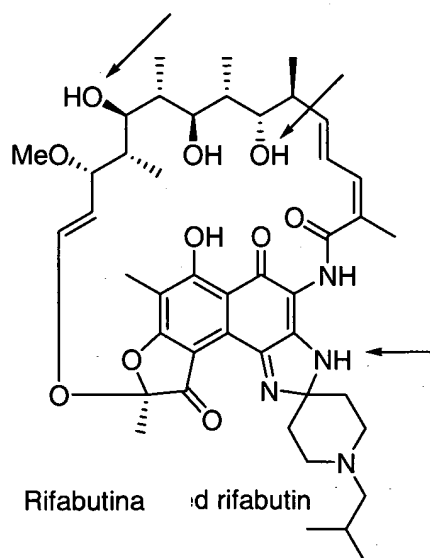


Deacetylated compound 56





Composto 69 desacetilado



Rifabutina desacetilado

Exemplos específicos de Rifamicinas fosfonadas de acordo com a
5 invenção são mostrados na seção de Exemplificação. A presente invenção

da mesma forma abrange Rifamicinas fosfonadas tendo mais do que um grupo fosfonado. Como previamente mencionado, os sítios de ligação identificados acima são apenas sítios preferidos para amarrar um grupo fosfonado e todos os outros sítios potenciais (por exemplo, em quaisquer dos grupos hidroxila de uma Rifamicina) são protegidos pela presente invenção.

Ligantes

Um ligante **L** covalentemente e reversivelmente clivável acopla o grupo fosfonado **B** a uma Rifamicina **A**. Quando aqui empregado, o termo "clivável" refere-se a um grupo que é quimicamente ou bioquimicamente instável sob condições fisiológicas. A instabilidade química preferivelmente resulta em decomposição espontânea devido a um processo químico reversível, uma hidrólise ou reação química intramolecular (isto é, divisão da molécula ou grupo em duas ou mais novas moléculas ou grupos devido à inserção líquida de uma ou mais moléculas de água) quando depende de uma reação química intermolecular.

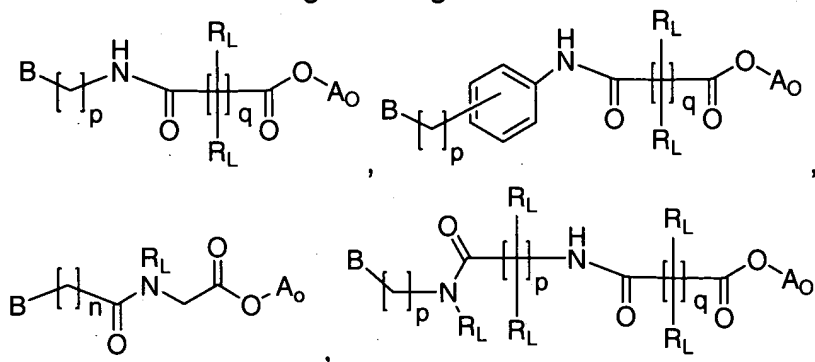
Clivagem do ligante pode ser muito rápida ou muito lenta. Por exemplo, a meia-vida do ligante clivável pode ser de cerca de 1 minuto, cerca de 15 minutos, cerca de 30 minutos, cerca de 1 hora, cerca de 5 horas, cerca de 10 horas, cerca de 15 horas, cerca de 1 dia ou cerca de 48 horas. O ligante clivável pode ser um ligante sensível à enzima que é apenas clivável por enzimas específicas selecionadas (por exemplo, amidase, esterase, metaloproteinase, etc) ou pode ser suscetível à clivagem por outros meios químicos, tal como porém não-limitado a catalisadores de ácido / base ou auto-clivagem. Por exemplo, um ligante sensível à esterase que é apenas clivável por esterases específicas de osso (Goding e outros Biochim Biophys Acta (2003), 1638(1):1-19) ou metaloproteinase específica de osso (MMP) (Kawabe e outros, Clin Ortop. (1986) 211:244-51; Tuckermann e outros, Differentiation (2001), 69(1):49-57; Dellers e outros, Biochem J. (1978) 171(2):493-6) ou pela ação de fosfatases alcalinas, desse modo, liberando a Rifamicina em seu sítio desejado de ação pode ser empregado. Similarmente, um ligante clivável que não é muito facilmente

- clivável no plasma, desse modo, permitindo uma quantidade suficiente da Rifamicina fosfonada alcançar e acumular-se dentro dos tecidos ósseos antes de ser clivada para liberar a Rifamicina pode ser empregado. Por exemplo, o ligante pode ser selecionado tal que apenas 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, ou 70% do antibiótico ligado ao osso é liberado através de um período de tempo prolongando para 1 minuto, 15 minutos, 30 minutos, 1 hora, 5 horas, 10 horas, 15 horas, 1 dia, 2 dias, 3 dias, 4 dias, 5 dias, 6 dias 7 dias, uma semana, duas semanas, três semanas ou mais seguindo a administração do composto da invenção.
- 10 Preferivelmente, o ligante é selecionado tal que apenas cerca de 1% a cerca de 25% da Rifamicina ligada ao osso é liberado por dia. A escolha do ligante pode variar de acordo com fatores tal como (i) o sítio de ligação do grupo fosfonado para a Rifamicina, (ii) o tipo de grupo fosfonado empregado; (iii) o tipo de Rifamicina empregado, e (iv) a facilidade desejada de clivagem do
- 15 ligante e liberação associada da Rifamicina.

Preferivelmente, o ligante **L** acopla o grupo fosfonado **B** à Rifamicina **A** através de um ou mais grupos hidroxila em **A**, através de um ou mais átomos de nitrogênio em **A**, através de um ou mais grupos sulfidrilas em **A**, ou uma combinação de um ou mais grupos hidroxila, um ou mais átomos de nitrogênio, e/ou um ou mais grupos sulfidrilas, em **A**. Entre 1 e 7 grupos fosfonados podem ser acoplados ao **A** através de qualquer combinação de ligantes **L**.

20

Quando **L** acopla **B** a **A** através de um grupo hidroxila em **A**, preferivelmente **L** é um dos seguintes ligantes:





em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

5 cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

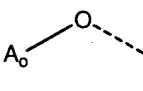
q é 2 ou 3

r é 1, 2, 3, 4 ou 5,

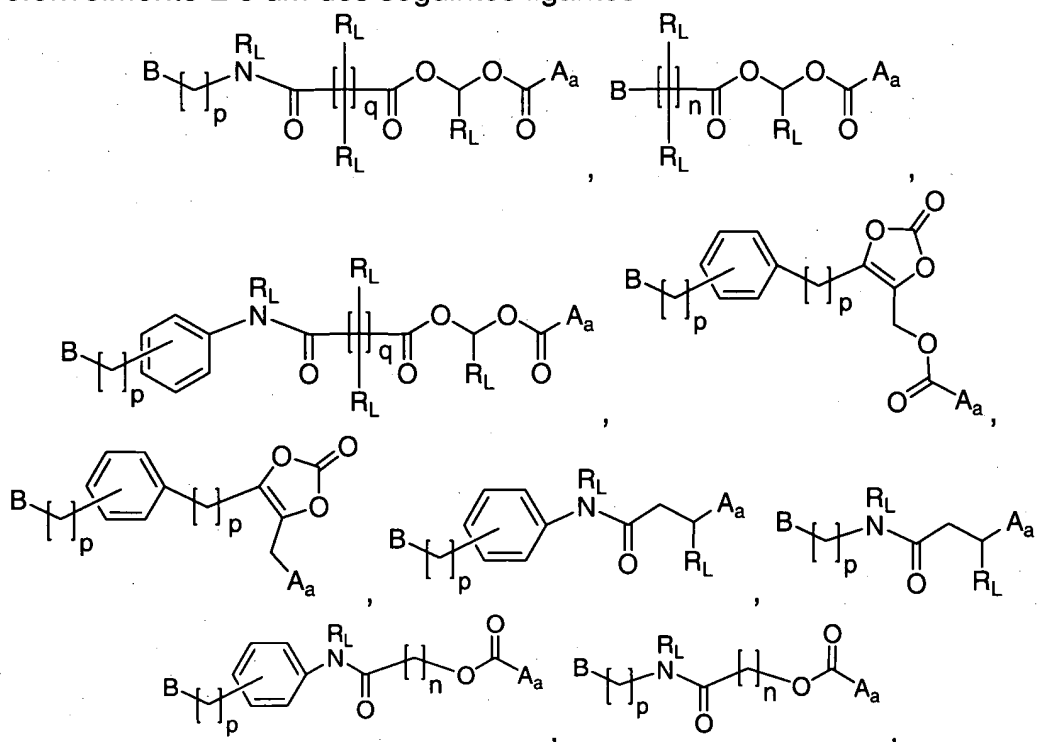
w_1 e w_2 são números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3

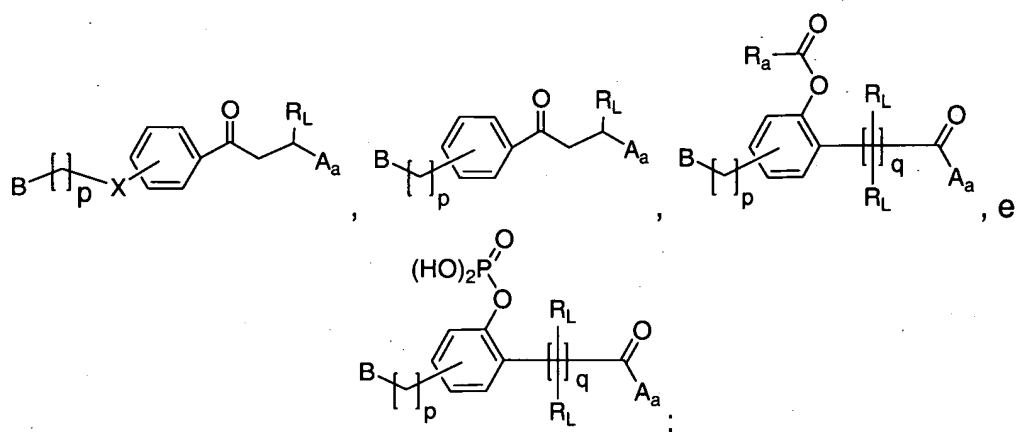
10 cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

B representa o grupo fosfonado;

e a sub-estrutura  do ligante representa a porção de hidroxila de **A**.

15 Quando **L** acopla **B** a **A** através de um átomo de nitrogênio em **A**, preferivelmente **L** é um dos seguintes ligantes:





em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ,
5 preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

q é 2 ou 3;

cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

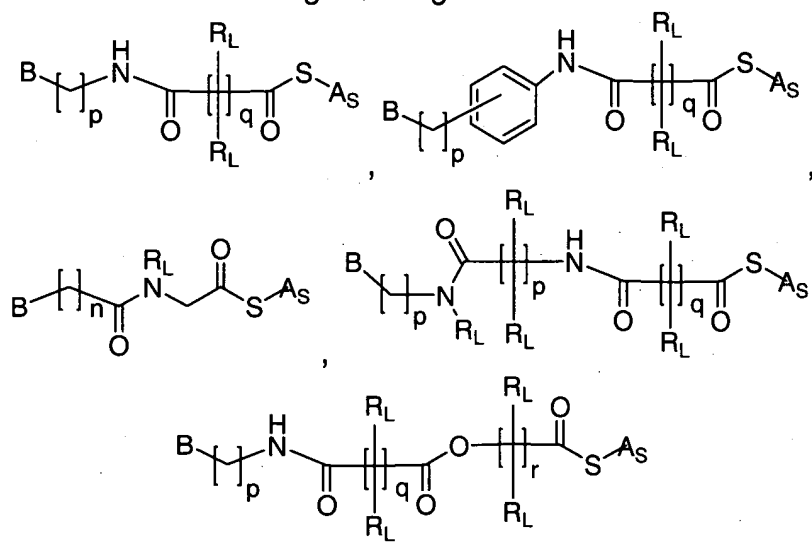
R_a é C_xH_y onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número
10 inteiro de 1 a $2x+1$;

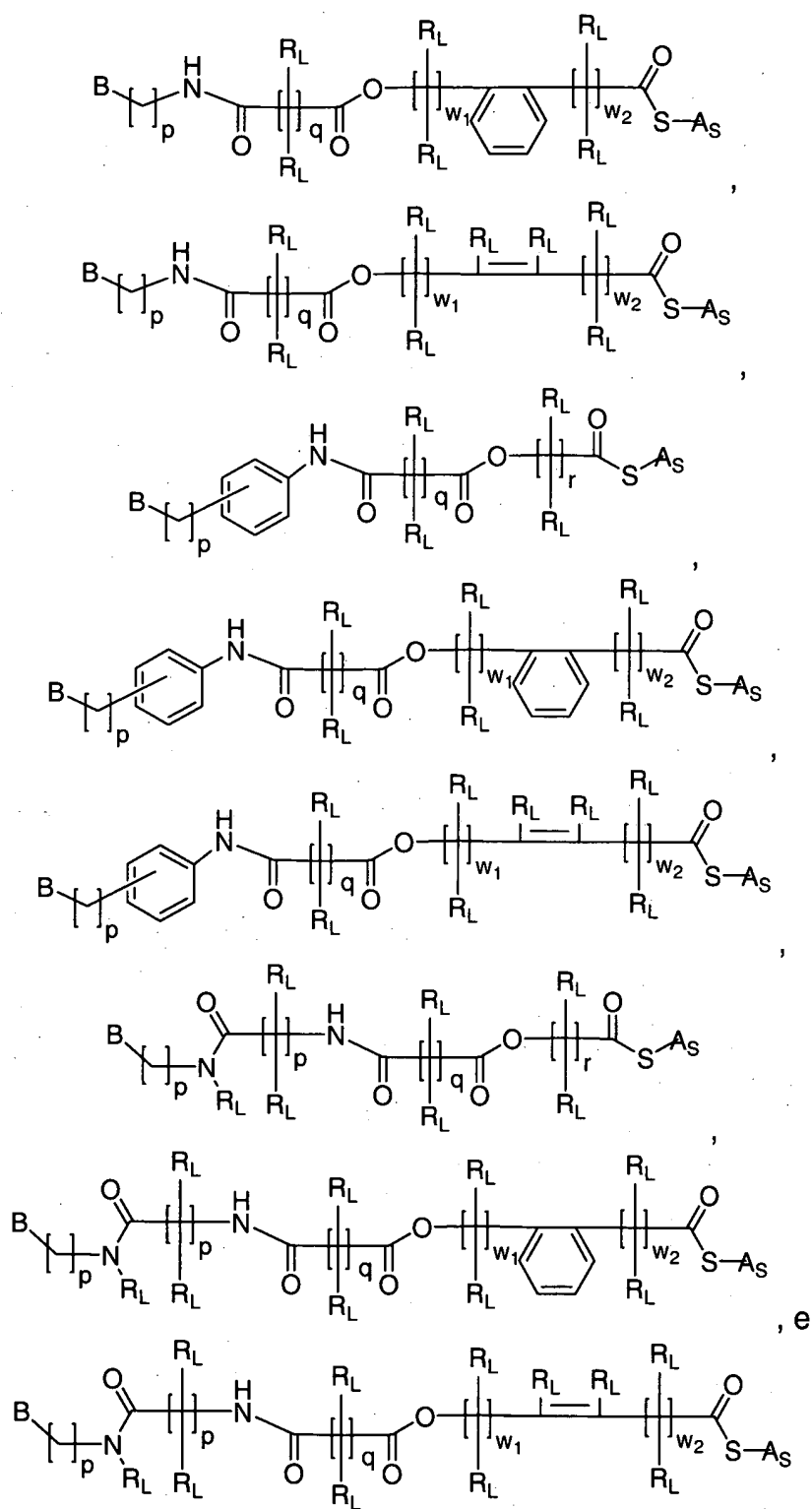
X é CH_2 , $-CONR_L-$, $-CO-O-CH_2-$, ou $-CO-O-$;

B representa o grupo fosfonado; e

A_a representa o átomo de nitrogênio em A .

Quando L acopla B a A através de um grupo sulfidril em A ,
15 preferivelmente L é um dos seguintes ligantes:





em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ,
5 preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

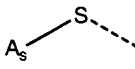
q é 2 ou 3;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5;

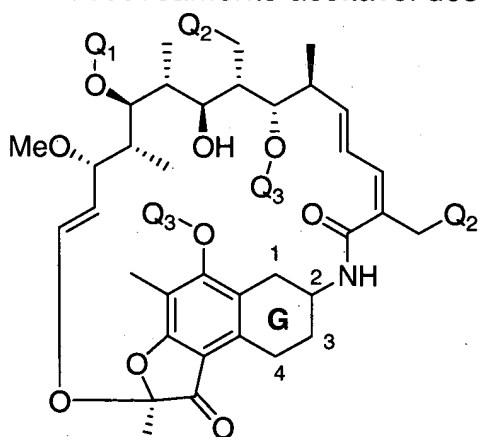
w_1 e w_2 são números inteiros tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3;

5 cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em H, etila e metila, preferivelmente H;

B representa o grupo fosfonado;

E a sub-estrutura  do ligante representa a porção de sulfidril de A;

10 De acordo com outra modalidade particular, os compostos da invenção são representados pela Fórmula (II) ou um pró-fármaco ou sal farmaceuticamente aceitável destes:



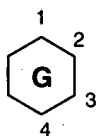
(II)

em que:

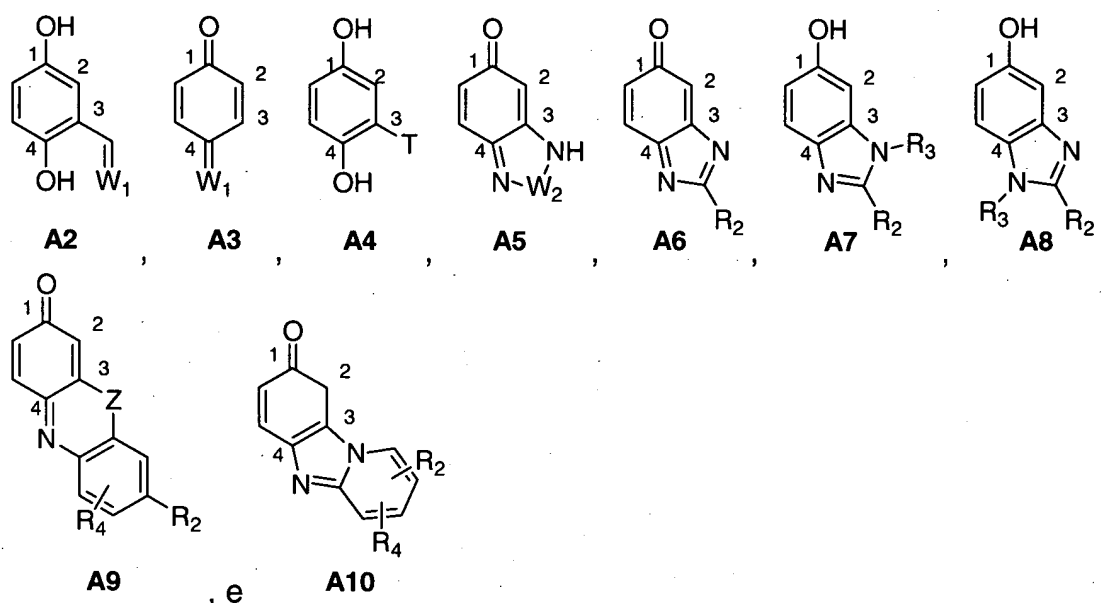
15 Q_1 é H-, R_1CO - ou L_1 -, em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 6 carbonos;

cada Q_2 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H-, RO - e L_2O -, em que R é H-, R_1 - ou R_1CO -, com R_1 definido como acima;

20 cada Q_3 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H- e L_3 -;



é selecionado a partir do grupo que consiste nas fórmulas A2 - A10:



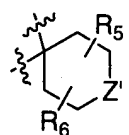
em que

R_2 é H-, cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 10 carbonos ou um grupo dialquil amino, preferivelmente, o referido grupo dialquil amino é uma piperidina substituída, um morfolina substituída ou uma piperazina substituída, em que quando R_2 é uma cadeia de alquila substituída de 1-10 carbonos, uma piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída, o substituinte é um membro selecionado a partir do grupo que consiste em L_4O- , L_5S- e L_6NR_7- , em que R_7 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 7 carbonos;

R_3 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos ou L_7- ;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos, L_8O- ou L_9S- ;

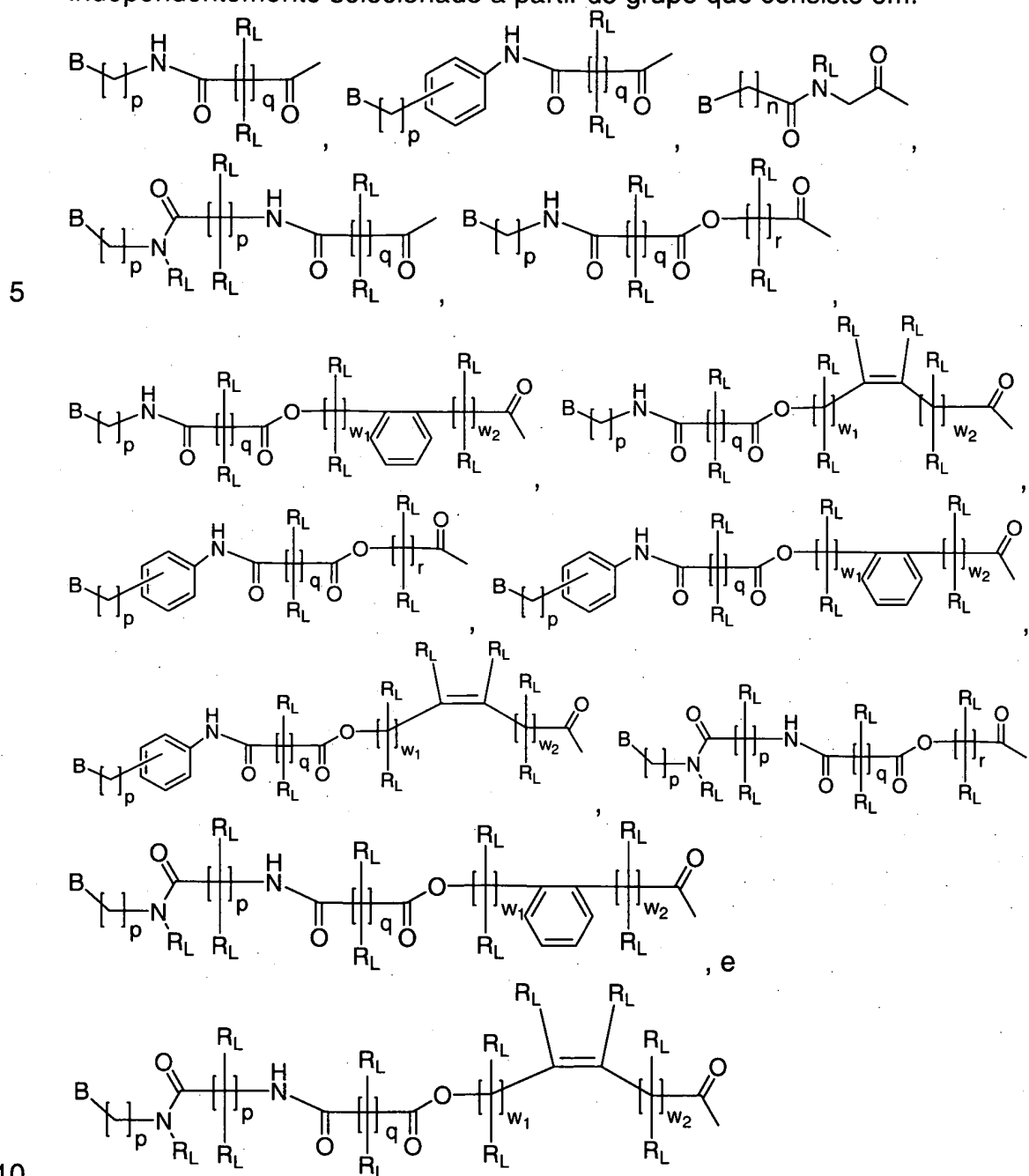
W_1 é oxigênio ou $-NR_2$, com R_2 definido como acima;

W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo , em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e Z' é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, -NR₁ ou -N(O)R₁ onde R_1 é como definido acima;

T é um halogênio ou R_2 onde R_2 é como definido acima;

Z é O, S ou NR_3 , onde R_3 é como definido acima;

cada L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_8 e L_9 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

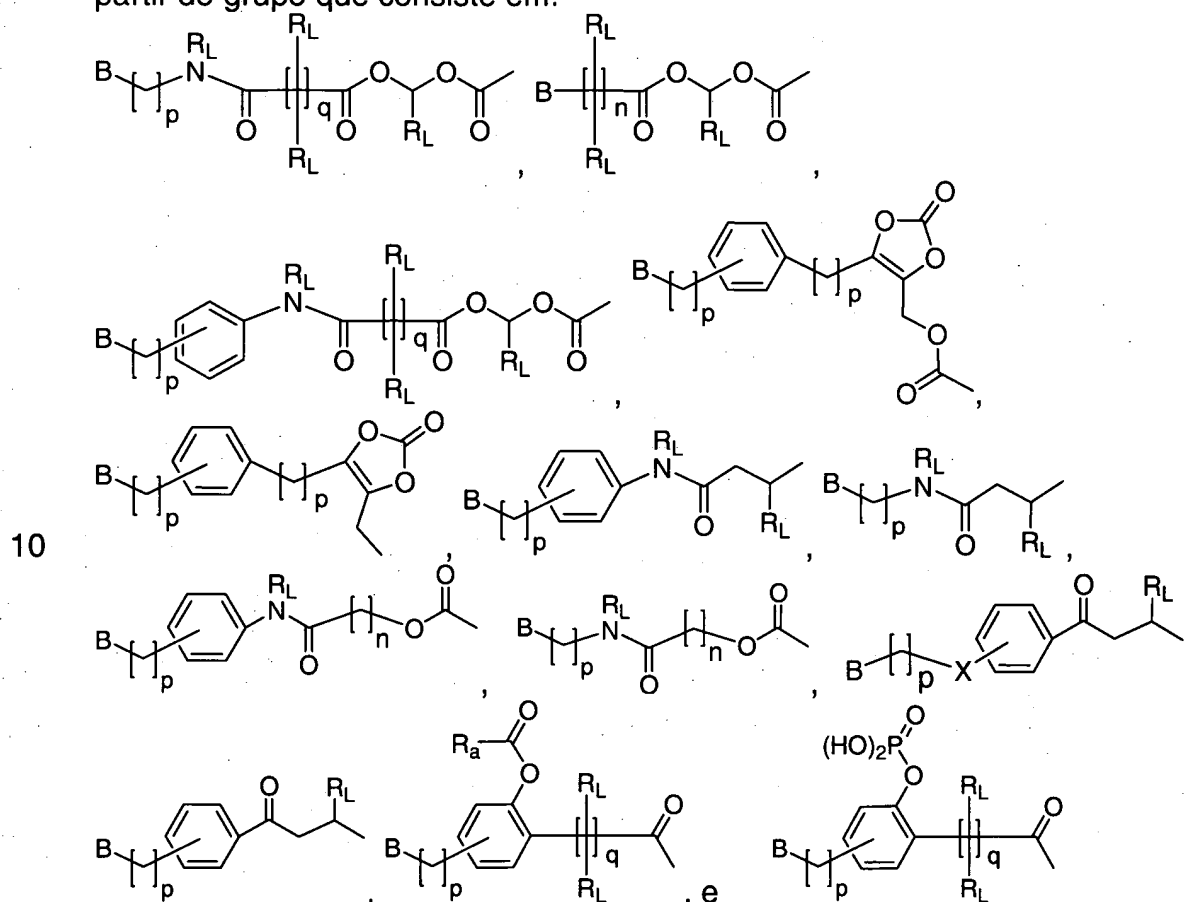
q é 2 ou 3;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5;

w_1 e w_2 são números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3;

5 cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

cada L_6 e L_7 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

15 n é um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 1 ou 2;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

q é 2 ou 3;

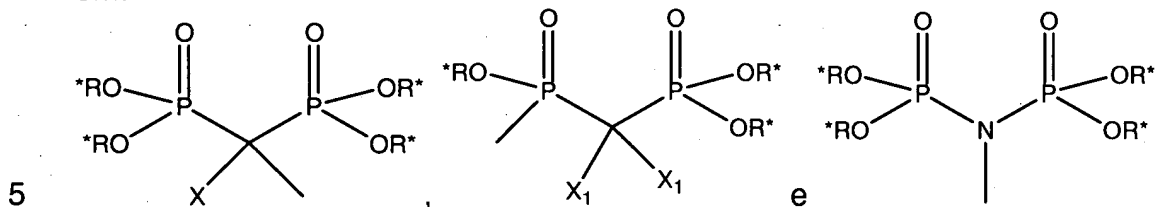
20 cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila, preferivelmente H;

R_a é C_xH_y onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número

inteiro de 1 a $2x+1$; e

X é CH_2 , $-\text{CONR}_L-$, $-\text{CO-O-CH}_2-$, ou $-\text{CO-O-}$;

B é um grupo fosfonado selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

cada **R*** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois **R*** são H;

10 **X** é H, OH, NH_2 , ou um grupo halo;

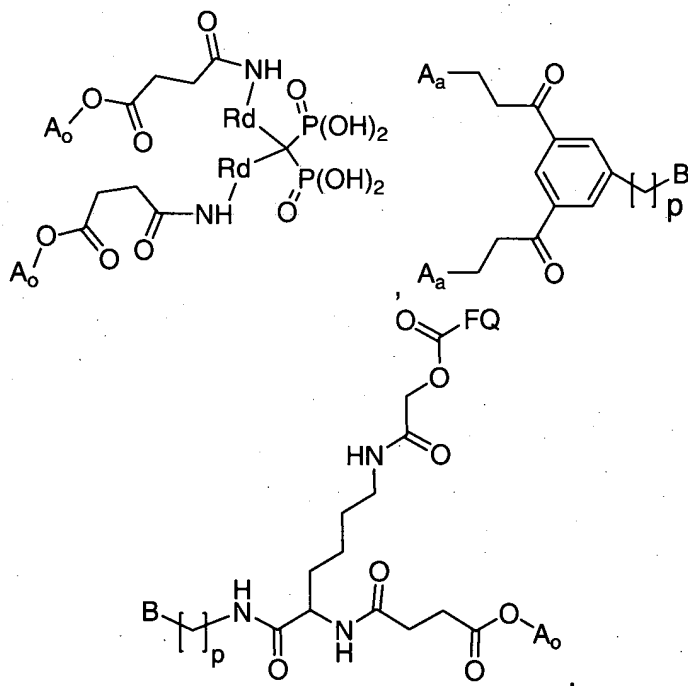
cada **X₁** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, OH, NH_2 , e um grupo halo;
com a condição que pelo menos um dentre **L₁**, **L₂**, **L₃**, **L₄**, **L₅**, **L₆**, **L₇**, **L₈** e **L₉**, esteja presente.

15 A presente invenção da mesma forma inclui o uso de um único grupo fosfonado acoplado a duas ou mais moléculas antibacterianas. Em tais circunstâncias, as moléculas antibacterianas podem ser as mesmas (por exemplo duas moléculas de uma Rifamicina) ou diferentes (por exemplo, uma molécula da ciprofloxacina antibacteriana de fluoroquinolona (Cipro®; US 4.670.444) e uma molécula de uma Rifamicina). O grupo fosfonado pode da mesma forma ser ligado a grupos similares (por exemplo, os grupos hidroxila) ou a grupos diferentes (por exemplo, o grupo carboxila de uma molécula de fluoroquinolona e o grupo hidroxila de uma Rifamicina).

25 Uma lista não-limitante de antibióticos úteis com que os compostos da presente invenção podem ser acoplados através de um único grupo fosfonado inclui: sulfonamidas, beta-lactamas, tetraciclina, cloranfenicol, aminoglicosídeos, macrolídeos, glicopeptídeos, estreptograminas, quinolonas, fluoroquinolonas, oxazolidinonas e lipopeptídios. Em particular, tetraciclina, agentes antibacterianos derivados de tetraciclina, glicilciclina, 30 agentes antibacterianos derivados de glicilciclina, minociclina, agentes

antibacterianos derivados de minociclina, agentes antibacterianos de oxazolidinona, agentes antibacterianos de aminoglicosídeo, agentes antibacterianos de quinolona, vancomicina, agentes antibacterianos derivados de vancomicina, teicoplanina, agentes antibacterianos derivados de teicoplanina, eremomicina, agentes antibacterianos derivados de eremomicina, cloroeremomicina, agentes antibacterianos derivados de cloroeremomicina, daptomicina, e agentes antibacterianos derivados de daptomicina são preferidos.

Exemplos de ligantes multiantibacterianos cliváveis, potencialmente úteis de acordo com a invenção incluem, porém, não são limitados àqueles tendo as estruturas:



em que: cada R_d é independentemente um grupo alquila ou arila;

p é 0 ou um número inteiro ≤ 10 , preferivelmente 0, 1, 2, 3 ou 4, mais preferivelmente 0 ou 1;

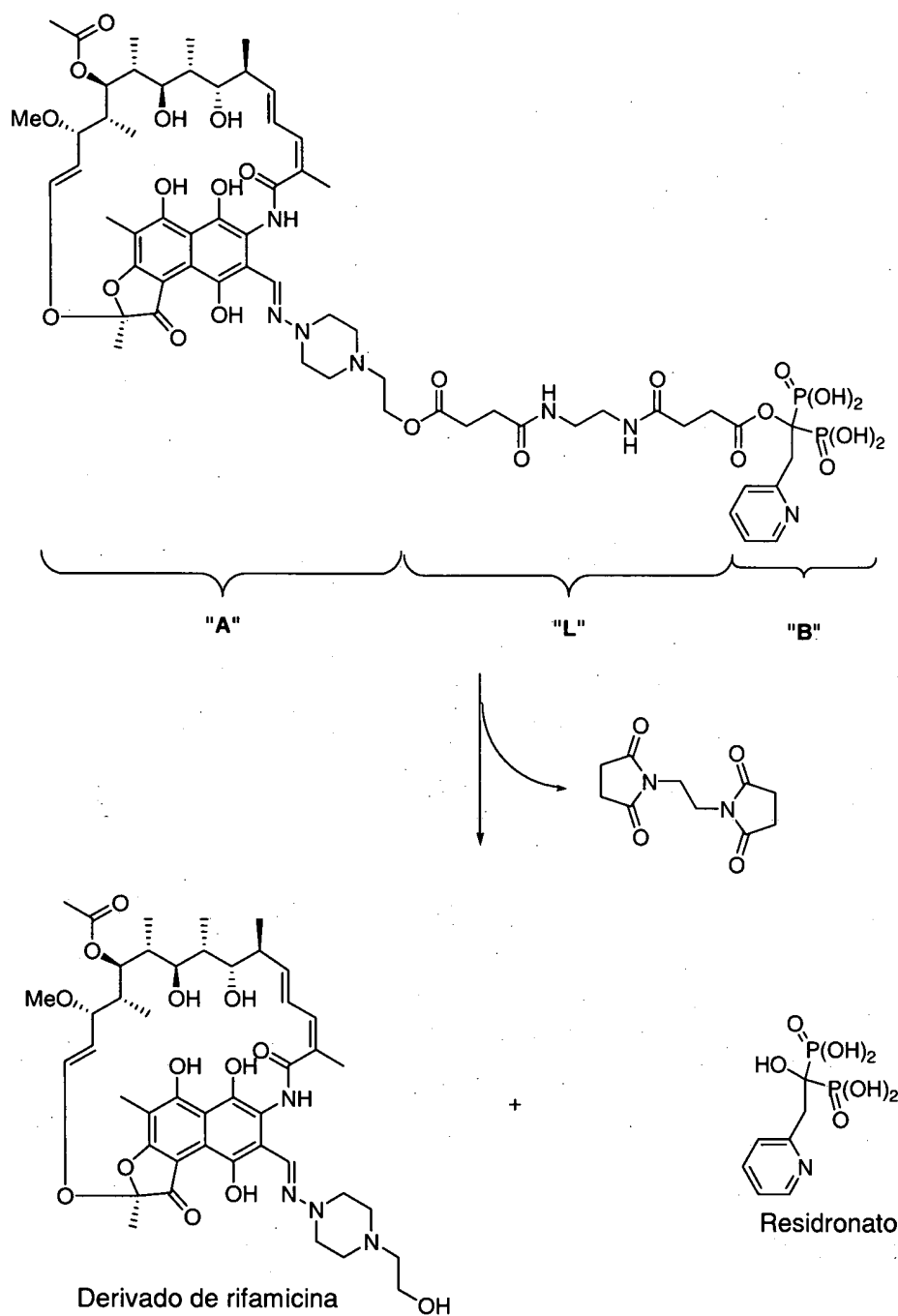
15 a sub-estrutura A_o do ligante representa a porção de hidroxila da Rifamicina **A**;

A_a representa um grupo amina da Rifamicina **A**;

a sub-estrutura FQ do ligante representa a porção carboxílica de uma fluoroquinolona antimicrobiana.

Por causa de sua afinidade alta a tecidos ósseos, o grupo fosfonado **B** provavelmente permanecerá ligado aos ossos durante um período prolongado de tempo (até vários anos). Portanto, é muito importante que o grupo fosfonado seja dotado com baixa ou preferivelmente nenhuma toxicidade mensurável. De acordo com outra modalidade, o grupo fosfonado **B** e o ligante **L** são selecionados tal que o ligante é hidrolisado ou clivado *in vivo* (preferivelmente, principalmente em tecidos ósseos), desse modo, liberando: (i) a Rifamicina **A** e (ii) uma molécula fosfonada não-tóxica escolhida tendo uma atividade terapêutica de osso comprovada. Tais compostos teriam, desse modo, uma utilidade dupla, isto é: 1) fornecer localmente aos ossos, durante um período prolongado de tempo e/ou em concentrações aumentadas, um antibiótico útil na prevenção e/ou tratamento de uma infecção óssea bacteriana, e 2) fornecer aos ossos uma regeneração óssea estimulante de fármaco ou inibir a reabsorção óssea, desse modo, facilitando a recuperação óssea de danos causados por uma infecção ou outra lesão. Moléculas fosfonadas adequadas com atividade terapêutica de osso comprovada útil de acordo com a invenção incluem, porém, não são limitados a risedronato e olpadronato (outros tais pamidronato, alendronato, incadronato, etidronato, ibandronato, zolendronato ou neridronato), estas moléculas sendo inibidores de reabsorção óssea de bisfosfonato conhecidos geralmente empregados para o tratamento de osteoporose.

O esquema abaixo ilustra os princípios dessa modalidade:



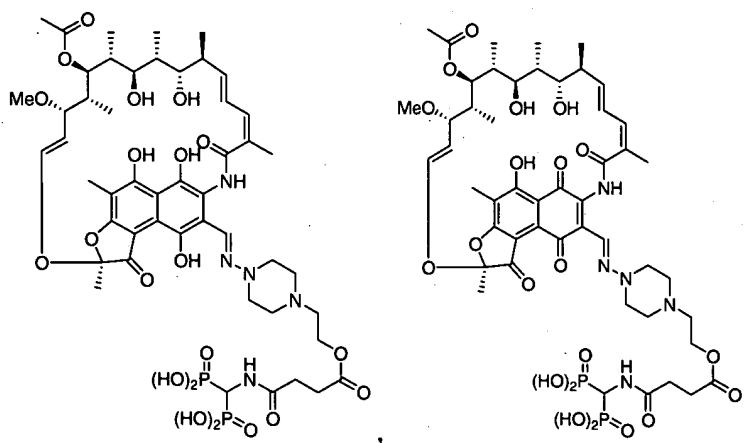
- A presente invenção da mesma forma inclui o uso de um ligante sensível a pH que é clivado apenas em uma faixa pré-determinada de pH. Em uma modalidade, o ligante sensível a pH é um ligante sensível a base que é clivado em um pH básico variando de cerca de 7 a cerca de 9. De acordo com outra modalidade, o ligante é um ligante sensível a ácido que é clivado em um pH ácido que varia de cerca de 7,5 a cerca de 4, preferivelmente de cerca de 6,5 e inferior. É levantada a hipótese que um ligante sensível a ácido permitiria uma liberação específica da Rifamicina **A**
- 5

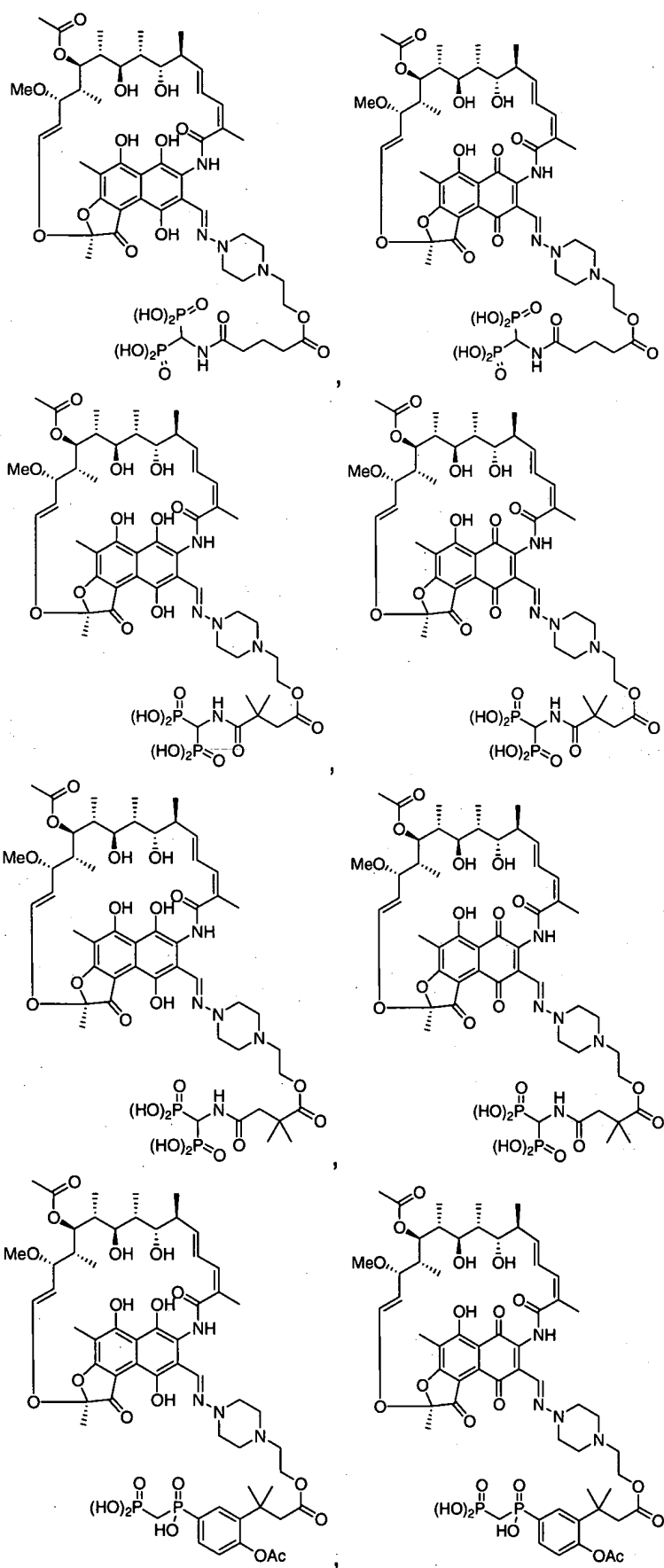
principalmente em um sítio de infecção bacteriana porque sabe-se que acidificação de tecidos geralmente ocorre durante infecção (O'Reilly e outros, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1992), 36(12): 2693-97).

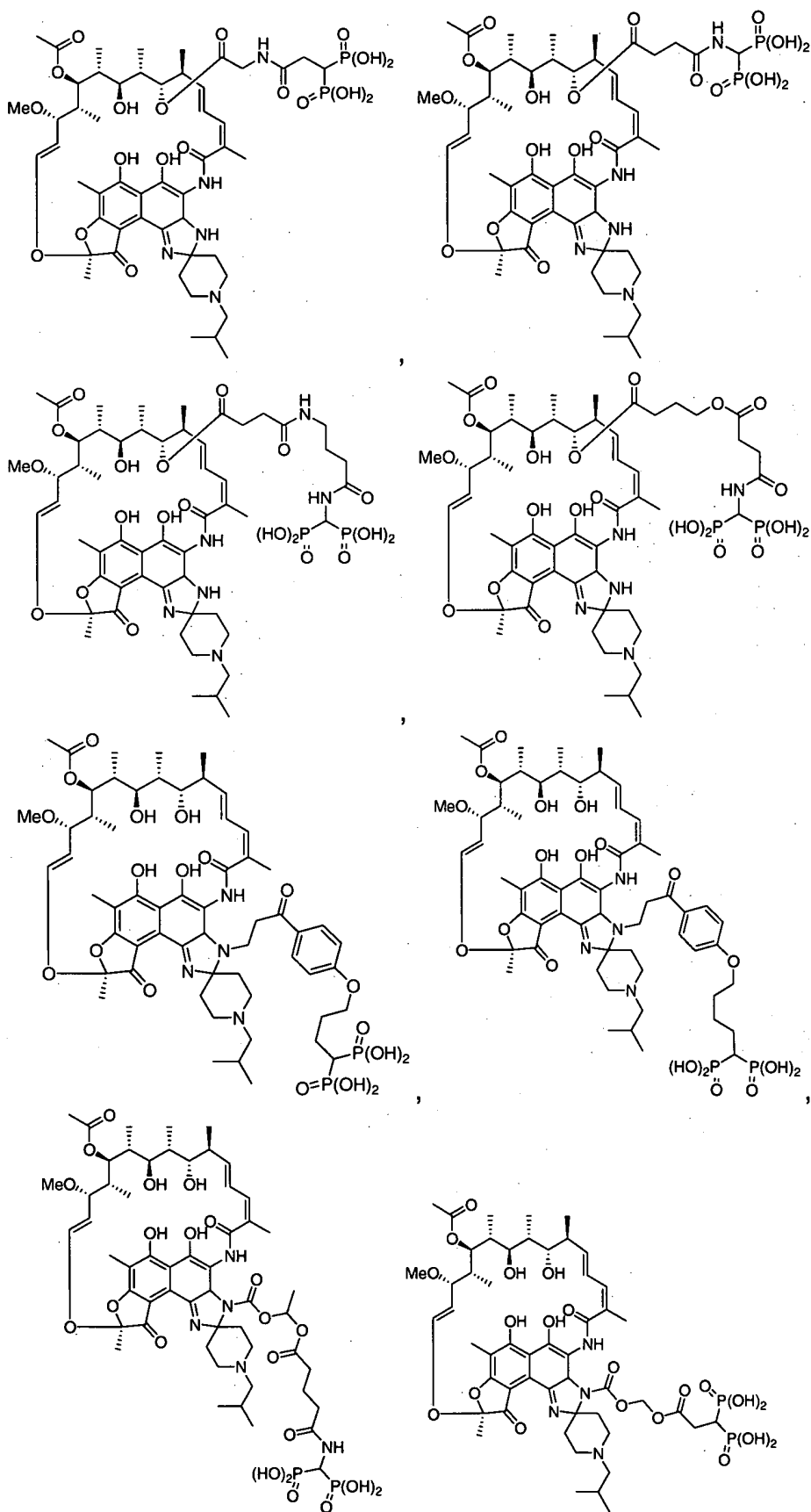
Uma ligação covalente ou um ligante não clivável pode da mesma forma covalentemente acoplar o grupo fosfonado **B** à Rifamicina **A**. Tal ligação ou ligante seria selecionado tal que não seria clivado ou seria principalmente clivado pelas bactérias presentes no sítio atual de infecção. É levantada a hipótese que para tais compostos o grupo fosfonado permaneceria ligado à Rifamicina **A** e o composto todo seria gradualmente liberado do osso e absorvido pelas bactérias, desse modo, exercendo seu efeito antibacteriano.

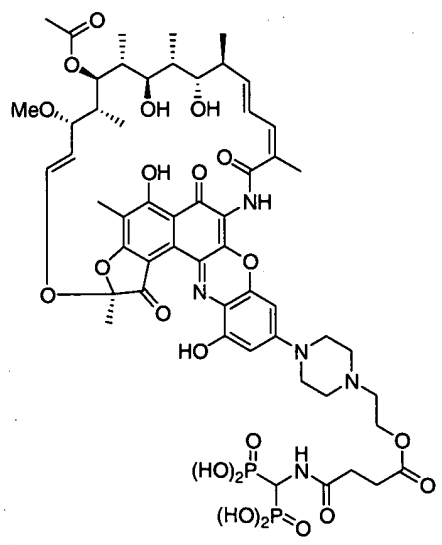
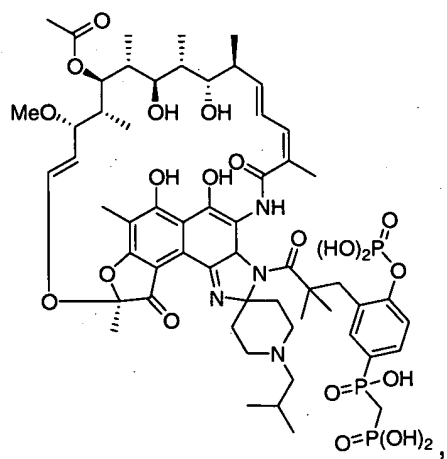
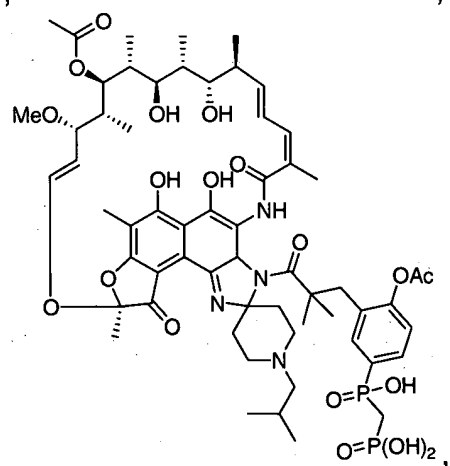
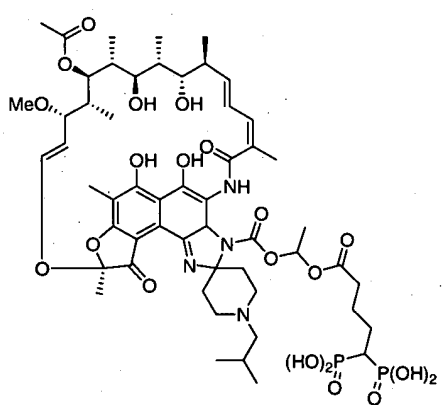
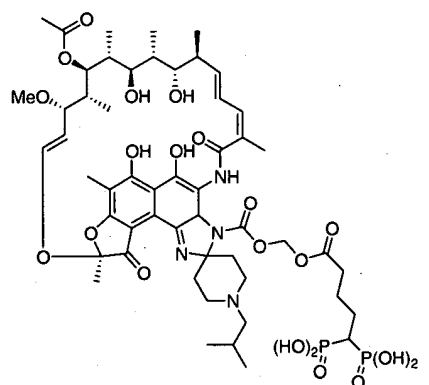
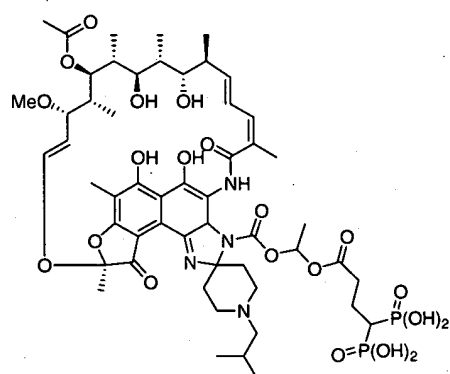
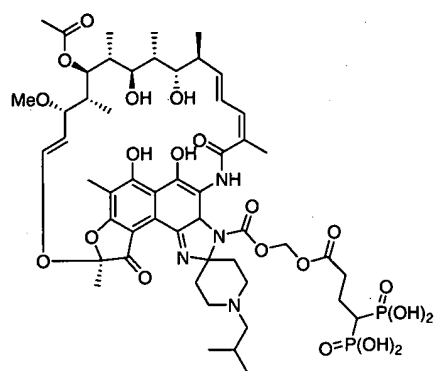
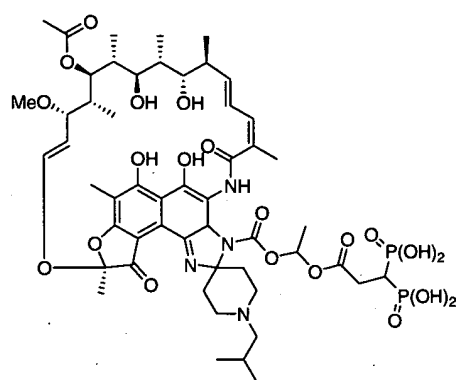
Naturalmente, outros tipos de ligantes podem ser selecionados e sintetizados por aqueles versados na técnica. Por exemplo, o ligante pode da mesma forma conter um grupo fosfonado hidrolisável *in vivo* tendo uma afinidade aos ossos como descrito por Ilex Oncology Research em WO 04/026315. O ligante pode da mesma forma conter um grupo ativo (por exemplo, um grupo liberável que estimula a formação óssea ou que diminui a reabsorção óssea). Estes e outros ligantes adequados são abrangidos pela presente invenção.

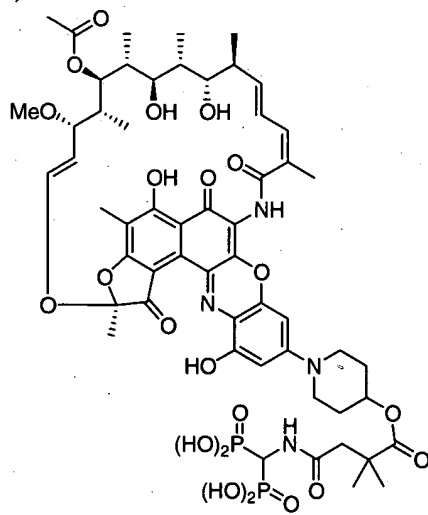
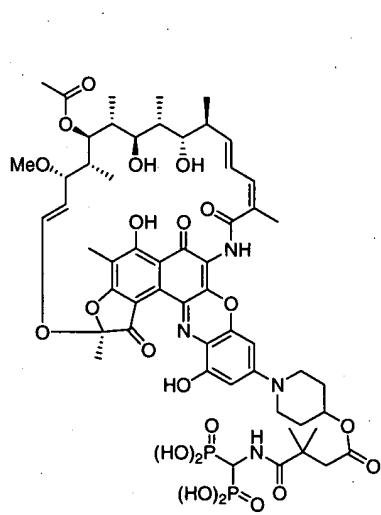
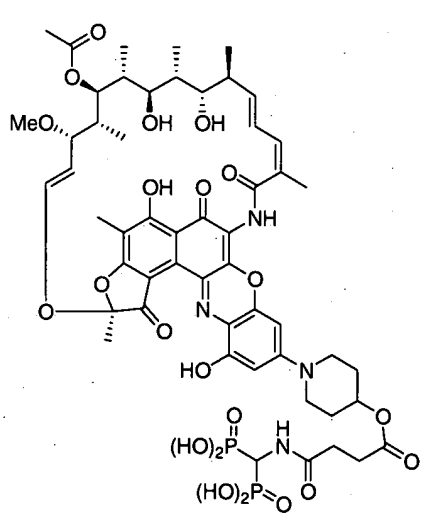
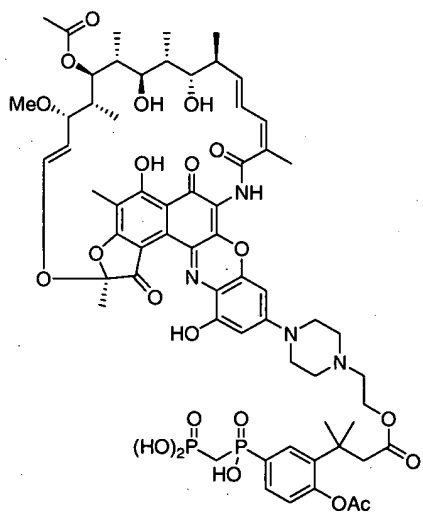
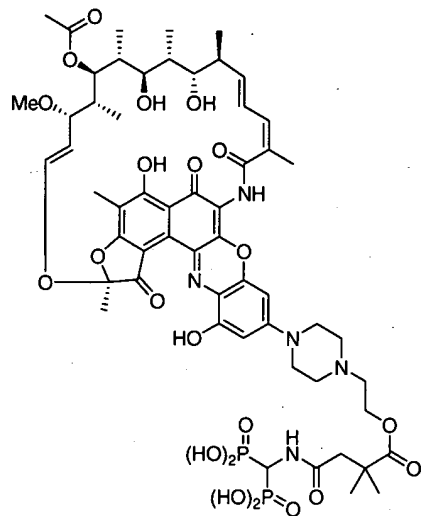
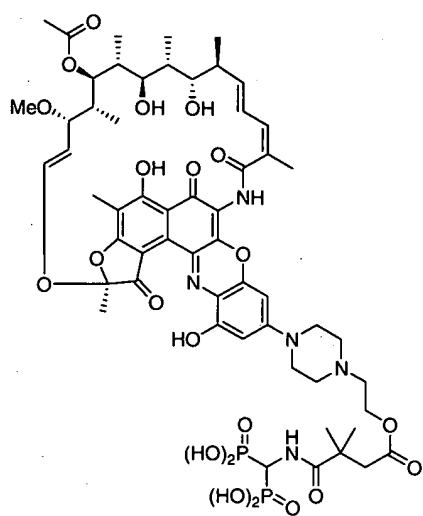
Além desses compostos descritos aqui anteriormente e na seção de Exemplificação, compostos adicionais da Fórmula (I) de acordo com a invenção incluem, porém, não são limitados àqueles tendo as seguintes fórmulas:

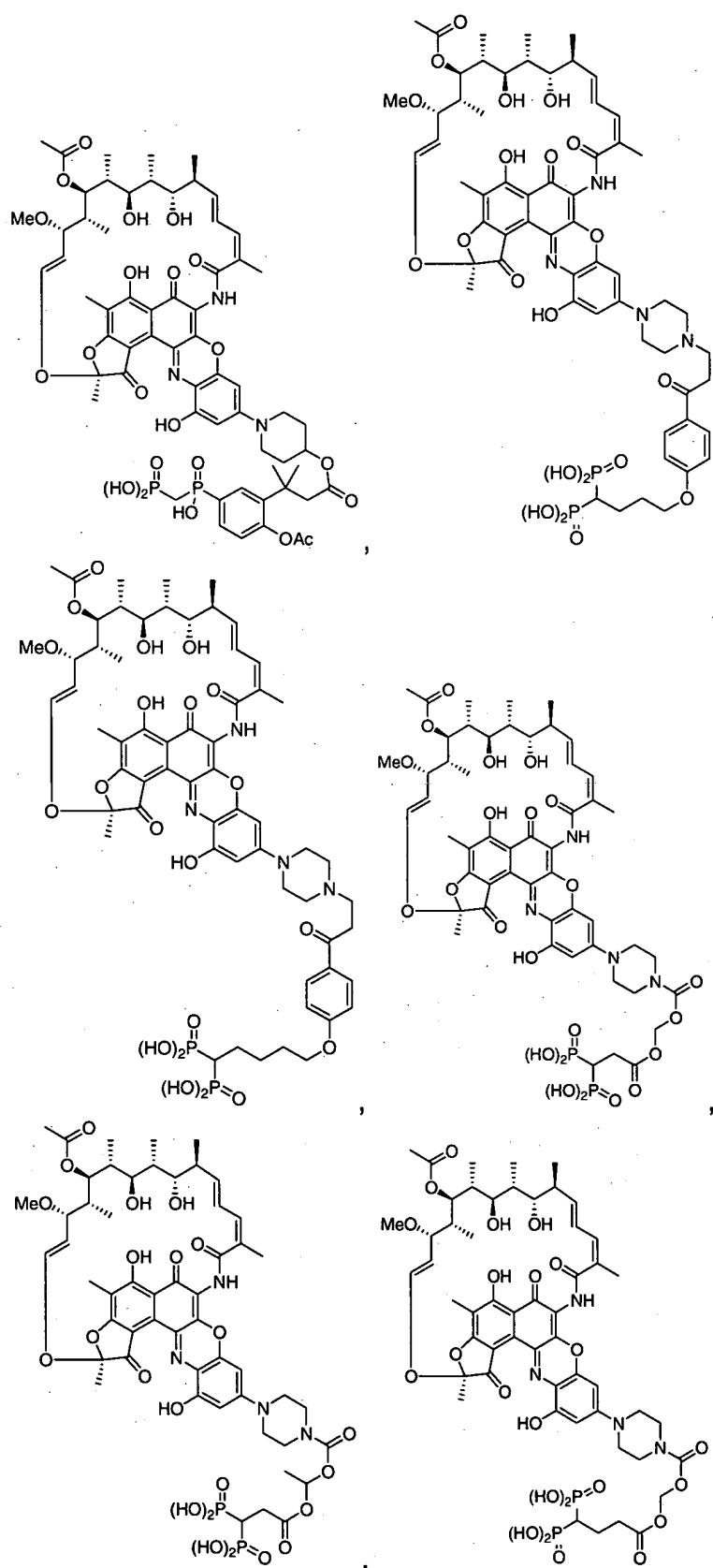


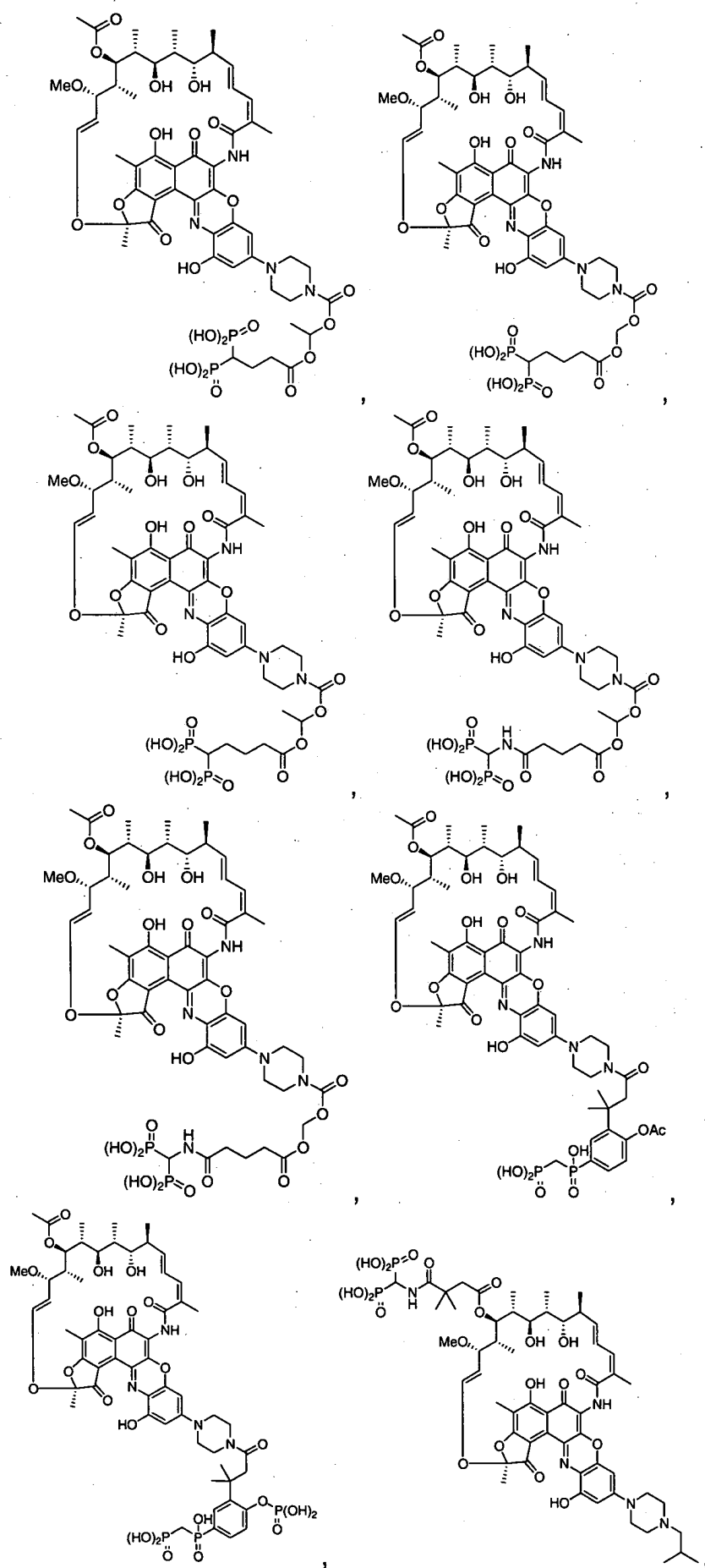


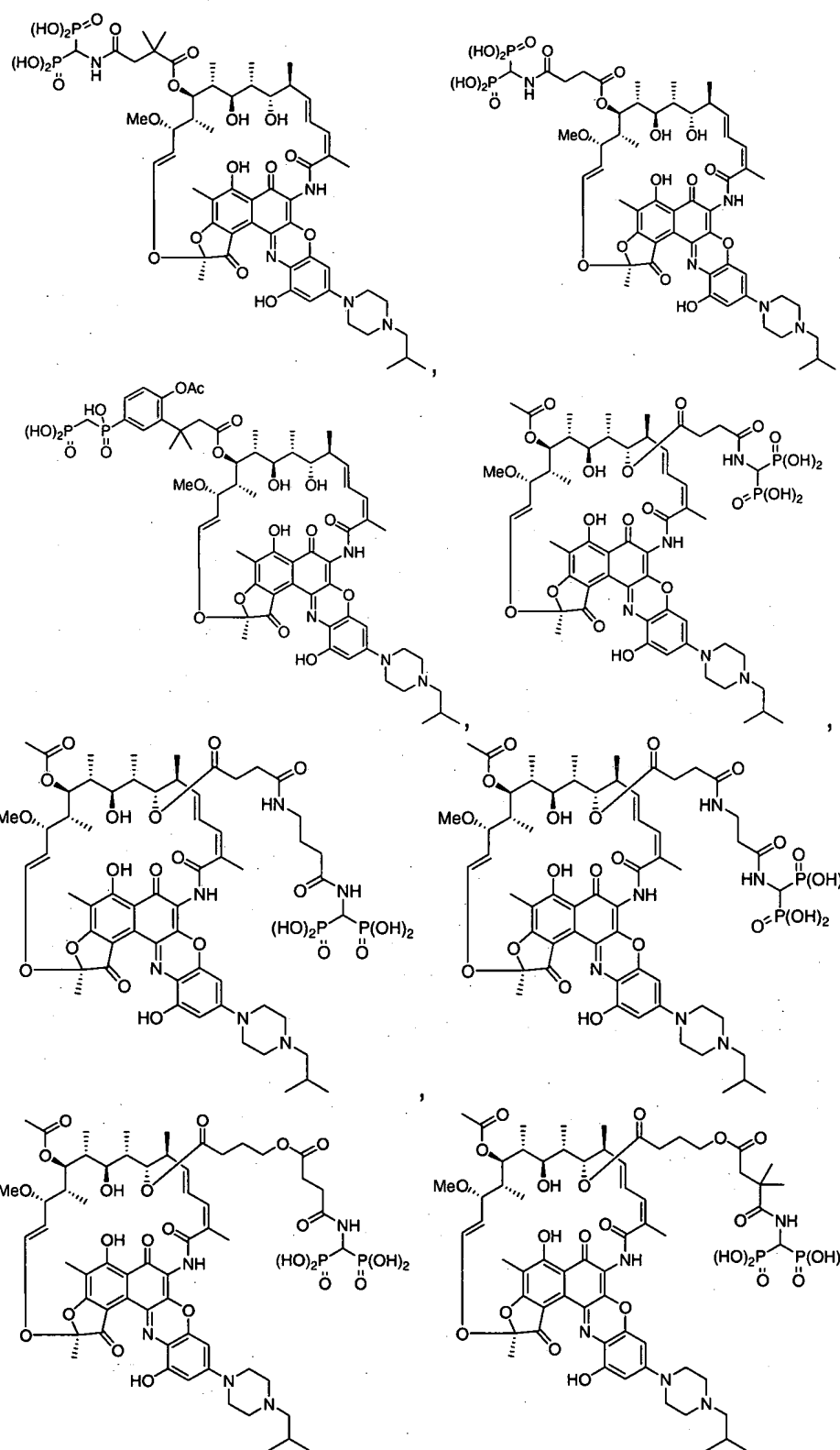


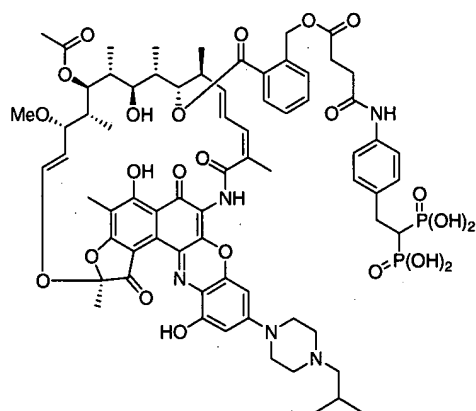
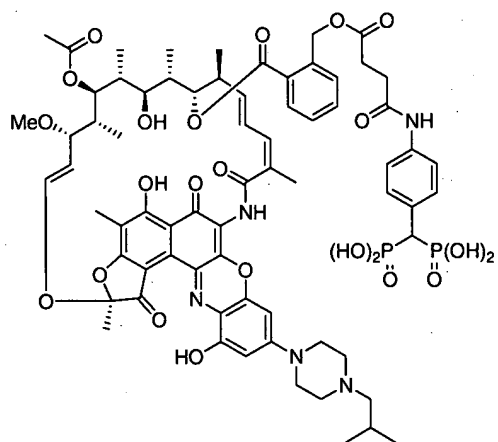
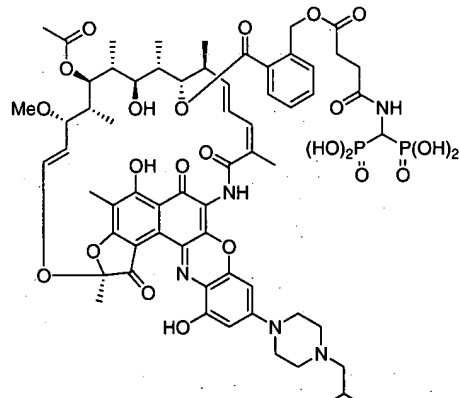
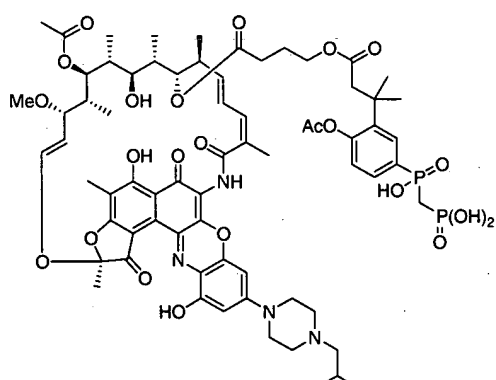
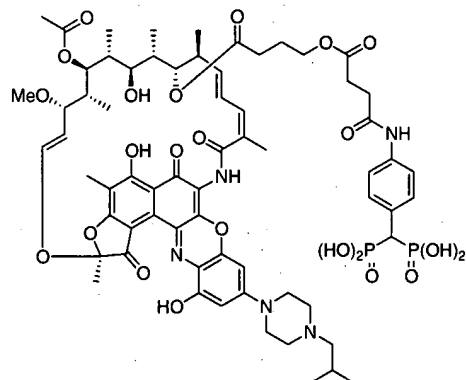
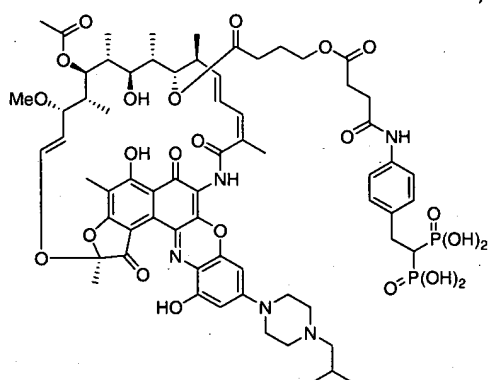
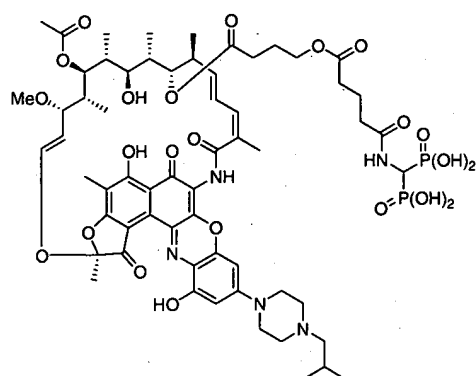
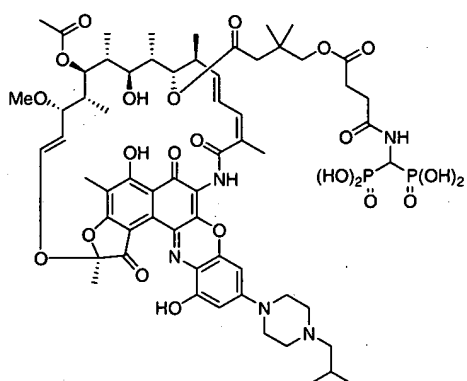


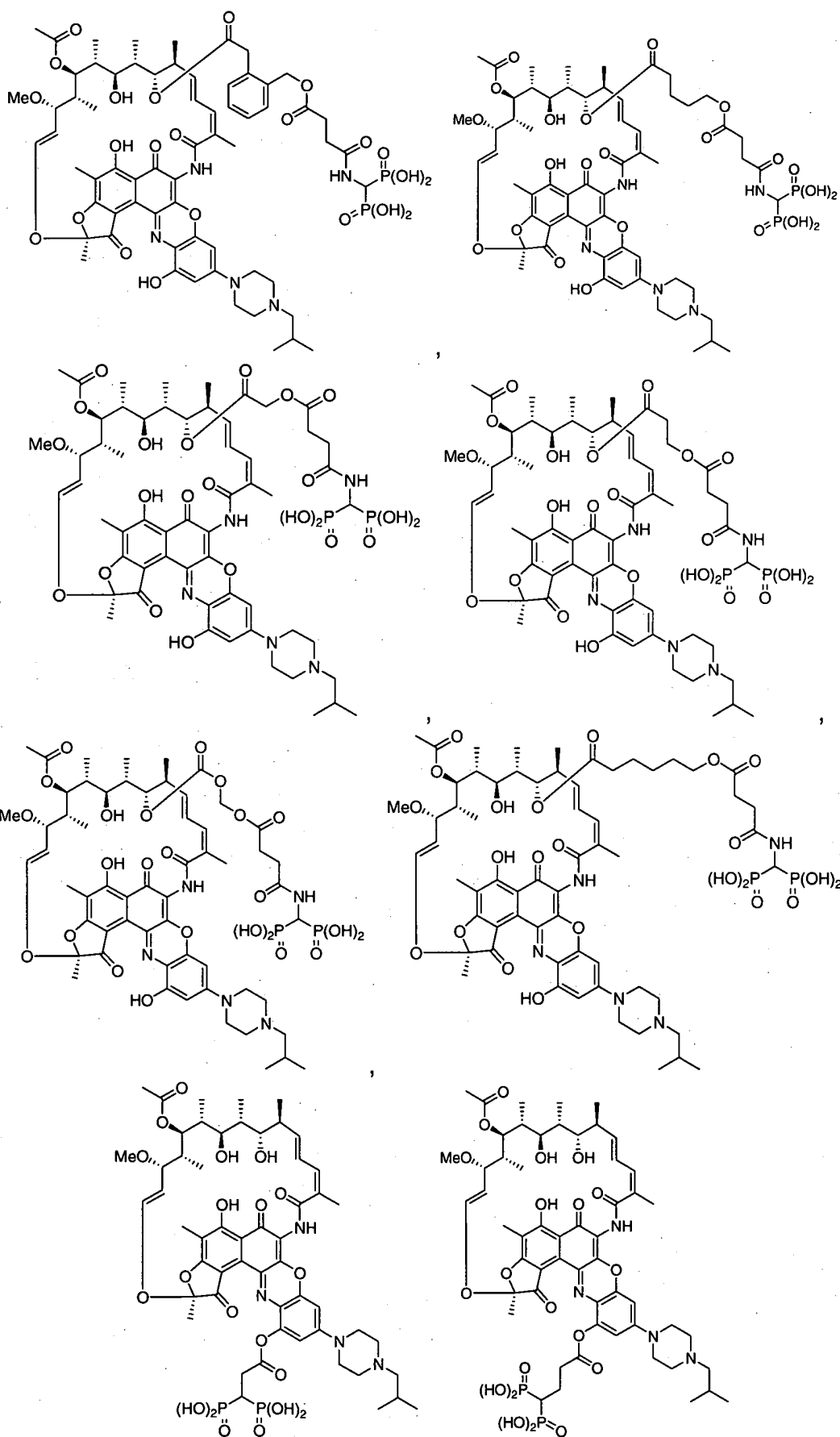


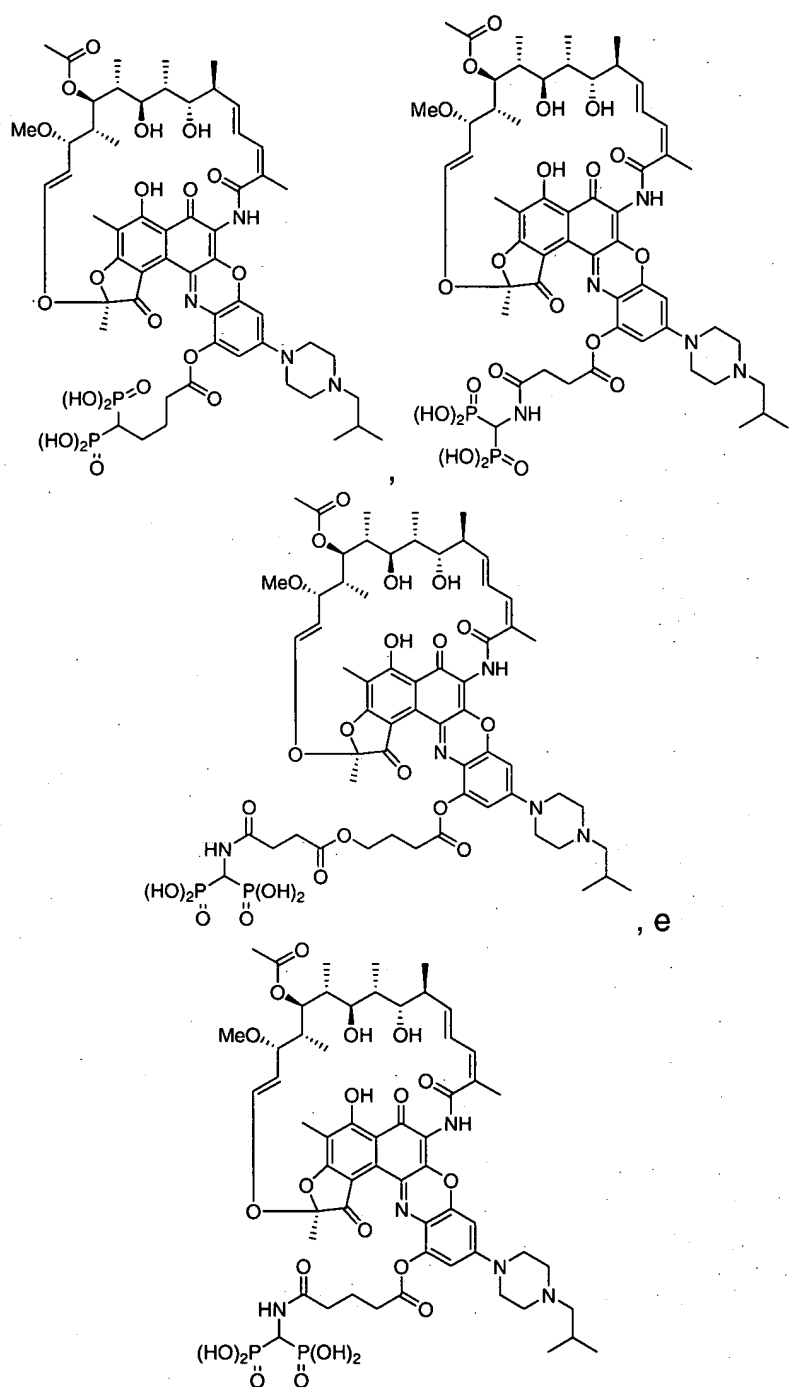












Além disso, a presente invenção protege os compostos da Fórmula (I) e de Fórmula (II), bem como sais farmaceuticamente aceitáveis, metabólitos, solvatos e pró-fármacos destes. Exemplos de sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, porém não são limitados a, sulfatos, pirossulfatos, bissulfatos, sulfitos, bissulfitos, fosfato, monoidrogenofosfatos, diidrogenofos-fatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloreto, brometos, iodetos, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos,

5

succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butina-1,4-dioatos, hexina-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxiben-zoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, xilenossulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, gama-hidroxibutiratos, glicolatos, tartaratos, metanossulfonatos, propanossulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos, e mandelatos.

Se o composto inventivo for uma base, o sal desejado pode ser preparado por qualquer método adequado conhecido na técnica, incluindo tratamento da base livre com um ácido inorgânico, tais como ácido clorídrico, ácido hidrobrômico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, e similares, ou com um ácido orgânico, tais como ácido acético, ácido maléico, ácido succínico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido malônico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácidos de piranosidila tais como ácido glucurônico e ácido galacturônico, ácidos de alfa-hidróxi tais como ácido cítrico e ácido tartárico, aminoácidos tal como ácido aspártico e ácidos glutâmicos, ácidos aromáticos tal como ácido benzóico e ácido cinâmico, ácidos sulfônicos tal como ácido p-toluenossulfônico ou ácido etanossulfônico, ou similar.

Se o composto inventivo for um ácido, o sal desejado pode ser preparado por qualquer método adequado conhecido na técnica, incluindo tratamento do ácido livre com uma base inorgânica ou orgânica, tal como um amina (primária, secundária, ou terciária), um hidróxido de metal alcalino terroso ou metal alcalino, ou similar. Exemplos ilustrativos de sais adequados incluem derivados de sais orgânicos de aminoácidos tais como glicina e arginina, amônia, aminas primárias, secundárias e terciárias, e aminas cíclicas tal como piperidina, morfolina e piperazina, e derivados de sais inorgânicos de sódio, cálcio, potássio, magnésio, manganês, ferro, cobre, zinco, alumínio, e lítio.

No caso de compostos, sais, pró-fármacos ou solvatos que são sólidos, é entendido por aqueles versados na técnica que os compostos inventivos, sais, e solvatos podem existir em formas de cristal diferentes,

todas das quais são pretendidas estar dentro do escopo da presente invenção.

Os compostos inventivos podem existir como estereoisômeros simples, racematos e/ou misturas de enantiômeros e/ou diastereômeros.

- 5 Todos tais estereoisômeros simples, racematos e misturas destes são pretendidas estar dentro do escopo da presente invenção. Preferivelmente, os compostos inventivos são empregados em forma opticamente pura.

- Os compostos da Fórmula (I) e/ou da Fórmula (II) a ser administrados na forma de um pró-fármaco que é quebrado no corpo humano ou animal para produzir um composto da Fórmula (I) ou da Fórmula (II). Exemplos de pró-fármacos incluem ésteres hidrolisáveis *in vivo* de um composto da Fórmula (I) e/ou da Fórmula (II).

- Um éster hidrolisável *in vivo* de um composto da Fórmula (I) e/ou da Fórmula (II) contendo grupo carbóxi ou hidróxi é, por exemplo, um éster farmacologicamente aceitável que é hidrolisado no corpo humano ou animal para produzir o ácido de origem ou álcool. Ésteres farmacologicamente aceitáveis adequados para carbóxi incluem ésteres de (1-6C)alcoximetila por exemplo metoximetila, ésteres de (1-6C)alcanoiloximetila por exemplo ésteres de pivaloiloximetila, ftalidila, ésteres de (3-8C)cicloalcoxycarbonilóxi(1-6C)alquila por exemplo ésteres de 1-cicloexilcarboniloxietila; 1,3-dioxolen-2-onilmetila por exemplo 5-metil-1,3-dioxolen-2-onilmetila; e ésteres de (1-6C)alcoxycarboniloxietila por exemplo 1-metoxycarboniloxietila e pode ser formado em qualquer grupo carbóxi nos compostos desta invenção.

- Um éster hidrolisável *in vivo* de um composto da Fórmula (I) e/ou da Fórmula (II) contendo um grupo hidróxi inclui ésteres inorgânicos tais como ésteres de fosfato e éteres de alfa-aciloxialquila e compostos relacionados que como um resultado de hidrólise *in vivo* da interrupção de éster para produzir o grupo hidróxi de origem. Exemplos de éteres alfa-aciloxialquila incluem acetoximetóxi e 2,2-dimetilpropioniloximetóxi. Uma seleção grupos de formação de éster hidrolisável *in vivo* para hidróxi inclui alcanóila, benzoíla, fenilacetila e benzoíla substituída e fenilacetila,

alcoxicarbonila (para produzir ésteres de alquil carbonato), dialquilacarbamoíla e N-(dialquilaminoetil)-N-alquilacarbamoíla (para produzir carbamatos), dialquilaminoacetila e carboxiacetila.

D) Métodos de preparação

- 5 Os compostos inventivos, e seus sais, solvatos, formas cristalinas, metabólitos ativos, e pró-fármacos, podem ser preparados empregando-se as técnicas disponíveis na técnica empregando-se materiais de partida que estão facilmente disponíveis. Certos novos métodos exemplares de preparar os compostos inventivos são descritos na seção de
- 10 Exemplificação. Tais métodos estão dentro do escopo desta invenção.

E) Composições Antimicrobianas e métodos de tratamento

- Um aspecto relacionado da invenção envolve o uso de compostos da invenção como um ingrediente ativo em uma composição farmacêutica terapêutica ou antibacteriana para tratamento, profilaxia ou
- 15 propósitos de prevenção.

Composições farmacêuticas

Os compostos da presente invenção podem ser formulados como composições farmaceuticamente aceitáveis.

- A presente invenção fornece composições farmacêuticas que
- 20 compreendem um composto da presente invenção (por exemplo, aqueles compostos da Fórmula (I) e (II)) em combinação com um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável. Preferivelmente, o composto da presente invenção em uma composição farmacêutica é uma quantidade terapeuticamente eficaz do composto. Veículos incluem, porém, não são
- 25 limitados à solução salina, solução salina tamponada, dextrose, água, glicerol, etanol, e combinações destes.

- Métodos aceitáveis de preparar formas farmacêuticas adequadas das composições farmacêuticas de acordo com a invenção são conhecidos por aqueles versados na técnica. Por exemplo, preparações
- 30 farmacêuticas podem ser preparadas seguindo técnicas convencionais do químico farmacêutico que envolve etapas tais como misturar, granular, e comprimir quando necessário para formas de comprimido, ou misturar,

preencher, e dissolver os ingredientes quando apropriado, para produzir os produtos desejados para várias rotinas de administração.

Os compostos e composições da invenção são concebidos para ter um amplo espectro de atividade, incluindo cepas resistentes antibióticas, 5 contra ambas bactérias Gram-positivas (por exemplo *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*) e Gram-negativas (por exemplo *E. Coli*, *Chlamydia pneumoniae*, *Enterobacter sp.*, *H. influenza*, *K. pneumoniae*, *Legionella pneumoniae*, *P. aeruginosa*).

10 Composições Farmacêuticas e um agente terapêutico de suporte

Uma ampla faixa de agentes terapêuticos de suporte, tal como antibióticos, podem ser empregados em combinação com os compostos, composições farmacêuticas e métodos da presente invenção. Antibióticos empregados como agente terapêutico de suporte podem agir interferindo-se 15 com síntese de parede celular, integridade de membrana plasmática, síntese de ácido nucléico, função ribossômica, síntese de folato, etc. Agentes terapêuticos de suporte podem ser incluídos em uma composição farmacêutica compreendendo um composto de Rifamicina fosfonado da presente invenção, ou pode ser administrado simultaneamente com uma 20 composição farmacêutica compreendendo um composto de Rifamicina fosfonado da presente invenção.

Uma lista não-limitante de antibióticos úteis com que os compostos e composições da presente invenção poderiam ser combinadas ou co-administradas inclui: sulfonamidas, beta-lactams, tetraciclínas, 25 cloranfenicol, aminoglicosídeos, macrolídeos, glicopeptídeos, estreptograminas, quinolonas, fluoroquinolonas, oxazolidinonas e lipopeptídios. Em particular, tetraciclina, agentes antibacterianos derivados de tetraciclina, glicilciclina, agentes antibacterianos derivados de glicilciclina, minociclina, agentes antibacterianos derivados de minociclina, agentes 30 antibacterianos de oxazolidinona, agentes antibacterianos de aminoglicosídeo, agentes antibacterianos de quinolona, vancomicina, agentes antibacterianos derivados de vancomicina, teicoplanina, agentes

antibacterianos derivados de teicoplanina, eremomicina, agentes antibacterianos derivados de eremomicina, cloroeremomicina, agentes antibacterianos derivados de cloroeremomicina, daptomicina, e agentes antibacterianos derivados de daptomicina são preferidos.

5 Métodos para inibir o crescimento bacteriano

De acordo com um aspecto relacionado, a presente invenção envolve métodos de inibir o crescimento bacteriano. O método compreende contatar as bactérias para o propósito de tal inibição com uma quantidade eficaz de um composto de Rifamicina fosfonado de acordo com a invenção
10 ou uma composição farmacêutica que compreende compostos de acordo com a invenção (ou um pró-fármaco farmaceuticamente aceitável, sal, metabólito ativo, ou solvato destes). Por exemplo, os compostos podem inibir RNA polimerase bacteriana, transcrição de DNA dependente de RNA polimerase bacteriana e/ou translação bacteriana contatando-se uma
15 bactéria com um composto da invenção.

A contatação podem ser realizada *in vitro* (por exemplo, em culturas de tecido de laboratório, em ensaios bioquímicos e/ou celulares), *in vivo* em um animal não humano, *in vivo* em mamíferos, incluindo seres humanos e/ou *ex vivo* (por exemplo, para propósitos de esterilização).

20 A atividade dos compostos inventivos como inibidores de transcrição de DNA e/ou translação pode ser medida por quaisquer dos métodos disponíveis por aqueles versados na técnica, incluindo ensaios *in vivo* e *in vitro*. Alguns exemplos de ensaios de enzimas de RNA polimerase bacterianas foram descritos na patente U.S. 5.635.349 e por Sawadogo e
25 outros (Proc -Natl. Acad. Sci. USA (1985), 82:4394-4398), Doan e colaboradores (FEMS Microbiol. Lett. (2001), 196:135-139) e Wu e outros (Anal. Biochem. (1997), 245:226-230).

Métodos de tratamento

Um aspecto relacionado da invenção envolve o uso de um
30 composto da invenção como um ingrediente ativo em uma composição farmacêutica, terapêutica ou antibacteriana para propósitos de tratamento. Como definido acima, "tratar" ou "tratamento" significa pelo menos a

mitigação de uma condição de doença associada com uma infecção bacteriana em um indivíduo, incluindo mamíferos tal como um ser humano, que é aliviado por uma redução de crescimento, replicação, e/ou propagação de qualquer bactéria, tais como organismos Gram-positivos ou Gram-negativos, e inclui cura, cicatrização, inibição, mitigação, melhora e/ou alívio, em toda ou em parte, da condição de doença.

As composições farmacêuticas podem ser administradas de qualquer maneira eficaz, conveniente incluindo, por exemplo, administração por vias tópicas, parenterais, orais, anais, intravaginais, intravenosas, intraperitoneais, intramusculares, intra-oculares, subcutâneas, intranasais, intrabronquiais, ou intradérmicas entre outras.

Em particular, na terapia ou como um profilático (como também descrito abaixo), os compostos e composições farmacêuticas da invenção e/ou pró-fármacos farmacêuticamente aceitáveis, sais, metabólitos ativos e solvatos podem ser administrados a um indivíduo como uma composição injetável, por exemplo, como uma dispersão aquosa estéril, preferivelmente isotônica. Alternativamente os compostos e composições podem ser formuladas para aplicação tópica, por exemplo, na forma de ungüentos, cremes, loções, ungüentos de olho, colírios, gotas otológicas, antisséptico bucal, preparos impregnados e suturas e aerossóis, e podem conter aditivos convencionais apropriados, incluindo, por exemplo, conservantes, solventes para ajudar a penetração do fármaco, e emolientes em ungüentos e cremes. Tais formulações tópicas podem da mesma forma conter veículos convencionais compatíveis, por exemplo, creme ou bases de ungüento, e etanol ou álcool de oleila para loções. Tais veículos podem constituir de cerca de 1% a cerca de 98% em peso da formulação; mais normalmente eles constituirão até cerca de 80% em peso da formulação.

Meios alternativos para administração sistêmica incluem administração transmucosal e transdérmica empregando penetrantes tais como sais biliares ou ácidos fusídicos ou outros detergentes. Além disso, se um composto ou composição farmacêutica da presente invenção pode ser formulada em uma formulação entérica ou encapsulada, administração oral

pode da mesma forma ser possível. Administração destes compostos e composições pode da mesma forma ser tópica e/ou localizada, na forma de pomadas, pastas, géis, e similares.

5 Enquanto o tratamento pode ser administrado de uma maneira sistêmica através dos meios descritos acima, ele pode da mesma forma ser administrado de uma maneira localizada. Por exemplo, o tratamento pode ser administrado diretamente a um osso, tal como através de uma injeção em um osso. O tratamento pode da mesma forma ser administrado de outras maneiras localizadas, tal como aplicação a um ferimento através de uma
10 composição tópica ou diretamente em uma subcutânea ou outra forma de ferimento.

Os compostos ativos, composições farmacêuticas e pró-fármacos farmacêuticamente aceitáveis, sais, metabólitos e solvatos podem ser da mesma forma administrados a um indivíduo como parte de substituto
15 de osso ou composto de reparo de osso tais como cimentos ou preenchedores de osso (por exemplo, Skelite™, Millenium Biologics, Kingston, ON, Canada) e contos de cálcio ou hidroxiapatita.

Uma dose dos compostos ou composições farmacêuticas contém pelo menos uma quantidade farmacêuticamente ou
20 terapeuticamente eficaz do composto ativo (isto é, um composto da Fórmula (I), da Fórmula (II) e/ou um pró-fármaco farmacêuticamente aceitável, sal, metabólito ativo, ou solvato destes), e é preferivelmente feito de uma ou mais unidades de dosagem farmacêuticas. A dose selecionada pode ser administrada a um indivíduo, por exemplo, um paciente humano, em
25 necessidade de tratamento. Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" é pretendida significar aquela quantidade de um composto da Fórmula (I) e/ou da Fórmula (II) (e/ou um pró-fármaco farmacêuticamente aceitável, sal, metabólito ativo, ou solvato destes) que concede um efeito terapêutico no indivíduo tratado. O efeito terapêutico pode ser objetivo (isto é mensurável
30 por algum teste ou marcador (por exemplo, contagem bacteriana inferior)) ou subjetivo (isto é, o indivíduo produz uma indicação de ou sente um efeito).

A quantidade que corresponderá a uma "quantidade

terapeuticamente eficaz" variará, dependendo de fatores tais como o composto particular, a via de administração, uso de excipiente, a condição de doença e a gravidade destes, a identidade do indivíduo em necessidade desta, e a possibilidade de co-uso com outros agentes para tratar uma

5 doença. Contudo, a quantidade therapeuticamente eficaz pode ser facilmente determinada por alguém de experiência na técnica. Para administração a um indivíduo tal como um mamífero, e particularmente um ser humano, é esperado que o nível de dosagem diário do composto ativo será de 0,1 mg/kg a 200 mg/kg, tipicamente ao redor de 1 - 5 mg/kg. O médico em

10 qualquer evento determinará a dosagem atual que será muito adequada para um indivíduo e variará com a idade, peso e resposta do indivíduo particular. As dosagens acima são exemplares do caso médio. Pode, evidente, ser exemplos individuais onde faixas de dosagem mais altas ou mais baixas são merecidas, e tais estão dentro do escopo desta invenção.

15 Embora a invenção seja preferivelmente dirigida a profilaxia e/ou tratamento de infecções relacionadas a osso, a invenção abrange métodos terapêuticos e profiláticos contra outras doenças causadas por ou relacionadas a infecção bacteriana, incluindo porém não-limitadas a otite, conjuntivite, pneumonia, bacteremia, sinusite, enfisema pleural e

20 endocardite, infecções de baixo grau nos arredores das calcificações de vasos ateroscleróticos, e meningite. Em tais métodos, uma quantidade terapêutica eficaz ou profilática de um composto e/ou composição farmacêutica como definido mais acima, é administrada a um indivíduo (preferivelmente um ser humano) em uma quantidade suficiente para

25 fornecer um efeito terapêutico e, desse modo, prevenir ou tratar a infecção do indivíduo. Quantidades exatas podem ser habitualmente determinadas por alguém versado na técnica e variará dependendo de vários fatores, tais como a cepa bacteriana particular envolvida e o composto antibacteriano particular empregado.

30 Profilaxia e prevenção

Um uso adicional que é particularmente considerado para os compostos da presente invenção é para propósitos de profilaxia e

prevenção. Realmente, muitos cirurgiões ortopédicos consideram que os seres humanos com articulações protéticas devem ser considerados para profilaxia antibiótica antes de um tratamento que poderia produzir uma bacteremia. Infecção profunda é uma complicação séria que às vezes leva à perda da articulação protética e é acompanhada por morbidez significativa e mortalidade. Os compostos e composições farmacêuticas da presente invenção podem, portanto, ser empregados como uma substituição para antibióticos profiláticos nesta situação. Por exemplo, os compostos e/ou composições farmacêuticas podem ser administrados por injeção para obter um efeito sistêmico e/ou local contra bactérias relevantes logo antes de um tratamento médico invasivo, tal como cirurgia ou inserção de um dispositivo de demora (por exemplo, substituição de articulação (quadril, joelho, ombro, etc.), enxerto ósseo, reparo de fratura, operação dental ou implante. Tratamento pode ser continuado depois do tratamento médico invasivo, tal como pós-operatório ou durante o tempo no corpo do dispositivo.

Além disso, os compostos e/ou composições farmacêuticas podem da mesma forma ser administradas antes do tratamento médico invasivo para permitir o acúmulo do composto nos tecidos ósseos antes do tratamento.

Em cada exemplo, os compostos e/ou composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administrados uma vez, duas vezes, três vezes ou mais, de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dias ou mais, durante 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, ou 1 hora ou menos antes da cirurgia para permitir uma presença local ou sistêmica recomendável dos compostos, e/ou acúmulo nos ossos, preferivelmente nas áreas potencialmente expostas à contaminação bacteriana durante o procedimento cirúrgico. Ainda mais preferivelmente, compostos fosfonados e/ou composições farmacêuticas da invenção podem ser administrados tal que eles podem alcançar uma concentração local de cerca de 5, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 500 ou ainda 1000 vezes a concentração mais alta do que a concentração que normalmente seria obtida durante a administração da Rifamicina de origem não-modificada, isto é, um equivalente não-fosfonado. O(s) composto(s)

pode(m) ser administrado(s) depois do tratamento médico invasivo durante um período de tempo, tal como 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 dias, 1, 2, 3 ou mais semanas, ou durante o tempo total em que o dispositivo está presente no corpo.

- 5 Portanto, a invenção fornece um método de induzir acúmulo de Rifamicina nos ossos de um indivíduo, tal como mamífero, em que uma Rifamicina fosfonada tendo afinidade alta a tecidos ósseos é administrada a um indivíduo. A Rifamicina fosfonada liga tecidos ósseos e acumula nos ossos do indivíduo em quantidades maiores do que quantidades de um
10 equivalente não fosfonado da Rifamicina. Preferivelmente, o grupo fosfonado é acoplado à Rifamicina através de um ligante clivável.

- A invenção também fornece um método para prolongar a presença de uma Rifamicina em ossos de um indivíduo, tal como um mamífero, em que uma Rifamicina fosfonada tendo uma afinidade alta a
15 tecidos ósseos é administrada a um indivíduo. O grupo fosfonado é acoplado à Rifamicina através de um ligante clivável. A Rifamicina fosfonada liga-se aos tecidos ósseos e acumula-se em ossos do indivíduo, e o ligante é gradualmente clivado dentro dos ossos, desse modo, liberando a Rifamicina e prolongando a presença da Rifamicina nos ossos.

20 **F) Dispositivos de demora e produtos revestidos com uma Rifamicina fosfonada**

- A invenção também abrange dispositivos de demora revestidos com os compostos e composições farmacêuticas da invenção. Quando aqui empregado, o termo "dispositivo de demora" refere-se a implantes cirúrgicos,
25 dispositivos ortopédicos, dispositivos protéticos e cateteres, isto é, dispositivos que são introduzidos ao corpo de um indivíduo e permanecem na posição durante um tempo prolongado. Tais dispositivos incluem, porém não são limitados a, articulações artificiais e implantes, válvulas de coração, marcapassos, enxertos vasculares, cateteres vasculares, desvios de líquido
30 cérebro-espinhais, cateteres urinários, cateteres de diálise peritoneal ambulatoria contínua (CAPD).

De acordo com uma modalidade, o dispositivo de demora é

banhado em ou pulverizado com uma concentração de cerca de 1 mg/ml a cerca de 10 mg/ml de um composto e/ou composição farmacêutica da invenção, antes de sua inserção no corpo.

De acordo com outra modalidade, o dispositivo de demora é feito de, ou pré-revestido com um tipo de material tipo ósseo (por exemplo, fosfato de cálcio, íon de Ca e hidroxiapatita (Yoshinari e outros, Biomaterials (2001), 22(7): 709-715)). Tal material é vantajosamente provável de melhorar a ligação dos compostos e composições farmacêuticas da invenção no dispositivo de demora, durante o revestimento do dispositivo com os compostos ou composições farmacêuticas da invenção depois de sua administração local ou sistêmica. Os dispositivos de demora podem da mesma forma ser revestidos com um material ósseo pré-carregado com ou contendo composto(s) de alveamento de osso ligados de acordo com a invenção. Para as modalidades anteriormente mencionadas, hidroxiapatita seria preferida como o material ósseo. Mais detalhes em métodos de revestimento, usos e vantagens de próteses revestidas por hidroxiapatita são encontrados na revisão por Dumbleton e Manly (The Journal of Bone & Joint Surgery (2004) 86A:2526-40) que está incorporada aqui por referência.

G) Métodos de preparação

Os compostos inventivos, e seus sais, solvatos, formas cristalinas, metabólitos ativos, e pró-fármacos, podem ser preparados empregando-se as técnicas disponíveis na técnica empregando-se materiais de partida que estão facilmente disponíveis. Certos novos e métodos exemplares de preparar os compostos inventivos são descritos na seção de Exemplificação abaixo. Tais métodos estão dentro do escopo desta invenção.

EXEMPLOS

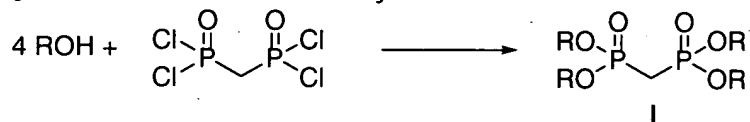
Os Exemplos mencionados aqui fornecem sínteses exemplares de compostos representativos da invenção. Da mesma forma fornecido são métodos exemplares para analisar os compostos da invenção quanto à sua atividade de ligação óssea, ensaios para determinar a concentração inibidora mínima (MIC) dos compostos da invenção contra microorganismos,

e métodos para testar a citotoxicidade e atividade *in vivo*.

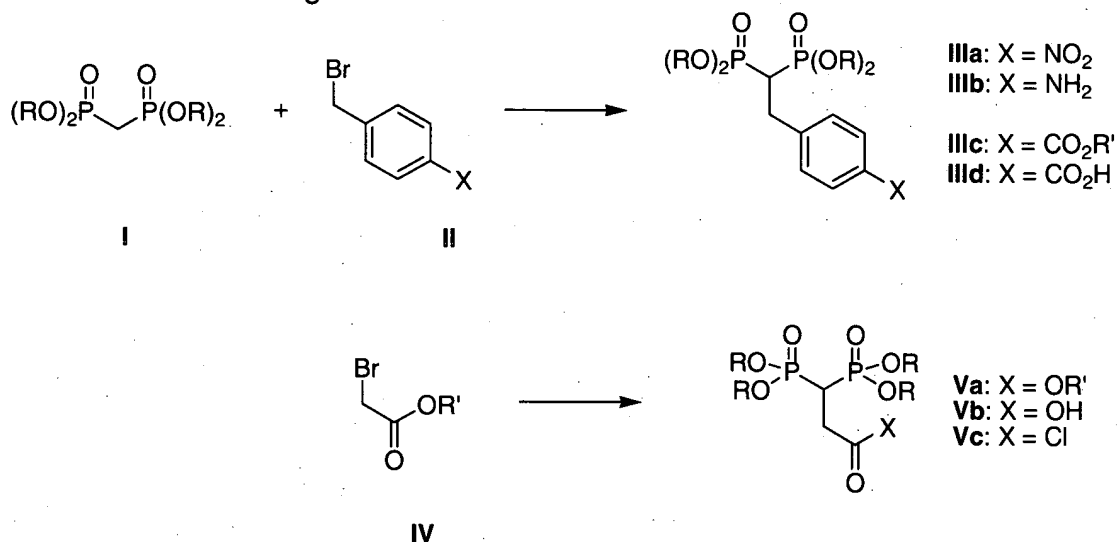
Exemplo 1: Síntese de Rifamicinas fosfonadas

A) Procedimentos Experimentais Gerais

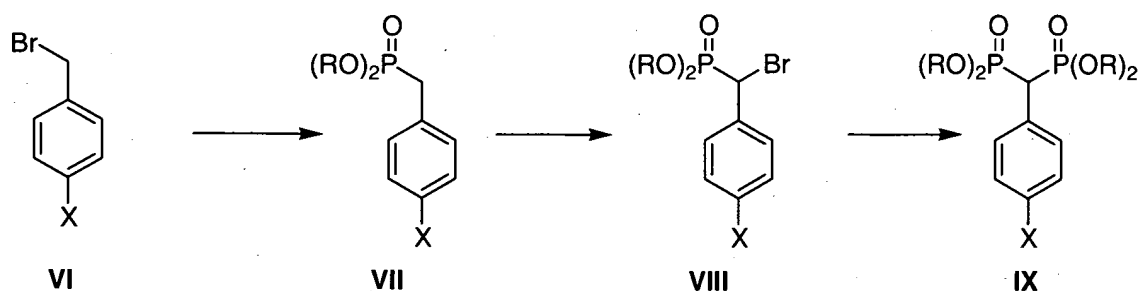
A 1) Preparação de blocos de construção de bisfosfonato



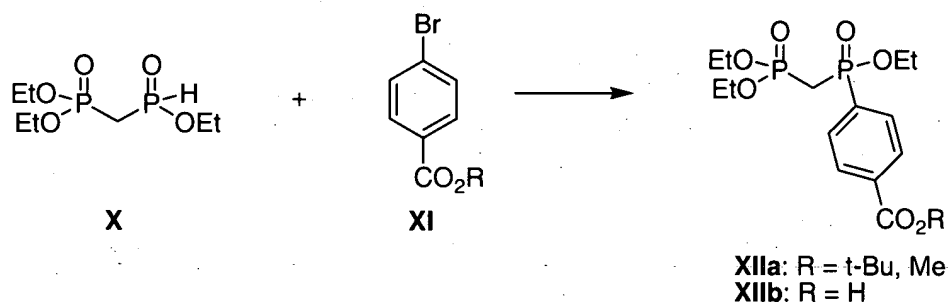
5 Como descrito em Synth. Commun. (2002), 32; 211-218, tetraésteres de ácido metilenobisfosfônico (I) podem ser preparados a partir do tetracloreto de origem e um álcool.



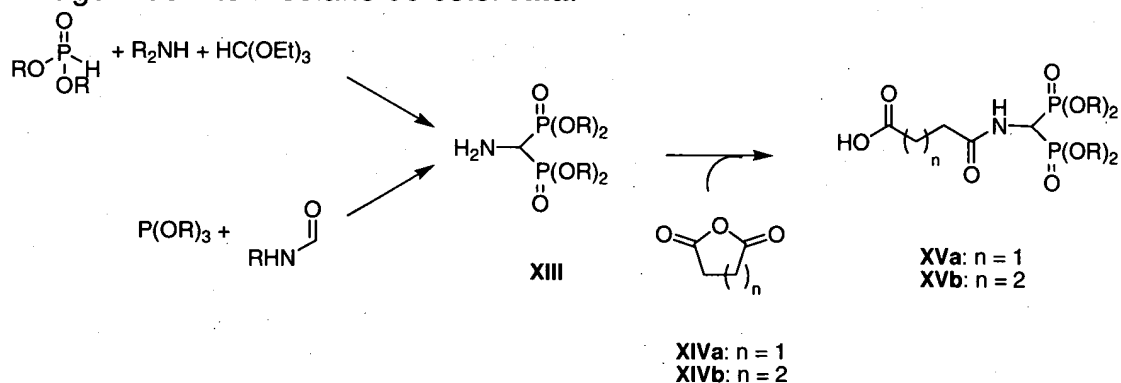
Seguindo os protocolos descritos em Bioorg. Med. Chem. (1999), 7; 901-919, blocos de construção de bisfosfonato substituído por benzila das estruturas gerais **III** e **V** podem ser obtidos por alquilação do ânion de **I** com brometo de benzila 4-substituído **II** ou bromoacetato **IV**. Compostos de nitro **IIIa** podem ser convertidos em anilina **IIIb** por redução do grupo de nitro sob condições de hidrogenação, empregando um catalisador tal como PtO₂. Ésteres semelhantes a **IIIc** e **Va** podem ser convertidos aos ácidos correspondentes **IIId** ou **Vb** por meio de clivagem de éster. Por exemplo, éster **IIIc** onde R' = *t*-Bu podem ser tratados com TFA para proporcionar o ácido correspondente **IIId**. Sob condições similares, éster **Va** onde X = Ot-Bu pode ser convertido ao ácido **Vb**.

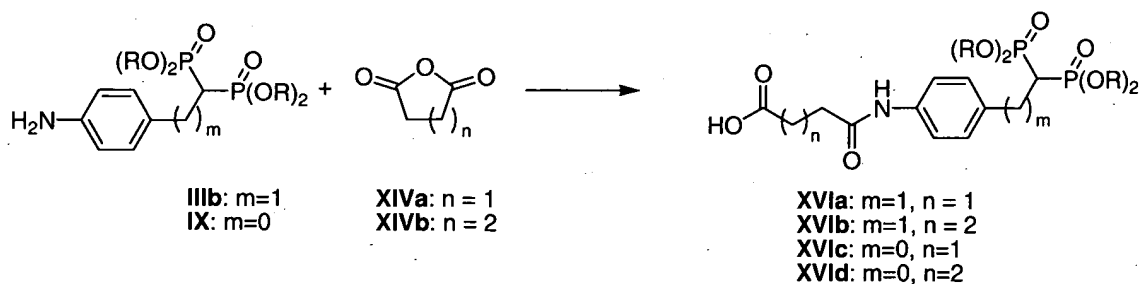


Bisfosfonatos de metileno substituídos por arila da fórmula geral IX podem ser obtidos a partir dos haletos benzílicos de origem VI em uma seqüência de duas reações de Arbuzov separadas por uma halogenação benzílica.

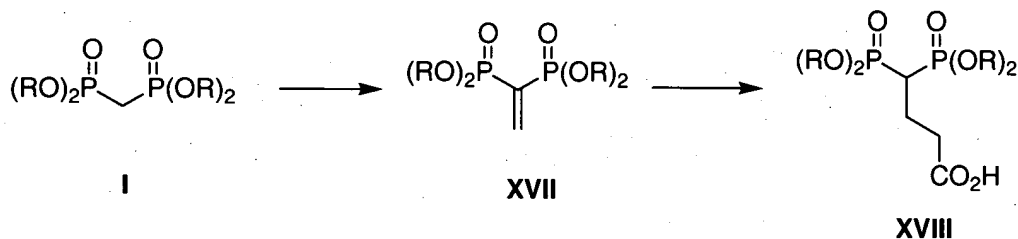


- 5 (Etoxfosfinil)metilfosfonato de dietila X pode ser preparado empregando-se o procedimento descrito em Synth. Comm. (2002), 32; 2951-2957 e patente US 5.952.478 (1999). Pode ser acoplado com um bromobenzeno 4-substituído (XI) para acessar o ácido XIIb, seguindo clivagem do intermediário de éster XIIa.

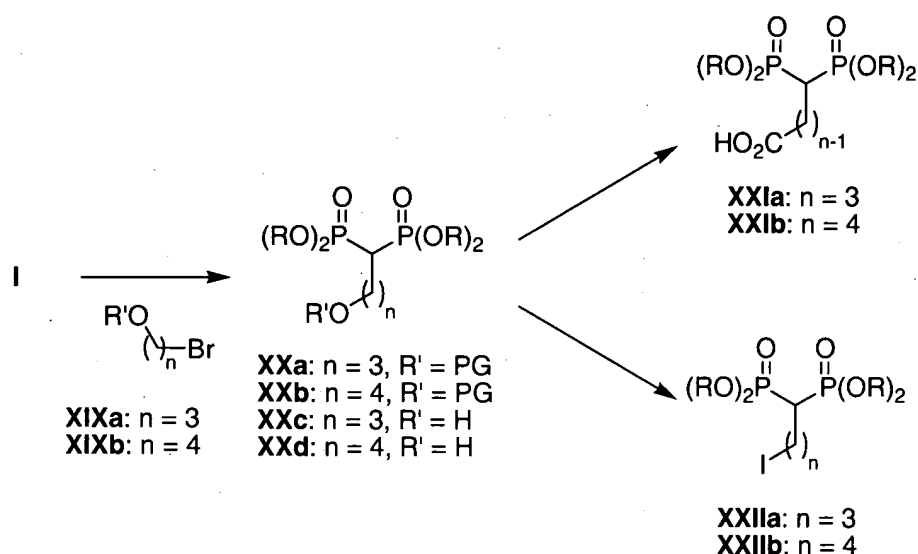




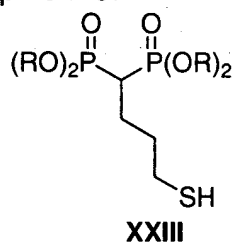
Amina **XIII** pode ser preparada a partir de dibenzilamina ou dialilamina, fosfito de dialquila e ortoformiato de trietila seguindo um protocolo descrito em Synth. Commun. (1996), 26; 2037-2043, ou de um fosfito de trialquila e uma formamida apropriadamente substituída (tal como formamida de alila) como em Phosphorus, Sulfur e Silicon (2003), 178, 38-46. Acilação de **XIII** com anidrido succínico **XIVa** ou anidrido glutárico **XIVb** pode fornecer ácidos **XVa** e **XVb** respectivamente (J. Drug Targeting (1997), 5; 129-138). De uma maneira similar, tratamento do **IIIb** ou **IX** previamente descrito com **XIV(a-b)** resulta nos ácidos succinâmicos e glutarâmicos **XVI(a-d)**.



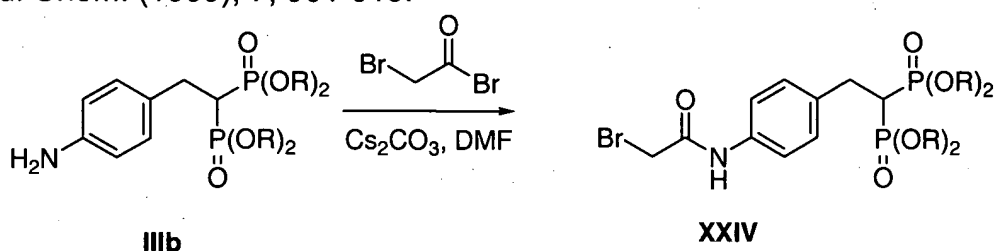
Olefina **XVII** pode ser preparada a partir de **I** seguindo um protocolo descrito em J. Org. Chem. (1986), 51; 3488-3490. Pode ser convertida ao ácido Bisfosfonobutírico de origem **XVIII** como descrito em J. Org. Chem. (2001), 66;3704-3708.

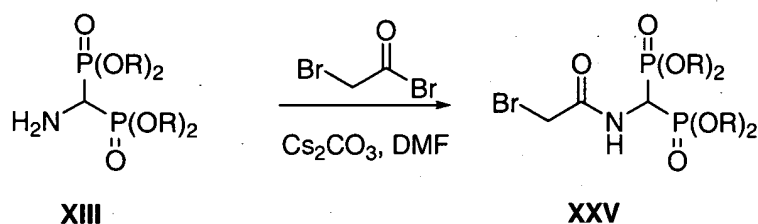


- Como descrito em Phosphorus, Sulfur e Silicon, (1998), 132; 219-229, álcoois de estrutura geral **XX(c-d)** e iodetos da estrutura geral **XXII** podem ser preparados por alquilação do ânion de **I** por brometos de ω -hidróxi protegidos de vários comprimentos de cadeia **XIX(a-b)**. Depois da
- 5 desproteção, álcoois podem ser convertidos aos iodetos correspondentes por meio de tratamento com trifetilfosfina gerada *in situ*: complexo de iodo. Estes álcoois **XX(c-d)** podem adicionalmente ser convertidos em ácidos da estrutura geral **XX** por métodos convencionais de oxidação, tal como tratamento com dicromato de piridínio.

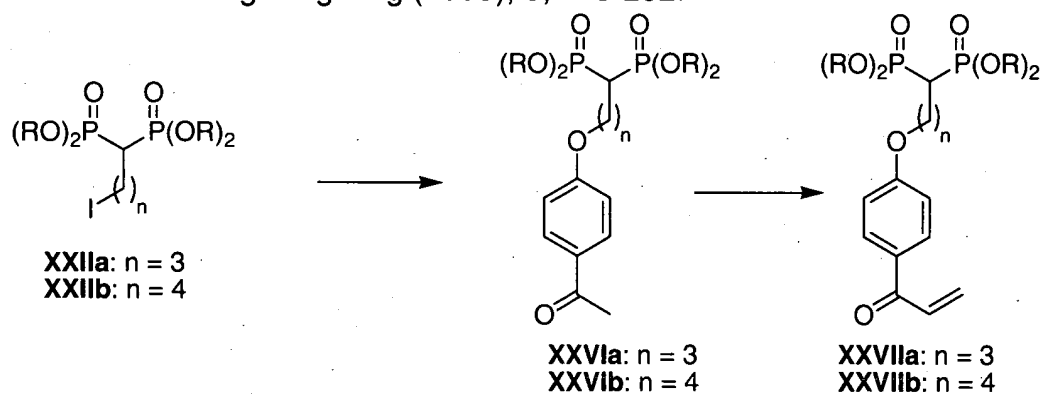


- 10 Tiol **XXIII** pode ser preparado por alquilação do ânion de **I** com um 3-iodopropano-1-tiol protegido seguindo o protocolo descrito em Bioorg. Med. Chem. (1999), 7; 901-919.

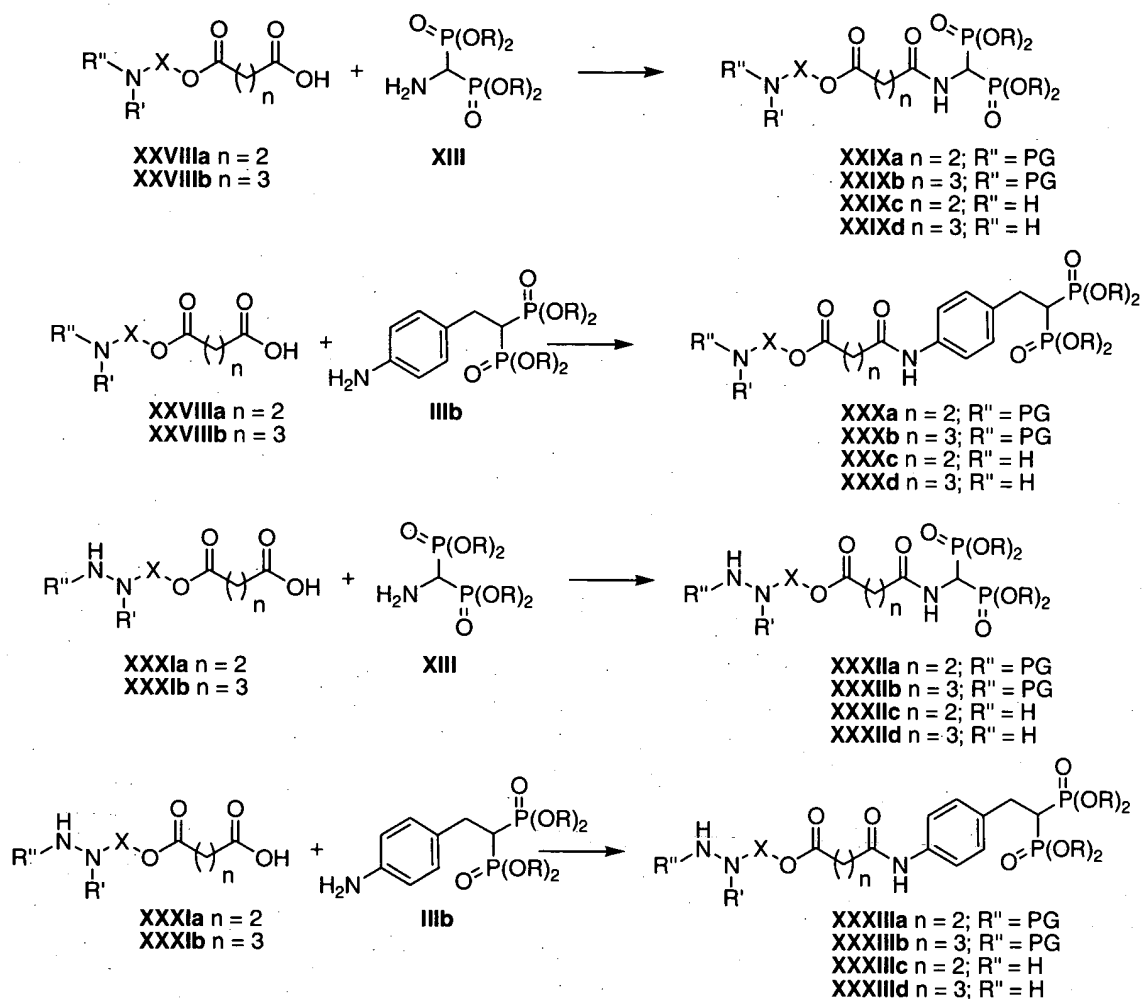




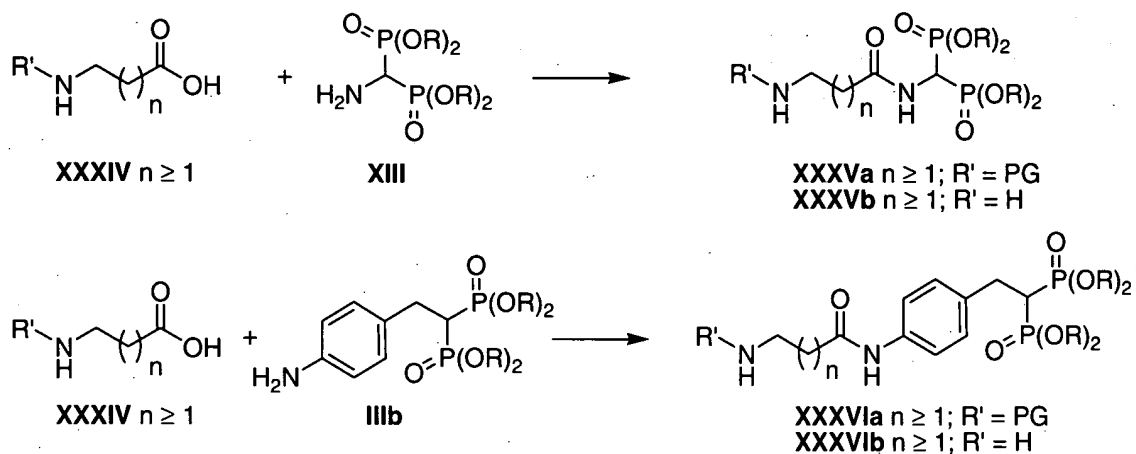
Bromoacetamidas **XXIV** e **XXV** das aminas de origem **IIIb** e **XIII** podem ser preparadas de acordo com uma modificação do procedimento descrito em J. Drug Targeting (1995), 3, 273-282.



- As vinil aril cetonas bifosfonadas tal como **XXVII(a-b)** podem ser
- 5 preparadas por meio de tratamento dos iodetos de origem **XXII(a-b)** com p-hidroxiacetofenona, seguindo por uma reação de transferência de metileno como descrito em Org. Syn. (1983); 60; 88-91.



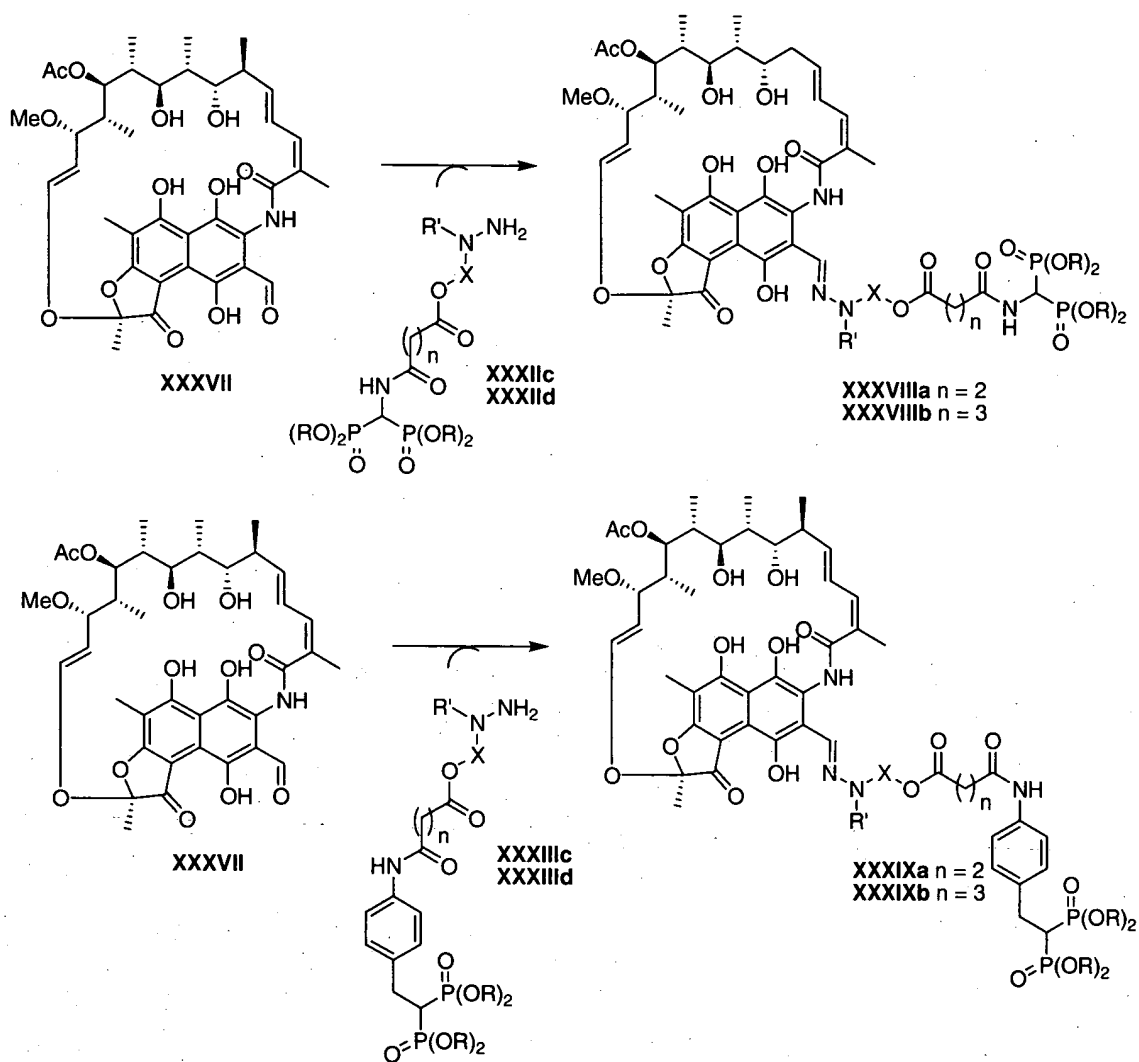
- Amino bisfosfonadas **XXIX(a-d)** e **XXX(a-d)** e hidrazinas **XXXII(a-d)** e **XXXIII(a-d)** são produzidas pelas aminos apropriadamente protegidas **XXVIII(a-b)** e hidrazinas **XXXI(a-b)** com **IIIb** ou **XIII**, na presença de uma amina terciária e um agente de acoplamento de amida padrão (DCC, EDCI, HBTU, HATU, PiBOP, BOP-Cl). Em todos estes casos, X é uma combinação de átomos separando os átomos de nitrogênio e oxigênio e R' é outra combinação de átomos que podem ser ligados a esses em X.



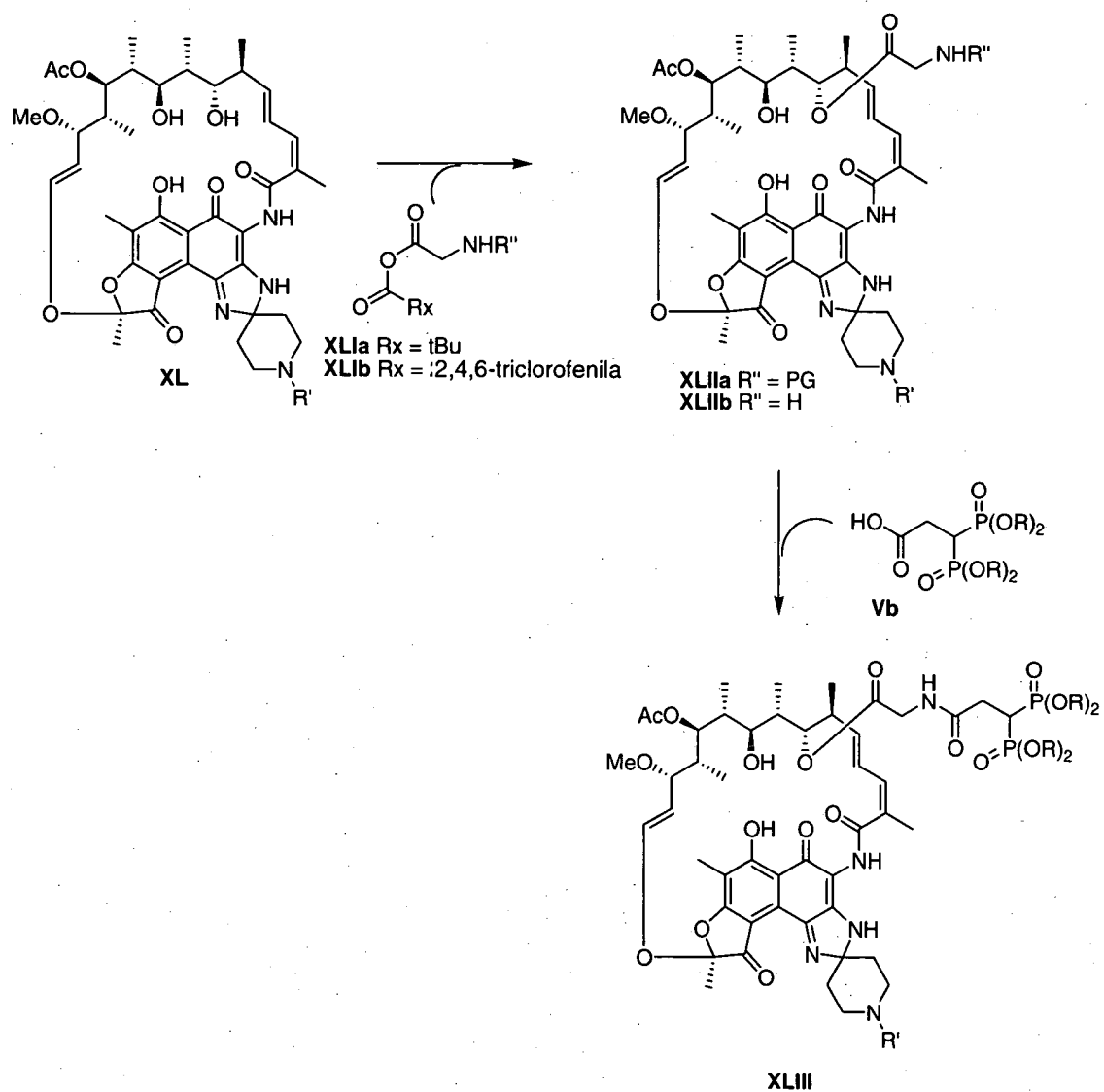
Aminas bisfosfonadas **XXXVa-b** e **XXXVIa-b** são facilmente produzidas pela acilação de aminas **XIII** e **IIIb** respectivamente com aminoácidos protegidos **XXXIV** sob condições de acoplamento de amida padrão (amina Terciária e um agente de acoplamento de amida padrão tal como DCC, EDCI, HBTU, HATU, PiBOP, BOP-Cl).

Os blocos de construção de bisfosfonato nesta seção estão na forma de seus ésteres fosfônicos, R sendo Me, Et, *i*-Pr ou Bn; ou como o ácido bisfosfônico livre.

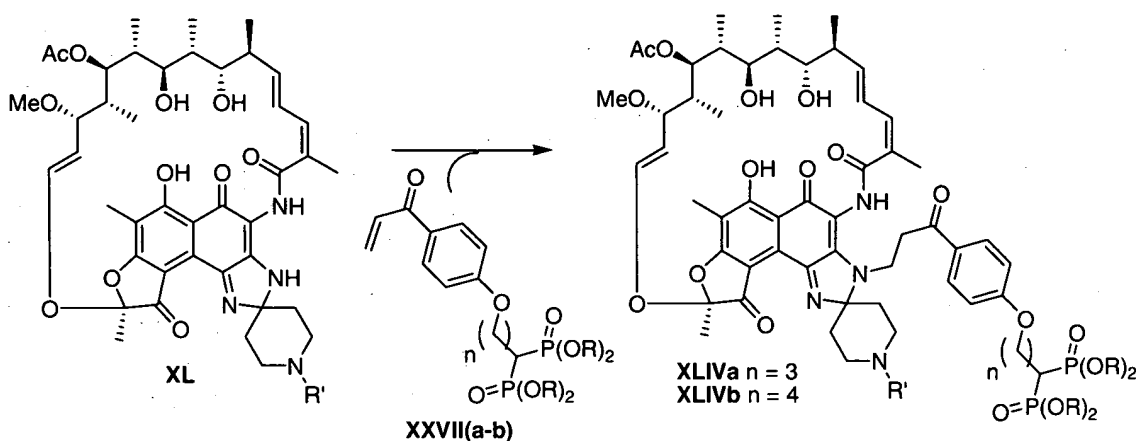
A 2) Síntese de conjugados de Rifamicina-bisfosfonato



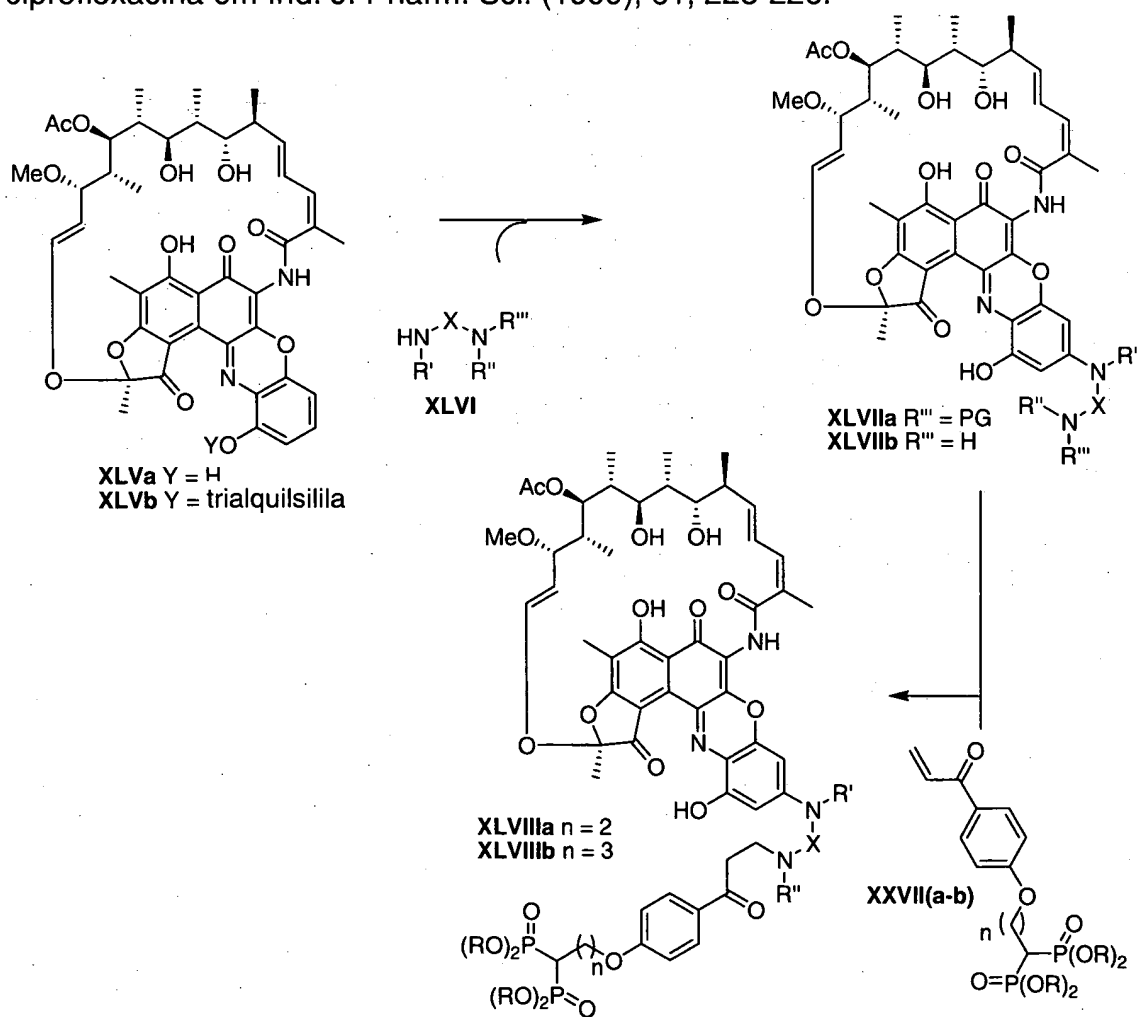
Pró-fármacos bisfosfonados **XXXVIII(a-b)** e **XXXIX(a-b)** são preparados pela condensação de 3-formil Rifamicina S **XXXVII** com as hidrazinas **XXXII(c-d)** e **XXXIII(c-d)** de uma maneira similar como descrito em Farmaco, Ed. Sci. (1975), 30, 605-619.



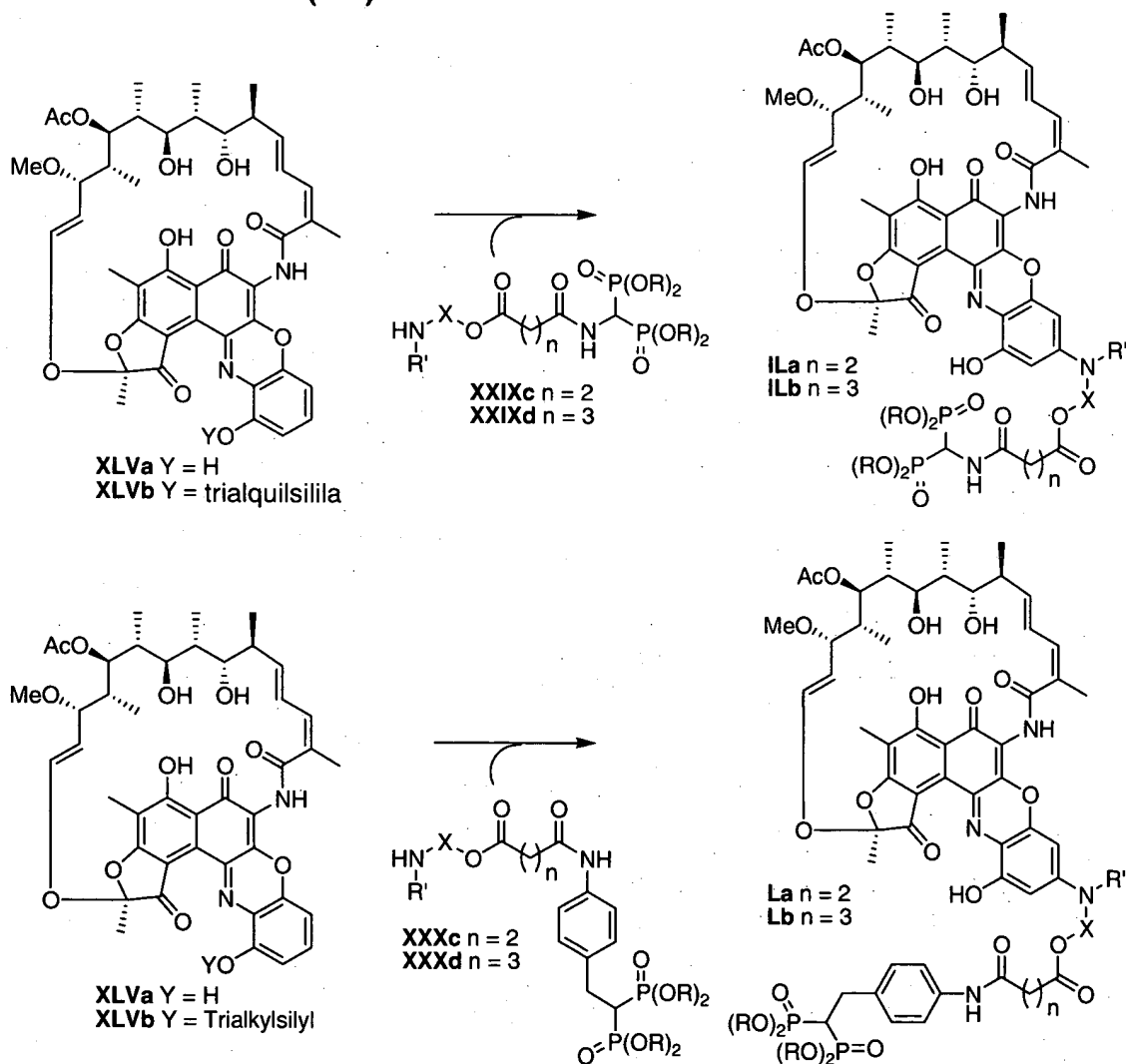
A reação de compostos derivados de rifamicina **XL** com os anidridos misturados preparados a partir de glicinas protegidas seletivamente produz os produtos de éster **XLIIa**, de uma maneira semelhante àquela descrita para outros anidridos em J. Mol. Struct. (2001), 563-564, 61-78. Depois da desproteção da porção de glicinila, o grupo amino livre é reagido com ácido **Vb** para produzir os derivados de Rifamicina bisfosfonada desejados **XLIII**.



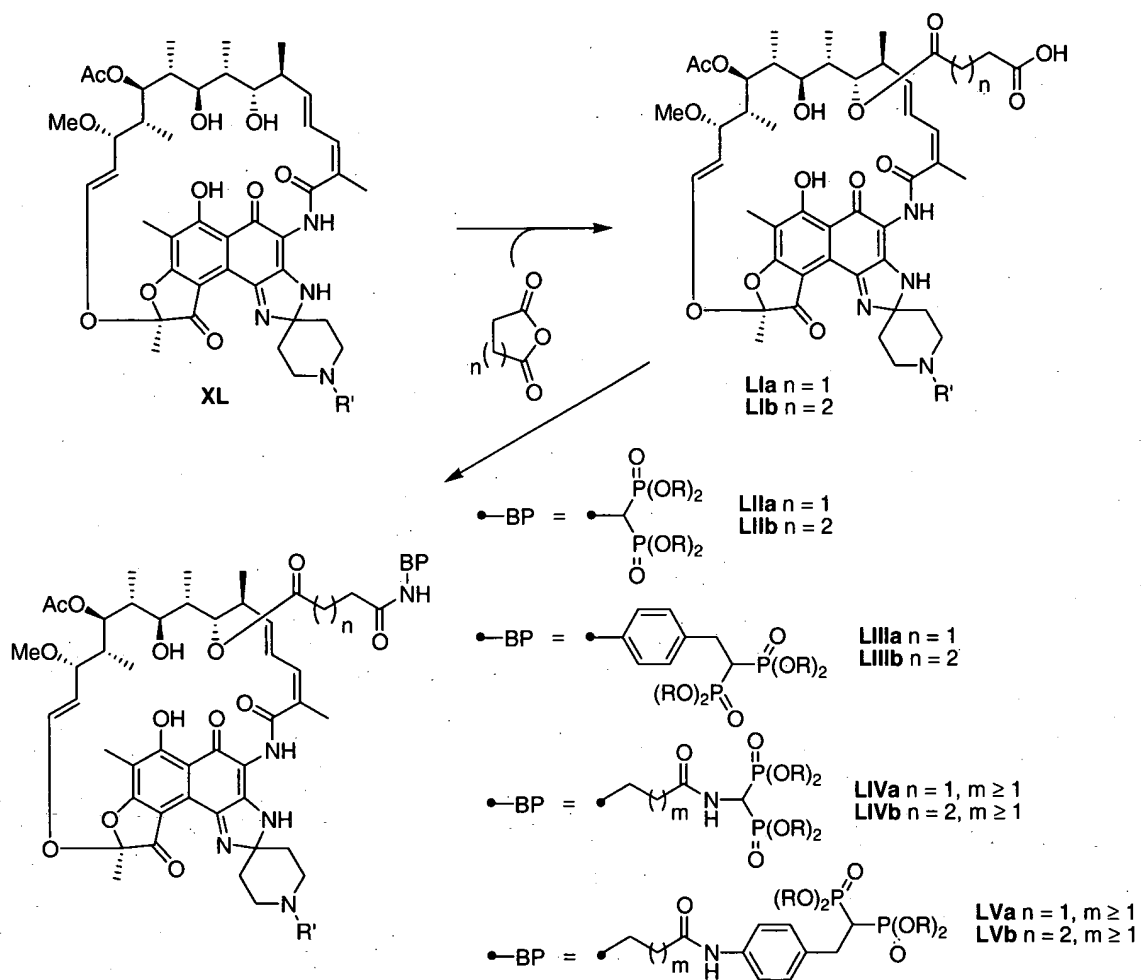
A adição de **XL** em vinil cetonas **XXVII(a-b)** fornece pró-fármacos derivados de Rifamicina bisfosfonada **XLIV(a-b)**, de uma maneira similar àquela descrita para um pró-fármaco não-bisfosfonado de ciprofloxacina em Ind. J. Pharm. Sci. (1999); 61, 223-226.



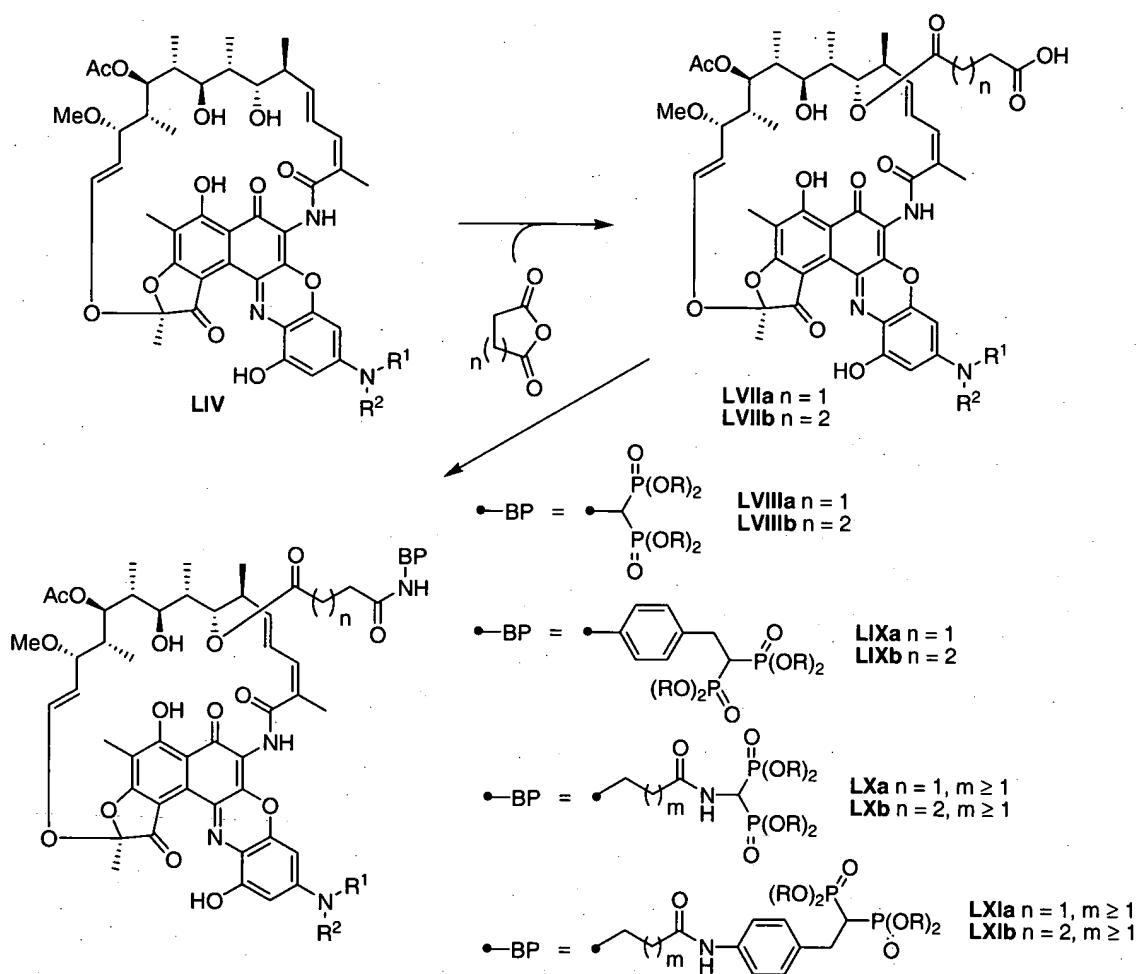
de benzoxazinorifamicinas **XLV(a-b)** com diaminas **XLVI** na presença de um oxidante moderado tal como dióxido de manganês, como descrito em US 4.690.919, US 4.983.602 e Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155, podem reagir com vinil cetonas **XXVII(a-b)** para proporcionar pró-fármacos bisfosfonados **XLVIII(a-b)**.



Derivados de benzoxazinorifamicina bisfosfonados **IL(a-b)** e **L(a-b)** são preparados pela condensação de aminas bisfosfonadas **XXIX(c-d)** e **XXX(c-d)** com os derivados de benzoxazinorifamicina **XLV(a-b)** na presença de um oxidante moderado tal como dióxido de manganês, como descrito em US 4.690.919, US 4.983.602 e Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155.

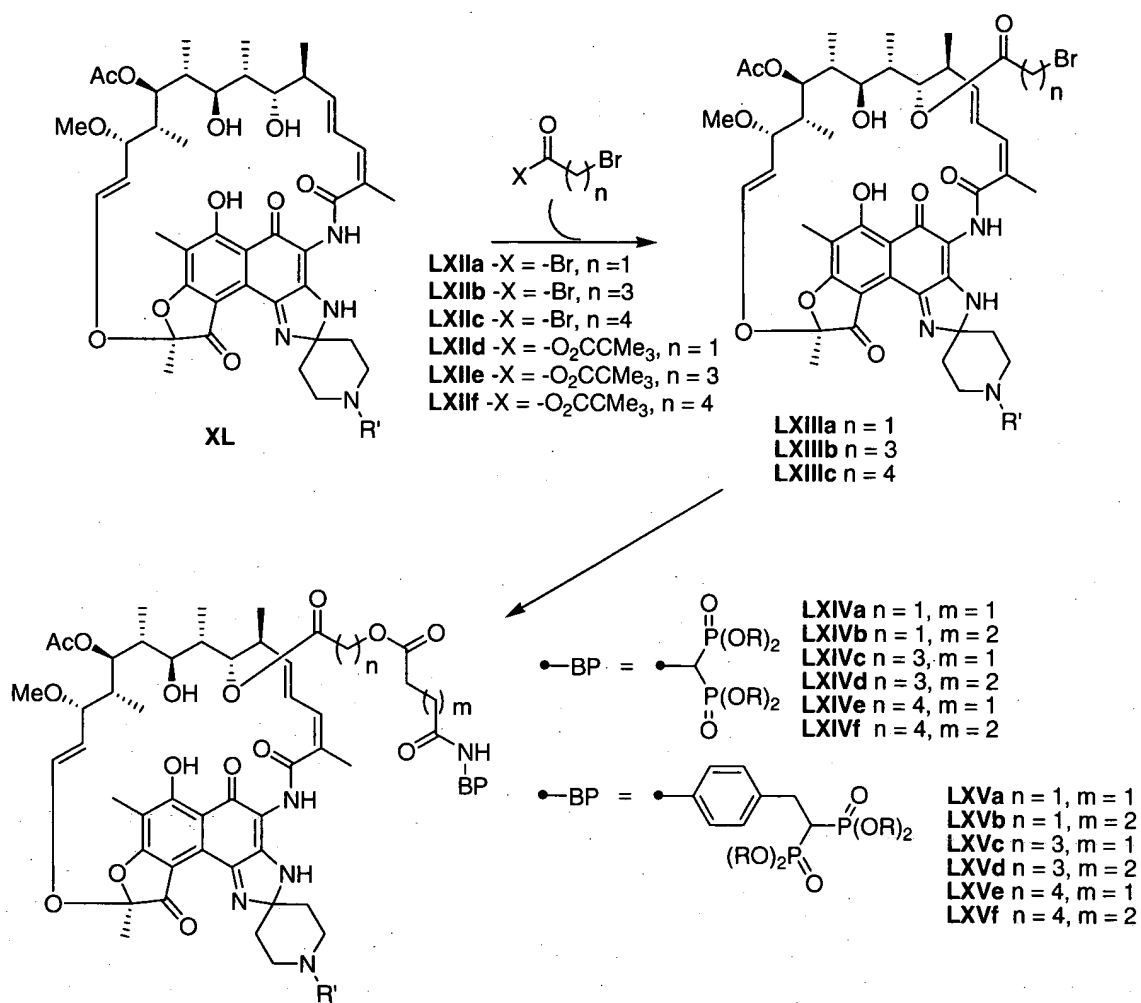


- A condensação de rifamicina **XL** com anidridos succínicos e glutáricos fornece ácidos **LIIa** e **LIIb** respectivamente. Estes ácidos podem ser acoplados, sob condições de acoplamento de amida padrão (amina terciária e um agente de acoplamento de amida padrão tal como DCC, EDCI, HBTU,
- 5 HATU, PiBOP, BOP-Cl), com amina **XIII** para fornecer pró-fármacos bisfosfonados **LII(a-b)**, com amina **IIIb** para fornecer pró-fármacos bisfosfonados **LIII(a-b)**, com aminas **XXXVb** para fornecer pró-fármacos bisfosfonados **LIV(a-b)** e com aminas **XXXVIb** para fornecer pró-fármacos bisfosfonados **LV(a-b)**.

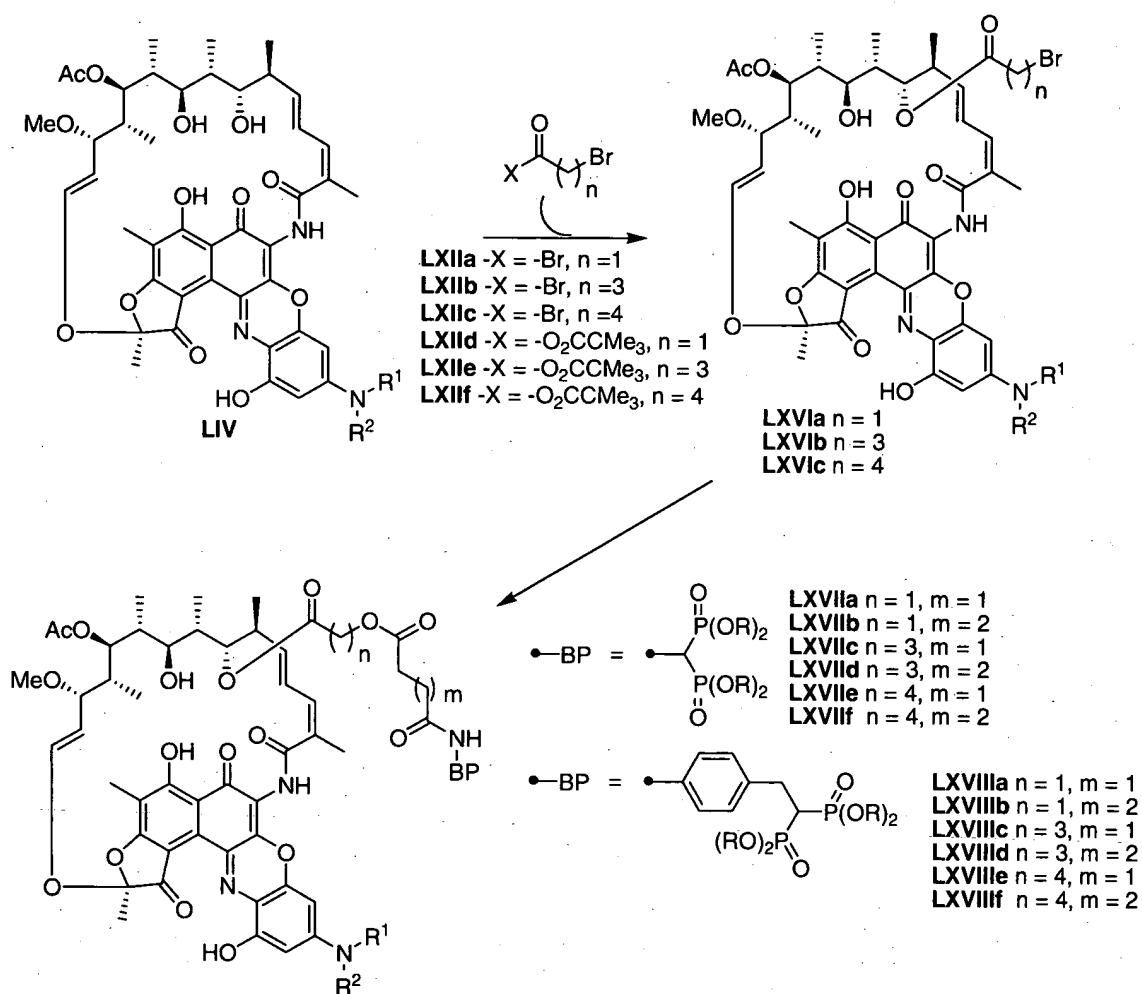


Similarmente, a condensação de benzoxazinorifamicina **LIV** com anidridos succínicos e glutáricos fornece ácidos **LIIa** e **LIIb** que podem ser acoplados com aminas **XIII**, **IIIb**, **XXXVb** e **XXXVIb** para fornecer pró-fármacos bisfosfonados **LVII(a-b)**, **LVIII(a-b)**, **LIX(a-b)** e **LX(a-b)**

5 respectivamente.



Tratamento de rifamicinas **XL** com brometos de bromoacila **LXII(a-c)** ou com os anidridos misturados **LXII(d-f)** na presença de uma base não nucleofílica fornece ésteres de bromoacila **LXIII(a-c)**. Estes podem reagir com os ácidos succinâmicos **XVa** e **XVIa** e os ácidos gutarâmicos **XVb** e **XVib** na presença de uma base para fornecer pró-fármacos bisfosfonados **LXIV(a-f)** e **LXV(a-f)**.



Similarmente, benzoxazinorifamicinas **LIV** podem ser tratadas com **LXII(a-f)** na presença de uma base para fornecer ésteres de bromoacila **LXVI(a-c)** que podem reagir com ácidos **XV(a-b)** e **XVI(a-b)** para produzir pró-fármacos bisfosfonados **LXVII(a-f)** e **LXVIII(a-f)**.

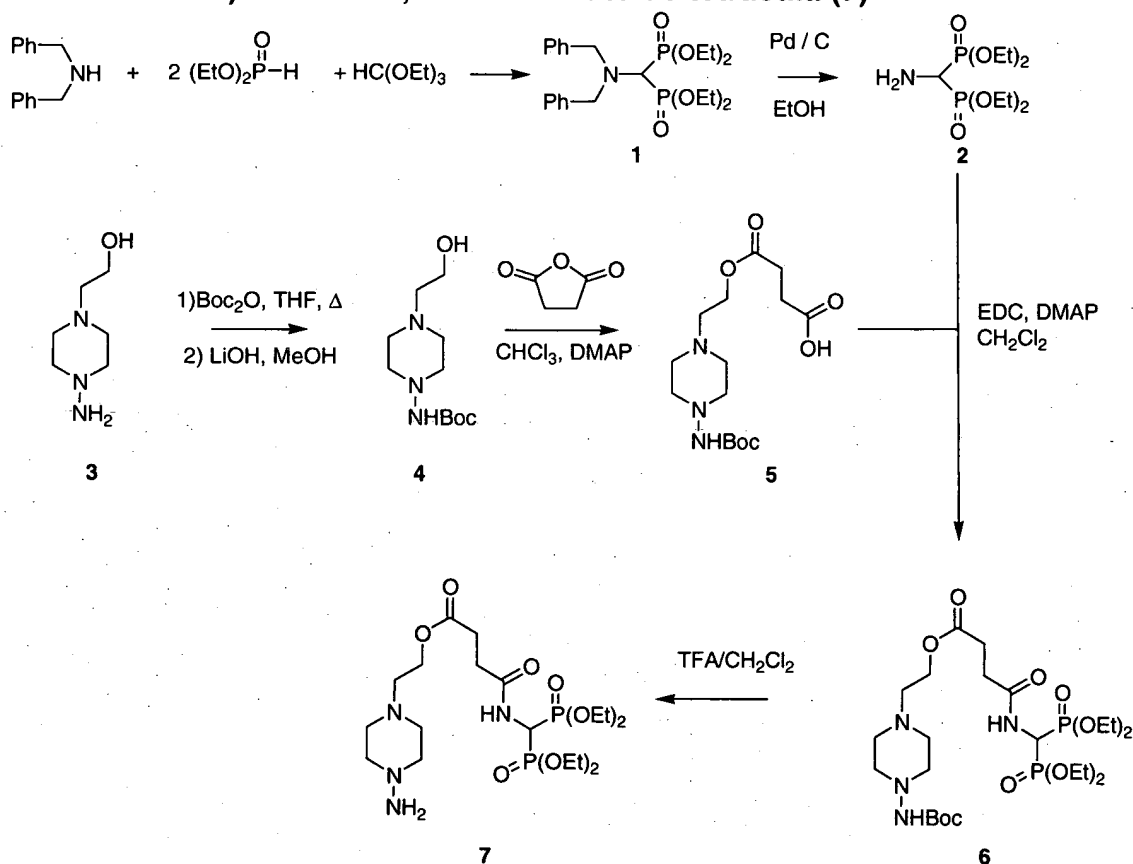
Os blocos de construção de bisfosfonato descritos nesta seção estão na forma de seus ésteres fosfônicos, R sendo Me, Et, *i*-Pr, alila ou Bn; ou como os ácidos bisfosfônicos livres e/ou sais de bisfosfonato livres. Os ésteres bisfosfônicos podem ser convertidos aos ácidos livres e sais de ácido por métodos convencionais, tal como o tratamento com brometo de trimetilsilila ou iodeto na presença ou na ausência de uma base, hidrogenação quando os ésteres de bisfosfonato são bisfosfonatos de benzila, por tratamento com um catalisador de paládio e um nucleófilo quando os ésteres de bisfosfonato são bisfosfonatos de alila.

Os outros grupos de proteção empregados podem ser colocados

e removidos empregando-se os métodos convencionais descritos na literatura, por exemplo, como revisado em "*Protective Groups in Organic Synthesis*", Greene, T.W. e Wuts, P.M.G., Wiley-Interscience, New York, 1999.

5 **B) Procedimentos Experimentais Detalhados**

Esquema 1. Síntese de (4-(2-(1-amino-piperazin-4-il)etóxi)-4-oxobutanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (7)



- 10 **N,N-dibenzil-1-aminometilenobisfosfonato de tetraetila (1):** Composto 1 foi preparado de acordo com um protocolo modificado derivado de Synth, Comm, (1996), 26: 2037-2043. Ortoformato de trietila (8,89 g, 60 mmols), fosfito de dietila (16,57 g, 120 mmols) e dibenzil amina (11,80 g, 60 mmols) foram combinados em um frasco de base arredondado de 100 mL adaptado com uma cabeça de destilação. A reação foi aquecida em uma temperatura de 180 - 195°C durante 1 h sob Ar, Quando a evolução de EtOH foi concluída. A mistura de reação foi resfriada em temperatura ambiente, diluída com CHCl₃ (300 mL), lavada com NaOH aquoso (2M, 3 (60 mL) e
- 15

salmoura (2 × 75 mL), em seguida secada em MgSO₄. Depois da evaporação, um rendimento bruto de 25,2 g (87%) foi obtido. Uma porção de 4,95 g do óleo cru foi purificada por cromatografia (acetato de etila:hexano:metanol 14:4:1) para produzir o puro **1** (2,36 g, 41%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,32 (dt, J=2,0, 7,0, 12H), 3,55 (t, J=25,0, 1H), 3,95-4,25 (m, 12H), 7,20-7,45 (m, 10H),

1-Aminometilenobisfosfonato de tetraetila (2): Composto **1** (2,00 g, 4,14 mmols) foi dissolvido em EtOH (40 mL). A esta solução foi adicionado paládio em carbono (10%, 1,5 g) e cicloexeno (2,5 mL, 24,7 mmols). A mistura de reação foi refluxada sob argônio durante 15 horas, filtrada através de celita e evaporada para produzir **2** como um óleo amarelo pálido ligeiramente impuro (1,50 g, 119%) que foi diretamente empregado na próxima etapa sem outra purificação, ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,35 (t, J=7,0, 12H), 3,58 (t, J=20,3, 1H), 3,65-3,90 (br s, 2H), 4,20-4,28 (m, 8H),

1-(t-Butiloxicarbonilamino)-4-(2-hidroxietil)piperazina (4): 1-amino-4-(2-hidroxietil)-piperazina **3** (1,18 g, 8,1 mmols) e anidrido de Boc (4,4 g, 20,3 mmols) foram adicionados a 100 mL de THF e aquecido a 60°C durante 1,5 hora. O solvente foi evaporado sob vácuo e o resíduo foi dissolvido em MeOH (50 mL) e uma solução aquosa (50 mL) de LiOH (970 mg, 40,4 mmols) foi adicionada. A solução resultante foi agitada em temperatura ambiente durante 16 horas. A mistura foi em seguida diluída com água (50 mL) e extraída com CH₂Cl₂ (3 × 75 mL), lavada com salmoura (75 mL), secada em Na₂SO₄ e concentrada para produzir uma goma incolor. O resíduo bruto foi triturado em Et₂O, arrefecido a 0°C e filtrado para produzir um sólido (1,21 g, 61%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,45 (s, 9H), 2,55 (t aparente, J=5,4 Hz, 2H), 2,64 (m, 4H), 2,83 (m, 4H), 3,60 (t aparente, J=5,4 Hz, 2H) 5,40 (br s, 1H),

1-(t-Butiloxicarbonilamino)-4-(2-(4-hidróxi-4-oxo-butanoilóxi)etil)piperazina (5): Composto **4** (250 mg, 1,0 mmol), anidrido succínico (105 mg, 1,05 mmol) e 4-DMAP (cat.) foram dissolvidos em CHCl₃ (600 µL) e agitados durante 12 horas. A solução foi concentrada em vácuo e empregada sem outra purificação, ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,43 (s, 9H),

2,60 (s, 4H), 2,76 (m, 6H), 2,86 (m, 4H), 4,23 (t, J=5,5 Hz, 2H), 5,71 (br s, 1H), 10,82 (br s, 1H)

(4-(2-(1-(t-Butiloxicarbonilamino)-piperazin-4-il)etóxi)-4-oxo-butanoil-amino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (6):

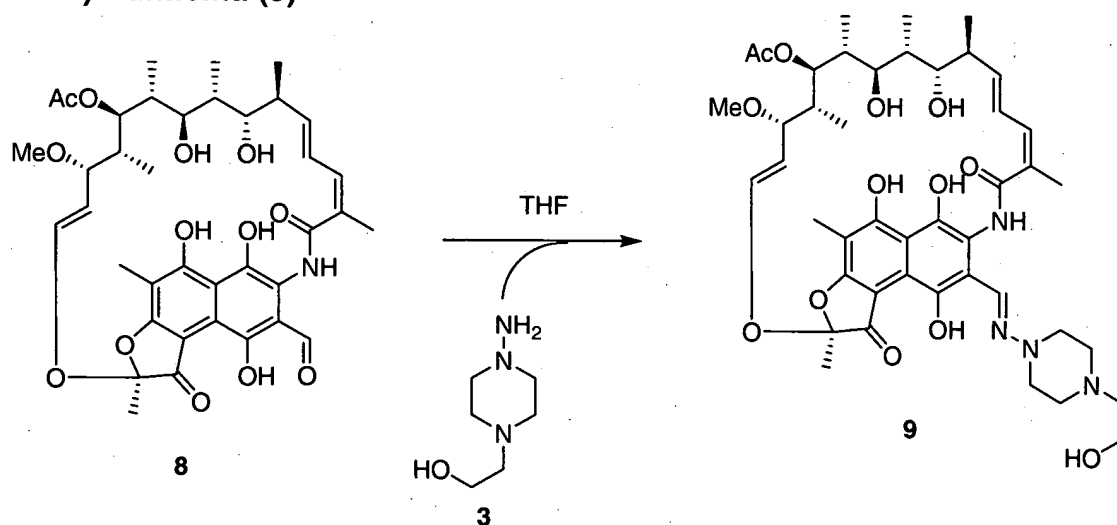
5 compostos **2** (303 mg, 1,0 mmol) e **5** (345 mg, 1,0 mmol) em CH₂Cl₂ (10 mL) foram adicionados EDC (230 mg, 1,2 mmol) e 4-DMAP (cat.). A solução resultante foi agitada 4 horas sob Ar em temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída em CH₂Cl₂, lavada com água, salmoura e secada em Na₂SO₄. Depois de evaporação, o resíduo foi purificado por cromatografia

10 instantânea em SiO₂ (gradiente de 4% a 10% de MeOH / CH₂Cl₂) para produzir uma goma incolor (410 mg, 65%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,33 (t, J=7,1 Hz, 12H), 1,45 (s, 9H), 2,56-2,69 (m, 10H), 2,81 (br s, 4H), 4,12-4,26 (m, 10H), 5,00 (dt, J=10,1, 21,7 Hz, 1H), 5,51 (br s, 1H), 6,50 (br d, J=8,2Hz, 1H).

15 **(4-(2-(1-Amino-piperazin-4-il)etóxi)-4-oxo-butanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (7):** Composto **6** (490 mg, 0,78 mmol) foi dissolvido em uma solução de 10% de TFA / CH₂Cl₂ (8 mL). A solução foi agitada em temperatura ambiente até que nenhum material de partida permanecesse (monitoramento por TLC). Os volatiles foram evaporados sob

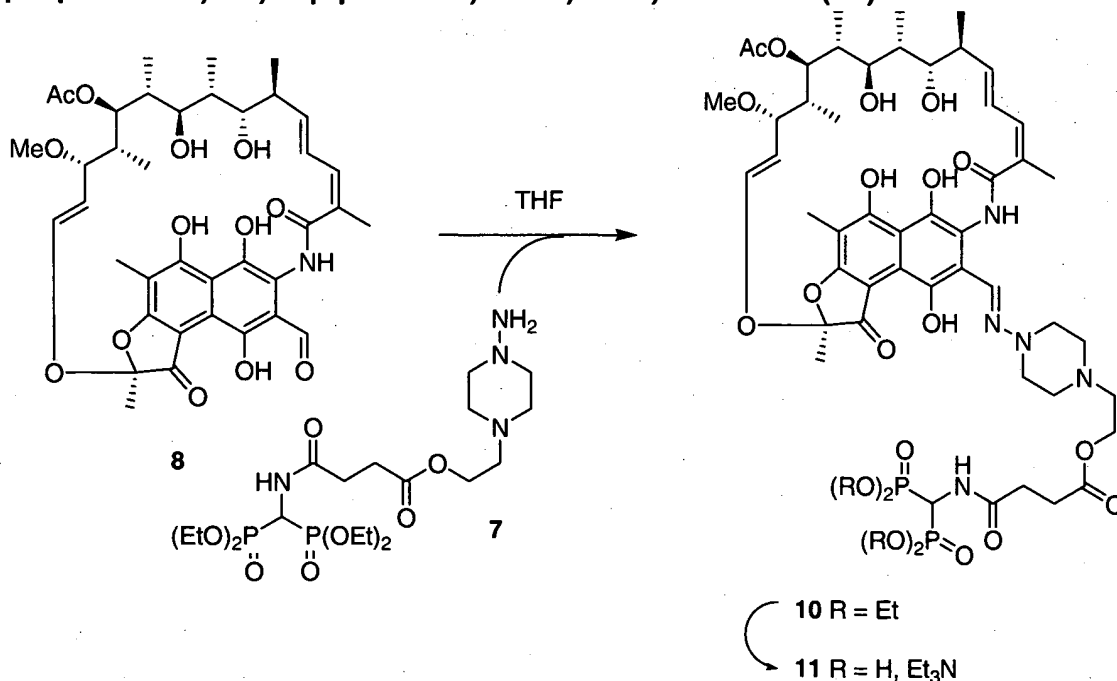
20 vácuo e o resíduo foi empregado na próxima etapa sem purificação.

Esquema 2. Síntese de 3-(((4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil)imino)metil)rifamicina (9)



- 3-(((4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil)imino)metil)rifamicina (9):** 3-formil Rifamicina S (**8**, 724 mg, 1 mmol) foi suspenso em 3 mL de THF. 1-amino-4-(2-hidroxietil)-piperazina sólida (**3**, 145 mg, 1 mmol) foi adicionado em uma porção. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 15 min. Foi dividido em seguida entre 50 mL de CH₂Cl₂ e uma mistura de 10mL de salmoura saturada e uma solução de 2 g de ascorbato de sódio em 30 mL de água. Os orgânicos foram coletados e a camada aquosa foi extraída com mais 50 mL de CH₂Cl₂. Os orgânicos combinados foram secados em Na₂SO₄ e concentrados em vácuo para fornecer 830 mg (0,97 mmols, 97%) de **9** como um sólido escuro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ -0,32 (d, J=6,9, 3H), 0,58 (d, J = 6,9, 3H), 0,86 (d, J = 7,0, 3H), 1,00 (d, J = 7,0, 3H), 1,34 (m, 1H), 1,52 (m, 1H), 1,69 (m, 1H), 1,80 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,38 (m, 1H), 2,91 (br t, J = 4,6, 2H), 3,04 (sobreposição 3,04 (m, 6H) e 3,03 (s, 3H)), 3,33 - 3,48 (m, 6H), 3,54 (br s, 1H), 3,74 (m, 2H), 3,86 (br t, J = 4,8, 2H), 4,93 (d, J = 10,6, 1H), 5,09 (dd, J = 6,6, 12,6, 1H), 5,36 (br s, 1H), 5,92 (dd, J = 5,0, 15,4, 1H), 6,18 (d, J = 12,7, 1H), 6,38 (d, J = 11,1, 1H), 6,56 (dd, J = 11,6, 15,5, 1H), 8,35 (s, 1H), 12,07 (s, 1H).

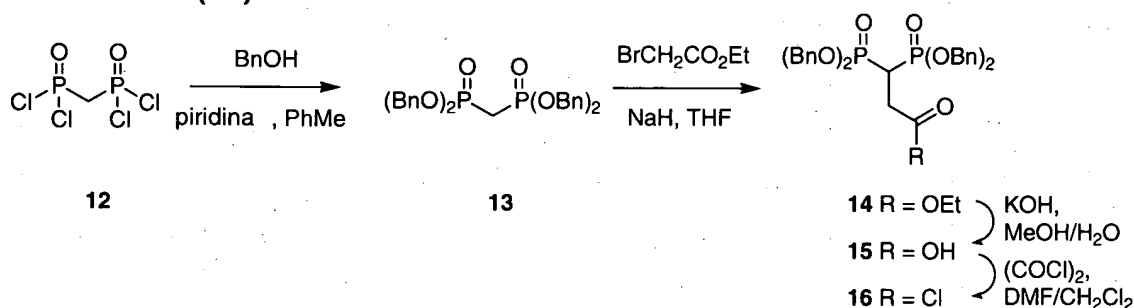
Esquema 3. Síntese de 3-(((4-(2-(3-((bisfosfonometil) carbamoil) propanoilóxi)etil)-1-piperazinil)imino)metil)rifamicina (11)



- 3-(((4-(2-(3-((bis(dietilfosfono)metil) carbamoil) propanoilóxi)etil)-1-piperazinil)imino)metil)rifamicina (10):** Composto **7** (490 mg, 0,78 mmol) foi diluído em THF e TEA foi, em seguida, adicionado (560 µL, 4,0 mmols), 3-formil Rifamicina sólida **8** (537 mg, 0,74 mmol) foi, em seguida, adicionada. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 15 horas. Foi, em seguida, dividido entre 50 mL de CH₂Cl₂ e uma mistura de 10 mL de salmoura saturada e uma solução aquosa de 10% de ascorbato de sódio (30 mL). Os orgânicos foram coletados e a camada aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ (2 x 50 mL). Os orgânicos combinados foram secados em Na₂SO₄ e concentrados em vácuo para fornecer **10** cru como um sólido vermelho profundo. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ -0,33 (d, J=6,9 Hz, 3H), 0,58 (d, J=6,9 Hz, 3H), 0,85 (d, J=7,0 Hz, 3H), 1,00 (d, J=7,00 Hz, 3H), 1,33 e 1,34 (t, J=7,0 Hz, 12H), 1,53 (m, 1H), 1,71 (m, 1H), 1,80 (s, 3H), 1,90 (m, 1H), 2,06 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,38 (m, 1H), 2,56 - 2,72 (m, 12H), 3,04 (s, 3H), 3,00 - 3,10 (m, 4H), 3,12 - 3,19 (m, 2H), 3,47 (m, 1H), 3,64 (bd, J=4,8 Hz, 1H), 3,70 - 3,80 (m, 2H), 4,14 - 4,25 (m, 12H), 4,95 (d, J=10,5 Hz, 1H), 5,00 (dt, J=10,1, 21,6 Hz, 1H), 5,10 (dd, J=6,8, 12,7 Hz, 1H), 5,94 (dd, J=4,9, 15,5 Hz, 1H), 6,21 (dd, J=0,8, 12,7 Hz, 1H), 6,53 - 6,63 (m, 1H), 8,27 (s, 1H), 12,01 (s, 1H)
- 3-(((4-(2-(3-((bisfosfonometil) carbamoil) propanoilóxi)etil)-1-piperazinil)imino)metil)rifamicina (11):** Em uma solução de **10** (1,18 g, 0,96 mmol) e 2,6-lutidina (5,6 mL, 48 mmols) em CH₂Cl₂ (30 mL) a -78°C foi adicionado em gotas TMSBr (3,17 mL, 24 mmols) sob argônio. O banho frio foi removido e a mistura foi agitada durante 24 horas em temperatura ambiente. O solvente foi removido até a secura sob vácuo. O resíduo foi dissolvido em uma solução aquosa de 50 mmols de NH₄OAc/AcOH ajustada em pH 5,1 e agitado durante a noite em temperatura ambiente. A solução foi em seguida liofilizada. O resíduo bruto foi purificado por cromatografia instantânea de fase reversa em pH 5,1 (gradiente linear de 10% a 40% de acetonitrila em uma solução aquosa de 50 mmols de NH₄OAc/AcOH) para produzir **11** como um sólido laranja (680 mg, 54%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ -0,26 (d, J=6,6 Hz, 3H), 0,43 (d, J=6,5 Hz, 3H), 0,82 (d, J=7,6 Hz,

3H), 0,85 (d, J=6,7 Hz, 3H), 1,04 (m, 1H), 1,30 (m, 1H), 1,54 (m, 1H), 1,60 (s, 3H), 1,87 (s, 3H), 1,89 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 2,13 (m, 1H), 2,44 (br s, 4H), 2,48 (m, 10H), 2,52-2,64 (m, 6H), 2,81 (br d, J=9,6 Hz, 1H), 2,87 (s, 3H), 3,20 (br d, J=8,2 Hz, 1H), 3,70 (br d, J=8,3 Hz, 1H), 4,10 (m, 2H), 4,18 (dt, J=9,8, 19,1 Hz, 1H), 4,90 (dd, J=8,3, 12,7 Hz, 1H), 5,05 (d, J=10,7, 1H), 5,83 (dd, J=6,5, 15,8 Hz, 1H), 6,20 (m, 1H), 6,94 (dd, J=11,2, 15,6 Hz, 1H), 7,46 (m, 1H), 7,95 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 12,44 (s, 1H).

Esquema 4. Síntese de 1-cloro-1-oxo-propileno-3,3-bisfosfonato de tetrabenzila (16)



Esta sequência de reações foi realizada como descrito em J. Org. Chem. (2001), 66; 3704-3708.

Metilenobisfosfonato de tetrabenzila (13): Uma mistura de álcool benzílico seco (8,66 mL, 83,0 mmols) e piridina seca (6,15 mL, 76,1 mmols) foi adicionada, durante 80 min através de bomba de seringa, a uma suspensão vigorosamente agitada de metileno bis(dicloreto fosfônico) (5,00 g, 20,0 mmols) em tolueno seco (10 mL) a 0°C. Depois que a adição foi concluída, a reação foi deixada aproximar-se a temperatura ambiente e foi agitada para um adicional de 3 h. Os sólidos foram removidos através de filtração e lavada duas vezes com tolueno (2x20mL). O filtrado foi lavado com 2 M de NaOH (2x15 mL) e água (15 mL), secado em MgSO₄, e concentrado em vácuo. A remoção de impureza de álcool benzílico por destilação produziu **13** como um óleo incolor (8,1 g, 75%). Dados espectrais são como descritos no artigo supracitado.

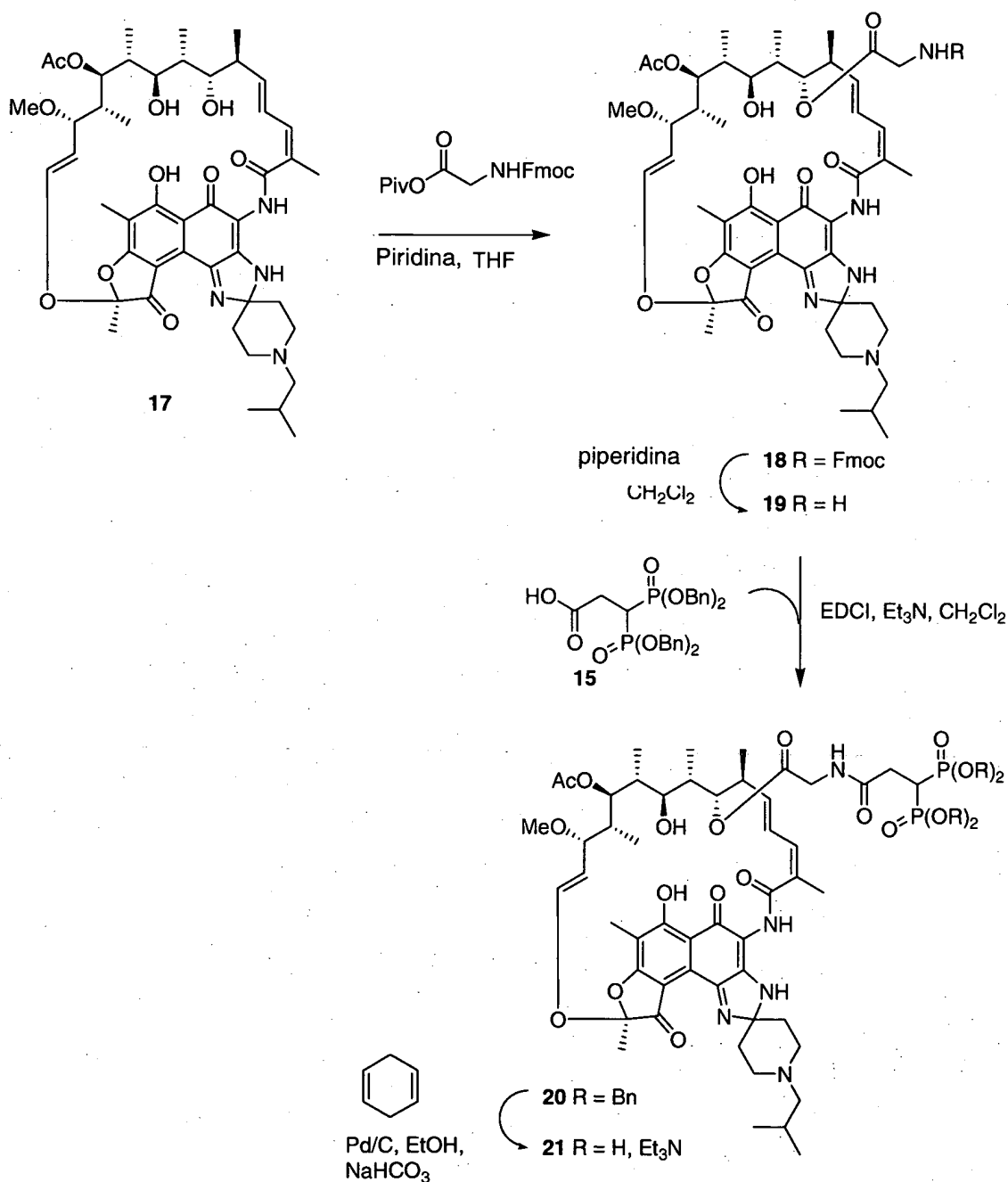
1-Etóxi-1-oxo-propileno-3,3-bisfosfonato de tetrabenzila (14): Uma solução de **13** (1,00 g, 1,87 mmol) em THF (10 mL) foi adicionada a uma suspensão de NaH (0,047 g, 1,96 mmol) em THF (20 mL) a 0°C durante 5

min. A solução foi permitida aquecer até temperatura ambiente e foi agitada para um adicional de 30 min. Em seguida, 220 μ L de bromoacetato de etila (1,98 mmol) foram adicionados. Depois de agitar durante a noite, a mistura foi derramada em uma solução saturada de NH_4Cl , e extraída com diclorometano. Os extratos orgânicos combinados foram secados em MgSO_4 e concentrado em vácuo. O resíduo foi submetido a cromatografia de SiO_2 (70% de EtOAc/hexanos) para produzir **14** como um óleo incolor (0,7 g, 60%). Dados espectrais são como descrito no artigo supracitado.

1-Carboxietileno-2,2-bisfosfonato de tetrabenzila (15): Uma solução de **14** (1,27 g, 2,04 mmols) em metanol (6 mL) foi adicionada a uma solução de KOH (0,127 g, 2,26 mmols) em água (6 mL) e metanol (6 mL) a 0°C. A reação foi deixada aquecer em temperatura ambiente durante 1 h e foi agitada nesta temperatura durante a noite. O metanol foi removido em vácuo e a solução restante foi lavada com éter de dietila (20 mL). A camada aquosa foi acidificada em pH 2 com HCl aquoso e foi extraída com CH_2Cl_2 (3x20 mL) e EtOAc (1x20 mL). Os extratos orgânicos combinados foram secados em MgSO_4 e concentrados em vácuo para produzir **15** como um óleo incolor (0,95 g, 78%). Dados espectrais são como descrito no artigo supracitado.

1-Cloro-1-oxo-propileno-3,3-bisfosfonato de tetrabenzila (16): Em uma solução de **15** (68 mg, $1,14 \times 10^{-4}$ mols) em 3 mL de CH_2Cl_2 seco foram adicionados 22 μ L ($2,6 \times 10^{-4}$ mols) de cloreto de oxalila seguido por 1 gota de DMF. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 10 min e, em seguida, foi concentrada em vácuo para fornecer o **16** cru, que é empregado como tal sem purificação.

Esquema 5. Síntese de conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 21



21-O-(N-((9H-fluoren-9-il)metiloxicarbonil)-glicinoil)-1',4-didesidro-1-

desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (18):

- 5 Cloreto de pivaloíla (145 µL, 1,18 mmol) foi adicionado em gotas a uma solução de *N*-Fmoc-glicina (351 mg, 1,18 mmol) e piridina (95 µL, 1,18 mmol) em THF (3 mL) e a solução resultante foi agitada durante 1h antes de ser adicionada a uma solução agitada de Rifabutinaa (100 mg, 0,118 mmol) e piridina (38 µL, 0,47 mmol) em THF (2mL). O resultante foi agitado durante 3 dias sob Ar
- 10 antes de ser diluído em Et₂O (10 mL) e H₂O (10 mL). Depois da separação,

a camada aquosa foi extraída duas vezes com Et₂O (2x10mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com uma solução saturada de NaCl (10mL), secadas em MgSO₄ e concentradas em vácuo. O produto cru foi purificado por cromatografia de fase reversa eluindo-se com tampão aquoso (Et₃N/CO₂, pH=7) / CH₃CN (10% a 100% de gradiente linear) para proporcionar **114** mg (0,102 mmol, 86%) de **18** como sólido roxo escuro. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃) δ 8,34 (br s, 1H), 7,94 (br s, 1H), 7,79 - 7,71 (m, 4H), 7,42 (t, J=3,0 Hz, 2H), 7,34 (t, J=3,0 Hz, 2H), 6,43 (dd, J=16 Hz, 1H), 6,14 (d, J=11 Hz, 1H), 6,08 (d, J=11,2 Hz, 1H), 5,95 - 5,91 (m, 2H), 5,19 (d, J=11,2 Hz, 1H), 5,05 (dd, J=9,3, 1,2 Hz, 1H), 4,97 (d, J=10,6 Hz, 2H), 4,51 - 2,19 (m, 3H), 3,83 (d, J=4,6 Hz, 2H), 3,55 (s, 1H), 3,14 (br d, J=1,2 Hz, 1H), 3,10 (s, 3H), 3,08 - 2,84 (m, 4H), 2,73 - 2,52 (m, 4H), 2,30 (d, J=6,0 Hz, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,31 (m, 1H), 2,05 (s, 6H), 2,02 (m, 2H), 1,86 - 1,79 (m, 4H), 1,80 (s, 3H), 1,27 (m, 3H), 1,08 (d, J=6,9 Hz, 3H), 0,95 (d, J=6,6 Hz, 9H), 0,53 (d, J=6,9 Hz, 3H), - 0,75 (d, J=7,0 Hz, 3H).

21-O-glicinoil-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (19):

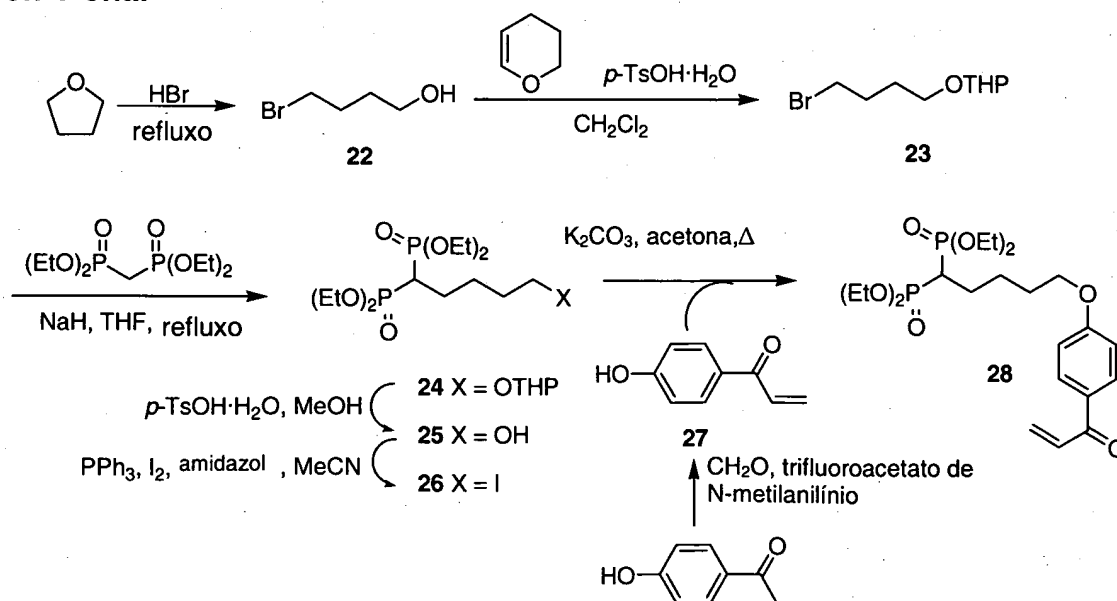
Piperidina (100, L, 1,02 mmol) foi adicionada a uma solução agitada de derivado de *N*-Fmoc-Rifabutinaa **18** (114 mg, 0,102 mmol) em CH₂Cl₂ (5 mL). Depois de 24h de agitação em temperatura ambiente, a mistura foi concentrada em vácuo. O produto cru foi purificado por cromatografia de fase reversa eluindo-se com tampão aquoso (Et₃N/CO₂, pH=7) / CH₃CN (10% a 100% de gradiente linear) para proporcionar 77 mg (0,085 mmol, 84%) de **19** como sólido roxo escuro. ¹H RMN (400MHz, CDCl₃) δ 8,32 (br s, 1H), 7,94 (s, 1H), 6,41 (t, J=11,1 Hz, 1H), 6,12 - 6,05 (m, 2H), 5,90 (dd, J=15,8, 7,4 Hz, 1H), 5,12 (d, J=10,3 Hz, 1H), 5,04 (dd, J=15,8, 1,5 Hz, 1H), 3,59 (br s, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,20 (d, J=9,5 Hz, 2H), 3,05 (s, 3H), 3,04 - 2,91 (m, 3H), 2,86 (dd, J=10,1, 3,0 Hz, 1H), 2,72 - 2,63 (m, 2H), 2,58 - 2,47 (m, 2H), 2,31 (d, J=7,0 Hz, 2H), 2,27 (s, 3H), 2,19 - 2,09 (m, 2H), 2,06 - 1,97 (m, 8H), 1,93 - 1,84 (m, 2H), 1,84 - 1,78 (m, 2H), 1,77 (s, 3H), 1,24 (m, 1H), 1,28 (d, J=7,1 Hz, 3H), 0,92 (m, 9H), 0,97 (d, J=6,9 Hz, 3H), 0,40 (d, J=7,1 Hz, 3H),

21-O-(N-(3,3-Bis(dibenzilfosfono)propanoil)-glicinoil)-1',4-didesidro-1-

desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (20): Para uma solução agitada de amine 19 (77 mg, 0,085 mmol) e ácido 15 (51 mg, 0,085mmol) em CH₂Cl₂ (2 mL) foi adicionado Et₃N (24 ,L, 0,170 mmol) e EDCI (18 mg, 0,094mmol). Depois que fosse mexido 24 h a ta. A mistura foi concentrada em vácuo. O produto cru foi purificado por cromatografia de fase reversa eluindo-se com tampão aquoso (Et₃N/CO₂, pH=7) / CH₃CN (10% a 100% gradiente linear) proporcionar 96mg (0,065 mmol, 76%) de 20 como sólido roxo escuro,

21-O-(N-(3,3-Bisfosfonopropanoil)-glicinoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (21): Uma solução agitada de tetrabenzildifosfonato 20 (96 mg, 0,065 mmol) e NaHCO₃ (22 mg, 0,26 mmol) em EtOH (5 mL) foi desgaseificada durante 10 min com Ar. A esta mistura foi adicionado cicloexadieno (303 µL, 3,24 mmols) e 10% de Pd/C (70 mg, 0,065 mmol). O resultante foi agitado 6 h sob Ar antes de ser filtrado através de uma almofada de celita (EtOH). Depois da remoção do solvente em vácuo, o produto cru foi purificado por cromatografia de fase reversa eluindo-se com tampão aquoso (Et₃N/CO₂, pH=7)/CH₃CN (10% a 50% de gradiente linear) para proporcionar 34 mg (0,065 mmol, 48%) de 21 como sólido roxo pálido. Pureza de LC/MS: 99,2% (254nm), 94,9% (220nm), 99,4% (320nm). MS (MH⁺) 1117,9.

Esquema 6. Síntese de 1-(4-(5,5-bis(dietilfosfono)pentilóxi)fenil)prop-2-en-1-ona.



- 4-Bromo-1-butanol (22):** Para 67,5 mL (832,2 mmols) de tetraidrofurano em refluxo foram adicionados 31 mL (274 mmols) de ácido hidrobrômico a 48% em gotas e a solução amarela foi permitida refluxar durante mais 2h. Depois de resfriada em temperatura ambiente, a reação foi neutralizada cuidadosamente com solução aquosa de bicarbonato de sódio saturada. A mistura resultante foi extraída com éter de dietila (3x) e secada em sulfato de sódio anidro. A remoção do solvente proporcionou o produto **19** como um óleo amarelo (10,7 g, 26%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,69-1,76 (m, 2H), 2,01-1,94 (m, 2H), 3,46 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H), 3,70 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H),
- 2-(4-Bromobutóxi)-tetraidro-2H-pirano (23):** 3,4-Diidro-2H-pirano (8,5 mL, 90,96 mmols) foi adicionado em gotas à solução de diclorometano (20 mL) de **22** (10,7 g, 69,93 mmols) e monoidrato de ácido p-toluenossulfônico (26,5 mg, 0,1372 mmol). A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante a noite. Depois de remover o solvente, o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em sílica-gel com 5:1 de hexanos/ acetato de etilo como o eluente para produzir o produto **23** como um óleo incolor (15,3 g, 92%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,48-1,62 (m, 4H), 1,68-1,85 (m, 4H), 1,94-2,02 (m, 2H), 3,40-3,53 (m, 4H), 3,74-3,88 (m, 2H), 4,57-4,59 (m, 1H).
- 5-(2-Tetraidro-2H-piranilóxi)pentileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (24):** À suspensão de hidreto de sódio (60%, 840,5 mg, 21,01 mmols) em 40 mL de THF foi cuidadosamente adicionado metilenobisfosfonato de tetraetila (6,16 g, 20,95 mmols) e a solução clara amarelo-pálida resultante foi agitada em temperatura ambiente durante 45 min. Em seguida, o brometo **23** (4,97 g, 20,96 mmols) foi introduzido mais 5 mL de enxágüe de THF. A reação foi trazida até o refluxo durante a noite e permitida resfriar em temperatura ambiente antes de ser extinguida com solução aquosa de cloreto de amônio saturada. Outra quantidade pequena de água foi requerida para dissolver o sólido. A mistura foi extraída com acetato de etila (3x), secada em sulfato de sódio anidro e concentrada em vácuo. Cromatografia instantânea em sílica-gel com 20:1 (v/v) de diclorometano/metanol como o eluente proporcionaram 7,3 g do produto impuro **24** como um óleo ligeiramente amarelo. O material

foi diretamente empregado na próxima etapa sem outra purificação. Sinais de ^1H RMN selecionados (400 MHz, CDCl_3): δ 2,28 (tt, $J=6,1$, 24,3 Hz, 1H), 3,37-3,51 (m, 2H), 3,71-3,89 (m, 2H), 4,56-4,58 (m, 1H),

5-Hidroxipentileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (25): O composto **24** cru
 5 foi dissolvido em 20 mL de metanol e 74,6 mg (0,3863 mmol) de monohidrato de ácido p-toluenossulfônico foi adicionado. Depois da agitar durante a noite em temperatura ambiente, a mistura foi concentrada e submetida à cromatografia instantânea com eluição de gradiente de 15:1 de acetato de etila/metanol em 8:1, em seguida, 6:1 para proporcionar **25** como um óleo
 10 incolor (3,1 g, 41% durante duas etapas), ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,24-1,36 (m, 12H), 1,55-1,72 (m, 4H), 1,89-2,03 (m, 2H), 2,16 (bs, 1H), 2,29 (tt, $J=6,1$, 24,3 Hz, 1H), 3,66 (bs, 2H), 4,11-4,22 (m, 8H),

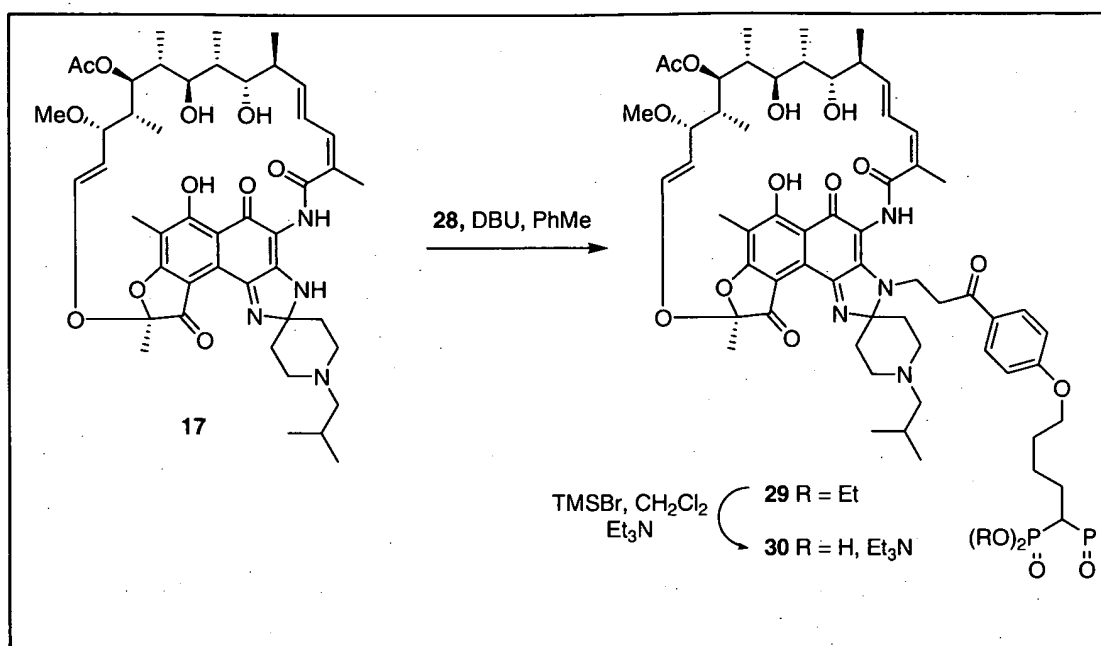
5-Iodopentileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (26): O álcool **25** (1,419 g, 3,938 mmols), trifenilfosfina (1,25 g, 4,718 mmols) e imidazol (325,6 mg, 4,735 mmols) foram dissolvidos em 15 mL de acetonitrila seco, e 1,196 g
 15 (4,703 mmols) de I_2 foi adicionado em várias porções. Depois da agitação durante a noite em temperatura ambiente, o solvente foi removido em vácuo e o resíduo foi apreendido em acetato de etila e solução aquosa de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ saturada. A mistura foi agitada até que a camada orgânica torna-se amarelo
 20 pálido e as duas fases foram separadas. A fase orgânica foi secada em sulfato de sódio anidro e concentrada. Cromatografia instantânea em sílica-gel com 15:1 de acetato de etila/metanol como o eluente proporcionou o produto **26** como um óleo amarelo (1,26 g, 68%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 1,36 (t, $J=7,0$ Hz, 12H), 1,66-1,72 (m, 2H), 1,81-1,99 (m, 4H), 2,35
 25 (tt, $J=5,9$, 24,1 Hz, 1H), 3,20 (t, $J=6,9$ Hz, 2H), 4,17-4,23 (m, 8H).

1-(4-Hidroxifenil)prop-2-en-1-ona (27): A mistura de 4-hidroxiacetofenona (2,719 g, 20 mmols), paraformaldeído (2,702 g, 90 mmols) e trifluoroacetato de N-metilanilínio (6,603 g, 30 mmols) em 20 mL de THF anidro foi refluxada durante 3,5 h e resfriada em temperatura ambiente. À solução vermelha
 30 foram adicionados 60 mL de éter de dietila e a mistura foi agitada vigorosamente durante 15 min. A solução amarela resultante foi decantada e a lama pegajosa marrom-vermelha residual foi repetidamente extraída com

porções de 50 mL de éter de dietila até que se transformasse em sólido amarelo. Os extratos orgânicos combinados foram lavados com metade da solução de bicarbonato de sódio saturada (2x) e a lavagem aquosa foi extraída com éter (2x). As camadas orgânicas combinadas foram secadas em sulfato de sódio anidro antes da concentração. Cromatografia instantânea em sílica-gel com 5:1 hexanos/ acetato de etila como o eluente proporcionou o produto **27** (1,21 g, 41%) como um sólido amarelo pálido. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 5,89 (dd, J = 1,8, 10,6 Hz, 1H), 5,91 (s, 1H), 6,43 (dd, J = 1,6, 16,9 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,17 (dd, J = 10,6, 17,2 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 8,4 Hz, 2H).

1-(4-(5,5-bis(dietilfosfono)pentilóxi)fenil)prop-2-en-1-ona (28): A mistura de iodeto **26** (1,066 g, 2,267 mmols), enona **27** (373 mg, 2,514 mmols) e carbonato de potássio (369 mg, 2,673 mmols) em 10 mL de acetona foi refluxada até que o iodeto **26** fosse consumido quando monitorado por ¹H RMN. Normalmente levou 6-8 h. Na remoção do solvente em vácuo, o resíduo foi apreendido em diclorometano e os insolúveis foram filtrados. O filtrado foi lavado com bicarbonato de sódio saturado (2x) e secado em sulfato de sódio anidro. A concentração sob vácuo proporcionou um óleo amarelo em rendimento quantitativo (1,14 g) que foi diretamente empregado na próxima etapa sem outra purificação. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,31-1,37 (m, 12H), 1,70-1,86 (m, 4H), 1,92-2,08 (m, 2H), 2,31 (tt, J = 6,2, 24,2 Hz, 1H), 4,04 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 4,14-4,22 (m, 8H), 5,87 (dd, J = 1,8, 10,6 Hz, 1H), 6,42 (dd, J = 1,8, 17,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,17 (dd, J = 10,6, 16,9 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 9,2 Hz, 2H).

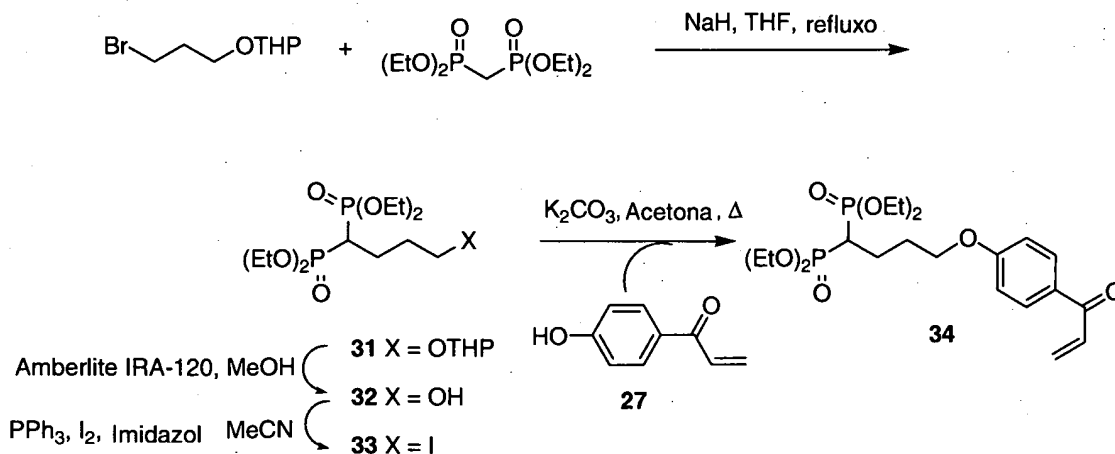
Esquema 7. Preparação de conjugado de Rifabutinaa bisfosfonato **30**



Conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 29: A mistura de Rifabutinaa (573,8 mg, 0,6774 mmol), bisfosfonato **28** (351,7 mg, 0,7171 mmol) e DBU (0,22 mL, 1,471 mmol) em 7 mL de tolueno foi agitada durante a noite em temperatura ambiente. Depois da remoção do solvente, o resíduo foi apreendido em acetato de etila e foi lavado com cloreto de amônio saturado (2x) antes de ser secado em sulfato de sódio anidro. Cromatografia instantânea em sílica-gel com 30:1 de diclorometano/metanol, em seguida, 25:1 como o eluente produziu o conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato **29** como um sólido vermelho (400 mg, 44%) como também Rifabutinaa não reagida recuperada (275 mg, 48%) que foi contaminado com a quantidade de traço de impurezas semelhantes a ligante. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 0,19 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,60 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,73 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,92 (d, J = 5,9 Hz, 6H), 0,99 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 1,32 (t, J = 7,0 Hz, 12H), 1,56-1,85 (m, 13H), 1,91-2,05 (m, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,16-2,45 (m, 9H), 2,64-2,74 (m, 2H), 2,80-2,88 (m, 1H), 2,92-3,04 (m, 3H), 3,07-3,18 (m, 4H), 3,24-3,32 (m, 2H), 3,54-3,58 (m, 2H), 3,79 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 3,97 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 4,03 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 4,13-4,22 (m, 8H), 5,15 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 5,25 (dd, J = 4,8, 12,5 Hz, 1H), 6,02 (dd, J = 6,6, 16,1 Hz, 1H), 6,20-6,25 (m, 2H), 6,90 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,04 (dd, J = 10,6, 15,8 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 8,19 (s, 1H).

Conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 30: À mistura do composto **29** (397,6 mg, 0,2973 mmol) e trietilamina (2,10 mL, 15,05 mmols) em 5 mL de diclorometano anidro foi adicionado 0,98 mL (7,425 mmols) de bromotrimetilsilano. A mistura escura foi agitada em temperatura ambiente durante mais de 20 h. Na concentração em vácuo, o resíduo foi agitado em uma mistura de 15 mL de 0,1 N de ácido clorídrico e 15 mL de acetonitrilo em temperatura ambiente durante 2,5 h antes da neutralização com 0,38 mL (2,723 mmols) de trietilamina. A mistura foi seca por congelamento e submetida a um cartucho Waters C18 Sep-Pak de 10 g (35cc) com eluição de gradiente de água para 10:1 de água /acetonitrila, em seguida, 8:1 a 6:1 a 5:1. As frações amarelas foram concentradas e secas por congelamento para proporcionar o composto **30** como um sólido amarelo a laranja (50 mg, 14%). ^1H RMN selecionado (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0,01 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,49 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,72 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 0,85 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 1,09 (t, J = 7,3 Hz, 6H), 1,16 (tt, J = 1,8, 7,3 Hz, 2H), 1,20-1,28 (m, 3H), 2,00 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,98 (s, 3H), 3,40 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 3,53-3,54 (m, 1H), 5,07 (dd, J = 6,2, 12,8 Hz, 1H), 5,18 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 5,92 (d, J = 7,3, 15,4 Hz, 1H), 6,20-6,23 (m, 2H), 6,82 (dd, J = 11,0, 15,8 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,74 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 8,74 (s, 1H). ^{31}P (162 MHz, DMSO- d_6): δ 20,53.

Esquema 8. Síntese de 1-(4-(5,5-bis(dietilfosfono)pentilóxi)fenil)prop-2-en-1-ona.



4-(2-Tetraidro-2H-piranilóxi)butileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (31):

A uma suspensão de NaH (60% de suspensão em óleo mineral, 900 mg, 22,0 mmols) em THF seco (20 mL) foi adicionado metilenobisfosfonato de tetraetila em gotas (6,46 g, 22,4 mmols). A solução clara resultante foi agitada 15 min em temperatura ambiente, depois que 2-(3-bromopropóxi)tetraidro-2H-pirano (5,05 g, 22,6 mmols) foi adicionado em gotas. A mistura de reação foi aquecida em refluxo durante 6 h, diluída com CH₂Cl₂ (75 mL) e lavada com salmoura (2 x 50 mL), secada (MgSO₄) e evaporada. Foi empregada como tal na etapa seguinte.

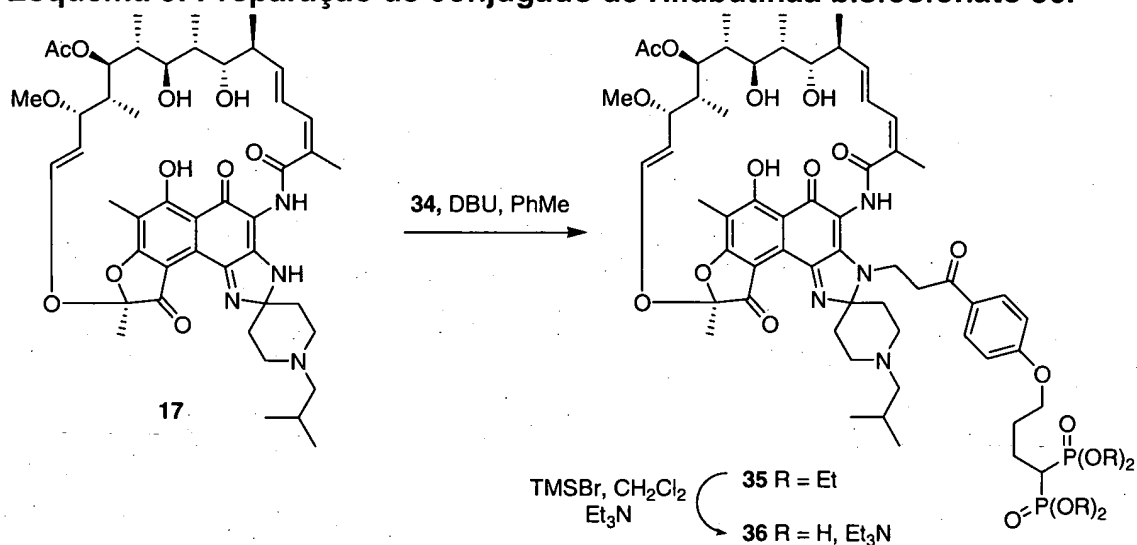
4-Hidroxibutileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (32): A uma solução agitada do produto cru **31** (máx. 22,4 mmols) em MeOH (40 mL) foi adicionado Amberlite IR-120 (0,6 g). A mistura de reação foi aquecida a 50 °C durante 4 h, filtrada e evaporada. O produto cru foi purificado por cromatografia instantânea em sílica-gel com eluição de gradiente de 5-10% de metanol / acetato de etila para produzir o puro **32** (2,67 g, 34% de metilenobisfosfonato de tetraetila). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,30-1,36 (m, 12H), 1,75-1,85 (m, 2H), 1,97-2,13 (m, 2H), 2,30-2,64 (m, 2H), 3,66 (t, J=5,8, 2H), 4,12-4,23 (m, 8H).

4-iodobutileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (33): A uma solução de **32** (1,52 g, 4,39 mmols) em CH₂Cl₂ (50 mL) foi adicionado trifenilfosfina (1,32 g, 5,033 mmols) e imidazol (0,45 g, 6,61 mmols). A mistura de reação foi resfriada a 0 °C, antes da adição de iodo (1,22 g, 4,81 mmols). A mistura foi, em seguida, removida a partir do banho de resfriamento, agitada durante 2 h, diluída com hexanos (100 mL) e filtrada, lavando o precipitado com mais hexanos (2 x 30 mL). O filtrado foi evaporado e purificado por cromatografia instantânea em sílica-gel com eluição de gradiente de 0-10% de metanol / acetato de etila para produzir o puro **33** (1,6 g, 80%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,32-1,38 (m, 12H), 1,95-2,15 (m, 4H), 2,28 (tt, J=24,1, 6,1, 1H), 3,18 (t, J=6,6, 2H), 4,12-4,24 (m, 8H).

1-(4-(4,4-bis(dietilfosfono)butóxi)fenil)prop-2-en-1-ona (34): Uma mistura de iodeto **33** (3,1 g, 6,8 mmols), fenol **27** (1,21 g, 8,17 mmols) e K₂CO₃ (1,033 g, 7,47 mmols) em acetona (75 mL) foi refluxada durante 6,5 h. A mistura foi resfriada, filtrada e evaporada. O resíduo foi re-dissolvido em

CH₂Cl₂ (170 mL), filtrada através de celita e evaporada para produzir o cru **34** (3,2 g, 99%) que foi diretamente empregado na próxima etapa. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,28-1,39 (m, 12H), 1,89-2,25 (m, 4H), 2,26-2,48 (m, 1H), 4,05 (t, J=5,7, 2H), 4,12-4,26 (m, 8H), 5,87 (dd, J=10,6, 1,8, 1H), 6,42 (dd, J=16,9, 1,8, 1H), 6,93 (d, J=8,8, 2H), 7,17 (dd, J=17,0, 10,4, 1H), 7,95 (d, J=8,8, 2H).

Esquema 9. Preparação de conjugado de Rifabutinaa bisfosfonato 36.

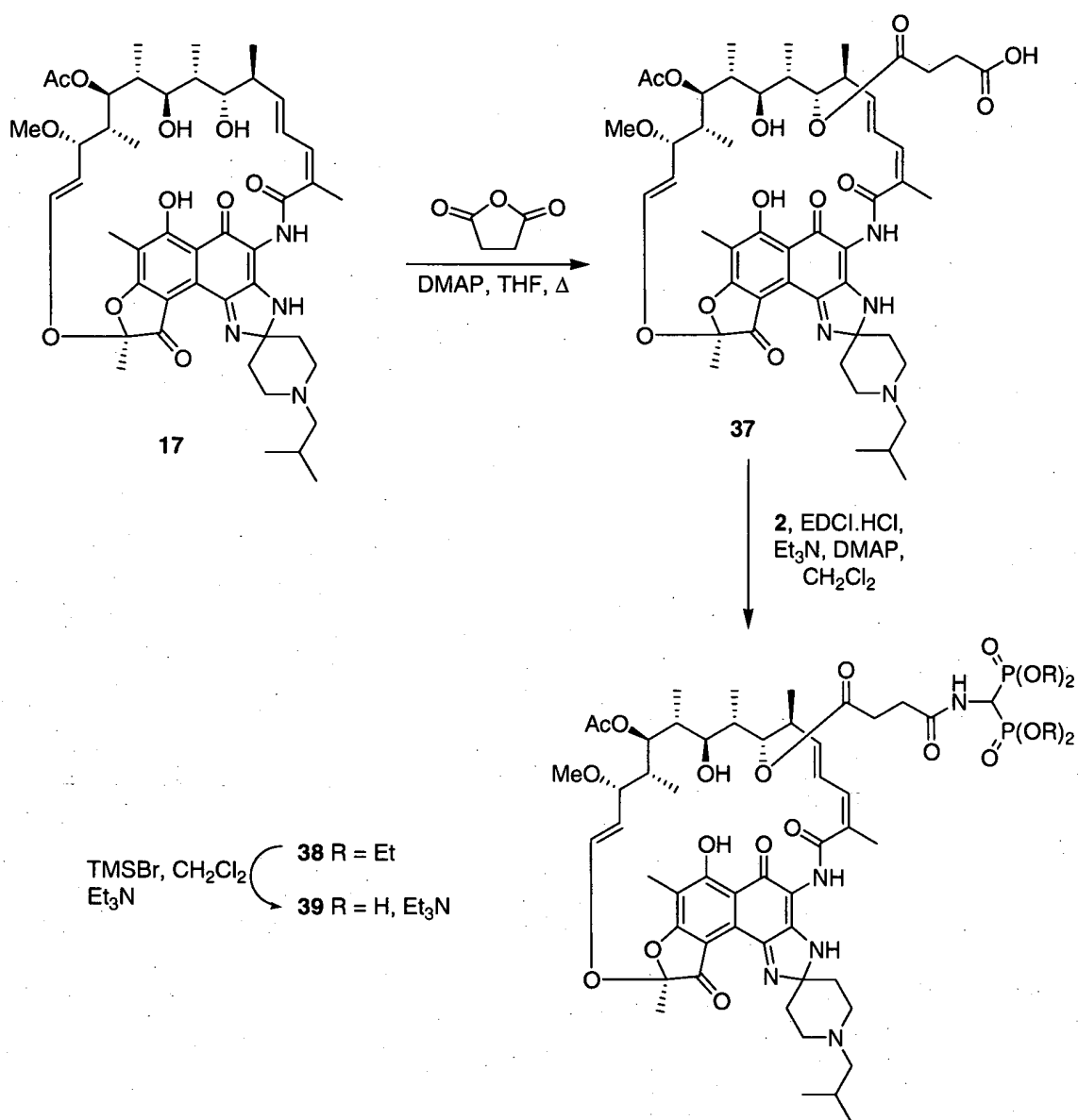


Conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 35: A mistura de 6 g (7,088 mmols) de Rifabutinaa, composto **34** (3,656 g, 7,431 mmols) e DBU (2,20 mL, 14,71 mmols) em 70 mL de tolueno foi agitada durante a noite em temperatura ambiente. A reação foi lavada com uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio (duas vezes) e secada em sulfato de sódio anidro. Cromatografia instantânea em sílica-gel empregando-se uma eluição de gradiente de 40:1, em seguida, 30:1, 20:1, 15:1 e 10:1 (v/v) diclorometano/metanol. O produto **35** foi obtido como um sólido vermelho-marrom (4,4 g, 47%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 0,20 (d, J = 7,0, 3H), 0,60 (d, J = 6,6, 3H), 0,72 (d, J = 6,6, 3H), 0,91 (d, J = 6,6, 3H), 0,92 (d, J = 6,6, 3H), 0,99 (d, J = 7,0, 3H), 1,34 (dt, J = 7,0, 1,1, 12H), 1,56 - 1,85 (m, 10H), 2,00 - 2,46 (m, 20H), 2,64 - 2,74 (m, 2H), 2,80 - 2,88 (m, 1H), 2,92 - 3,02 (m, 3H), 3,11 (s, 3H), 3,12 - 3,18 (m, 1H), 3,25 - 3,32 (m, 1H), 3,55 - 3,57 (m, 1H), 3,79 (d, J = 9,5, 1H), 3,95 (d, J = 5,1, 1H), 4,02 - 4,06 (m, 2H), 4,14 - 4,23 (m, 8H), 5,14 (d, J = 10,2, 1H), 5,24 (dd, J = 12,6, 5,1, 1H), 6,02 (dd, J = 16,1, 6,6, 1H), 6,19 - 6,24 (m, 2H), 6,90 (d, J = 9,2, 2H), 7,06 (dd, J = 16,1,

11,0, 1H), 7,88 (d, J = 8,8, 2H), 8,17 (s, 1H); ^{31}P RMN (162 MHz, CDCl_3) (24,58,

Conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 36: Composto **35** (4,4 g, 3,325 mmols) foi dissolvido em 50 mL de diclorometano anidro. A esta solução foram adicionados 23 mL (164,1 mmols) de trietilamina seguida por 11 mL (83,34 mmols) de bromotrimetilsilano. A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante mais de 20 h. Na remoção do solvente, o resíduo foi apreendido na mistura de 200 mL de 0,1 N de ácido clorídrico e 75 mL de acetonitrila e agitado em temperatura ambiente durante 5 h. No término do tratamento, 4,7 mL de trietilamina foram adicionados e os insolúveis foram filtrados. Os solventes orgânicos foram removidos e o resíduo foi liofilizado. O material resultante foi submetido a uma cromatografia instantânea de fase reversa C18 com um eluição de gradiente linear de 20% de acetonitrila em 30 mM de solução aquosa de dióxido de carbono / trietilamina (pH 6,8) em acetonitrila pura. Para as frações contendo o produto, acetonitrila foi removida em vácuo e a solução aquosa resultante foi liofilizada para proporcionar o composto **36** como uma forma de sal de bis-trietilamônio sólido laranja-marrom (1,137 g, 24%). ^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ 0,01 (d, J = 6,6, 3H), 0,63 (d, J = 6,6, 3H), 0,81 (d, J = 7,0, 3H), 0,95 (d, J = 7,0, 3H), 1,01 (d, J = 6,2, 6H), 1,26 (t, J = 7,3, 18H), 1,60 (s, 3H), 1,54-1,62 (m, 1H), 1,68-2,16 (m, 11H), 2,03 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,30-2,37 (m, 2H), 2,42-2,50 (m, 2H), 2,66-2,75 (m, 2H), 3,00-3,28 (m, 3H), 3,07 (s, 3H), 3,18 (q, J = 7,3, 12H), 3,53-3,59 (m, 4H), 3,76 (d, J = 8,8, 1H), 4,13-4,16 (m, 3H), 5,10 (d, J = 11, 1H), 5,35 (dd, J = 12,5, 7,0, 1H), 6,04 (dd, J = 15,8, 1H), 6,26 (d, J = 12,5, 1H), 6,38 (d, J = 11,4, 1H), 6,74 (dd, J = 16,1, 11,4, 1H), 6,99 (d, J = 8,8, 2H), 7,71 (d, J = 8,8, 2H); ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ 21,00.

Esquema 10. Preparação de conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 39



21-O-(3-carboxipropanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-

metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (37): Rifabutinaa 17 (153,8 mg, 0,1816

- 5 mmol) foi refluxada durante a noite com 44,3 mg (0,4427 mmol) de anidrido succínico e 6,4 mg (0,05239 mmol) de DMAP em 3 mL de THF anidro. Depois da concentração, o material obtido foi submetido à cromatografia instantânea em sílica-gel eluindo-se com dicloromentano/metanol (30:1 (v/v) em seguida 20:1 em seguida 10:1) para proporcionar o produto 37 (136,4
- 10 mg, 80%) como um sólido roxo escuro. ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ -0,15 (d, J = 7,0, 3H), 0,50 (d, J = 6,6, 3H), 0,88 -1,00 (m, 9H), 1,07 (d, J = 7,0, 3H), 1,20-1,26 (m, 2H), 1,57 (s, 1H), 1,79 (s, 3H), 1,80-1,98 (m, 4H), 2,02 (s,

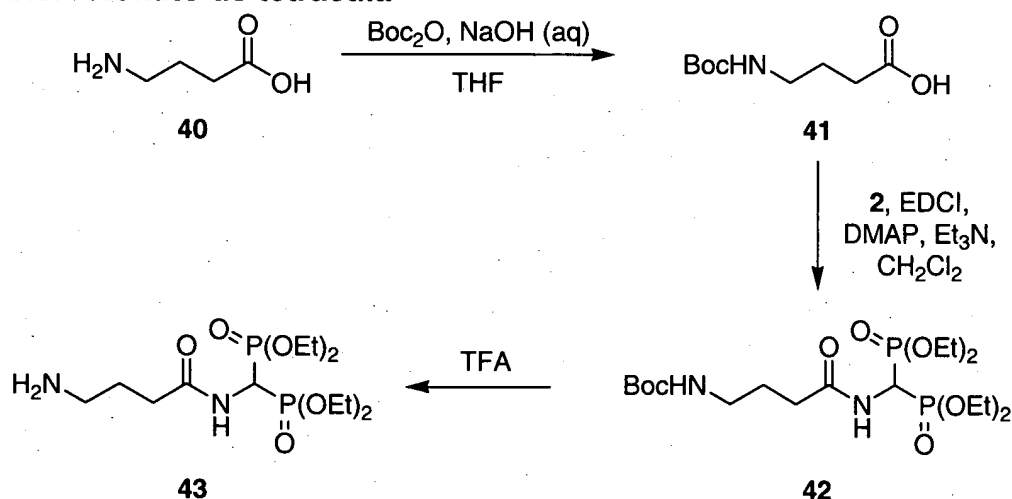
3H), 2,04 (s, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,30-2,66 (m, 9H), 2,86-3,21 (m, 5H), 3,08 (s, 3H), 3,47 (br s, 1H), 3,66 (s, 1H), 4,98-5,06 (m, 2H), 5,76-5,86 (m, 1H), 6,02 (d, J = 12,5, 1H), 6,15 (d, J = 11,0, 1H), 6,30-6,37 (m, 1H), 7,99 (s, 1H), 8,35 (br s, 1H),

- 5 **21-O-(3-((bis(diethylfosfono)metil) carbamoil) propanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (38):** Ácido **37** (136 mg, 0,1436 mmol) e amina **2** (44 mg, 0,1446 mmol) foram dissolvidos em 2 mL de diclorometano anidro e 40 µL (0,2854 mmol) de trietilamina foram adicionados seguido por EDCI·HCl (64 mg, 0,3338 mmol) e DMAP
- 10 (3,5 mg, 0,02865 mmol). Depois da agitação durante a noite em temperatura ambiente, a mistura foi concentrada e submetida à cromatografia instantânea em sílica-gel. A coluna foi inicialmente eluída com 10:1 (v/v) de acetato de de etila/ácido acético até que a faixa roxo escura de Rifabutinaa não-reagida fosse estimulada. Em seguida, diclorometano/metanol em
- 15 eluição (20:1 (v/v) em seguida 10:1) foi aplicado para produzir o produto **38** (58,9 mg, 33%) como um sólido roxo escuro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ - 0,18 (d, J = 7,3, 3H), 0,47 (d, J = 7,0, 3H), 0,92 (d, J = 6,6, 3H), 0,95-1,03 (m, 9H), 1,12-1,32 (m, 2H), 1,35 (t, J = 7,0, 12H), 1,79 (s, 3H), 1,80-1,98 (m, 4H), 2,02 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,00-2,10 (m, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,32-2,76 (m, 8H),
- 20 2,80-3,10 (m, 5H), 3,07 (s, 3H), 3,49 (br s, 1H), 4,14-4,28 (m, 8H), 4,95 (d, J = 10,7, 1H), 4,98-5,12 (m, 2H), 5,86 (dd, J = 15,4, 7,7, 1H), 6,08-6,15 (m, 1H), 6,40 (dd, J = 15,4, 11,4, 1H), 6,65 (d, J = 10,3, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,28 (br s, 1H),

- 21-O-(3-((bisfosfonometil) carbamoil) propanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (39):** Composto **38** (57,4 mg, 0,04658 mmol) foi dissolvido em 0,5 mL de diclorometano anidro e 0,33 mL (2,355 mmols) de trietilamina e 0,16 mL (1,212 mmol) de TMSBr foi adicionado consecutivamente. A mistura foi agitada durante a noite em temperatura ambiente e concentrada. Depois da secagem em vácuo durante
- 25
- 30 pelo menos 30 min, o material foi dissolvido em uma mistura de 2,8 mL de 0,1 N de HCl (aq) e 2,8 mL de acetonitrila. Depois de agitar durante 1,5 h, a solução foi basificada com 0,07 mL de trietilamina e o solvente orgânico foi

cuidadosamente removido. O resíduo foi filtrado e liofilizado. O material sólido depois da liofilização foi aplicado a uma coluna C18 em um mecanismo de separação Biotage® automatizado com eluição de gradiente linear de 10% de acetonitrila em 30 mM de tampão de bicarbonato de trietilamônio (pH = 6,8) a 60% seguido por uma lavagem de acetonitrila pura para proporcionar um sólido roxo escuro **39** como sal de bis-trietilamina (20,5 mg, 33%). ¹HRMN selecionado (400 MHz, D₂O): δ 0,16 (bs, 3H), 0,40 (d, J = 5,5, 3H), 0,74 (br s, 1H), 0,88 (d, J = 6,6, 3H), 1,00 (d, J = 6,6, 3H), 1,06 (d, J = 6,6, 6H), 1,27 (t, J = 7,3, 18H), 1,55 (br s, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 2,19 (s, 3H), 2,20-2,26 (m, 1H), 2,39 (br s, 1H), 2,65 (br s, 5H), 2,97-3,00 (m, 1H), 3,02 (s, 3H), 3,10-3,24 (m, 5H), 3,19 (q, J = 7,3, 12H), 3,29-3,32 (m, 2H), 3,65 (br s, 5H), 4,28 (t, J = 19,0, 1H), 5,01-5,04 (m, 1H), 5,32 (bs, 1H), 5,99 (dd, J = 15,4, 9,2, 1H), 6,19 (d, J = 12,5, 1H), 6,43 (d, J = 11,0, 1H), 6,80 (br s, 1H), ³¹PRMN (162 MHz, D₂O): δ 14,15, MS (M-H): 1118,2.

Esquema 11. Preparação de (4-aminobutanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila



Ácido 4-(t-butoxycarbonilamino)butanóico (41): Aminoácido **40** (956,2 mg, 9,273 mmols) foi agitado com Boc₂O (2,037 g, 9,333 mmols) e 23 mL de 1N de NaOH (aq) em 5 mL de THF em temperatura ambiente durante a noite. A solução foi acidificada com ácido clorídrico diluído até que o pH alcançasse em torno de 2 quando uma mistura turva foi obtida. A reação foi extraída com acetato de etila (3x) e secada em sulfato de sódio anidro antes

da remoção do solvente para produzir um óleo incolor **41** (1,759 g, 93%).
¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,44 (s, 9H), 1,83 (quint, J = 7,0, 2H), 2,41 (t, J = 7,0, 2H), 3,12-3,24 (m, 2H), 4,66 (br s, 1H).

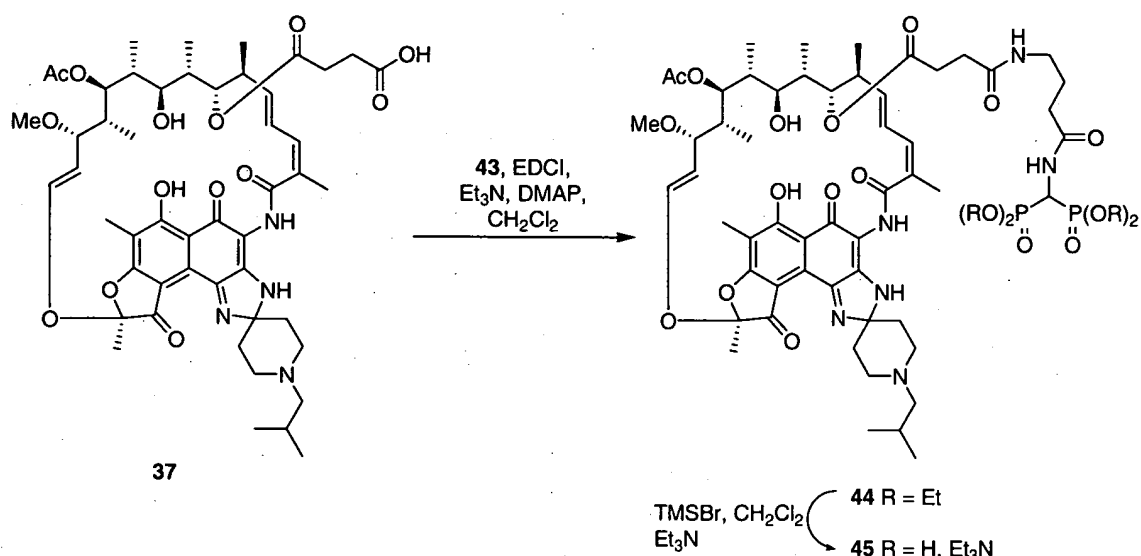
(4-(t-butoxicarbonilamino)butanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de

- 5 **tetraetila (42):** O ácido **41** (314,6 mg, 1,547 mmol) e amina **2** (466,8 mg, 1,539 mmol) foram dissolvidos em 15 mL de diclorometano seco. Trietilamina (0,44 mL, 3,14 mmols) foi adicionada seguido por DMAP (37,6 mg, 0,3078 mmol) e EDCI·HCl (592,4 mg, 3,09 mmols). A mistura foi agitada durante a noite em temperatura ambiente antes de ser concentrada.
- 10 Cromatografia instantânea em sílica-gel com eluição em 15:1 (v/v) de acetato de etila /metanol proporcionou 469,3 mg (62%) do composto **42** como um óleo amarelo pálido. ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,34 (t, J = 7,0, 12H), 1,44 (s, 9H), 1,83 (quint, J = 7,0, 2H), 2,31 (t, J = 7,0, 2H), 3,16-3,24 (m, 2H), 4,16-4,26 (m, 8H), 4,78 (br s, 1H), 5,06 (dt, J = 21,6, 9,9, 1H), 6,61
- 15 (br d, J = 10,3, 1H).

(4-Aminobutanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (43):

- Composto **42** (469 mg, 0,9602 mmol) foi dissolvido em quantidade pequena de TFA e a solução foi concentrada. O resíduo foi apreendido em solução aquosa de 1N de NaOH e foi extraída com acetato de etila (5x). Os extratos
- 20 combinados foram secados em sulfato de sódio e concentrados até a secura em vácuo para proporcionar o composto **43** como um óleo incolor (82 mg, 22%). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1,34 (dt, J = 7,0, 2,6, 12H), 1,79 (quint, J = 7,0, 2H), 2,38 (t, J = 7,0, 2H), 2,79 (t, J = 7,0, 2H), 4,14-4,26 (m, 8H), 5,05 (dt, J = 21,3, 8,5, 1H), 7,08 (br d, J = 8,0, 1H).

- 25 **Esquema 12. Preparação de conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 45.**



21-O-(3-(3-((bis(diethylfosfono)metil) carbamoil)propilcarbamoil) propanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-

- 5 **oxorrifamicina XIV (44):** Uma mistura de ácido **37** (432,5 mg, 0,4567 mmol), amina **43** (176,3 mg, 0,4540 mmol), EDCI·HCl (180,1 mg, 0,9394 mmol), DMAP (11,9 mg, 0,09741 mmol) e trietilamina (0,13 mL, 0,9277 mmol) em 5 mL de diclorometano foi agitada em temperatura ambiente durante a noite. Depois da concentração até a secura, o resíduo foi
- 10 purificado por cromatografia de SiO₂ em um sistema de purificação *flash* automatizado Biotage® com uma eluição de gradiente de 2-10% de metanol em diclorometano em 15 volumes de coluna para fornecer **44** como um sólido roxo escuro (404,8 mg, 68%). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ -0,21 (d, J = 7,0, 3H), 0,47 (d, J = 7,0, 3H), 0,91 (d, J = 7,0, 3H), 0,98 (br s, 3H), 1,03 (d, J = 7,0, 6H), 1,41 (t, J = 7,3, 12H), 1,79 (s, 3H), 1,72-2,00 (m, 11H), 2,01 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,28-2,54 (m, 10H), 2,84-2,92 (m, 2H), 3,05 (s, 3H), 3,18-3,23 (m, 2H), 3,32-3,37 (m, 2H), 3,45-3,49 (m, 2H), 4,11-4,28 (m, 8H), 4,96 (d, J = 11,0, 1H), 5,00-5,14 (m, 2H), 5,92 (dd, J = 15,4, 7,0, 1H), 6,07 (d, J = 13,2, 1H), 6,17 (d, J = 11,4, 1H), 6,39 (dd, J = 15,4, 11,4, 1H), 6,68 (br s, 1H), 6,79 (br s, 1H), 8,00 (br s, 1H), 8,18 (br s, 1H),
- 20

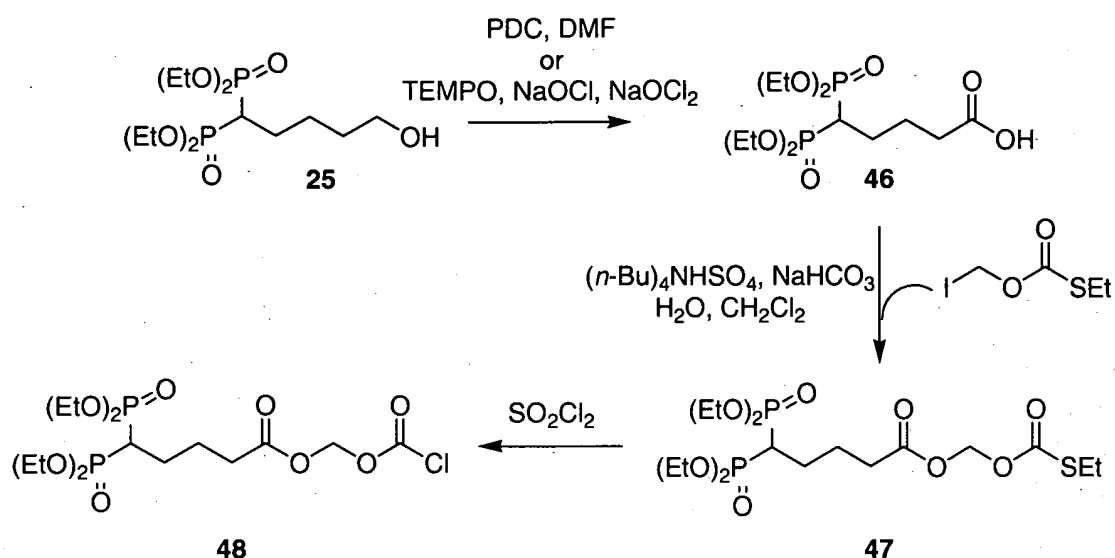
21-O-(3-(3-((bisfosfonometil) carbamoil)propilcarbamoil) propanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (45):

Composto **44** (396,5 mg, 0,3010 mmol) foi dissolvido em 3 mL de

diclorometano e 2,1 mL (14,99 mmols) de trietilamina foram adicionados seguido por 1 mL (7,577 mmols) de TMSBr. A mistura vermelha foi agitada durante pelo menos 20 horas em temperatura ambiente e foi concentrada até a secura. Depois da secagem sob vácuo elevado durante pelo menos 30 min, o material sólido foi apreendido na mistura de 18 mL de 0,1 N de HCl e 10 mL de acetonitrila e agitado em temperatura ambiente durante 1h, tempo em que uma solução clara foi obtida. Depois da basificação pela adição de 0,43 mL de trietilamina (pH final = 9,6), o solvente orgânico foi cuidadosamente removido e o material insolúvel foi filtrado. O filtrado foi liofilizado e o resíduo foi submetido a uma coluna C18 em um sistema de cromatografia instantânea automatizado Biotage® com uma eluição de gradiente em 10-60% de MeCN em 30 mM de tampão de bicarbonato de trietilamônio (pH = 6,5) em 15 volumes de coluna para proporcionar **45** como um sólido roxo escuro (194 mg, 46%) como o sal de bistrietilamônio. ¹HRMN (400 MHz, D₂O): δ -0,04 (d, J = 6,6, 3H), 0,39 (d, J = 6,2, 3H), 0,76 (br s, 1H), 0,88 (d, J = 7,0, 3H), 0,95 (d, J = 6,6, 3H), 1,08 (d, J = 6,6, 6H), 1,26 (t, J = 7,3, 18H), 1,53 (br s, 1H), 1,80-2,32 (m, 8H), 1,81 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 2,32-2,72 (m, 10H), 2,96-3,02 (m, 2H), 2,99 (s, 3H), 3,18 (q, J = 7,3, 12H), 3,35 (d, J = 7,3, 1H), 3,60-3,84 (m, 4H), 4,33 (t, J = 19,1, 1H), 4,95 (d, J = 10,3, 1H), 5,04-5,06 (m, 1H), 5,21 (dd, J = 12,4, 5,1, 1H), 5,97 (dd, J = 15,0, 7,7, 1H), 6,10 (d, J = 12,5, 1H), 6,39 (d, J = 10,6, 1H), 6,63 (dd, J = 15,1, 11,4, 1H); ³¹PRMN (162 MHz, D₂O): δ 13,99; Massa (M-H): 1203.

Esquema 13. Preparação de 5,5-bis(dietilfosfono) pentanoato (carbonocloridoilóxi)metila

PDC, DMF
ou



- 5-Carboxipentileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (46):** Álcool **25** (1,3942 g, 3,869 mmols) foi dissolvido em 40 mL de DMF anidro e 5,098 g (13,55 mmols) de dicromato de piridínio foram adicionados. A solução escura foi agitada em temperatura ambiente durante noite. A reação foi concentrada na metade do volume original e diluída com água. A mistura foi extraída com acetato de etila (3x) e os extratos combinados foram secados em sulfato de sódio e concentrados até a secura. Cromatografia instantânea em sílica-gel com eluição em 15:1 (v/v) de diclorometano/metanol proporcionou o ácido **46** (606 mg, 42%) como um óleo incolor. Alternativamente, a uma mistura de álcool **25** (475 mg, 1,318 mmol), TEMPO (15 mg, 0,095 mmol), MeCN (6 mL) e tampão de fosfato sódico (6 mL, 0,67 M, pH = 6,7) aquecido a 35°C foi adicionado em gotas uma solução de clorito de sódio (300 mg em 2 mL de água) e branqueador diluído (0,75 mL de solução de 1 mL de branqueador comercial em 19 mL de água) simultaneamente a partir de seringas separadas. A mistura virou de amarelo para vermelho. Depois de 5 h, a reação foi concluída por TLC e ¹H RMN e foi resfriada em temperatura ambiente, 30 mL de água foram adicionados e o pH foi ajustado para cerca de 9 com a adição de 3 mL de 1N de NaOH. A reação foi extinguida derramando-se em uma solução de Na₂SO₃ fria (500 mg em 10 mL de água) e mantida abaixo de 20°C. Depois de 30 min. de agitação na mesma temperatura, 30 mL de éter de dietila foram empregados para extrair a

mistura e a fase orgânica foi descartada. O pH da fase aquosa foi reajustado entre 3-4 adicionando-se 5 mL de 1N de HCl e a mistura foi extraída com diclorometano (3x). Os extratos combinados foram secados em sulfato de sódio e concentrados para proporcionar o ácido **46** quantitativamente, que podem ser empregados nas etapas seguintes sem outra purificação.

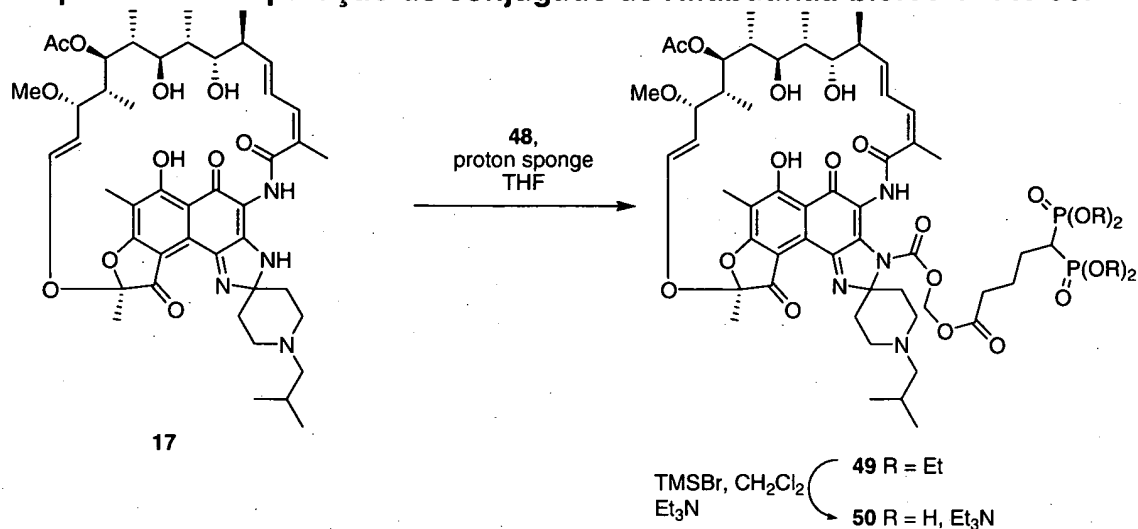
$^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1,34 (t, $J = 7,0$, 12H), 1,86-2,06 (m, 4H), 2,33 (tt, $J = 24,2$, 5,9, 1H), 2,36 (t, $J = 7,3$, 2H), 4,14-4,22 (8H).

O-(5,5-Bis(dietilfosfono)pentanoilóxi)metil carbonotioato de S-etila (47):

Ácido **46** (606 mg, 1,619 mmol), hidrogenossulfato de tetrabutilamônio (552 mg, 1,626 mmol) e bicarbonato de sódio (274,2 mg, 3,264 mmols) foram adicionados à mistura de 4 mL de água e 4 mL de diclorometano. Depois que a evolução de gás parou, 310,8 mg (1,263 mmol) de O-iodometil carbonotionato de S-etila (sintetizado de acordo com Folkmann, M.,; Lund, F.J. *Synthesis*, 1990, 1159-1166) em 1 mL de diclorometano foram adicionados e a mistura foi agitada durante 2 h. A fase orgânica foi separada, lavada com água (1x) e secada em sulfato de sódio. Depois da filtração e concentração, o resíduo foi agitado em éter durante 10 min. O sólido foi removido e o filtrado foi concentrado e submetido à cromatografia instantânea em sílica-gel com eluição em 20:1 (v/v) de diclorometano/metanol para proporcionar o composto **47** (519,2 mg, 83%) como um óleo incolor. $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1,33 (t, $J = 7,3$, 3H), 1,35 (t, $J = 7,7$, 12H), 1,86-2,04 (m, 4H), 2,28 (tt, $J = 23,8$, 6,2, 1H), 2,40 (t, $J = 7,3$, 2H), 2,90 (q, $J = 7,3$, 2H), 4,14-4,22 (m, 8H), 5,80 (s, 2H).

5,5-bis(dietilfosfono)pentanoato (48): de (Carbonocloridoilóxi)metila

Composto **47** líquido (519,2 mg, 1,054 mmol) foi resfriado em um banho de gelo/água e cloreto de sulfurila (128, L, 1,579 mmol) foi cuidadosamente adicionado. A mistura de reação foi permitida aquecer em temperatura ambiente e foi agitada durante a noite. Depois da remoção do cloreto de sulfurila em excesso em vácuo, o cloreto ácido cru **48** foi diretamente empregado na próxima etapa sem outra purificação. $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 1,35 (t, $J = 7,0$, 12H), 1,86-2,06 (m, 4H), 2,28 (tt, $J = 23,8$, 6,2, 1H), 2,45 (t, $J = 7,0$, 2H), 2,90 (q, $J = 7,3$, 2H), 4,14-4,24 (m, 8H), 5,82 (s, 2H).

Esquema 14. Preparação de conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 50.

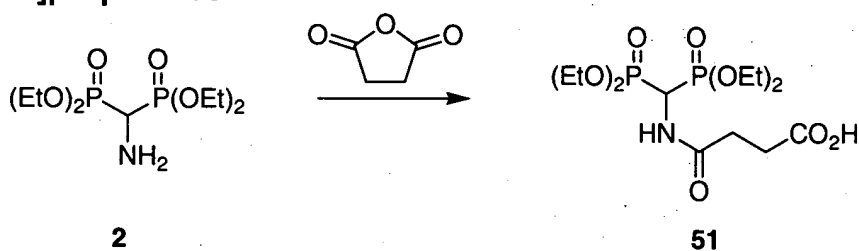
Conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 49: Rifabutinaa **17** (899 mg, 1,061 mmol) foi dissolvida em 10 mL de THF e esponja de próton (453,5 mg, 2,116 mmols) e cloreto ácido cru **48** (1,054 mmol) foram adicionados. A mistura foi agitada durante a noite em temperatura ambiente e foi diluída com acetato de etila. A solução foi lavada com água (2x), secada em sulfato de sódio e concentrado até a secura. O resíduo foi purificado por uma cromatografia instantânea em sílica-gel, eluindo a faixa de Rifabutinaa roxo escuro com 19:1 (v/v) de acetato etila/metanol e trocando para uma eluição de gradiente com diclorometano/metanol (30:1 (v/v) para 20:1 a 10:1) para proporcionar o composto **49** (504,3 mg, 37%) como um sólido vermelho-laranja escuro.

¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ -0,07 (br d, J = 7,0, 3H), 0,59 (d, J = 6,6, 3H), 0,85 (d, J = 7,0, 3H), 0,96 (d, J = 6,6, 6H), 1,02 (d, J = 7,0, 3H), 1,31-1,36 (m, 12H), 1,50-2,02 (m, 10H), 1,76 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,09 (br s, 3H), 2,20-2,40 (m, 6H), 2,32 (s, 3H), 2,84-3,04 (m, 6H), 3,09 (s, 3H), 3,38-3,44 (m, 2H), 3,74-3,82 (m, 2H), 4,12-4,22 (m, 8H), 4,98 (br d, J = 9,5, 1H), 5,15 (br, s, 1H), 5,75-5,92 (m, 2H), 6,00-6,28 (m, 3H), 6,79 (br s, 1H), 8,03 (br s, 1H).

Conjugado de Rifabutinaa bisfosfonato 50: Composto **49** (499,1 mg, 0,3907 mmol) foi dissolvido em 4 mL de diclorometano e 2,7 mL (19,27 mmols) de trietilamina e 1,3 mL (9,850 mmols) de TMSBr foi adicionado consecutivamente. A mistura vermelho-laranja brilhosa foi agitada em temperatura ambiente durante pelo menos 20 h antes da concentração em

vácuo. O resíduo foi apreendido em uma mistura de solução aquosa de HCl diluída (20 mL, pH = 4,5) e 15 mL de MeCN e agitado em temperatura ambiente durante 1 h, ponto em que uma solução vermelho escuro clara foi obtida. Trietilamina (0,22 mL, 4 eq) foi adicionada para ajustar o pH final em 9,4. O solvente orgânico foi cuidadosamente removido e os materiais insolúveis foram filtrados. A mistura aquosa resultante foi liofilizada para remover a água. O material sólido foi submetido a uma coluna C18 em um sistema de cromatografia instantânea automatizado Biotage® com eluição de gradiente em 10-60% de MeCN em 30 mM de tampão de bicarbonato de trietilamônio (pH = 6,5) sobre 12 volumes de coluna para fornecer o sal de bistrietilamônio de **50** como um sólido vermelho escuro (166 mg, 31%). ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ -0,08 (br d, J = 5,9, 3H), 0,61 (d, J = 6,3, 3H), 0,89 (d, J = 5,9, 3H), 0,96 (d, J = 7,0, 6H), 1,08 (d, J = 6,6, 3H), 1,09 (d, J = 6,6, 3H), 1,26 (t, J = 7,3, 18H), 1,58-2,14 (m, 24H), 2,20-2,30 (m, 2H), 2,41 (br s, 3H), 3,06 (s, 3H), 3,10-3,22 (m, 2H), 3,18 (q, J = 7,3, 12H), 3,55 (br s, 2H), 3,72-3,88 (m, 4H), 3,99 (br s, 1H), 4,28 (br s, 1H), 4,98 (br s, 1H), 5,25 (br s, 1H), 5,83 (br s, 2H), 5,96-6,16 (m, 2H), 6,43 (br s, 1H), 7,35 (br s, 1H); ³¹PRMN (162 MHz, D₂O): δ 20,81; Massa (M-H):1163.

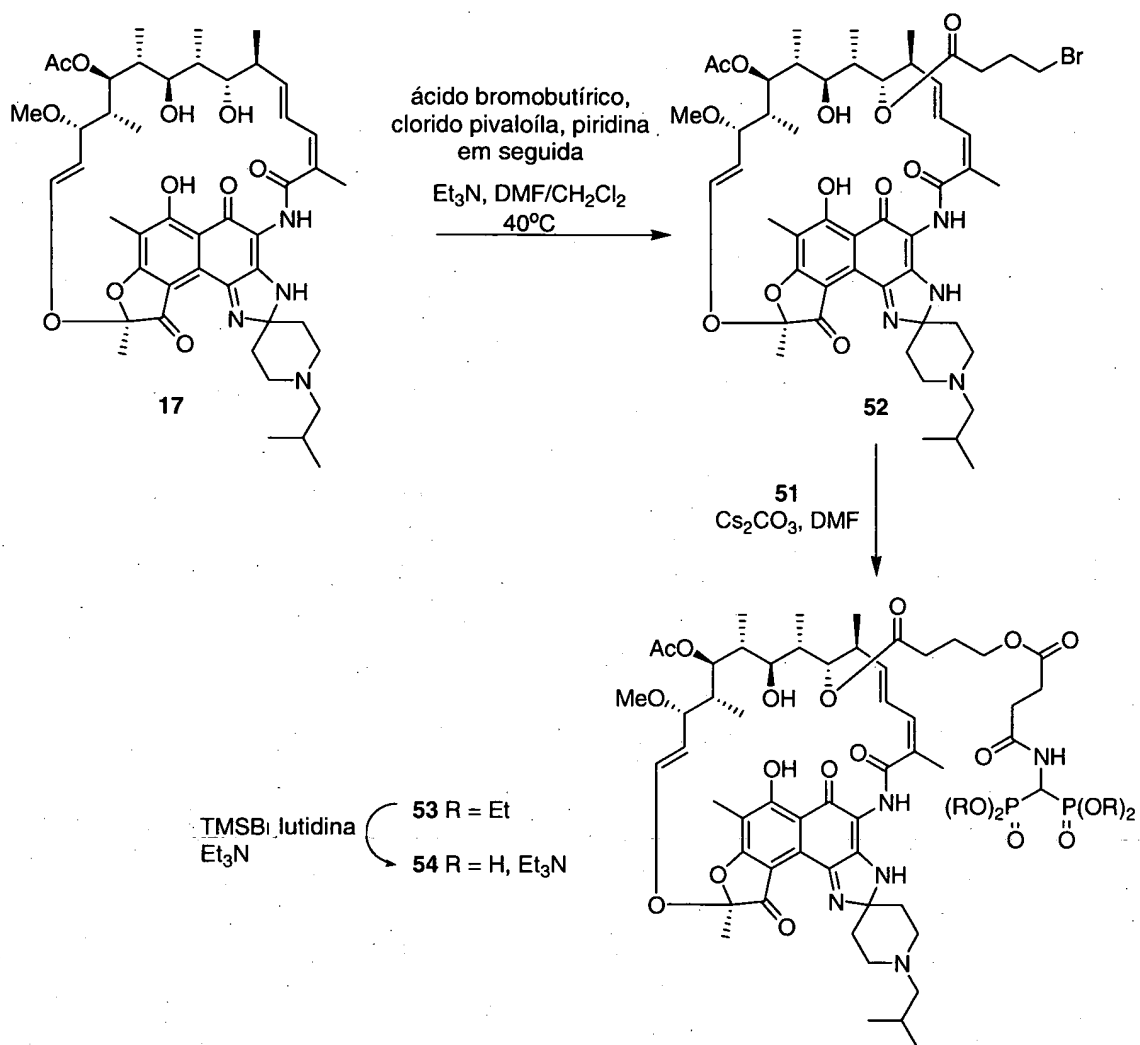
Esquema 15. Preparação de ácido 3-[(tetraetilabisfosfometil)carbamoil]propanóico



Ácido 3-[(tetraetilabisfosfometil)carbamoil]propanóico (51):

Composto **51** foi preparado como descrito em *J. Drug Targeting*, 1997, 5, 129-138. Foi obtido como um óleo que lentamente solidificou-se em 57% de rendimento bruto de **2**. O produto cru pode ser purificado por cromatografia (10% de AcOH / EtOAc) para produzir um sólido branco. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,31 (t, J=7,0, 6H), 1,33 (t, J=7,1, 6H), 2,61-2,73 (m, 4H), 4,05-4,28 (m, 8H), 5,07 (td, J=21,6, J=9,8, 1H), 7,90 (d, J=9,4, 1H).

Esquema 16. Preparação de conjugado de Rifabutinaa-bisfosfonato 54



- 21-O-(4-bromobutanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (52):** Cloreto de pivaloíla (1,2 mL, 10 mmols) foi adicionado em gotas a uma solução de ácido 4-bromobutírico (1,7 g, 10 mmols) e piridina (810 μL , 10 mmols) em CH_2Cl_2 (3 mL) e uma solução
- 5 resultante foi agitada durante 0,5 h antes de ser filtrada e adicionada a uma solução agitada de Rifabutinaa (1,2 g, 2,0 mmols) e piridina (320 μL , 4 mmols) em THF (5mL). O resultante foi agitado durante 11 dias sob Ar a 40°C antes de ser diluído em CH_2Cl_2 (50 mL) e H_2O (30 mL). A fase orgânica foi coletada e a camada aquosa foi extraída mais duas vezes com CH_2Cl_2
- 10 (2x10mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com uma solução saturada de NaCl (20mL), secada em Na_2SO_4 e concentradas em vácuo. O produto cru foi purificado por cromatografia em sílica-gel eluindo com 1% a 5% de MeOH em CH_2Cl_2 (gradiente linear) para proporcionar 1,2

g (1,1 mmol, 56%) de **52** como sólido roxo escuro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ -0,18 (d, J=7, 3H), 0,48 (d, J=7, 3H), 0,92 (d, J=7, 3H), 0,94 (m, 6H), 1,04 (d, J=7, 3H), 1,22 (m, 2H), 1,79 (s, 3H), 1,84-2,15 (m, 9H), 2,01 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,25-2,37 (m, 4H), 2,29 (s, 3H), 2,50 (m, 1H), 2,67 (m, 2H),
 5 2,87 (m, 1H), 2,93-3,11 (m, 2H), 3,05 (s, 3H), 3,35 - 3,40 (m, 2H), 3,44 (m, 1H), 3,57-3,77 (m, 1H) 4,97 (d, J=10, 1H), 5,03 (dd, J=12, 5, 1H), 5,11 (d, J=10, 1H), 5,92 (dd, J=16, 7, 1H), 6,08 (d, J=12, 1H), 6,12 (d, J=11, 1H), 6,42 (dd, J=16, 11, 1H), 7,72 (bs, 1H), 8,35 (bs, 1H)

21-O-(4-((3-(bis(diethylfosfono)metil)carbamoil)propanoilóxi)butanoil)-

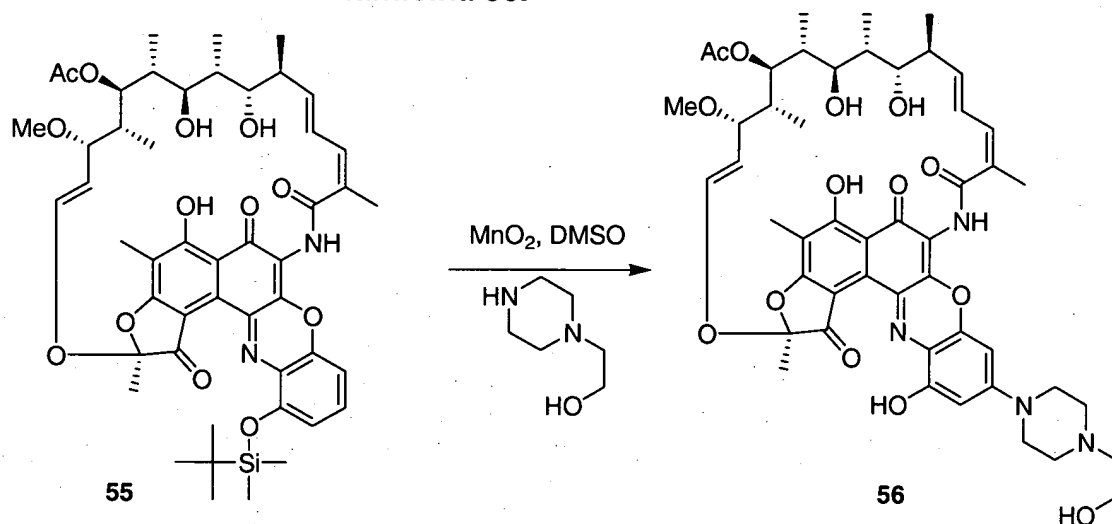
10 **1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (53):** Uma solução de **51** (260 mg, 0,65 mmol), **52** (643 mg, 0,65 mmol) e Cs₂CO₃ (212 mg, 0,65 mmol) em DMF (1 mL) foi agitada durante a noite em temperatura ambiente sob Ar. A mistura foi diluída em CH₂Cl₂ (20 mL), lavada com água (10 mL) seguida por salmoura (10 mL), secada em Na₂SO₄
 15 e concentrada em vácuo. O produto cru foi empregado sem outra purificação na próxima etapa.

21-O-(4-((3-(bisfosfonometil)carbamoil)propanoilóxi)butanoil)-1',4-

didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-5'-(2-metilpropil)-1-oxorrifamicina XIV (54): Composto **53** (máximo de 857 mg, 0,65 mmol) foi dissolvido em 20 mL de
 20 diclorometano anidro a -78°C. A esta solução foi adicionado 2,6-lutidina (3,8 mL, 32,5 mmols) seguido por bromotrimetilsilano (2,2 mL, 16,3 mmols). O banho de resfriamento foi removido e a mistura foi agitada em temperatura ambiente durante mais de 20 h. Na remoção completa dos voláteis, o resíduo foi apreendido na mistura de 50 mL de 0,1 N de ácido clorídrico e 10
 25 mL de acetonitrila e agitado em temperatura ambiente durante 2 h. Ao término do tratamento, a solução foi trazida para o pH 7 pela adição de trietilamine. O voláteis orgânicos foram removidos em vácuo e o resíduo foi liofilizado. O material resultante foi submetido a uma cromatografia instantânea de fase reversa C18 com uma eluição de gradiente linear de 5%
 30 de acetonitrila em 30 mM de solução aquosa de dióxido de carbono/ trietilamina (pH 6,8) em acetonitrila pura. Para as frações contendo o produto, o acetonitrila foi removido em vácuo e a solução aquosa resultante

foi liofilizada para proporcionar o composto **54** como sólido roxo de forma de sal de bis-trietilamônio (8,6 mg). Pureza de LC/MS: 97,0% (254nm), 96,4% (220nm), 97,6% (320nm), MS (M+H) 1206,4.

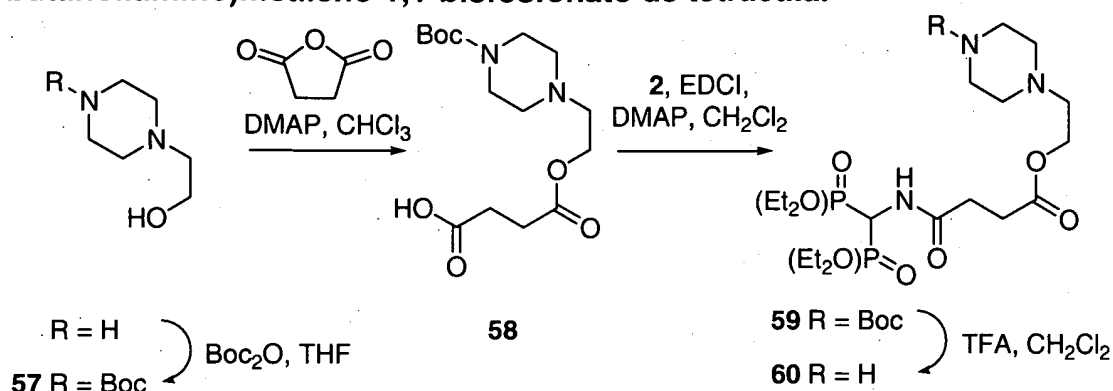
Esquema 17. Preparação de derivado de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina 56.



Preparação de 1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-terc-butildimetilsililóxi-1-oxorrifamicina VIII (composto 37) é descrita por Yamane e outros (Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155).

1',4-Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-hidroxietil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (56): A uma solução de 1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-terc-butildimetilsililóxi-1-oxorrifamicina VIII (composto 55) (2,236 g, 2,44 mmols) em 60 mL de DMSO foram adicionados 1-(2-hidroxietil)piperazina (635 mg, 4,88 mmols) e dióxido de manganês (2,227 g, 25,62 mmols). Dentro de 30 min., a mistura tornou-se de vermelho para azul. Depois de agitar durante a noite em temperatura ambiente, a mistura foi filtrada através de celita e evaporada sob vácuo até a metade do volume inicial. A mistura resultante foi derramada em água e extraída com CH₂Cl₂. Os extratos orgânicos foram lavados com salmoura e secados em MgSO₄. Depois da evaporação, o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ (gradiente de 0% a 10% de MeOH / CH₂Cl₂) para produzir **56** como um sólido azul (975 mg, 43%), LCMS 98,0% (254 nm), 97,1% (220 nm), 96,3% (320 nm); massa calculada para C₄₉H₆₀N₄O₁₄ 929. Encontrado 929,2

Esquema 18. Preparação de (4-(2-(piperazin-4-il)etóxi)-4-oxo-butanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila.



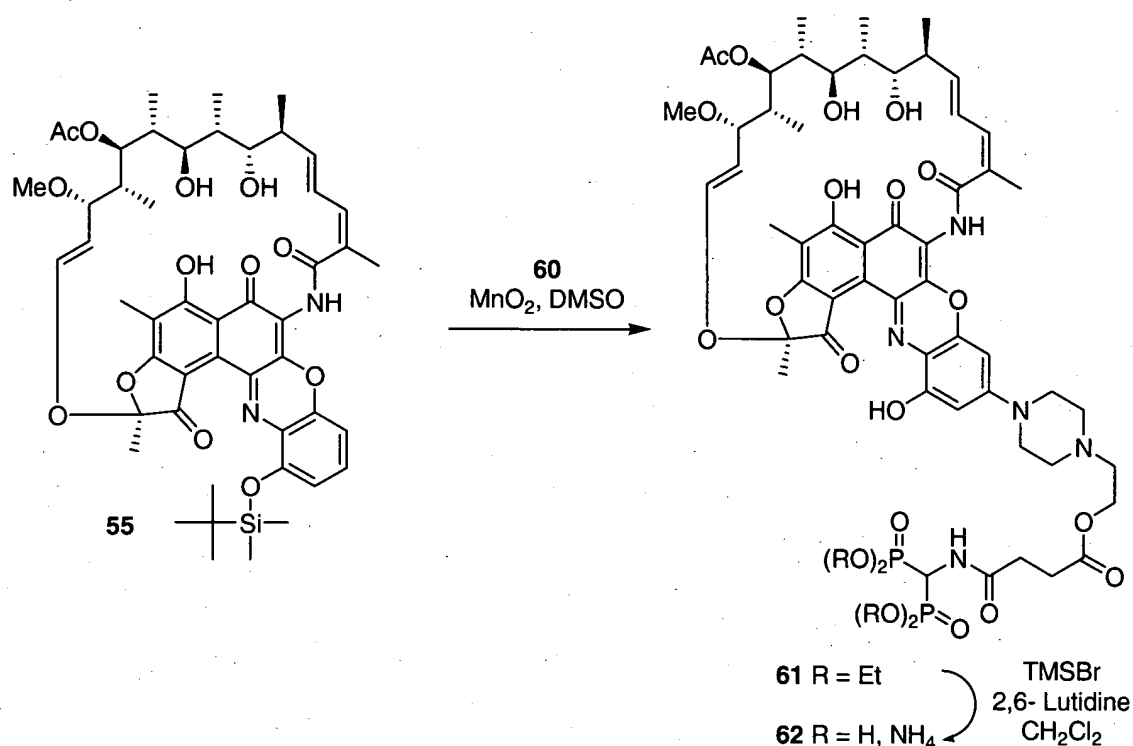
- 5 **4-(2-Hidroxietyl)piperazina-1-carboxilato de terc-butila (57):** Para 1-(2-hidroxietyl)piperazina (3,0 g, 23,0 mmols) em THF foi adicionado dicarbonato de di-terc-butila (5,5 g, 25,3 mmols). A mistura foi agitada durante 2 horas. O solvente foi evaporado sob vácuo até a metade do volume inicial e a mistura foi derramada em água, extraída com CH_2Cl_2 , lavada com salmoura, secada em Na_2SO_4 e concentrada para produzir um óleo amarelo pálido (5,3g, quant.). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,46 (s, 9H), 2,44-2,46 (m, 4H), 2,54-2,57 (m, 2H), 2,66 (m, $J=5,3$, 1H), 3,42-3,45 (m, 4H), 3,62 (q, $J=5,3$, 2H).
- 10 **1-(t-Butiloxicarbonil)-4-(2-(4-hidróxi-4-oxo-butanoilóxi)etil)piperazina (58):** Composto 57 (5,3 g, 23,0 mmols), anidrido succínico (2,30 g, 23,0 mmols) e 4-dimetilaminopiridina (281 mg, 2,30 mmols) foram dissolvidos em CHCl_3 (14 mL) e agitados durante 18 h. A solução foi concentrada em vácuo e empregada sem outra purificação. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,42 (s, 9H), 2,54-2,60 (m, 8H), 2,72 (t, $J=5,6$, 2H), 3,43-3,46 (m, 4H), 4,23 (t, $J=5,5$, 2H).
- 15 **(4-(2-(1-(t-Butiloxicarbonil)-piperazin-4-il)etóxi)-4-oxo-butanoil-amino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (59):** A uma solução de compostos 2 (3,0 g, 9,9 mmols) e 58 (3,3 g, 9,9 mmols) em CH_2Cl_2 (50 mL) foi adicionado EDC (2,08 g, 10,9 mmols) e 4-dimetilaminopiridina (121 mg, 0,99 mmol). A solução resultante foi agitada durante 3 h sob Ar em temperatura ambiente. A mistura de reação foi derramada em NaHCO_3 saturado. As camadas foram separadas, e a camada aquosa foi extraída
- 20
- 25

duas vezes com CH_2Cl_2 . As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura, secadas em Na_2SO_4 e concentradas em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO_2 (gradiente de 0% a 10% de $\text{MeOH} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$) para produzir um óleo amarelo pálido que solidifica-se com o passar do tempo (4,5 g, 74%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,33 (t, $J=7,1$, 12H), 1,45 (s, 9H), 2,42-2,44 (m, 4H), 2,55-2,60 (m, 6H), 3,41-3,43 (m, 4H), 4,14-4,25 (m, 10H), 5,00 (dt, $J=21,7$, 10,1, 1H), 6,18 (d, $J=9,9$, 1H).

(4-(2-(Piperazin-4-il)etóxi)-4-oxo-butanoilamino)metileno-1,1-

bisfosfonato de tetraetila (60): Composto **59** (1,0 g, 1,62 mmol) foi dissolvido em uma solução de 20% de TFA / CH_2Cl_2 (8 mL). A solução foi agitada em temperatura ambiente até que nenhum material de partida permanecesse (monitoramento por TLC). Os voláteis foram removidos sob vácuo. O sal de TFA foi dissolvido em MeOH e tratado com 13 cc de resina de forma de Cl^- Dowex 1X2 que foi lavada com NaHCO_3 saturado (3x), água (3x) e MeOH (3x) anteriormente. A resina foi filtrada e o filtrado foi concentrado para produzir um sólido incolor (0,85 g, quant.) que foi empregado na próxima etapa sem outra purificação. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,29 (t, $J=7,1$, 6H), 1,35 (t, $J=7,1$, 6H), 2,65-2,74 (m, 4H), 3,22-3,24 (m, 2H), 3,44-3,46 (m, 4H), 3,56-3,59 (m, 4H), 4,06-4,23 (m, 8H), 4,38-4,41 (m, 2H), 5,06 (dt, $J=21,6$, 10,0, 1H), 7,93 (d, $J=10,1$, 1H).

Esquema 19. Preparação de conjugado de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina bisfosfonato 62



Conjugado de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina bisfosfonato 61:

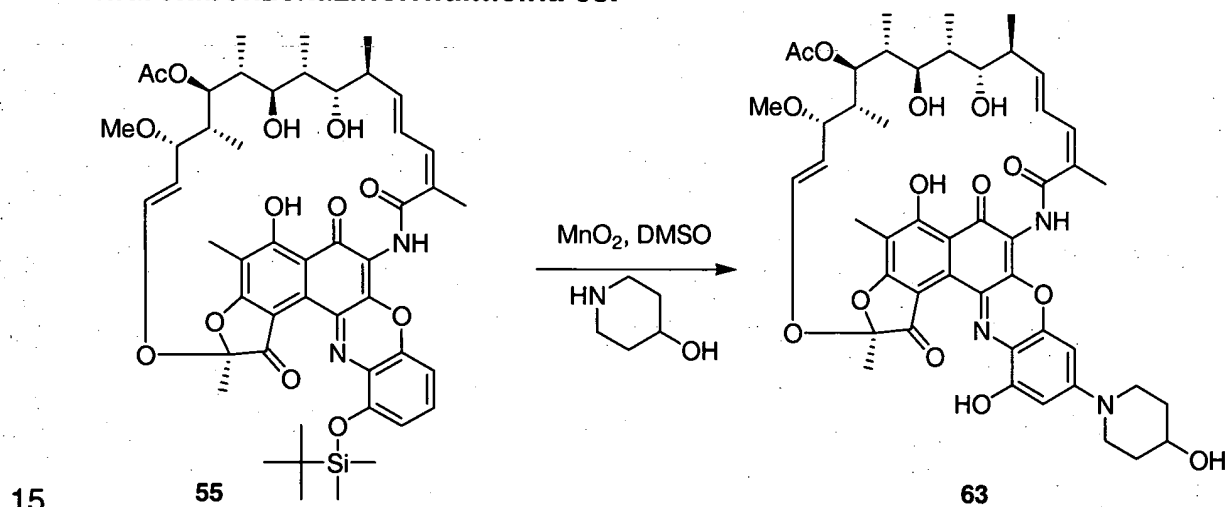
Composto **60** (2,37 g, 4,59 mmols) foi adicionado a uma solução de **55** (2,8 g, 3,06 mmols) em DMSO seco (16 mL). NaHCO₃ (2,57 g, 30,6 mmols) e MnO₂ (2,66 g, 30,6 mmols) foram adicionados. A mistura foi agitada sob Ar durante 9 dias a 40°C. A mistura de reação foi diluída com CH₂Cl₂, a maioria dos sólidos foi removido por filtração em celite. Os sólidos foram lavados com CH₂Cl₂ e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura meio-saturada. A camada orgânica foi separada e filtrada em papel para remover o sólido escuro fino restante. O filtrado foi lavado com água, salmoura, secada em MgSO₄. Depois da evaporação, o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ (gradiente de 0% a 10% de MeOH / CH₂Cl₂) para produzir **61** como um sólido azul (1,3 g, 33%).

Pureza de LCMS: 96,3% (254 nm), 95,9% (220 nm), 94,2% (320 nm); massa calculada para C₆₂H₈₅N₅O₂₂P₂ 1313, encontrado 1312,0 (M-H)⁻. Destilado **37** foi da mesma forma recuperado como um sólido vermelho escuro (1,1 g, 45%).

Conjugado de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina bisfosfonato 62: A uma solução de **61** (168 mg, 0,13 mmol) e 2,6-lutidina (594 µL, 5,11 mmols) em

CH₂Cl₂ (5 mL) a -78°C foi adicionado em gotas TMSBr (337 µL, 2,55 mmols) sob argônio. O banho frio foi removido e a mistura foi agitada durante 24 horas em temperatura ambiente. O solvente foi removido sob vácuo até a secura. O resíduo foi dissolvido em 50 mM de tampão de NH₄OAc/AcOH aquoso (pH 5) e agitado durante 18 horas em temperatura ambiente e a amostra foi liofilizada. O resíduo bruto foi purificado por cromatografia instantânea de fase reversa em pH 5 (gradiente linear de 5% a 100% de acetonitrila em 50 mM de tampão de NH₄OAc/AcOH aquoso). As frações puras combinadas foram concentradas e liofilizadas para produzir **62** como um sal de bis-amônio azul escuro (120 mg, 76%). Pureza de LCMS: 96,2% (254 nm), 96,6% (220 nm), 96,3% (320 nm); massa calculada para C₅₄H₆₉N₅O₂₂P₂ 1201, encontrado 1200,3 (M-H)⁺.

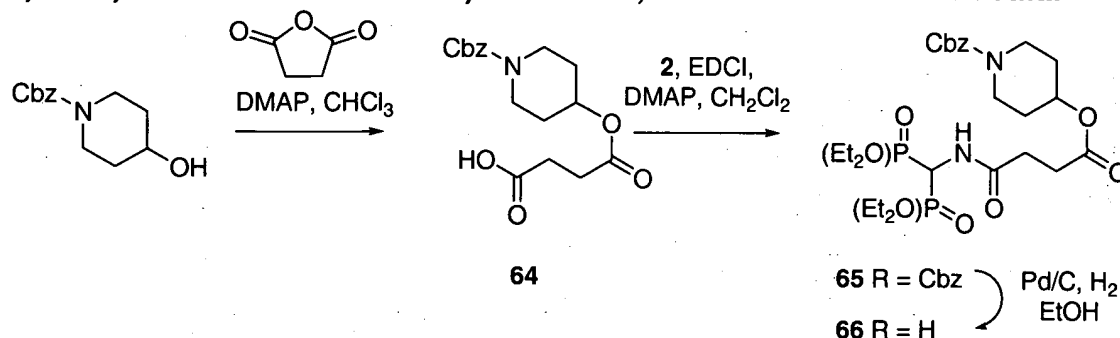
Esquema 20. Preparação de derivado de 3'-hidroxi-benzoxazinorrifamicina 63.



1',4-Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-hidróxi-1-piperidinil]-1-oxorrifamicina VIII (63): Para uma solução agitada de **55** (0,60 g, 0,65 mmol) em DMSO seco (10 mL) foram adicionados 4-hidroxipiperidina (0,132 g, 1,31 mmol) e MnO₂ (0,57 g, 6,56 mmols). A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 24h. A mistura de reação foi diluída com acetato de etila (100mL), filtrada através de celita e lavada com acetato de etila (100mL). Os filtrados combinados foram lavados sucessivamente com água (2x75mL), salmoura (2x75 mL), secados em Na₂SO₄ e concentrados.

O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO_2 (8% de $\text{MeOH} / \text{CH}_2\text{Cl}_2$) para produzir **63** como um sólido azul (197 mg, 33%). Pureza de LCMS: 97,8% (254 nm), 95,1% (220 nm), 97,1% (320 nm); Massa calculada para $\text{C}_{48}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_{14}$: 899. Encontrado: 898 (M-H).

5 **Esquema 21. Preparação de (4-(2-(1-(benziloxicarbonil)-piperidin-4-il)etóxi)-4-oxo-butanoil-amino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila.**



Ácido 3-((1-((benzilóxi)carbonil)piperidin-4-ilóxi)carbonil)propanóico

- 10 **(64):** 4-Hidróxi-1-piperidinacarboxilato de benzila (1,0g, 4,25 mmols). Anidrido succínico (0,425 g, 4,25 mmols) e 4-DMAP (52 mg, 0,425 mmol) foram dissolvidos em CHCl_3 (10 mL) e agitados durante 24 horas. Os voláteis foram removidos em vácuo. NaHCO_3 aquoso (100 mL) foi adicionado e a mistura foi lavada com Et_2O (2x50 mL). A camada aquosa foi
- 15 acidificada em pH=6 a 7 com 2N de HCl e extraída com CH_2Cl_2 (2x60 mL). Os extratos orgânicos combinados foram lavados com salmoura (60 mL), secados em Na_2SO_4 e concentrados em vácuo para proporcionar o composto **64** (768 mg, 54%) que foi empregado sem outra purificação. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,62 (m, 2H), 1,85 (m, 2H), 2,60-2,70 (m, 4H), 3,38
- 20 (m, 2H), 3,74 (m, 2H), 4,97 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 7,35 (m, 5H).

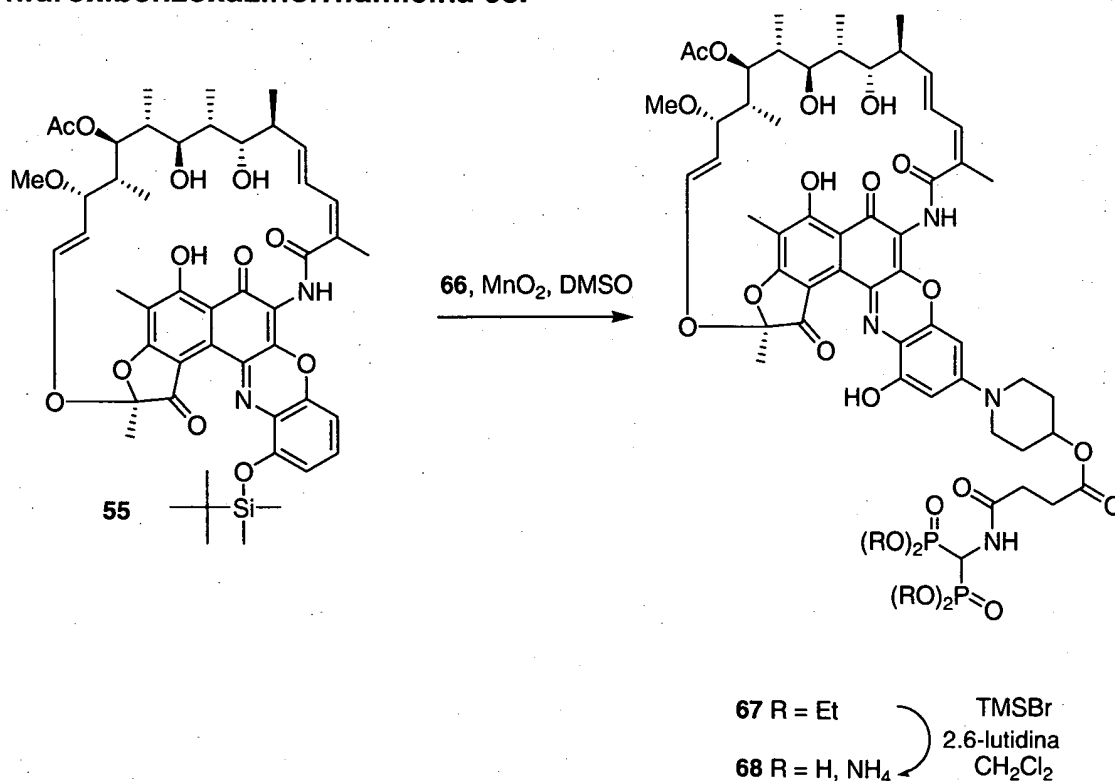
(4-(1-(Benziloxicarbonil)-piperidin-4-ilóxi)-4-oxo-butanoil-amino)metileno -1,1-bisfosfonato de tetraetila (65):

- A uma solução agitada de compostos **64** (0,76 g, 2,26 mmols) e **2** (0,687 g, 2,26 mmols) em CH_2Cl_2 (10 mL) foram adicionados EDC (0,52 g, 2,72 mmols) e 4-DMAP (55
- 25 mg, 0,45 mmol). A solução resultante foi agitada durante 16h sob nitrogênio em temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída com CH_2Cl_2 , lavada com NaHCO_3 aquoso (2x50 mL), salmoura (50 mL) e secada em

Na₂SO₄. Depois da evaporação, o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ com 5% de MeOH / CH₂Cl₂ para produzir o produto **65** (1,20 g, 85%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,33 (t, J=7,1 Hz, 12H), 1,62 (m, 2H), 1,85 (m, 2H), 2,57-2,62 (m, 4H), 3,35 (m, 2H), 3,76 (m, 2H), 4,16 (m, 8H), 4,90-5,08 (m, 2H), 5,12 (s, 2H), 6,33 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 7,35 (m, 5H).

(4-(Piperidin-4-il)-4-oxo-butanoil-amino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (66): A uma solução do composto **65** (1,20 g, 1,93 mmol) em EtOH (20 mL) foi adicionado 10% de Pd/C (200 mg) e a mistura foi agitada sob uma atmosfera de hidrogênio durante 3,5 h. O catalisador foi filtrado através de celite, lavado com etanol e os filtrados foram concentrados até a secura para produzir **66** (1,0 g) que foi empregado na próxima etapa sem outra purificação. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,33 (t, J=7,1 Hz, 12H), 1,82 (m, 2H), 2,08 (m, 2H), 2,64 (s, 4H), 3,02 (m, 2H), 3,20 (m, 2H), 4,16 (m, 8H), 4,90-5,08 (m, 2H), 6,88 (d, J = 9,8 Hz, 1H).

Esquema 22. Preparação de conjugado de bisfosfonato de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina 68.

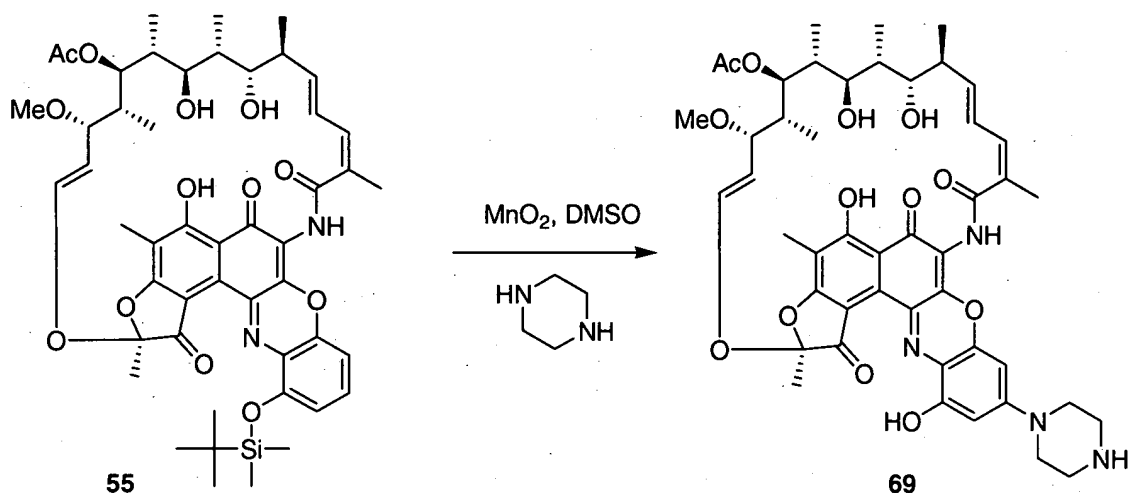


Conjugado de bisfosfonato de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina 67:

MnO₂ (1,45 g, 16,66 mmols) foi adicionado a uma solução agitada de **55** (1,52 g, 1,66 mmol) e composto **66** (0,81 g, 1,66 mmol) em DMSO seco (20 mL). A mistura foi agitada sob argônio durante 4 dias em temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída com CH₂Cl₂ (50mL), filtrada
 5 através de celita e lavada com mais CH₂Cl₂ (100mL) e os filtrados combinados foram lavados sucessivamente com água (3x100mL) e salmoura (2x100 mL), secados em Na₂SO₄ e concentrado. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ (gradiente de 0% a 5% de MeOH / CH₂Cl₂) para produzir **67** como um sólido azul (0,42 g, 19,7%),
 10 Massa de LCMS calculada para C₆₁H₈₂N₄O₂₂P₂: 1284. Encontrado: 1285 (M+H).

Conjugado de bisfosfonato de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina 68: A uma solução de **67** (0,42 g, 0,32 mmol) em 10 mL de diclorometano anidro a -78°C foi adicionado 2,6-lutidina (1,52mL, 13,08 mmols) seguido por
 15 bromotrimetilsilano (0,86 mL, 6,54 mmols). A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 24 h. Na remoção do solvente, o resíduo foi dissolvido em 8 mL de 50mM de tampão de NH₄OAc/AcOH (pH=5) e agitado em temperatura ambiente durante 20 h e liofilizado. O resíduo foi dissolvido em água e filtrado para remover os insolúveis. A solução resultante foi
 20 submetida a uma cromatografia instantânea de fase reversa C18 com uma eluição de gradiente linear de 5% de acetonitrila em 50mM de tampão de NH₄OAc/AcOH (pH=5) em acetonitrila pura. Para as frações que contêm apenas o produto, a acetonitrila foi removida em vácuo e a solução aquosa resultante foi liofilizada para proporcionar o composto **68** como um sólido
 25 azul escuro (0,31 g, 81%). LCMS 97,9% (254 nm), 97,7% (220 nm), 96,4% (320 nm); Massa calculada para C₅₃H₆₆N₄O₂₂P₂: 1172. Encontrado: 1171 (M-H).

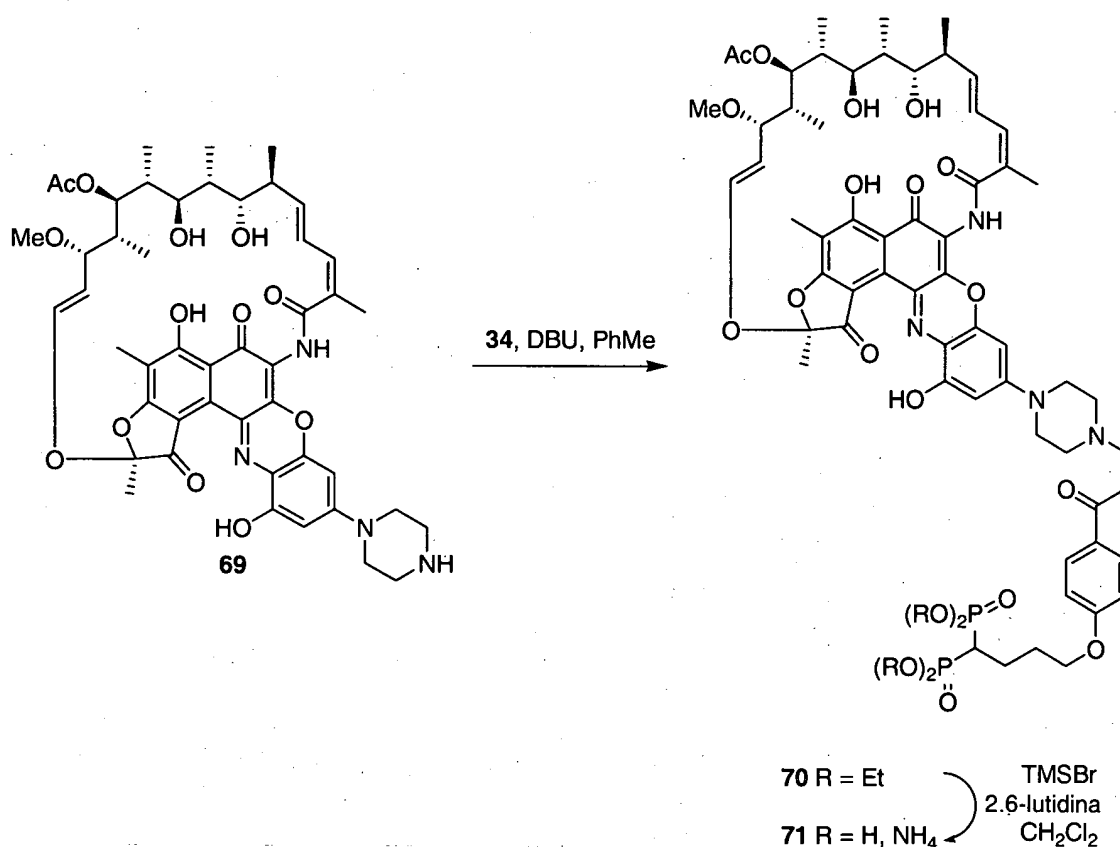
Esquema 23. Preparação de derivado de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina 69.



1',4-Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[1-piperazinil]-1-

oxorrifamicina VIII (69): A uma solução agitada de **55** (3,0 g, 3,28 mmols) em DMSO seco (60 mL) foram adicionados piperazina (1,13 g, 13,12 mmols) e MnO_2 (2,85 g, 32,82 mmols). A mistura foi agitada durante 48h, diluída com CH_2Cl_2 (200 mL), filtrada através de celita e lavada com mais CH_2Cl_2 (200mL). O filtrado combinado foi lavado sucessivamente com água (2x300mL) e salmoura (2x200 mL), secado em Na_2SO_4 e concentrado. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO_2 (gradiente de 10 % a 20% de MeOH / CH_2Cl_2) para produzir **69** como um sólido azul (2,28 g, 78%). LCMS 99,2% (254 nm), 99,3% (220 nm), 99,2% (320 nm); Massa calculada para $\text{C}_{47}\text{H}_{56}\text{N}_4\text{O}_{13}$: 884. encontrado: 883 (M-H).

Esquema 24. Preparação de conjugado de 3'-hidroxibenzoxazinorifamicina 71

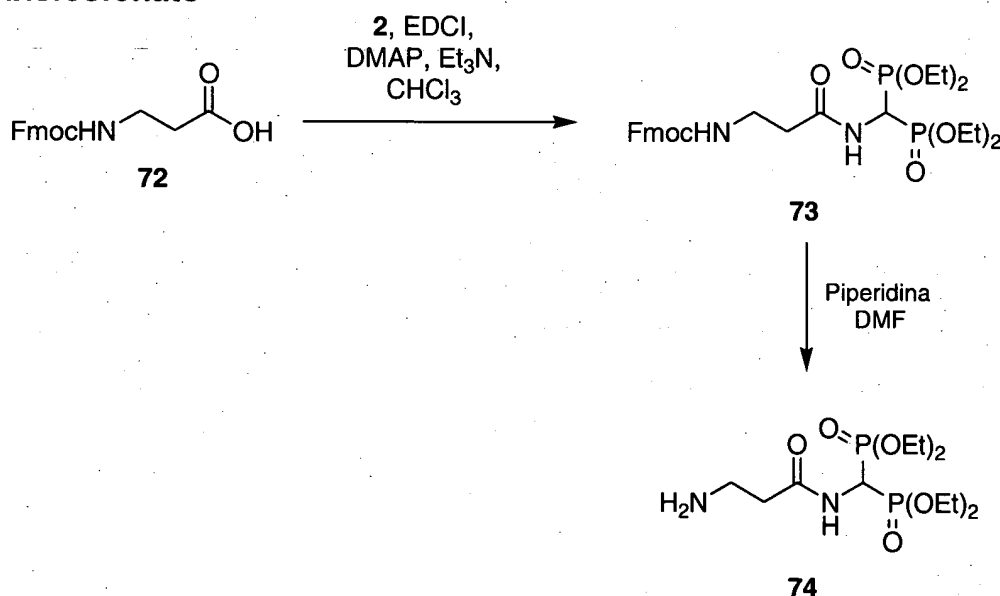


Conjugado de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina bisfosfonato 70: Uma mistura de composto **69** (1,92 g, 2,17 mmols), composto **34** (1,03 g, 2,17 mmols) e DBU (0,714 mL, 4,77 mmols) em 25 mL de tolueno foi agitada em temperatura ambiente durante 16h e os voláteis foram removidos sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em CH₂Cl₂ (200 mL) e lavado com solução aquosa de cloreto de amônio saturada (2x80mL), salmoura (1x80mL), secado em Na₂SO₄, e concentrado sob pressão reduzida. Cromatografia instantânea em sílica-gel com eluição de gradiente empregando-se 0-6% de metanol/diclorometano proporcionou o produto **70** (1,92 g, 65%), LCMS: Massa calculada para C₆₈H₉₀N₄O₂₁P₂:1360, encontrado: 1361 (M+H).

Conjugado de bisfosfonato de 3'-hidroxibenzoxazinorrifamicina 71: Composto **70** (1,92 g, 1,41 mmol) foi dissolvido em 25 mL de diclorometano anidro. A esta solução foi adicionado trietilamina (9,83 mL, 70,58 mmols) seguido por bromotrimetilsilano (4,65 mL, 35,29 mmols). A mistura foi agitada em temperatura ambiente durante 23 h. Na remoção do solvente, o resíduo foi apreendido em uma mistura de 70 mL de 0,1 N de ácido

clorídrico e 70 mL de acetonitrila e agitado em temperatura ambiente durante 3 h, em seguida neutralizado com trietilamina. Os solventes orgânicos foram removidos em vácuo e o resíduo foi liofilizado. O resíduo foi dissolvido em água e filtrado para remover os insolúveis. O filtrado resultante foi submetido a uma cromatografia instantânea de fase reversa C18 com a eluição de gradiente linear de 0-40% de acetonitrila em 30 mM de solução aquosa de dióxido de trietilamina/carbono (pH 6,8) em acetonitrila pura. Para as frações contendo o produto, o acetonitrila foi removido em vácuo e a solução aquosa resultante foi liofilizada para proporcionar o composto **71** como um sólido azul escuro (0,82 g, 46%), Pureza de LCMS: 96,0% (254 nm), 92,1% (220 nm), 95,5% (320 nm); Massa calculada para $C_{60}H_{74}N_4O_{21}P_2$: 1248, encontrado: 1247 (M-H).

Esquema 25. Preparação de (3-aminopropanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato



15

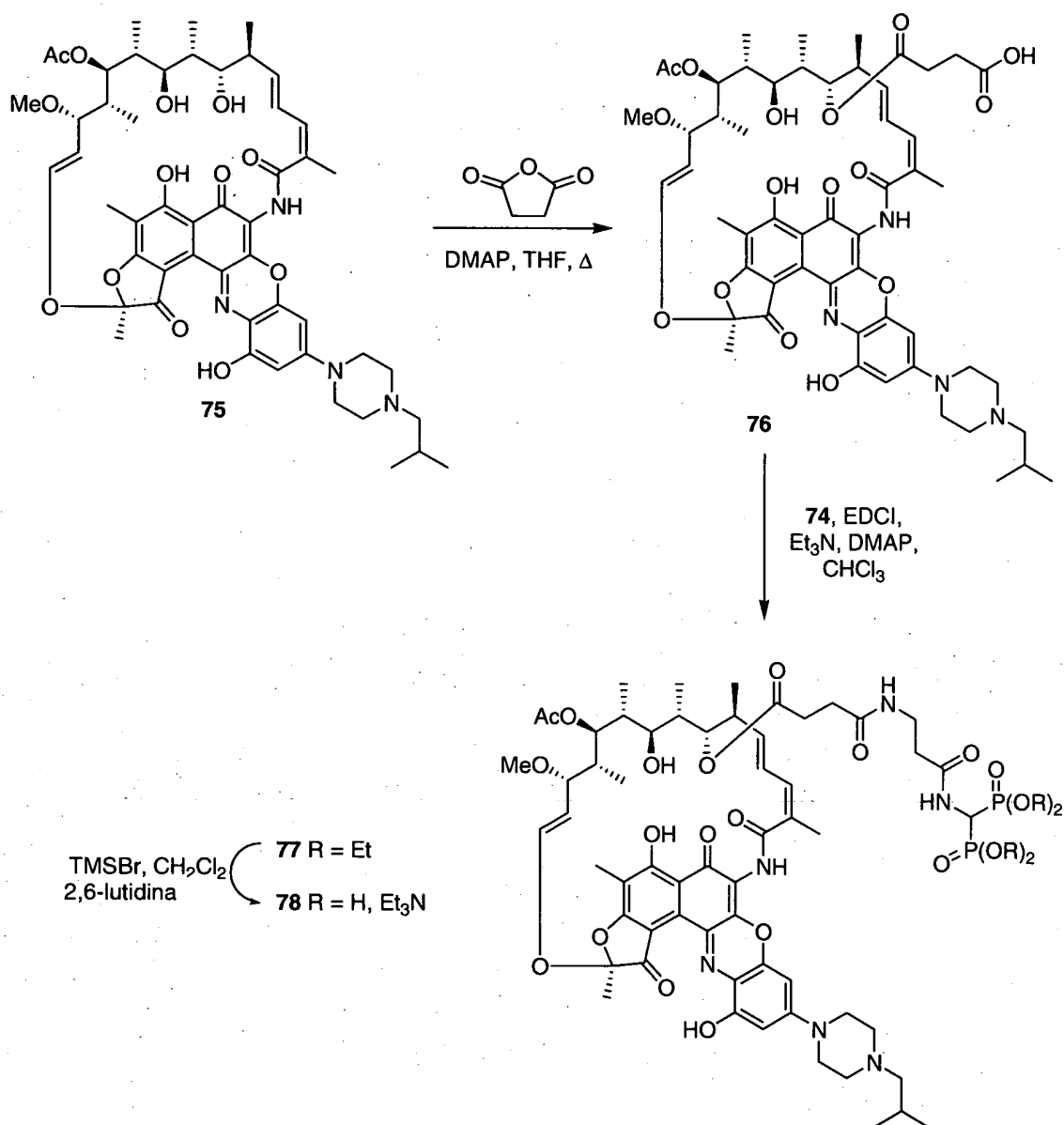
(3-(((9h-Fluoren-9-il)metóxi)carbonilamino)propanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (73): Em uma solução de compostos **72** (200 mg, 0,642 mmol) e **2** (195 mg, 0,642 mmol) em CHCl₃ livre de etanol e anidro (5 mL) foram adicionados EDCI (147 mg, 0,77 mmol) e DIPEA (0,14 ml, 0,77 mmol). A solução resultante foi agitada durante a noite sob Ar em temperatura ambiente. A mistura de reação foi concentrada até a secura e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ (gradiente de 5% a 15% de MeOH / CH₂Cl₂) para produzir uma goma incolor (240 mg,

20

- 65%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,30-1,34 (m, 12H), 2,50-2,24 (m, 2H), 3,51-3,54 (m, 2H), 4,14-4,24 (m, 8H), 4,36 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 5,03 (dt, $J=22,0$, 9,9 Hz, 1H), 5,66 (br s, 1H), 6,21 (br s, 1H), 7,30 (t, $J=7,3$ Hz, 2H), 7,39 (t, $J=7,7$ Hz, 2H), 7,59 (d, $J=7,3$ Hz, 2H), 7,75 (d, $J=7,3$ Hz, 2H); $^{31}\text{PRMN}$ (162 MHz, CDCl_3): δ 17,46.

- (3-Aminopropanoilamino)metileno-1,1-bisfosfonato de tetraetila (74):**
Piperidina (1,5 ml, 15,15 mmols) foi adicionada a uma solução de composto **73** (240 mg, 0,402 mmol) em DMF (3,5 mL). A solução resultante foi agitada durante 1 h sob Ar em temperatura ambiente. A mistura de reação foi concentrada até a secar e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO_2 (gradiente de 5% a 15% de MeOH / CH_2Cl_2) para produzir uma goma incolor (78 mg, 64%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,27-1,31 (m, 12H), 2,38-2,40 (m, 3H), 3,00 (m, 2H), 4,11-4,21 (m, 8H), 5,04 (t, $J=22,0$ Hz, 1H), 8,20 (bs, 1H); $^{31}\text{PRMN}$ (162 MHz, CDCl_3): δ 17,82.

- Esquema 26. Preparação de conjugado de bisfosfonato rifalazila de 78**



Preparação de 1',4-Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (composto 75) é descrita por Yamane e outros (Chem. Pharm. Bull. (1993), 41: 148-155).

- 5 **21-O-(3-Carboxipropanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (76):** A uma solução de composto **75** (400 mg, 0,425 mmol) em THF anidro (50 mL) foram adicionados anidrido succínico (376 mg, 3,74 mmols) e DMAP (60 mg, 0,49 mmols). A solução resultante foi aquecida até o refluxo durante a noite.
- 10 A mistura de reação foi concentrada até a secura e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ (50/45/5, Hexanos/EtOAc/MeOH) para produzir um sólido azul profundo (323 mg, 73%). ¹H RMN (400 MHz,

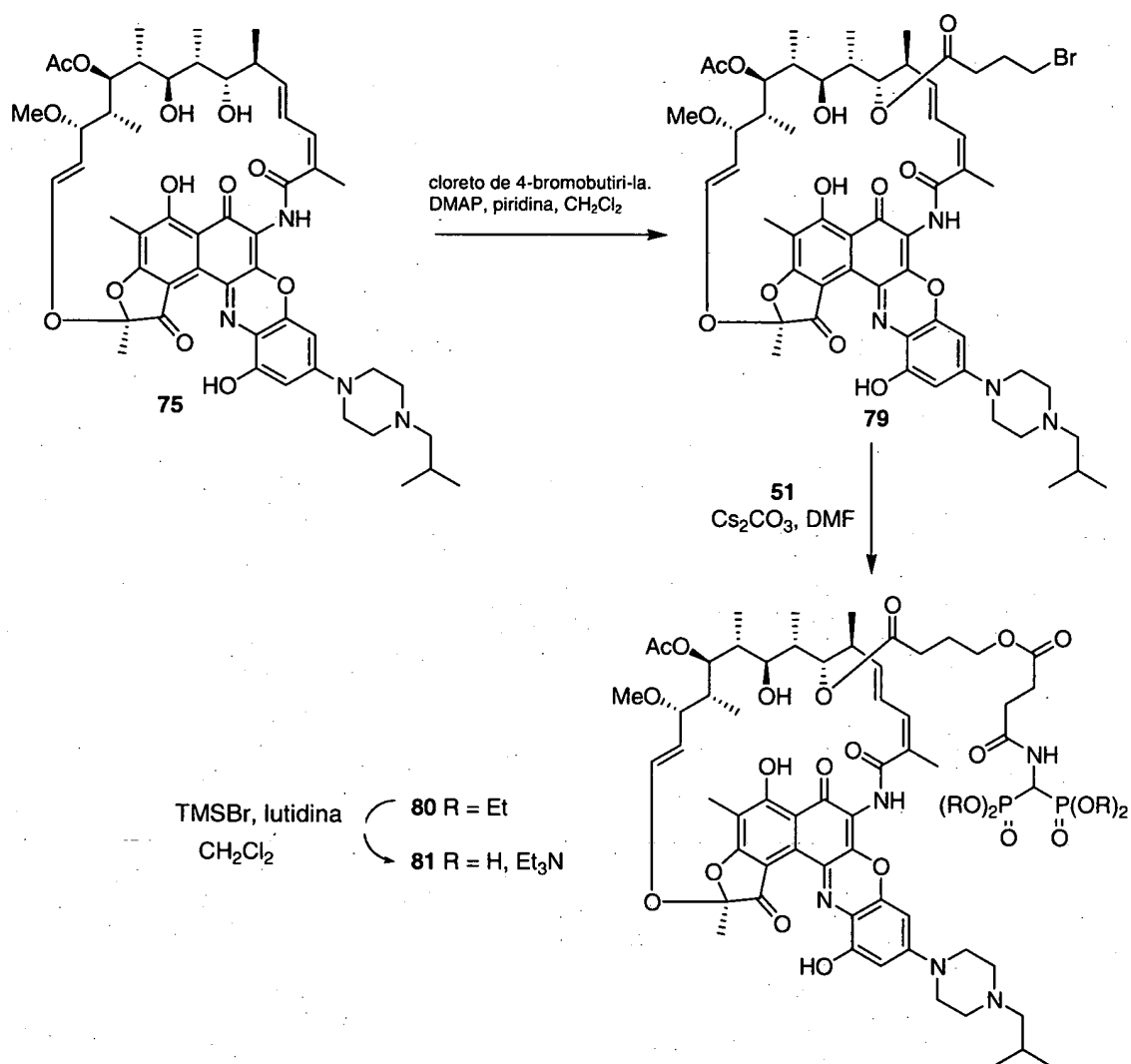
CDCl₃): δ -0,35 (d, J = 7,0 Hz, 3H), -0,06 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,90-0,99 (m, 15H), 1,62 (m, 1H), 1,73-1,77 (m, 2H), 1,82 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,14 - (m, 4H), 2,31 (s, 3H), 2,49-2,61 (m, 7H), 2,75 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 3,35 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 3,53 (bs, 3H), 4,69 (d, J = 10,6 Hz, 1H), 4,96 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 5,04 (dd, J = 12,9, 7,3 Hz, 1H), 5,97 (dd, J = 16,1, 7,3 Hz, 1H), 6,19-6,26 (m, 2H), 6,34 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 6,83 (dd, J = 16,1, 11,0 Hz, 1H), 7,90 (s, 1H), 10,23 (s, 1H); massa calculada para C₅₅H₆₈N₄O₁₆ 1041, encontrado 1042 (M+H)⁺.

21-O-(3-(2-((Bis(dietilfosfono)metil) carbamoil)etilcarbamoil) propanoil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (77): A uma solução de compostos **76** (268 mg, 0,257 mmol) e **74** (78 mg, 0,257 mmol) em CHCl₃ livre de etanol e anidro (10 mL) foram adicionados EDCI (100 mg, 0,514 mmol) e DMAP (63 mg, 0,514 mmol). A solução resultante foi agitada durante a noite sob Ar em temperatura ambiente. A mistura de reação foi concentrada até a secura e o resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO₂ (eluante CH₂Cl₂/AcOEt/MeOH, 50/40/10) para produzir um sólido azul (52 mg, 15%). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): δ -0,37 (d, J = 7,0 Hz, 3H), -0,03 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,90-0,99 (m, 15H), 1,33 (m, 12H), 1,52-1,75 (m, 2H), 1,80 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 2,09-2,79 (m, 28H), 2,97 (s, 3H), 3,32-3,69 (m, 10H), 4,19 (m, 8H), 4,75 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 4,99-5,14 (m, 3H), 5,97 (dd, J = 16,1, 7,3 Hz, 1H), 6,23 (dd, J = 22,0, 11,0 Hz, 2H), 6,31 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,88-6,92 (m, 3H), 7,03 (m, 1H), 7,68 (s, 1H), 10,11 (s, 1H). ³¹PRMN (162 MHz, CDCl₃): δ 18,21; massa calculada para C₆₇H₉₄N₆O₂₂P₂ 1396, encontrado 1398,2 (M+2H)⁺.

21-O-(3-(2-((Bisfosfonometil) carbamoil)etilcarbamoil) propanoíla)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (78): Composto **77** (50 mg, 0,0358 mmol) foi dissolvido em 10 mL de diclorometano e 0,21 mL (1,789 mmol) de 2,6-lutidina foi adicionado seguido por 116 μ L (0,8945 mmol) de TMSBr. A mistura vermelha foi agitada durante pelo menos 48 horas em temperatura ambiente e foi concentrada até a secura. Depois de secar sob alto vácuo durante pelo menos 120 min. O material sólido foi apreendido na mistura de

2,15 mL de 0,1 N de HCl e 2,5 mL de acetonitrila e agitado em temperatura ambiente durante 2 h tempo em que uma solução clara foi obtida. Depois da basificação pela adição de 0,05 mL de trietilamina (pH final = 7,0). Os voláteis orgânicos foram cuidadosamente removidos sob vácuo e o material insolúvel foi filtrado. O filtrado foi liofilizado e o resíduo foi submetido a uma coluna de C18 em um sistema de cromatografia instantânea automatizado Biotage® com uma eluição de gradiente de 10-60% de MeCN em 30 mM de tampão de bicarbonato de trietilamônio (pH = 6,5) em 15 volumes de coluna para proporcionar 78 como um sólido azul escuro (15 mg, 30%) como o sal de bistrietilamônio. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): sinais fundamentais δ -0,57 (bs, 3H), -0,38 (bs, 3H), 0,88 (s, 6H), 1,16 (t, 18H), 3,05 (q, 12H), 4,20 (t, 1H); ³¹PRMN (162 MHz, CDCl₃): δ 14,02; pureza de LCMS: 99,0% (254 nm), 98,5% (220 nm), 99,1% (320 nm); massa calculada para C₅₉H₇₈N₆O₂₂P₂ 1284, encontrado 1283,2 (M-H)⁻.

15 Esquema 27. Preparação de conjugado de rifalazil bisfosfonato 81



21-O-(4-Bromobutanoil)-1',4-Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-

[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (79):

5 Cloreto de 4-bromobutirila (2,18 mL, 18,82 mmols) foi adicionado em gotas a uma solução resfriada (0°C) de de rifalzil (11,80 g, 12,55 mmols), piridina (3,04 mL, 37,65 mmols) e DMAP (153 mg, 1,25 mmol) em diclorometano (150mL). Depois de agitar durante 16 h em temperatura ambiente. A mistura de reação foi diluída com diclorometano (800 mL) e lavada sucessivamente com água (2x500 mL) e salmoura (2x500 mL), secada em Na_2SO_4 , filtrada e concentrou até a

10 secura. O resíduo foi purificado por cromatografia de sílica-gel com 60-100% de acetato de etila/hexanos e em seguida 1-5% de $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ para proporcionar 79 (12,40 g, 90% de rendimento). Massa calculada para $\text{C}_{55}\text{H}_{69}\text{BrN}_4\text{O}_{14}$: 1090, encontrado: 1091 (M+H).

21-O-((3-(Bis(dietilfosfono)metil)carbamoil)propanoilo)butanoil)-

1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-

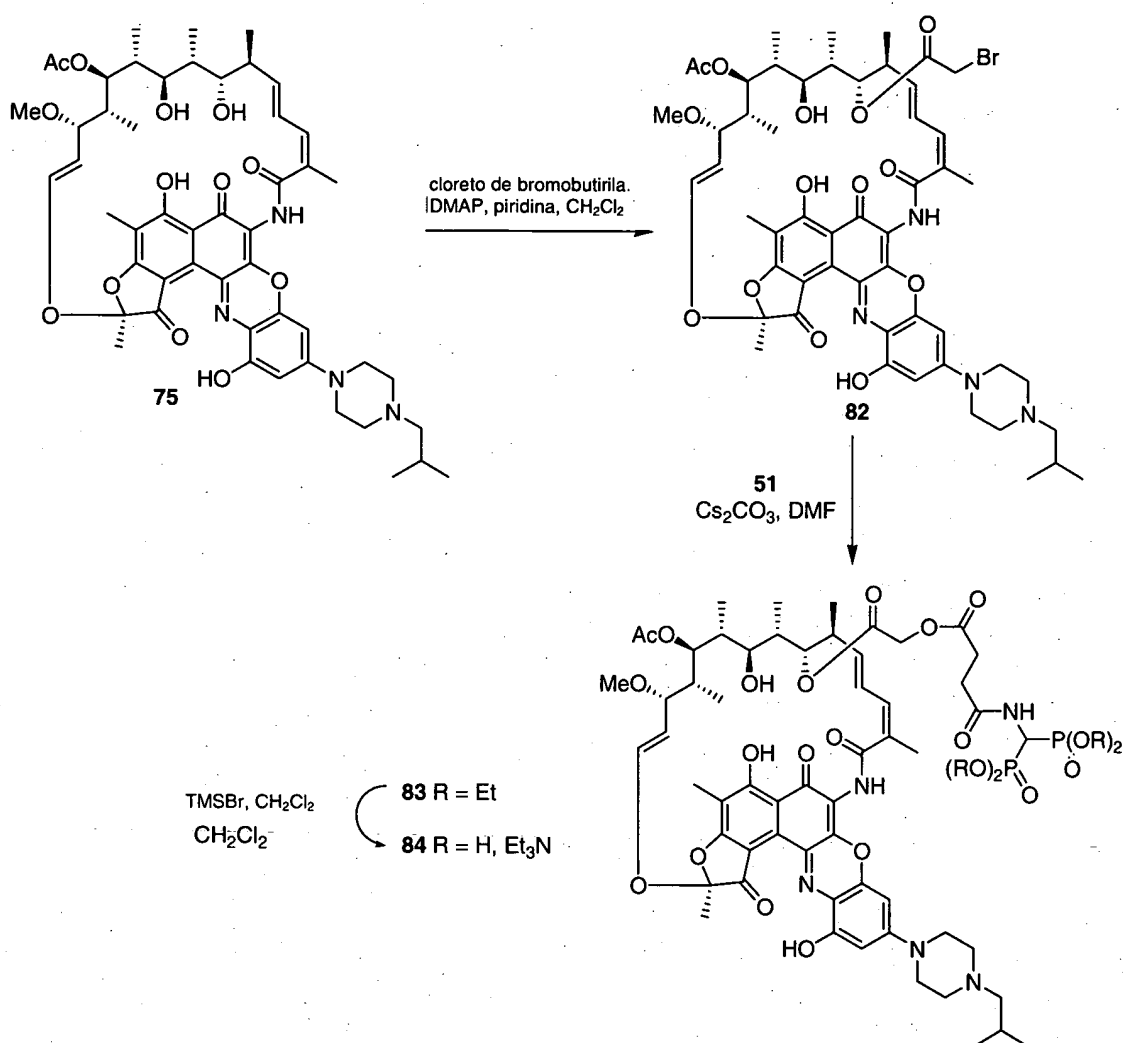
piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (80): Uma mistura de **79** (12,40 g, 11,37 mmols), **51** (4,58 g, 11,37 mmols), e Cs_2CO_3 (3,70 g, 11,37 mmols) em DMF seca (150 mL) foi agitada em temperatura ambiente durante 16h. A mistura de reação foi diluída com água e extraída com acetato de etila (2x700 mL). Os extratos orgânicos combinados foram lavados com salmoura (2x700 mL), secados em Na_2SO_4 e concentrados até a secura. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO_2 com 5% de MeOH / CH_2Cl_2 para produzir o produto **80** (9,20 g, 57% de rendimento), LCMS: Massa calculada para $\text{C}_{68}\text{H}_{95}\text{N}_5\text{O}_{23}\text{P}_2$: 1411, encontrado: 1412 (M+H).

21-O-(4-((3-(Bisfosfonometil)carbamoil)propanoilóxi)butanoil)-1',4-

Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-

piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (81): A uma solução de **80** (9,20 g, 6,52 mmols) e 2,6-lutidina (30,37 mL, 260,80 mmols) em CH_2Cl_2 (180 mL) a -78°C foi adicionado bromotrimetilsilano em gotas (17,21 mL, 130,40 mmols) sob argônio. O banho frio foi removido e a mistura foi agitada durante 24h em temperatura ambiente. Os voláteis foram removidos sob vácuo até a secura. O resíduo foi dissolvido em 240 mL de 50 mM de tampão de $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ aquoso (pH 5) e agitado durante 18 horas em temperatura ambiente e a amostra foi liofilizada. O material resultante foi submetido a uma cromatografia instantânea de fase reversa de C18 com a eluição de gradiente linear de 0 a 100% de acetonitrila em 50mM de tampão de $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ (pH=5). As frações contendo o produto foram misturadas. A acetonitrila foi removido em vácuo e a solução aquosa resultante foi liofilizada para proporcionar o composto **81** como um sólido azul escuro (5,30 g, 62% de rendimento), LCMS: 94,2% (254 nm), 94,2% (220 nm), 94,2% (320 nm); Massa calculada para $\text{C}_{60}\text{H}_{79}\text{N}_5\text{O}_{23}\text{P}_2$: 1299, encontrado: 1298 (M-H),

Esquema 28. Preparação de conjugado de rifalazil bisfosfonato 84



21-O-(2-Bromoacetyl)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (82): Brometo de bromoacetila (37 μL , 0,42 mmol) foi adicionado em gotas a uma uma solução de rifalzil (200 mg, 0,21 mmol), DMAP (31 mg, 0,25 mmol) em diclorometano (10mL) resfriado em um banho de gelo. Depois da agitação durante 16 h em temperatura ambiente, a mistura de reação foi diluída com diclorometano (800 mL) e lavada sucessivamente com água (2x500 mL) e salmoura (2x500 mL), secada em Na_2SO_4 e concentrada até a secura. O resíduo foi purificado por cromatografia em sílica-gel com 60-100% de acetato de etila/hexanos e, em seguida, 2-6% de $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ para proporcionar 79 (200 mg, 88% de rendimento). Massa calculada para $\text{C}_{55}\text{H}_{69}\text{BrN}_4\text{O}_{14}$: 1062, encontrado 1063 (M+H).

21-O-(2-((3-(Bis(dietilfosfono)metil)carbamoil)propanoilóxi)acetil)-1',4-Didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-

- piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (83):** Uma mistura de **82** (200 mg, 0,18 mmol), **51** (76 mg, 1,88 mmol), e Cs_2CO_3 (61,4 mg, 1,88 mmol) em DMF seca (8 mL) foi agitada em temperatura ambiente durante 3h. A mistura de reação foi diluída com diclorometano (80 mL), lavada com água (2x50 mL) e salmoura (60 mL), secada em Na_2SO_4 e concentrada até a secura. O resíduo foi purificado por cromatografia instantânea em SiO_2 com 2 a 6% de MeOH / CH_2Cl_2 para produzir o produto **83** (140 mg, 54% de rendimento), LCMS: Massa calculada para $\text{C}_{66}\text{H}_{91}\text{N}_5\text{O}_{23}\text{P}_2$: 1383, encontrado: 1384 (M+H).
- 21-O-(2-((3-(Bisfosfonometil)carbamoil)propanoilóxi)acetil)-1',4-didesidro-1-desóxi-1,4-diidro-3'-hidróxi-5'-[4-(2-metilpropil)-1-piperazinil]-1-oxorrifamicina VIII (84):** A uma solução de **83** (140 mg, 0,10 mmol) e 2,6-lutidina (0,47 mL, 4,0 mmols) em CH_2Cl_2 (10 mL) a -78°C foi adicionado bromotrimetilsilano em gotas (0,26 mL, 20,0 mmols) sob argônio. O banho frio foi removido e a mistura foi agitada durante 24h em temperatura ambiente. Os voláteis foram removidos sob vácuo até a secura. O resíduo foi dissolvido em 10 mL de 50 mM de tampão de $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ aquoso (pH 5) e agitado durante 16 horas em temperatura ambiente e a amostra foi liofilizada. O material resultante foi submetido a uma cromatografia instantânea de fase reversa de C18 com uma eluição de gradiente linear de 0 a 100% de acetonitrila em 50mM de tampão de $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{AcOH}$ (pH=5). As frações contendo o produto foram misturadas, a acetonitrila foi removida em vácuo e a solução aquosa resultante foi congelada seca para proporcionar o composto **84** como um sólido azul escuro (50 mg, 39% de rendimento), LCMS: 95,8% (254 nm), 96,0% (220 nm), 96,3% (320 nm); Massa calculada para $\text{C}_{58}\text{H}_{75}\text{N}_5\text{O}_{23}\text{P}_2$: 1271, encontrado: 1270 (M-H).

Exemplo 2: Determinação de citotoxicidade e atividade antibacteriana in vitro

30 Atividade antibacteriana in vitro

Suscetibilidade das cepas de *S. aureus* aos antibióticos conhecidos e compostos sintetizados foi determinada seguindo o grupo de diretrizes por

- NCCLS (M26-A). Os compostos foram diluídos serialmente duas vezes em DMSO e transferidos para o caldo de Mueller Hinton ajustado com cátion (CAMHB; Becton Dickinson). 50 μ L de compostos diluídos em CAMHB foram misturados com 100 μ L de bactérias diluídas em CAMHB em placas de microtítulo de 96 cavidade. A concentração final de microorganismos no ensaio foi de 5×10^5 c.f.u. por mL e a concentração final de DMSO no ensaio foi de 1,25%. Os ensaios foram fixos em duplicata e incubados a 37°C durante 18 h. A concentração mais baixa do composto que inibiu o crescimento visível foi relatada como a concentração inibidora mínima (MIC).
- 10 A experiências de teste de suscetibilidade foram da mesma forma realizadas na presença de soro. Estas experiências foram realizadas similarmente ao teste de suscetibilidade com as modificações seguintes. 75 μ L de compostos diluídos em CAMHB foram misturados com 75 μ L de bactérias diluídas em 100% de soro de qualquer determinada fonte (soro de camundongo agrupado comercial (MS) e soro humano (HS), Equitech-Bio Inc,) ou diluídas em 8% de albumina de soro humano purificada (HSA) (Calbiochem). A concentração final de soro animal no ensaio foi de 50% e a concentração final de albumina de soro humano purificado no ensaio foi de 4%; as concentrações de todos os outros componentes foram idênticas
- 15
- 20 àquelas descritos para teste de suscetibilidade. O dados são resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Suscetibilidade antibacteriana de bactérias para compostos selecionados (concentrações inibidoras mínimas em µg/mL)

Espécies e Cepa											E. Coli, LBB925 ^d
<i>S. aureus</i>											
Composto	RN4220	BK85 ^a	ATCC 43300 ^b	ATCC 13709	ATCC 13709 ^c	ATCC 13709 + 50% de Camundongo	ATCC 13709 + 50% de Soro Humano	ATCC 13709 + 50% de Soro de Rato			
Rifampicina ^a	0,008	0,008	0,008	0,008	>128	0,125	0,062	0,125	8		
Rifabutina ^a (17)	0,016	0,031	0,016	0,031	-	0,062	0,031	0,031	4		
Rifalazil (75)	0,00048	0,001	0,001	0,001	16	0,032	0,032	0,0078	16		
9	0,016	0,016	0,016	0,016	-	0,062	0,062	0,062	16		
11	0,25	0,25	0,25	0,125	-	0,25	0,25	0,25	32		
21	32	16	16	16	-	-	-	-	>128		
30	1	0,5	0,5	1	-	1	1	0,25	1		
36	1	1	1	1	>128	2	2	1	128		
39	>128	>128	>128	>128	>128	>128	>128	64	128		
45	64	64	64	32	>128	128	64	-	>128		
50	0,25	0,25	0,25	0,25	>128	0,125	0,125	0,032	16		
54	64	64	64	64	>128	>128	>128	>128	>128		

Tabela 1 - continuação

S. aureus										E. Coli, LBB925 ^d
Composto	RN4220	BK85 ^a	ATCC 43300 ^b	ATCC 13709	ATCC 13709 ^c	ATCC 13709 + 50% de Camundongo	ATCC 13709 + 50% de Soro Humano	ATCC 13709 + 50% de Soro de Rato		
56	0,00025	-	0,00025	0,00025	-	0,002	0,001	0,002	8	
62	0,0078	0,0078	0,0078	0,0039	>128	0,032	0,032	0,0156	>128	
63	0,00048	0,00048	0,00048	0,00048	2	0,0156	0,0078	0,032	8	
68	0,25	0,25	0,0625	0,0625	>128	1	1	2	64	
69	-	0,00024	-	0,00048	-	0,0019	0,0019	0,0019	4	
71	0,0039	0,0019	0,0019	0,0019	128	0,032	0,032	0,032	>128	
78	16	16	8	8	>128	>128	>128	>128	>128	
81	0,001	0,001	0,001	0,001	>128	0,0625	0,125	0,03125	>128	
84	1	1	1	1	>128	16	16	1	>128	

a: Fluoroquinolone resistente de MRSA, b: MRSA sensível à fluoroquinolona, c: Variante resistente à novobiocina e Rifampicina,

d: mutante de *tolC*

Pode ser amplamente deduzido que os pró-fármacos bisfosfonados 11, 21, 30, 36, 39, 45, 50, 54, 68, 78 e 84 possuem atividades antibacterianas que são pelo menos ordens de magnitude mais fracas que os pró-fármacos de origem. Na realidade, a próxima perda completa da atividade nos casos de 39, 45, 54 e 78 sugere a introdução de uma porção bisfosfonatada a ser prejudicial à natureza antibacteriana das moléculas. Os outros pró-fármacos 62, 71 e 81 produziram MICs muito baixos, que são provavelmente o resultado da clivagem das porções bisfosfonatadas e liberação do agente antibacteriano parental ativo durante o curso da experiência. A falta completa de atividade de pró-fármacos 36, 39, 45, 50, 54, 62, 68, 71, 78, 81 e 84 contra a variante resistente à Rifampicina de *S. aureus* ATCC13709 confirma que estes compostos não são capazes de atividade antibacteriana através de um mecanismo alternativo de ação. Tabela 1 da mesma forma demonstra que as moléculas antimicrobianas de origem 9, 56, 63, 69, rifampicina, Rifabutinaa e rifalazil exibem atividades antibacterianas que estão dentro da mesma faixa uma da outra.

O impacto de soro sobre os valores de MIC bem correlacionados entre as fármacos de origem e os pró-fármacos. Para rifampicina, e particularmente para os derivados de benzoxazinorrifamicina (rifalazil e compostos 56, 63 e 69), MICs aumentam significativamente ($> 4x$) na presença de 50% de soro de camundongo ou rato. O mesmo ocorre para os pró-fármacos de benzoxazinorrifamicina (62, 68, 71, 78, 81 e 84). Além disso, não houve nenhum impacto de soro sobre as MICs de compostos 11, 30, 36, 39, 45, 50, e 54 que sugere que a participação de enzimas hidrolíticas de soro devem ser improvavelmente requeridas ou responsáveis pela clivagem destes pró-fármacos na solução.

Exemplo 3: Ligação de compostos ao pó de osso *in vitro* e regeneração subsequente da fármaco de origem.

Ligação de pó de osso

A capacidade das moléculas do Exemplo 1 ligarem-se ao pó de osso foi estabelecida empregando-se um ensaio microbiológico para detecção. Um composto individual foi dissolvido em PBS e ressuspenso em uma

concentração de 1 mg/ml em uma suspensão de pó de farinha de osso (Now Foods, Bloomington, Illinois, USA) em PBS em 10 mg/ml. A suspensão de fármaco/pró-fármaco em pó de farinha de osso foi incubada a 37°C durante 1 h para permitir ligação e centrifugada em 13 000 rpm durante 2 min., antes de recuperar o sobrenadante. O pélete de pó de farinha de osso foi em seguida lavada três vezes com 1 ml de PBS + 2% de DMSO. Os sobrenadantes foram avaliados quanto a quantidade de pró-fármaco por medidas de ensaio microbiológico como segue: colônias isoladas da cepa indicadora (*Staphylococcus aureus* K1758) foram re-suspensas em 0,85% de solução salina para OD600=0,1 e riscadas em placas de ágar de Moleiro Hinton ajustado com Cátion (CAMHA). Volumes conhecidos dos sobrenadantes foram aplicados em discos e secados. Os discos foram em seguida colocados nas placas de CAMHA semeadas. As placas foram incubados a 37°C durante 18 h depois que os diâmetros da zona de inibição gerados pelos discos foram medidos. A quantidade de pró-fármaco foi deduzida a partir das curvas padrão de quantidades conhecidas que foram empregadas como referência para cada experiência.

Esta experiência exige que o pró-fármaco tenha uma MIC baixa para permitir um limite satisfatório de detecção. Conseqüentemente, a ligação de 21 e 39 pode não ser avaliada empregando-se este método.

Quando aplicada para os compostos 11, 30, 36, 45, 50, 62, 68, 71, 78, 81 e 84, a experiência de ligação *in vitro* mostrou que >90%, e geralmente >95%, de cada composto foram ligados ao pó de farinha de osso, como mostrado na **Tabela 2**.

Isto confirma que os pró-fármacos bisfosfonados são removidos muito eficazmente da solução por substância óssea. Os resultados da mesma forma de modo inegável proporcionam crença ao uso de bisfosfonatos como mediadores para liberação do osso. É razoável acreditar que uma porção do material não ligado detectado por este método não foi pró-fármaco bisfosfonatado mas de preferência fármaco de origem regenerada ou contaminante. Não obstante, é da mesma forma provável que a extensão da ligação à substância óssea seja refletiva das cinéticas de absorção/adsorção

de osso.

Regeneração de fármaco a partir de pró-fármaco ligado por pó

A capacidade do pró-fármaco liberar a entidade ativa no sítio de infecção é superior para uso *in vivo*. Isto pode ser predito medindo-se a
5 liberação da fármaco a partir do pró-fármaco ligado à substância óssea *in vitro*.

Quantidades de "fármaco de origem" regenerada a partir do pró-fármaco fosfonado foram medidas como segue. Pró-fármacos ligados por pó de osso lavados a partir da experiência anterior foram ressuspensos em 400
10 μ L de PBS+ 2% de DMSO ou em 400 μ L de 50% (v/v em PBS+2% de DMSO) de soro de rato ou humano. A suspensão foi incubada durante a noite a 37°C, centrifugada em 13.000 rpm durante 2 min e o sobrenadante foi recuperado. A quantidade de fármaco de origem regenerada no sobrenadante foi determinada por medidas empregando-se o ensaio
15 microbiológico que previamente descrito para os pró-fármacos por si próprios. A quantidade de pró-fármaco foi deduzida de curvas padrão de quantidades conhecidas de fármaco de origem que foram empregadas como referência para cada experiência. A quantidade de fármaco regenerada avaliada por este bioensaio foi confirmada por determinação de MIC. A
20 porcentagem de fármaco regenerada em PBS ou soro depois da incubação durante a noite (Tabela 2) foi deduzida da diferença entre a quantidade de pró-fármaco ligado e a quantidade de fármaco regenerada (não mostrada).

Tabela 2: Ligação de Osso e Conversão de pró-fármacos de Rifamicina bisfosfonada para fármacos parentes após ligação ao osso (expresso como
25 % de pró-fármaco convertida após 24 horas de incubação)

Composto	Parente	% de ligação de osso	Meio	% de conversão
11	9	95	PBS	0,97
			50% De soro humano	1,01
			50% Soro de rato	1,01
21	Rifabutina	??	PBS	< lod
			50% De soro humano	nd
			50% Soro de rato	0,02
30	Rifabutina	90	PBS	0,07
			50% De soro humano	0,05
			50% Soro de rato	0,07
36	Rifabutina	99.4	PBS	0,38
			50% De soro humano	0,25
			50% Soro de rato	0,38
39	Rifabutina	??	PBS	??
			50% De soro humano	??
			50% Soro de rato	??
45	Rifabutina	99.8	PBS	< lod
			50% De soro humano	-
			50% Soro de rato	0,002
50	Rifabutina	96.8	PBS	2,65
			50% De soro humano	nd
			50% Soro de rato	2,68

54	Rifabutina	??	PBS	??
			50% De soro humano	nd
			50% Soro de rato	??
62	56	99.8	PBS	0,21
			50% De soro humano	0,86
			50% Soro de rato	0,91
68	63	99.9	PBS	0,02
			50% De soro humano	nd
			50% Soro de rato	0,24
71	69	99.9	PBS	0,1
			50% De soro humano	0,46
			50% Soro de rato	0,38

< lod: abaixo do limite de detecção, nd: não determinado. ? ? : não pode ser medido empregando a técnica atual

- Estes dados mostram que os compostos 21, 39, 45, 78 e 84 não podem regenerar sua respectiva fármaco parente uma vez que ligada ao osso e então prediriam estes não exibir nenhuma atividade significativa *in vivo*. As outras pró-fármacos liberam quantidades significantes dos agentes antibacterianos de Rifamicina parente sob estas condições. Comparando as taxas de regeneração de pró-fármacos 11 e 62-com taxas apreciáveis de regeneração- por um lado, 68- que somente ligeiramente - e 39 - que é aparentemente não regenerador - demonstra a importância do ponto de ligação do ligante. Estes pró-fármacos usam um éster de succinamato particular como um ligante que cicliza para a succinimida parente com o passar do tempo, a ciclização sendo mais lenta nos casos que envolvem ésteres impedidos. A distância que separa a porção bisfosfonada do ponto de clivagem também é importante. Desse modo uma comparação das taxas de clivagem de pró-fármacos ligadas ao osso 30 por um lado e 36 e 71 por

outro, mostra que o maior comprimento da cadeia que leva ao bisfosfonato em 30, detrimentalmente afeta a taxa de clivagem.

Além disso, as taxas de regeneração de fármaco parente de pró-fármacos 11, 21, 30, 36, 45, 50, e 81 não foram significativamente impactadas pelo meio, sugerindo que uma clivagem química é suficiente para a liberação das Rifamicinas parentes, e que um processo enzimaticamente auxiliado é ou não requerido ou não representado nas condições de soro do ensaio (dados não mostrados). Por outro lado, há uma aceleração significativa na conversão de 62, 68, 71, 78 e 84 para as suas fármacos parentes na presença de soro comparada a PBS. Isto como tal não necessariamente insinua que a biocatálise é envolvida, com potencialmente outras fontes de variação tal como efeitos do meio. Novamente, uma comparação de 62 e 68 por um lado e 9 por outro lado mostra que o soro poderia ter um impacto diferente nas taxas de clivagem de pró-fármacos que suportam o mesmo ligante. Uma conclusão similar pode ser extraída comparando-se 36 e 71. Isto também demonstra que a natureza única de cada combinação de droga-ligante determina a natureza (taxa, requerimento de esterase de soro) do processo de clivagem.

Exemplo 4: Comparações da eficácia profilática de antibacterianos de Rifamicina e suas pró-fármacos bisfosfonadas em modelos de rato de infecções ósseas

Para determinar a atividade *in vivo* de pró-fármacos bisfosfonadas de antibacterianos derivados de Rifamicina em comparação com seus parentes não bisfosfonados, composto 11 e sua fármaco parente 9, compostos 21, 30, 36, 50 e sua Rifabutinaa de fármaco parente, composto 62 e sua fármaco parente 56, composto 68 e sua fármaco parente 63, composto 71 e sua fármaco parente 63 e composto 81 e sua fármaco parente rifalazil foram empregados como terapêuticos profiláticos em um modelo animal de infecção. Especificamente, uma cepa de mutante resistente a Novobiocin espontâneo de *S. aureus* de ATCC 13709 (um isolado de osteomielite clínico), foi desenvolvida durante a noite a 37°C em caldo de infusão de coração -cérebro (BHIB). Após 16 horas de crescimento,

as células foram subcultivadas em BHIB fresco e incubadas durante 4 a 5 h a 37°C. As células foram lavadas duas vezes com solução salina tamponada de fosfato (PBS) e novamente suspensas em BHIB suplementado com 10% (vol. / vol.) de soro bovino fetal a uma densidade de aproximadamente 10¹⁰ unidades de formação de colônia (CFU)/ml (com base na turbidimetria). A suspensão foi aliquoteada e uma porção foi empregada para verificar a contagem de CFU. A cultura foi armazenada congelada (-80°C) e foi empregada sem subcultura. Para uso como um inóculo a cultura foi descongelada, diluída em PBS e mantida em um banho de gelo até que fosse empregada.

Os animais foram infectados como descrito por O'Reilly e outros (Antimicrobial Agents and Chemotherapy (1992), 36(12): 2693-97) para gerar a infecção de osso. Ratos CD femininos (idade, 57 a 70 dias; n = 5/grupo; Charles River, St-Constant, Canadá) foram anestesiados por isoflurano antes e durante a cirurgia. Seguinte a completa Indução de anestesia, o rato foi colocado com o lado ventral para cima e o pelo foi raspado do local cirúrgico. A pele sobre a perna foi limpa e desinfetada (providina-etanol 70%). Foi feita uma incisão longitudinal abaixo da junta do joelho no plano sagital. A incisão foi feita sobre o osso abaixo da "junta de joelho" (cabeça de tíbia ou côndilo) porém não completamente se estendendo ao tornozelo. Uma broca de alta velocidade ajustada com um pedaço de bulbo de 2 mm foi empregada para perfurar um buraco na cavidade medular da tíbia. Os ratos foram intra-tibialmente injetados com 0,05 ml de morruato de sódio a 5% (agente esclerosante) e em seguida com 0,05 ml de suspensão de *S. aureus* (aproximadamente 2 x 10⁷ CFU/rato). O buraco foi fechado aplicando-se uma quantidade pequena de cimento dental seco que imediatamente absorve fluidos e adere ao sítio. A ferida foi fechada empregando 3 cliques de pele de metal. Moxifloxacina (como um controle positivo) foi injetado uma vez em 10 mg/kg intravenosamente 1h pós-infecção em solução salina, ao mesmo tempo em que os pró-fármacos derivados de Rifamicina (preparadas em 0,9% de salina) foram injetados na dose indicada na Tabela 3 como um bolo intravenoso único em pontos de

tempo diferentes antes da infecção.

Os ratos infectados foram sacrificados por sufocamento de CO₂ 24 horas pós-infecção para monitorar a contagem de CFU bacteriana. As tíbias infectadas foram removidas, dissecadas sem o tecido macio, e pesadas. Os ossos foram moídos, novamente suspensos em 5 ml de NaCl a 0,9%, serialmente diluídos e processados para culturas quantitativas. Para os compostos 50, 68 e 81, 1 ml da solução de NaCl a 0,9% foi adicionado a 50 mg de carvão antes de diluições seriais. A eficácia do tratamento foi medida em termos de Log de bactérias viáveis (Log de CFU por grama de osso). Os resultados obtidos para cada grupo de ratos foram avaliados calculando-se o Log médio de CFU e desvio padrão. O limite de detecção é 2 Log de CFU. As comparações estatísticas de contagens bacterianas viáveis para os grupos tratados e não-tratados diferentes foram realizadas com o teste de comparação múltipla de Dunnett. Diferenças foram consideradas significantes quando o valor P foi < 0,05 quando comparando animais infectados tratados com aqueles infectados não-tratados. As doses empregadas, a quantidade de tempo que separa o tratamento do tempo de infecção e os resultados de tratamento, são mostradas na Tabela 3.

20 **Tabela 3:** Títulos bacterianos recuperados seguindo o tratamento profilático em modelo de rato de infecção óssea de *S. aureus*

nº do composto	Dose (mg/kg de equivalente de fármaco parente)	Dose (mg/kg de equivalente de fármaco parente)	Título bacteriano medido (Log de CFU/g de osso)			
			Não-tratado	Controle positivo	Fármaco parente	Composto teste
Fármaco parente: 9						
11	11	3	5,49±1,22	2,36±0,21	6,38±0,90	3,01±0,47
Fármaco parente: Rifabutin						
21	12	1	6,32±1,34	2,53±0,39	nd	6,59±0,90
30	23	2	5,53±0,79	2,59±0,56	2,15±0,07	2,49±0,35
36	23	5	6,14±0,73	2,46±0,52	5,75±0,55	2,73±0,86
50	20	3	6,24±0,83	2,56±0,64	4,72±1,84	6,31±0,82
Fármaco parente: 56						
62	20	2	4,89±1,04	2,20±0,33	3,61±1,57	1,98±0,06
Fármaco parente: 63						

68	20	3	6,14±0,95	2,32±0,33	2,84±0,93	4,86±0,66
Fármaco parente: 69						
71	20	3	5,28±0,73	2,06±0,04	4,08±1,53 ^a	2,77±1,00
Fármaco parente: Rifalazila						
81	10	3	6,14±0,95	2,32±0,33	2,21±0,34	2,05±0,06

nd: não determinado. ^a: Rifalazil empregado em vez de 69

Os resultados claramente indicam um efeito profilático estatisticamente significativo (*t*-teste; $p < 0,05$) de pró-fármacos derivadas de Rifamicina bisfosfonada 11, 30, 36, 62, 71 e 81 em contraste com uma falta de eficácia das fármacos parentes empregadas sob as mesmas condições experimentais. A exceção é Rifabutinaa que pode fornecer profilaxia eficaz quando empregada dois dias, porém não cinco dias, antes da infecção. Estes resultados e os dados de regeneração *in vitro* fortemente suportam a noção que estes pró-fármacos bisfosfonados são alvejados pela questão óssea *in vivo*, onde elas podem liberar suas porções bioativas em concentrações acima daquelas necessárias para atividade antibacteriana.

Uma relação entre clivagem e atividade antibacteriana é claramente exibida pela pró-fármaco 21. Este composto não pode significativamente liberar sua Rifabutinaa de fármaco parente *in vitro* e necessita de eficácia sob as condições de análise *in vivo* (Tabela 3). A relação clara entre substância química ou instabilidade bioquímica da pró-fármaco e atividade profilática demonstra a capacidade de modular um efeito *in vivo* dos compostos fosfonados da invenção alterando-se a taxa de regeneração do pró-fármaco. Também fornece outras evidências para apoiar a importância de um pró-fármaco bisfosfonado clivável sobre um bisfosfonado conjugado sem clivação para fornecer o resultado de tratamento desejado em um modelo *in vivo*.

Estas experiências demonstram a vantagem clara da invenção na prevenção de infecções ósseas.

Exemplo 5: Uso comparativo de derivados de Rifamicina 9, 56, 69, Rifabutinaa e rifalazil e suas respectivas pró-fármacos bisfosfonadas 11, 62, 71, 36 e 81 em um modelo de rato de osteomielite crônica causada por *S. aureus*.

Para avaliar a capacidade dos pró-fármacos bisfosfonados de derivados de Rifamicina no tratamento de infecções ósseas crônicas, uma comparação foi feita entre os compostos parentes 9, 56, 69, Rifabutinaa e rifalazil (todos dos quais são derivados de Rifamicina não bisfosfonada), e seus pró-fármacos bisfosfonados correspondentes, respectivamente 11, 62, 71, 36 e 81, quando empregadas para tratar ratos cronicamente infectados (14- a 28-dia) durante 4 semanas de terapia antimicrobiana.

Nesta experiência, os ratos foram infectados como descrito no Exemplo 4 e tratados com 20 mg/kg de peso corporal do agente antibacteriano derivado de Rifamicina específico subcutaneamente, ou uma dose equivalente molar de seu pró-fármaco bisfosfonado intravenosamente de acordo com o horário indicado depois de instilação de bactérias. Os controles padrões que envolvem nenhum tratamento e um tratamento subcutâneo de 20 mg/kg de Rifampicina diariamente também foram incluídos. Os ratos foram sacrificados humanitariamente na conclusão da experiência e os títulos bacterianos nas tíbias infectadas foram determinados.

Esta experiência foi realizada com 20 mg/kg de peso corporal de derivado de Rifamicina 9 subcutaneamente ou com 32 mg/kg de seu pró-fármaco 11 (correspondendo a 20 mg/kg de 9) intravenosamente em cada um dos 20º, 24º, 28º, 32º, 36º, 40º, 44º e 47º dia (q4 dias) após a instilação de bactérias. Alternativamente, 11 foi administrado pela mesma rotina e na mesma dose no 20º, 21º, 22º, 23º, 30º, 37º, 44º e 47º dia (q24hx4+q7d) após a instilação de bactérias. Os mesmos controles (nenhum tratamento ou diariamente 20 mg/kg de dose subcutânea de rifampicina) foram empregados. Os ratos foram sacrificados humanitariamente no 48º dia após a iniciação da infecção e os títulos bacterianos nas tíbias infectadas foram determinados. Os resultados são mostrados na Figura 1.

Esta experiência também foi realizada na qual os ratos similarmente infectados foram tratados com ou 20 mg/kg de peso corporal de Rifabutinaa subcutaneamente ou com 33,4 mg/kg de seu pró-fármaco 36 (correspondendo a 20 mg/kg de Rifabutinaa) intravenosamente em cada um

do 28º, 32º, 36º, 40º, 44º, 48º e 52º dia (q4 dias) após a instilação das bactérias. Os mesmos controles (nenhum tratamento ou 20 mg/kg de dose de rifampicina subcutânea diariamente) foram empregados. Os ratos foram sacrificados humanitariamente no 55º dia após a iniciação de infecção e os títulos bacterianos nas tíbias infectadas foram determinados. Os resultados são mostrados na Figura 2.

Esta experiência também foi realizada na qual os ratos similarmente infectados foram tratados com ou 20 mg/kg de peso corporal da Rifamicina derivada do agente antibacteriano 56 subcutaneamente ou com 26 mg/kg de seu pró-fármaco 62 (correspondendo a 20 mg/kg de 56) intravenosamente em cada um do 27º, 28º, 29º, 30º, 34º, 38º, 42º, 46º e 50º dia (q24hx4+q4dias) após a instilação de bactérias. Os mesmos controles (nenhum tratamento ou 20mg/kg de dose diariamente subcutânea de rifampicina) foram empregados. Os ratos foram sacrificados humanitariamente no 51º dia após a iniciação da infecção e os títulos bacterianos nas tíbias foram determinados. Os resultados são mostrados na Figura 3.

Esta experiência também foi realizada na qual os ratos similarmente infectados foram tratados com ou 20 mg/kg de peso corporal da Rifamicina derivada do agente antibacteriano 69 subcutaneamente ou com 28 mg/kg de seu pró-fármaco 71 (correspondendo a 20 mg/kg de 69) intravenosamente cada um do 18º, 19º, 20º, 21º, 25º, 29º, 33º, 37º, 41º e 45º dia (q24hx4+q4dias) após a instilação das bactérias. Os mesmos controles (nenhum tratamento ou 20mg/kg de dose diariamente subcutânea de rifampicina) foram empregados. Os ratos foram sacrificados humanitariamente no 46º dia após a iniciação da infecção e os títulos bacterianos nas tíbias infectadas foram determinados. Os resultados são mostrados na Figura 4.

Esta experiência também foi realizada na qual os ratos similarmente infectados foram tratados com ou 20 mg/kg de peso corporal subcutaneamente de rifalazil ou com 28 mg/kg de seu pró-fármaco 81 (correspondendo a 20 mg/kg de rifalazil) intravenosamente em cada um do

22^o, 23^o, 24^o, 25^o, 29^o, 33^o, 37^o, 41^o e 45^o dia (q24hx4+q4dias) após a instilação de bactérias. Os mesmos controles (nenhum tratamento ou 20 mg/kg de dose diariamente subcutânea de rifampicina) foram empregados. Os ratos foram sacrificados humanitariamente no 46^o dia após a iniciação da infecção e os títulos bacterianos nas tíbias infectadas foram determinados. Os resultados são mostrados na Figura 5.

Além disso, uma experiência separada foi realizada empregando uma dose subcutânea uma vez diariamente de 20 mg/kg de peso corporal de ou Rifampicina, Rifabutinaa ou composto 9 do 15^o ao 28^o dia após a infecção. Os ratos foram sacrificados humanitariamente no dia 29^o e os títulos bacterianos nas tíbias infectadas foram determinados. Os resultados estão na Figura 6.

Considerando que o tratamento diário com Rifampicina ou Rifabutinaa resultou em uma diminuição estatisticamente significativa, grande no título bacteriano ($p < 0,0001$), o tratamento diário com derivado 9 de Rifamicina mostrou uma redução menor porém estatisticamente significativa no título bacteriano no osso (Figura 6, p-valor 0,0022). O derivado 9 foi completamente ineficaz quando empregado a cada quatro dias (Figura 1, p-valor 0,7272). Considerando que o pró-fármaco bisfosfonada demonstra uma pequena diminuição no título bacteriano sob os dois regimes de dosagem examinados (Figura 1), esta diminuição não é estatisticamente significativa (p-valores de 0,4107 e 0,2082 para os regimes de q4d e q24hx4+q7d respectivamente). Com pró-fármaco 36, a diminuição no título bacteriano por 1 ordem logarítmica de magnitude foi estatisticamente significativa (Figura 2, p-valor 0,0036), embora tenha uma taxa mais pobre de regeneração *in vitro* do que 11. Por outro lado, a Rifabutinaa de fármaco parente, até mesmo em um intervalo de dosagem de 4 dias, ainda resulta em uma diminuição excelente no título bacteriano (mais do que 3 ordens logarítmicas de magnitude, Figura 2). Pode ser especulado que o resultado positivo de 36 seja o resultado não somente de seu alvejamento ao osso, porém também da liberação reduzida de Rifabutinaa de osso relativo ao derivado 9 de Rifamicina. As diminuições em títulos bacterianos por

aproximadamente 1 ordem logarítmica de magnitude associada com o uso de pró-fármacos 62, 71 e 81 são todas estatisticamente significantes (Figura 3, 4, e 5, respectivamente; p-valores < 0,001) não só com respeito ao grupo não-tratado porém com respeito aos antibacterianos de Rifamicina parente, todos dos quais não foram eficazes sob os regimes de dosagem examinados.

Isto enfatiza o papel do ligante bisfosfonado na produção do resultado terapêutico desejável e demonstra a utilidade da invenção no tratamento de infecções ósseas.

Exemplo 6: Determinação de níveis do composto 9, resultando do uso de composto 11 ou composto 9 em tíbias de rato quando empregado como profilaxia ou tratamento de infecção óssea.

A tíbia não-infectada intacta experimentalmente obtida (contra lateral) dos ratos tratados e infectados descritos acima, foi moída a um pó que foi suspenso em PBS + 2% de DMSO. A mistura foi centrifugada durante 2 minutos a 13.000 rpm. A quantidade de composto 9 liberado no sobrenadante foi determinada por análise microbiológica como previamente descrito (Exemplo 3).

Quando empregado em 10 mg/kg de peso corporal três dias antes de infecção, a quantidade de composto 9 nas tíbias não-infectadas de animais tratados com composto 9 foi abaixo da quantificação limite (0,17 µg/g). Por outro lado, uma concentração de $0,88 \pm 0,11$ µg/g de osso foi determinada para os animais tratados com 15,5 mg/kg de peso corporal (equivalente a 10 mg/kg de 9) de composto 11 três dias antes da infecção.

Quando o composto 11 foi empregado em 32 mg/kg de corpo uma vez semanalmente durante 4 semanas após a infecção, o nível de composto 9 foi determinado ser de $1,28 \pm 0,18$ µg/g de osso.

Os dados indicam que uma concentração elevada de fármaco 9 parente fica presente no osso até mesmo uma semana após o último tratamento nas tíbias de animais tratados com composto 11, em concentrações calculadas serem quase duas ordens de magnitude acima da concentração inibidora mínima (MIC) para a linhagem bacteriana empregada

para estabelecer a infecção *in vivo*. Isto está em completo contraste com o uso direto de 9 que não pode sustentar uma concentração significativa no osso durante até mesmo três dias. Proporciona crença ao conceito de usar pró-fármacos bisfosfonadas para concentrar a dose de antibacteriano na substância do osso e para liberá-lo durante um período prolongado.

Exemplo 7: Determinação de níveis de Rifabutinaa que resulta do uso de compostos 30 e 36 em vários tecidos quando empregados como profilaxia ou tratamento de infecção óssea.

As amostras de osso moído e os homogenados de tecido foram suspensos em PBS, vortexados e centrifugados a 13000 rpm durante 2 minutos. O sobrenadante foi coletado e foi aplicado em um ensaio microbiológico para determinar os níveis de Rifabutinaa liberados como previamente descrito (Exemplo 3). Os níveis exibidos na Tabela 4 são aqueles detectados para o uso de 30 em 33,8 mg/kg de peso corporal, dois dias antes da infecção, 36 empregado em cinco dias antes de infecção e 36 empregado durante 4 semanas começando no 14º dia após a infecção.

Tabela 4: Níveis de Rifabutina ($\mu\text{g/g}$ de tecido ou $\mu\text{g/ml}$ no caso de plasma) detectados como um resultado do uso de Rifabutinaa ou pró-fármacos 30 ou 36 em vários tecidos.

Tecido	Níveis Medidos de Rifabutinaa ($\mu\text{g/g}$ de tecido ou $\mu\text{g/mL}$ de plasma)				
	30 (33.8 mg/kg) Tratamento A	Rifabutin (20mg/kg) Tratamento B	36 (33,4 mg/kg) Tratamento B	Rifabutin (20mg/kg) Tratamento C	36 (32 mg/kg) Tratamento C
Tibia	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	$0,69 \pm 0,14$
Fígado	$1,23 \pm 0,12$	<LoD	$0,33 \pm 0,05$	$0,08 \pm 0,02$	$0,87 \pm 0,23$
Rim	$3,27 \pm 1,19$	<LoD	$0,31 \pm 0,18$	<LoD	$0,42 \pm 0,10$
Baço	<LoD	<LoD	<LoD	$1,40 \pm 0,40$	$1,21 \pm 0,08$
Plasma	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD

Tratamento A: Dose única dois dias antes da infecção; Sacrifício um dia após a infecção. **Tratamento B:** Dose única dose cinco dias antes da infecção; Sacrifício um dia após a infecção. **Tratamento C:** Uma dose a

cada quatro dias começando no 28º dia após a infecção e terminando no 52º; Sacrifício no 55º dia. < LoD: abaixo do limite de detecção.

Surpreendentemente, os níveis na tíbia foram muito baixos ou abaixo do limite de detecção, porém uma quantidade significativa de Rifabutinaa regenerada foi encontrada no fígado. Isto poderia ser o resultado da ocorrência do precipitado devido à presença de íons de cálcio no sangue. O precipitado concentrará ou nos rins como resultado de filtração glomerular ou no fígado. É possível que a taxa de clivagem das pró-fármacos seja mais elevada nestes órgãos, resultando em títulos mensuráveis mais elevados.

10 **Exemplo 8:** Determinação de níveis de pró-fármacos 11, 36 e 62 no osso após administração.

Determinação dos níveis de pró-fármaco 11 na tíbia, fêmures e mandíbulas

Para determinar os níveis de pró-fármaco 11 encontrados nos ossos de ratos tratados com composto 11, um método analítico foi desenvolvido empregando cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massa (LC/MS) para determinação de análogo. Os ossos experimentalmente obtidos inteiros (tíbias, fêmures ou mandíbulas) foram moídos e regenerados, 9 foi extraído com tampão de fosfato (25 mM, pH 7; 1 mL para 50 mg de osso moído). A mistura foi vortexada durante 10 minutos e centrifugada 10 minutos em 10 000g. O pélete resultante foi secado, foi pesado e foi mantido para a determinação do composto 11.

Para a determinação dos níveis do pró-fármaco bisfosfonada 11 no osso, os padrões, controles e ensaios em branco foram preparados (em duplicata) como segue: ao osso **blank** seco pesado (-20 mg) foi adicionado a solução de reforço (10 µL) de 11 preparada em acetonitrila e 990 µL de tampão (0,1 M de tris-HCl, pH 7, 0,15 M de NaCl). A mistura foi vortexada durante 30 minutos (TA), centrifugada durante 15 minutos em 10 000g (TA), o sobrenadante descartado e o pélete mantido para o procedimento de clivagem. A faixa dos padrões (6 níveis) foi de 0,1 a 20 µM (0,1 a 20 nmol) e os níveis de controle ficaram em 0,25 e 8,5 µM (0,25 e 8,5 nmol).

A cada padrão, controle, **blank** e amostra experimental (-20 mg do pélete previamente obtido) foram adicionados 500 µL de 100 mM de

tampão de fosfato contendo ácido ascórbico (1 mg/mL) ajustado para pH 9. A clivagem da pró-fármaco 11 na fármaco 9 foi obtida por um período de incubação de 4 horas a 50°C. Ao término deste período a solução foi levada para pH neutro com uma solução de 10% de ácido fórmico (20 µl) e o padrão interno (rifaximina) foi adicionado. Após a centrifugação durante 10 minutos a 10 000g (TA) 20 µL do sobrenadante foram injetados no LC/MS.

A quantidade de composto 9 resultante deste processo foi analisada com o mesmo método em um Agilent 1100TM séries LC/MSD Trap. O sobrenadante foi injetado em uma coluna Inertsil ODS-3(TM) (4,6 x 50 mm, 3 µ), empregando (A) 0,01% de ácido fórmico em água e (B) 0,01% de ácido fórmico em acetonitrila:metanol (50:50) com um gradiente de 55 a 100% de (B) em (A) durante 5 minutos, em seguida permanecendo em 100% de (B) durante 1 minuto) a uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min. O MS foi ajustado como segue: sonda ESI, polaridade positiva, 310,26 kPa de nebulizador, 350°C de temperatura de gás seco, 10 L/min de fluxo de gás seco, 120 V de saída capilar (2,5 a 6 min.) ou e escumadeira 30 V 140 V (6 a 12 min). O tempo de execução foi 12 minutos com a válvula de desvio ajustada ao desperdício durante os primeiros 2,5 minutos. O composto 9 foi analisado no modo SRM para m/z 853,3 → 821,1 e o padrão interno (rifaximina) para m/z 786,2 → 754,2.

Os resultados destas determinações após uma única administração de bolo intravenosa de 11 em 32mg/kg de peso corporal são mostrados na Figura 7.

Determinação dos níveis de pró-fármaco 36 nas tíbias

25

Para determinar os níveis de pró-fármaco 36 encontrados nas tíbias de ratos tratados com composto 36, um método analítico foi desenvolvido empregando cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massa (LC/MS) para determinação de análogo. As tíbias experimentalmente obtidas inteiras foram moídas para um pó e a Rifabutinaa regenerada foi extraída de 50 mg de pó com 1 mL de acetonitrila. A mistura foi vortexada durante 15 minutos e centrifugada 10 minutos a 10 000g (TA).

O pélete do osso experimental foi secado, pesado e mantida para a determinação da pró-droga. Para a dosagem da pró-fármaco no osso, os padrões, Qcs e **blanks**, foram preparados (em duplicata) como segue: ao pó de osso **blank** seco pesado (~20mg) foi adicionada solução de reforço (10 µL) da pró-fármaco preparado em água e 990 µL de tampão (0,1 M de tris-HCl, pH 7, 0,15M de NaCl). A mistura foi vortexada durante 30 minutos (TA), centrifugada 10 minutos em 10 000g (TA), o sobrenadante descartado e o pélete mantida para o procedimento de clivagem. A faixa dos padrões (6 níveis) foi de 0,05 a 10 µM (0,05 a 10 nmol) e os níveis de Qcs ficaram em 0,075, 0,75 e 7,5 µM (0,075, 0,75 e 7,5 nmol).

A cada padrão, Qc, **blank** e amostra experimental (~20 mg pesado do osso experimentalmente obtido seco), pélete de osso foi adicionado 500 µL de tampão de fosfato de sódio, 100 mM de pH ajustado para 9. A clivagem da pró-fármaco na fármaco (Rifabutinaa) foi obtida por uma sequência de cinco períodos de incubação de 1 h a 70°C. Ao término de cada período de 1h, o sobrenadante foi levado a um pH neutro com uma solução de 10% de ácido fórmico (15 µl), a mistura vortexada e centrifugada (10 minutos a 10 000g, TA). O sobrenadante foi mantido a 4°C e o pélete foi novamente suspensa no tampão de fosfato (500 µL) e incubado durante o período seguinte de uma hora. Ao término da sequência o padrão interno (composto 56) foi adicionado aos sobrenadantes combinados e a fármaco (Rifabutinaa) e o padrão interno extraídos por SPE em Strata-X (30 ml de mg/1) empregando acetonitrila como o eluente. O eluente foi evaporado a secado e o resíduo seco foi reconstituído na fase móvel (500 µL). Após vortexamento durante 20 minutos, o sobrenadante (10 µL) foi injetado no LC/MS.

A quantidade de Rifabutinaa resultante deste processo foi determinada em um Agilent 1100 séries LC/MSD Trap. O sobrenadante foi injetado em uma coluna de Inertsil ODS-3 (4,6 x 50 mm, 3µ), empregando (A) 0,01% de ácido fórmico em água e (B) 0,01% de ácido fórmico em acetonitrila:metanol (50:50) com um gradiente de 45 a 65% de (B) em (A) durante 5 minutos seguidos por 65 a 95% de (B) durante 1 minuto e

mantendo em 95% de (B) durante um minuto adicional a uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min.

O MS foi ajustado como segue: sonda ESI, polaridade positiva, 310,26 kPa (45 psi) de nebulizador, 350°C de temperatura do gás seco, 10L/min de fluxo do gás seco, 110V de saída capilar e 34,5V de escumadeira. O tempo de execução foi 13 minutos com a válvula de desvio ajustada ao desperdício durante os primeiros 3 minutos. A Rifabutinaa foi analisada no modo de SRM para m/z 847,3 \rightarrow 815,4 e o padrão interno (composto 56) para m/z 929.3.3 \rightarrow 897,4.

Os resultados destas determinações após uma única administração de bolo intravenosa de 36 em 15,5 mg/kg de peso corporal são mostrados na Figura 8.

Determinação dos níveis de pró-fármaco 62 nas tíbias

Para determinar os níveis de pró-fármaco 62 encontrados nas tíbias de ratos tratado com composto 62, um método analítico foi desenvolvido empregando cromatografia líquida acoplada com espectrometria de massa (LC/MS) para determinação de anárito. O osso experimental inteiro foi moído para um pó e o 56 regenerado foi extraído por suspensão de 50 mg deste pó em 1 mL de metanol. A mistura foi vortexada durante 15 minutos e centrifugada 10 minutos a 10 000 g. O pélete resultante foi secado, pesado e empregada para a determinação do pró-fármaco.

Para a dosagem, os padrões, Qcs e **blanks** foram preparados (em duplicata) como segue: ao pó de osso **blank** seco pesado (~20mg) foi adicionado a uma solução de reforço (10 μ L) de 62 preparada em água:metanol (50:50) e 990 μ L de tampão (0,1 M de tris-HCl, pH 7, 0,15 M de NaCl). A mistura foi vortexada durante 10 minutos (temperatura ambiente), centrifugada durante 15 minutos a 10 000 g (temperatura ambiente), o sobrenadante descartado e o pélete mantido para o procedimento de clivagem. A faixa dos padrões (6 níveis) foi de 0,05 a 10 μ M (0,05 a 10 nmol) e os níveis de Qcs ficaram em 0,075, 0,75 e 7,5 μ M

(0,075, 0,75 e 7,5 nmol).

A cada pélete de osso padrão, Qc, **blank** e amostra experimental (~20mg pesado do pélete secada) foram adicionados 500 µL de tampão de fosfato de sódio, 100 mM de pH ajustado para 10. A clivagem da pró-fármaco na fármaco (56) foi obtida por uma sequência de 10 períodos de incubação de 1 hora a 70°C. Ao término de cada período de 1 hora, o sobrenadante foi levado a um pH neutro com uma solução de 10% de ácido fórmico (20 µL), a mistura vortexada e centrifugada (10 minutos em 10 000 g, TA). O sobrenadante foi mantido a 4°C e o pélete foi novamente suspenso no tampão de fosfato (500 µL) e incubado durante o período seguinte de uma hora. Ao término da sequência, o padrão interno (Rifabutinaa) foi adicionado aos sobrenadantes combinados que foram carregados em cartucho StrataXTM condicionado (30 mg/1 mL) para a extração (SPE). Após lavagem com 1% de ácido fórmico em água (1 mL) e 100% de água (1 mL), o composto 56 e o padrão interno foram eluídos com 1 mL de acetonitrila. O eluente foi evaporado a secado e o resíduo secado foi reconstituído na fase móvel (500 µL). Após vortexamento durante 15 minutos, o sobrenadante (20 µL) foi injetado na LC/MS.

A quantidade de composto 56 gerada por este processo foi analisada em um Agilent 1100 séries LC/MSD Trap. A solução de amostra foi injetada em uma coluna de Inertsil ODS-3 (4,6 x 50 mm, 3µ), empregando (A) 0,01% de ácido fórmico em água e (B) 0,01% de ácido fórmico em acetonitrila:metanol (50:50) com um gradiente de 45 a 65% de (B) em (A) durante 5 minutos seguido por 65 a 95% de (B) durante 1 minuto e mantendo em 95% de (B) durante um minuto adicional a uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min.

O MS foi ajustado como segue: sonda ESI, polaridade positiva, 310,26 kPa (45 psi) de nebulizador, 350°C de temperatura de gás seco, 10l/min de fluxo de gás seco, 110V de saída capilar e 34,5V de escumadeira. O tempo de execução foi 13 minutos com a válvula de desvio ajustada ao desperdício durante os primeiros 3 minutos. O Composto 56 foi analisado em modo de SRM para m/z 929,3 → 897,2 e o padrão interno

(Rifabutinaa) para m/z 847,3 \rightarrow 815,3.

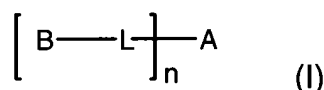
Os resultados destas determinações após uma única administração de bolo intravenosa de 62 em 26 são mostrados na Figura 9.

Estas determinações fornecem também evidência *in vivo* que as

- 5 Rifamicinas bisfosfonadas podem se concentrar no osso onde elas podem residir durante dias liberando suas fármacos parentes nos locos potenciais de infecção. Isto confirma o papel do ligante de bisfosfonato na liberação de tais agentes de Rifamicina ao osso, e também apóia o uso da invenção para a prevenção e o tratamento de infecções ósseas.
- 10 É entendido que os exemplos e modalidades descritas aqui, são para propósitos ilustrativos somente, e que várias modificações ou alterações devido a isso, serão sugeridas às pessoas versadas na técnica e devem ser incluídas no espírito e competência deste pedido e escopo das reivindicações anexas.
- 15 Todos os documentos, jornais e materiais publicados referenciados aqui, incluindo livros, artigos de jornal, manuais, pedidos de patente, patentes e pedidos de patente publicados, estão expressamente incorporados aqui por referência em sua totalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de Fórmula (I) ou um sal farmacêuticamente aceitável deste:



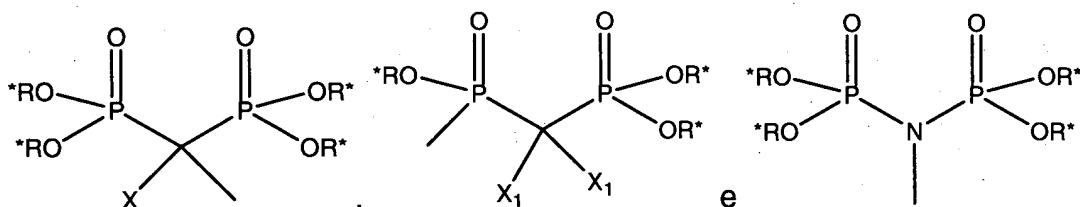
em que:

- 5 **B** é um grupo fosfonado;
L é um ligante clivável para acoplar **B** a **A**;
n é 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7; e
A é uma Rifamicina.

10 2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que **n** é 1, 2 ou 3.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que **B** é um bisfosfonato.

15 4. Composto de acordo com a reivindicação 3, em que o referido bisfosfonato é selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

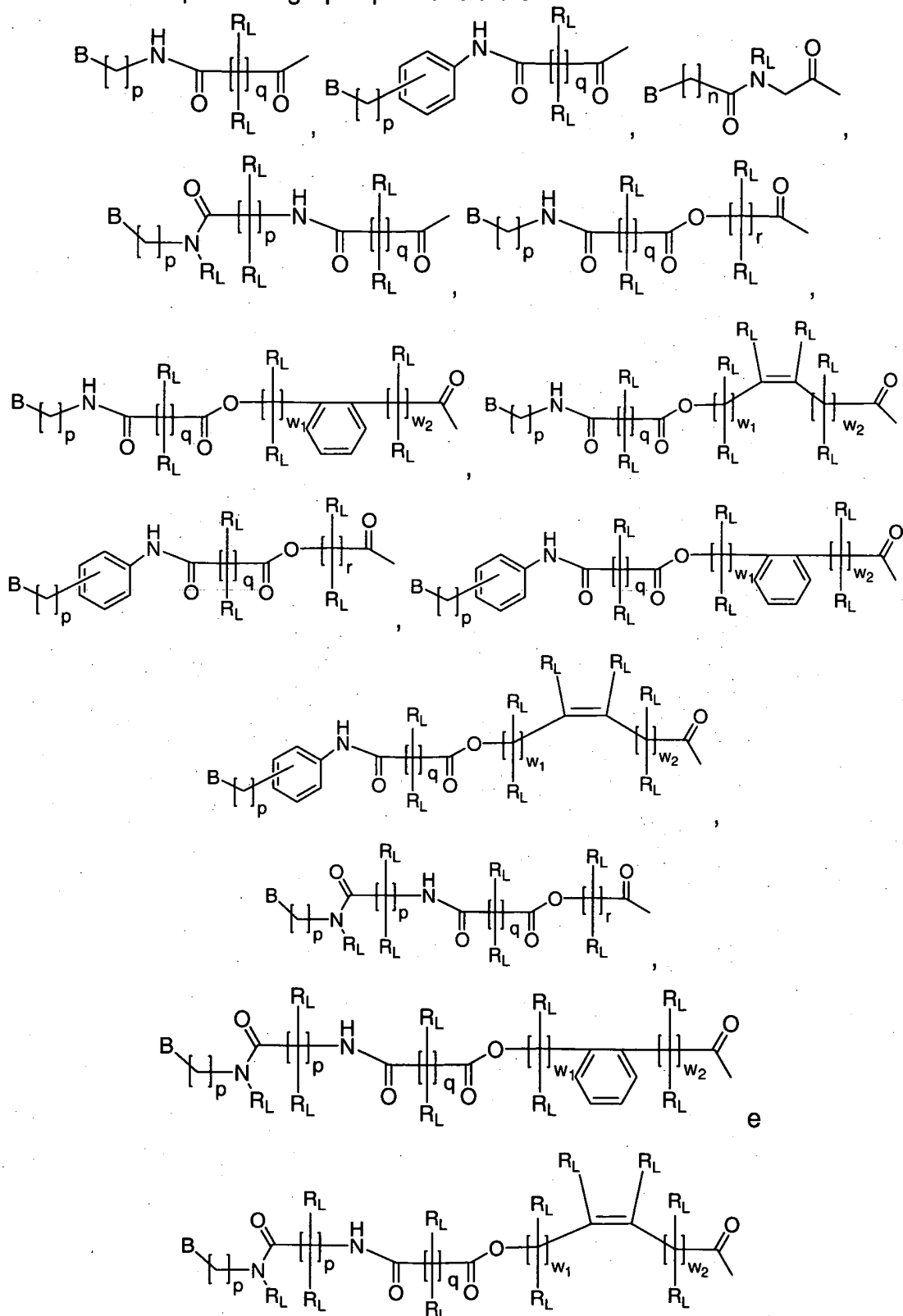
cada **R*** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois **R*** sejam H;

20 **X** é H, OH, NH₂, ou um grupo halo; e

X₁ são igualmente H, ou cada qual é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, OH, NH₂, e um grupo halo.

25 5. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que pelo menos um dentre o referido **B—L—** é acoplado a uma funcionalidade de hidroxila na referida Rifamicina **A**, e em que cada um dentre o referido

B—L— acoplado a uma funcionalidade de hidroxila é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

B representa o referido fosfonado;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

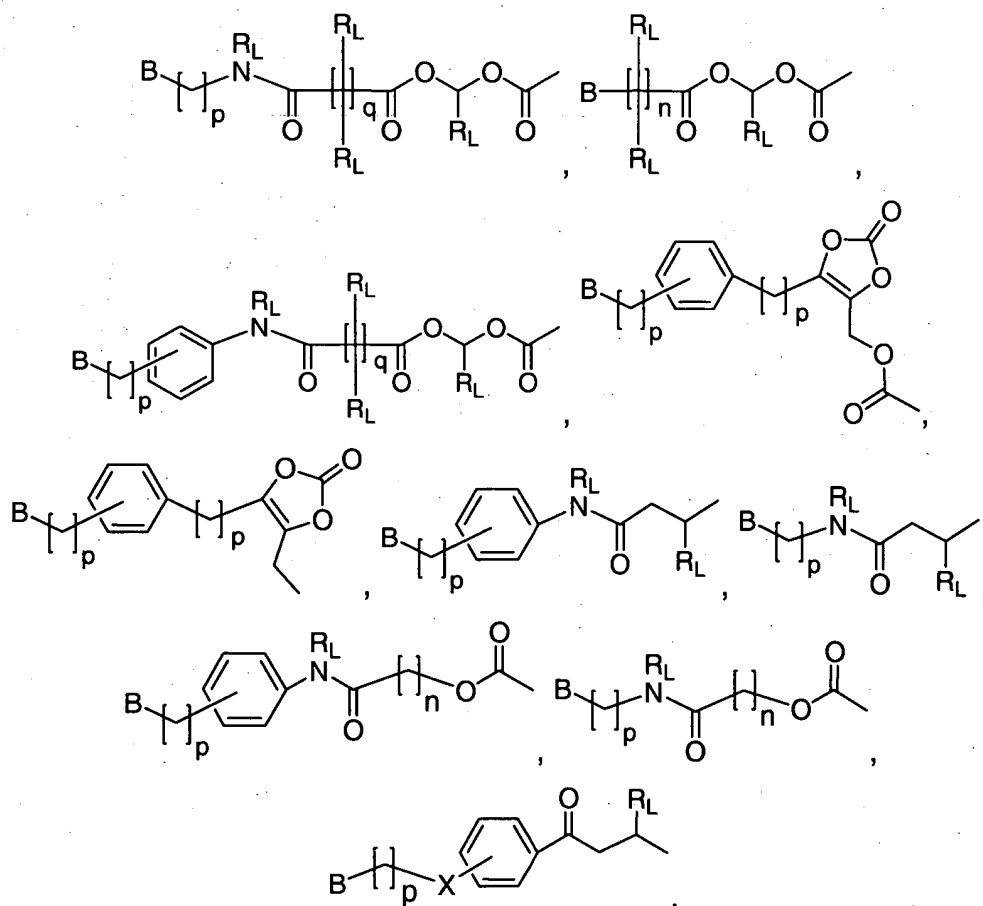
q é 2 ou 3;

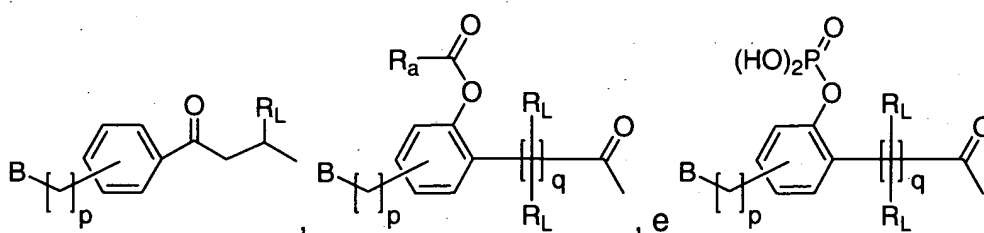
5 n é um número inteiro ≤ 10 ;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5; e

w_1 e w_2 são cada qual números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) seja 1, 2 ou 3.

6. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que pelo menos um dentre o referido **B—L—** seja acoplado a um átomo de nitrogênio na referida Rifamicina **A**, e em que cada um dentre o referido **B—L—** acoplado a um átomo de nitrogênio é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:





em que:

B representa o referido grupo fosfonado;

n é um número inteiro ≤ 10 ;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

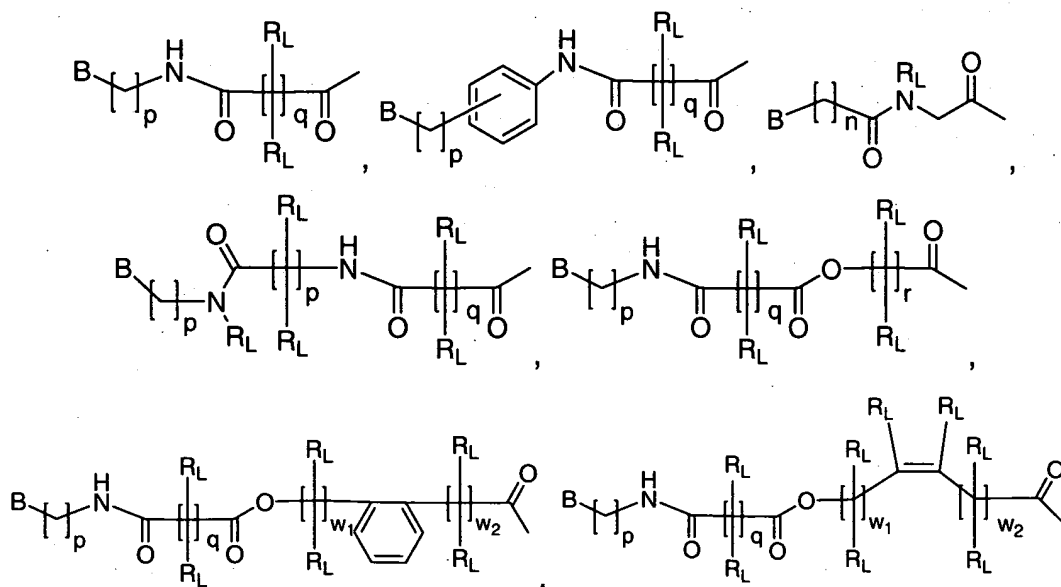
- 5 cada **R_L** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

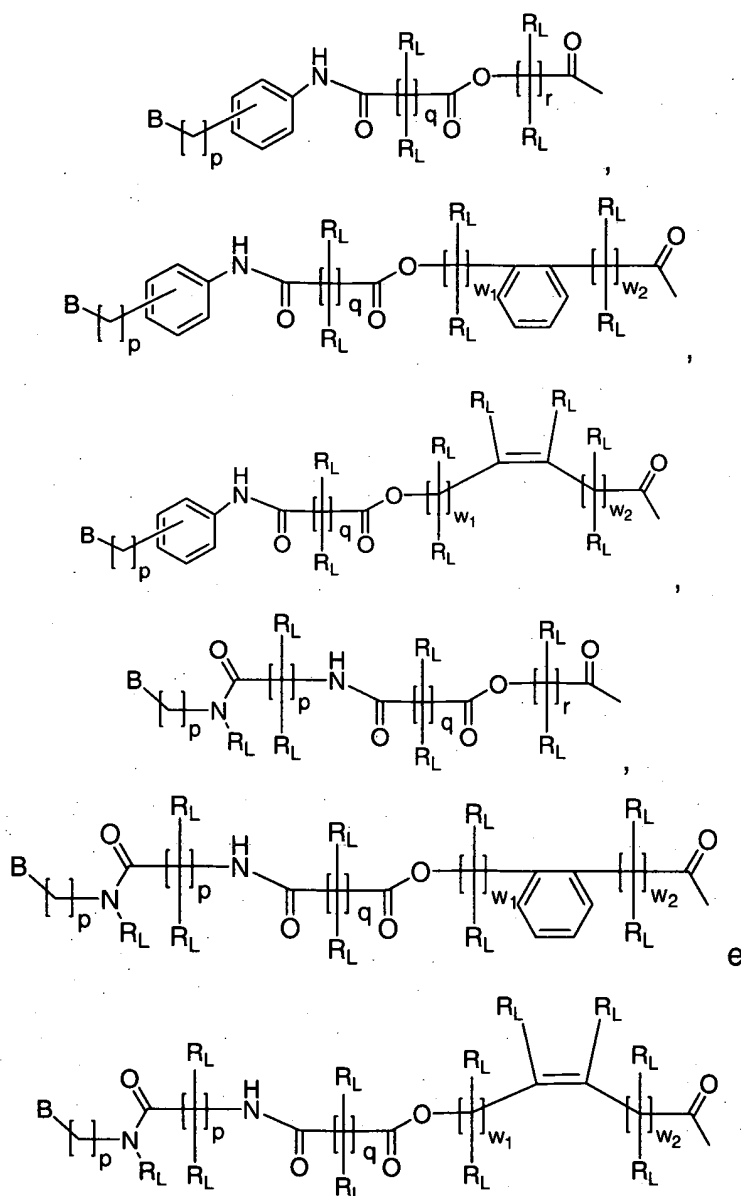
q é 2 ou 3;

X é CH_2 , $-\text{CONR}_L-$, $-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-$ ou $-\text{CO}-\text{O}-$; e

- 10 **R_a** é C_xH_y em que **x** é um número inteiro de 0 a 20 e **y** é um número inteiro de 1 a $2x+1$.

7. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que **n** é um número inteiro de 2 a 7, em que pelo menos um dentre o referido **B—L—** é acoplado a uma funcionalidade de hidroxila na referida Rifamicina **A**, e pelo menos um dentre o referido **B—L—** é acoplado a um átomo de nitrogênio na referida Rifamicina **A**, em que cada um do referido **B—L—** acoplado a uma funcionalidade de hidroxila é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em:





em que:

B representa o referido grupo fosfonado;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

cada **R_L** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

q é 2 ou 3;

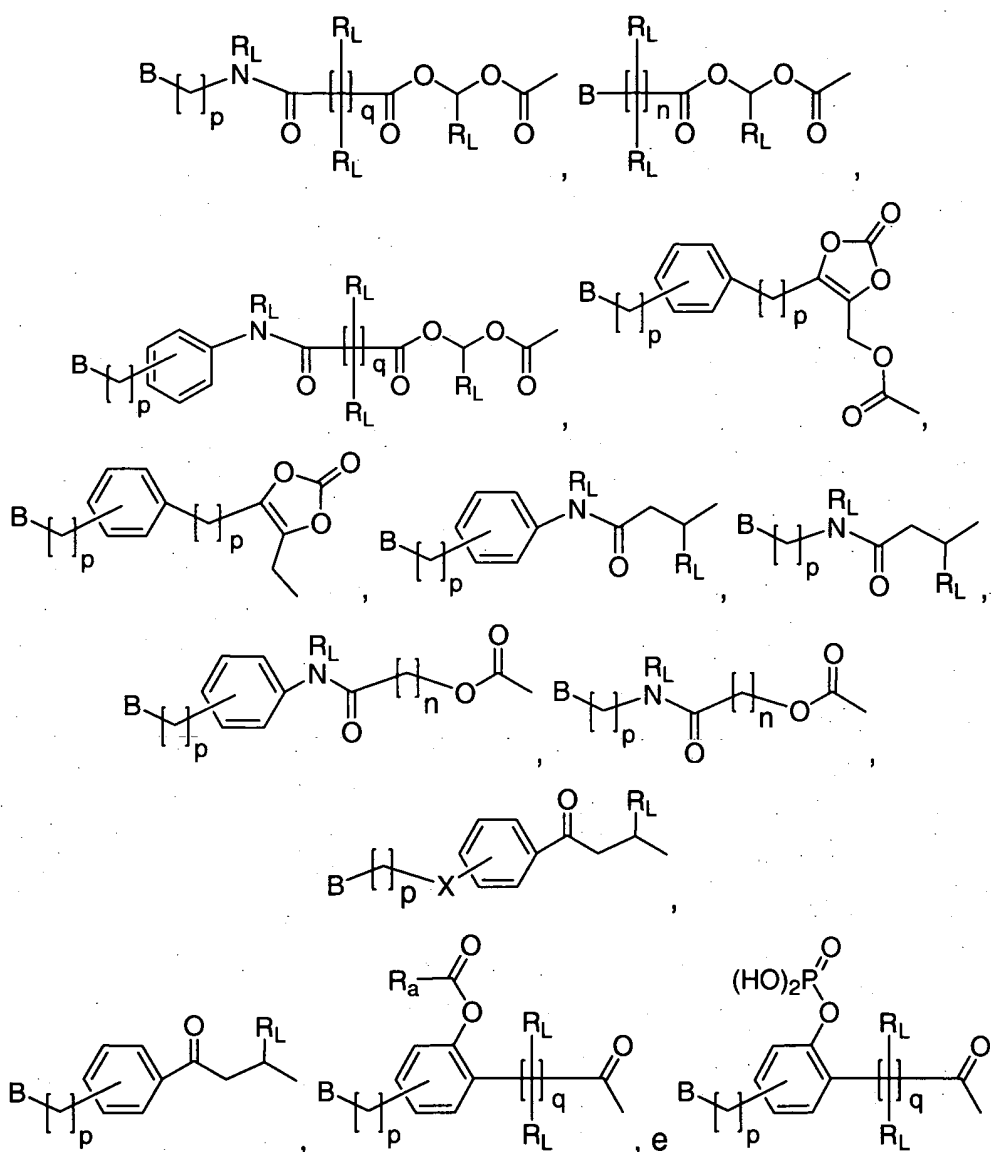
n é um número inteiro ≤ 10 ;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5; e

w₁ e **w₂** são cada qual números inteiros ≥ 0 tal que sua soma (**w₁** + **w₂**) seja

1, 2 ou 3, e em que cada qual do referido **B—L—** acoplado a um átomo de

nitrogênio é selecionado independentemente a partir do grupo que consiste em:



em que:

B representa o referido grupo fosfonado;

5 **n** é um número inteiro ≤ 10 ;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

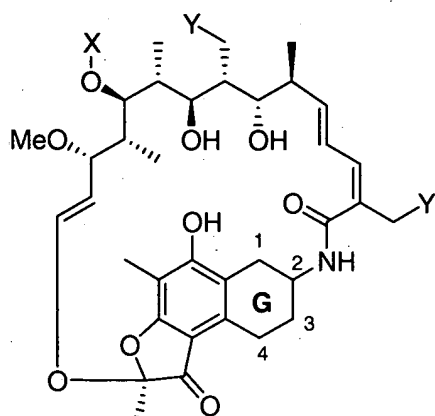
cada **R_L** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

q é 2 ou 3;

10 **X** é CH₂, —CONR_L—, —CO—O—CH₂— ou —CO—O—; e

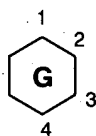
R_a é C_xH_y em que x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1 a 2x+1.

8. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela seguinte Fórmula **A1**:

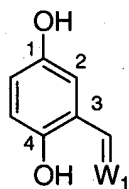
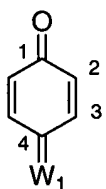
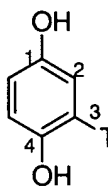
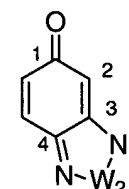
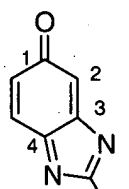
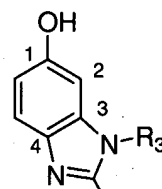
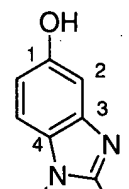
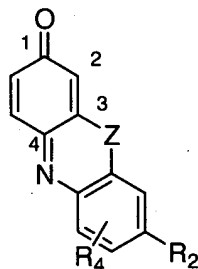
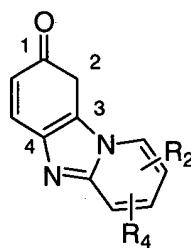
**A1**

em que:

- X** é H- ou R_1CO- , em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 6 carbonos;
- 5 cada **Y** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H- e $RO-$, em que **R** é H-, R_1- , ou R_1CO- , com R_1 definido como acima;



G é selecionado a partir do grupo consistindo nas fórmulas **A2-A10**:

**A2****A3****A4****A5****A6****A7****A8****A9****A10**

em que

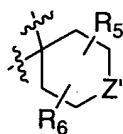
- 10 R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-10 carbonos, ou um grupo dialquil amino;

R_3 é H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos;

5 W_1 é oxigênio ou $-NR_2$ com R_2 definido como acima;

W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo:



, em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e Z é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, $-NR_1$ ou $-N(O)R_1$ em que R_1 é definido como acima;

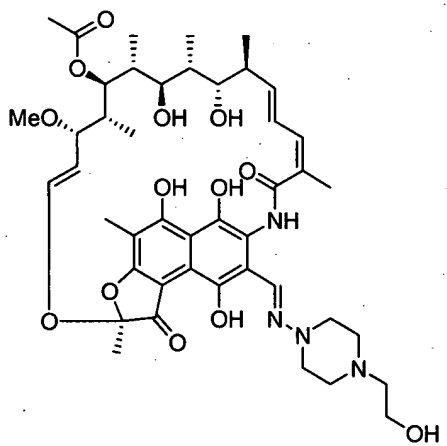
T é um halogênio ou R_2 , em que R_2 é definido como acima; e

Z é O, S ou NR_3 , em que R_3 é definido como acima.

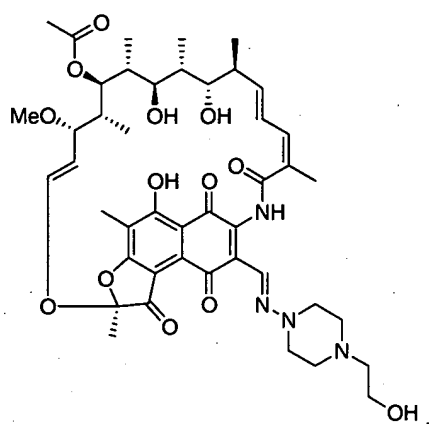
9. Composto de acordo com a reivindicação 8, em que R_2 é um grupo dialquil amino selecionado a partir do grupo que consiste em uma piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída.

10. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte

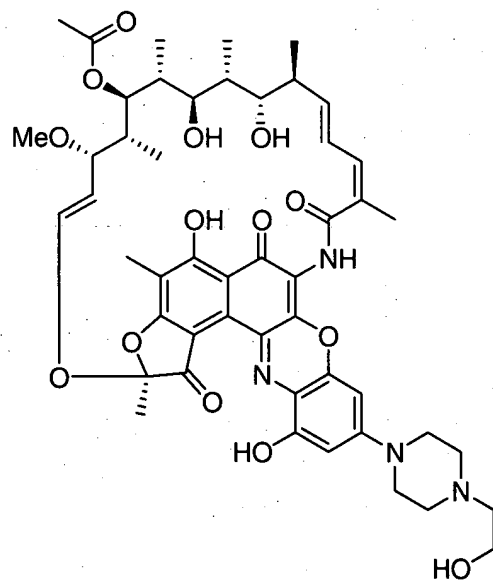
15 ou um derivado antimicrobiano desta:



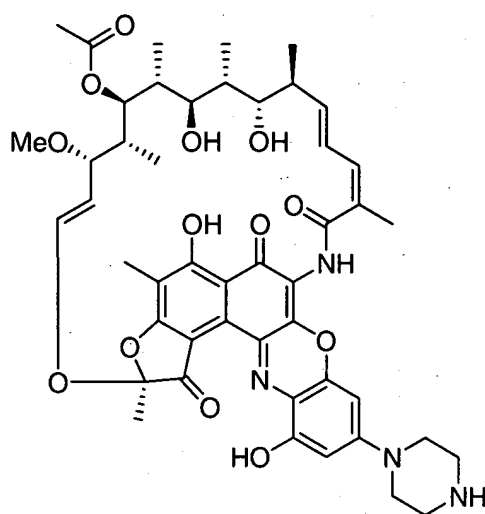
11. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



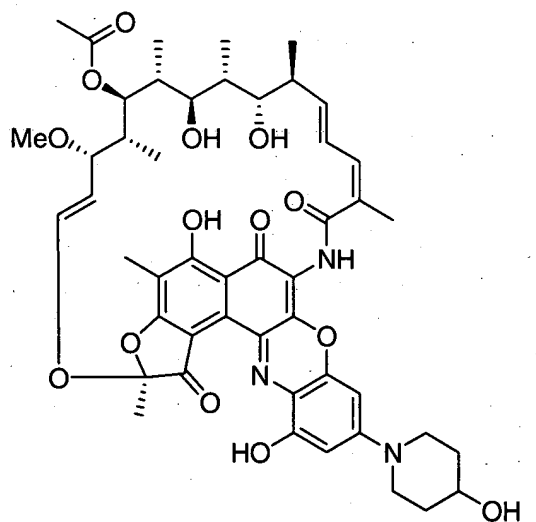
12. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



13. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



14. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



15. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** é Rifampicina ou um derivado antimicrobiano desta.

16. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** é Rifapentina ou um derivado antimicrobiano desta.

17. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** é Rifabutina ou um derivado antimicrobiano desta.

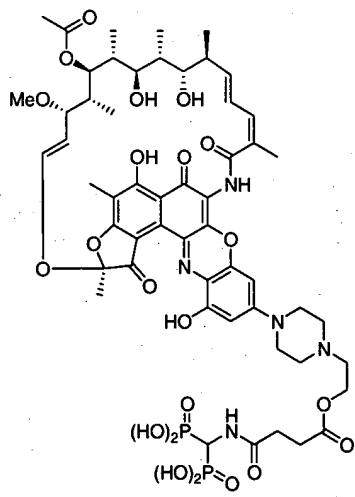
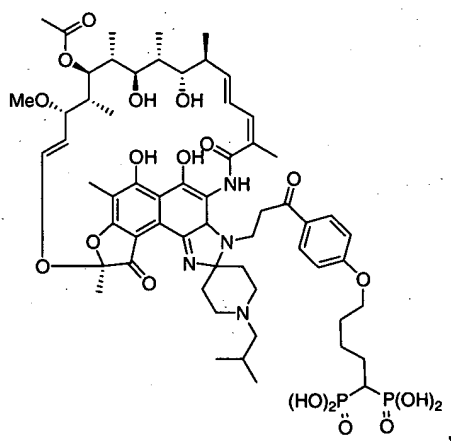
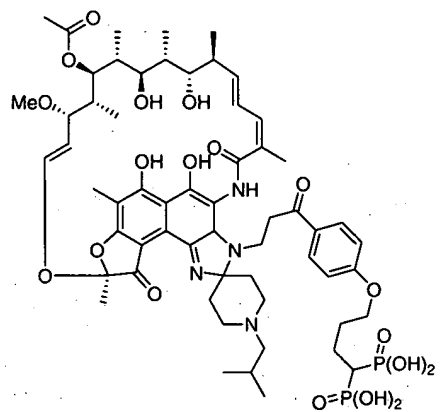
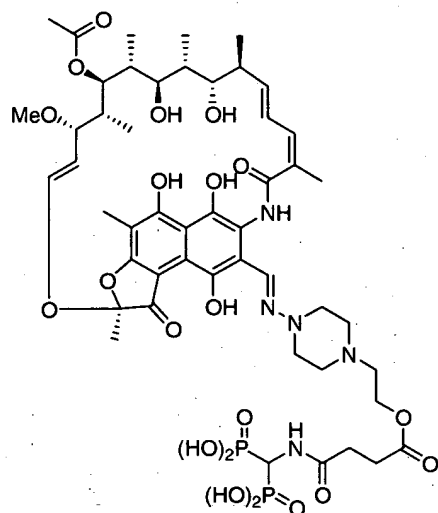
18. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** é Rifalazila ou um derivado antimicrobiano desta.

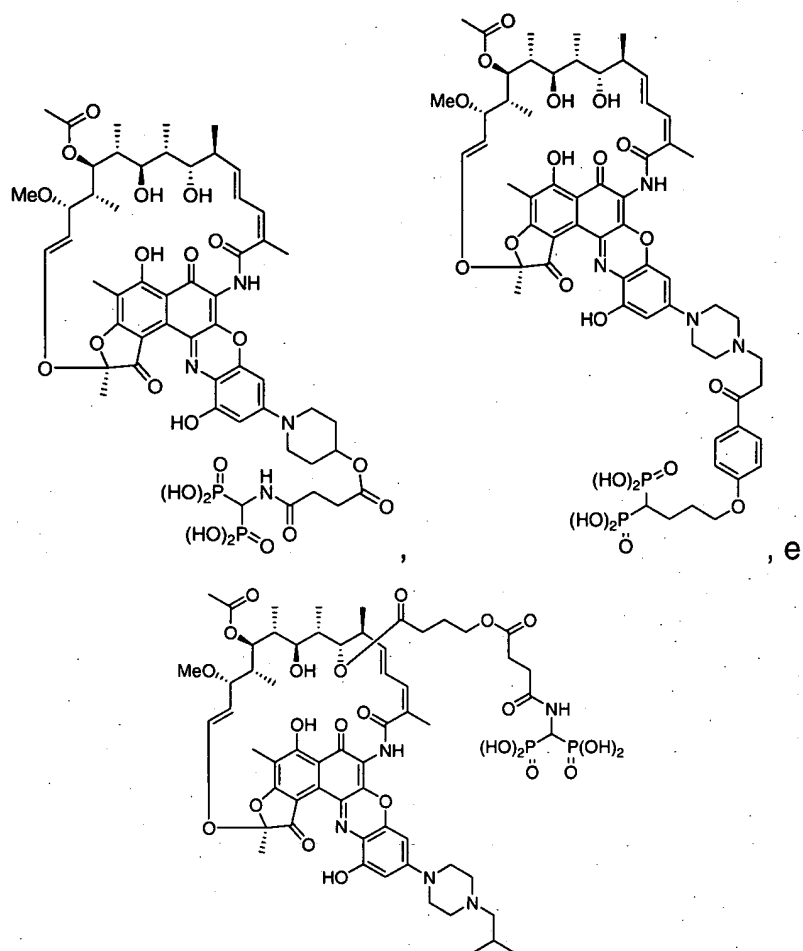
19. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** é Rifaximina ou um derivado antimicrobiano desta.

20. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que a referida Rifamicina **A** é Rifandina ou um derivado antimicrobiano desta.

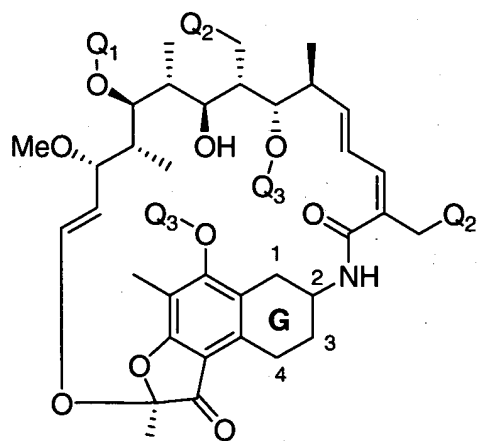
21. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que o referido composto tem uma fórmula seleccionada a partir do grupo que

5 consiste em:





22. Composto representado pela Fórmula (II) ou um sal farmaceuticamente aceitável deste:



(II)

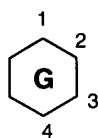
em que:

Q_1 é $\text{H}-$, $\text{R}_1\text{CO}-$ ou $\text{L1}-$, em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-6 carbonos;

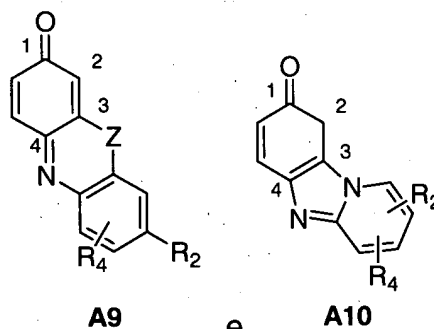
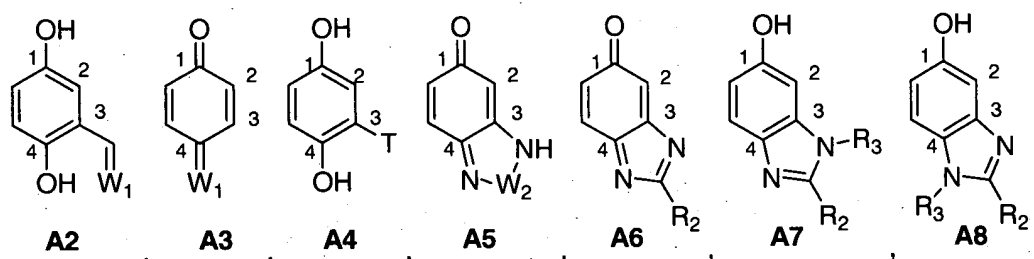
cada Q_2 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H-, RO- e L_2O -, em que R é H-, R_1 - ou R_1CO -, com R_1 definido como acima;

cada Q_3 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H- e L_3 -;

5



é selecionado a partir do grupo consistindo nas fórmulas **A2-A10**:



em que

R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-10 carbonos ou um grupo dialquil amino, em que quando R_2 for uma cadeia de alquila substituída de 1-10 carbonos, o substituinte seja um membro selecionado a partir do grupo que consiste em L_4O -, L_5S - e L_6NR_7 -, em que R_7 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos; R_3 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos ou

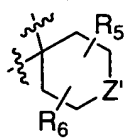
15

L_7 -;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos, L_8O - ou L_9S -;

W_1 é oxigênio ou $-NR_2$, com R_2 definido como acima;

W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo

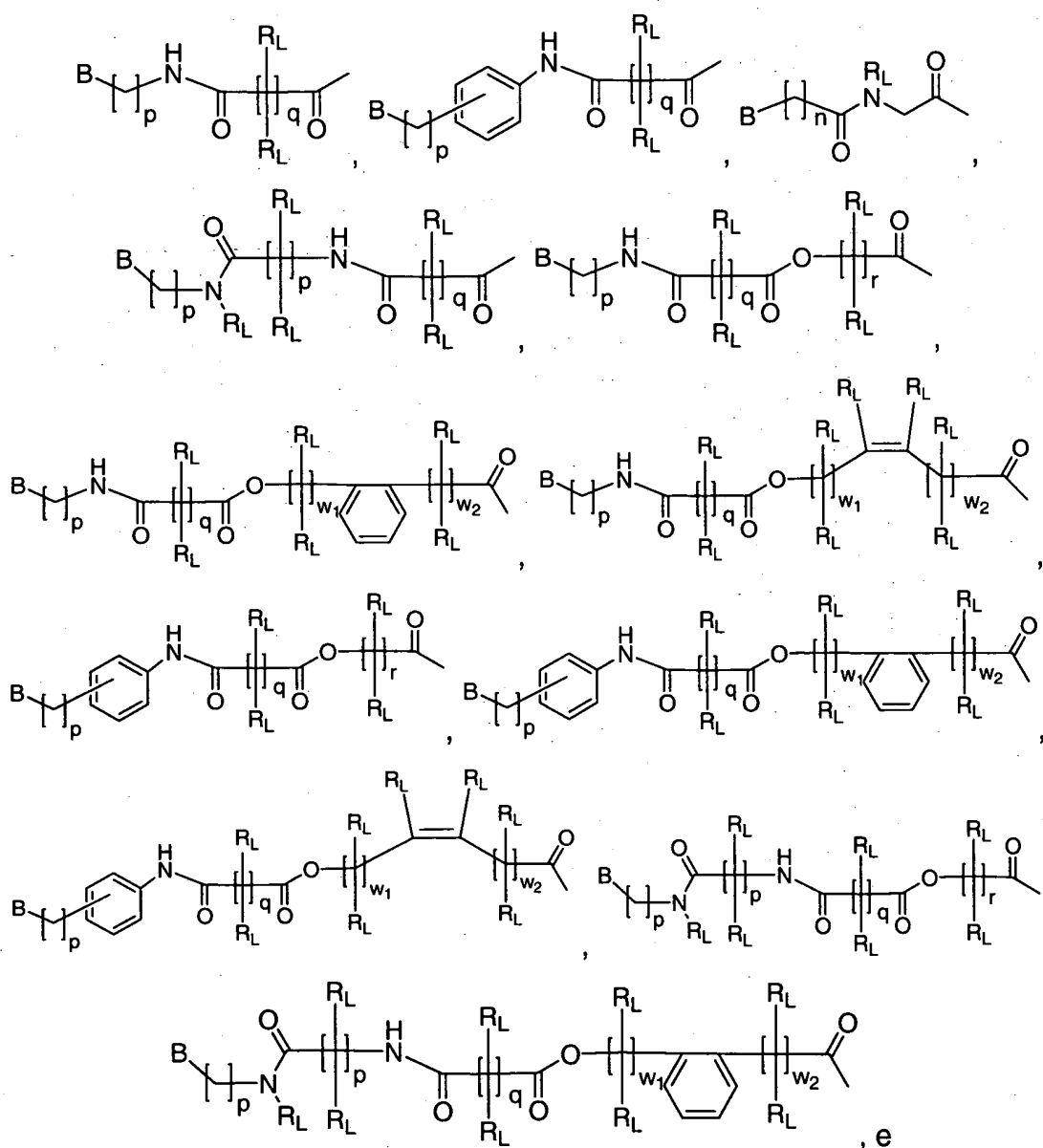


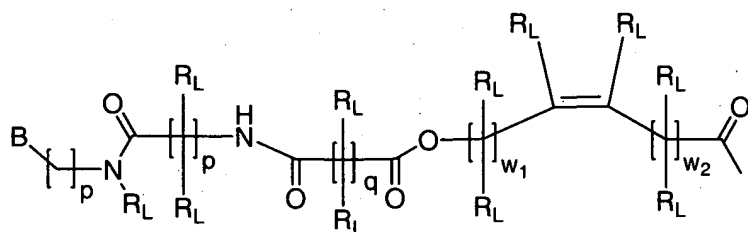
, em que **R₅** e **R₆** são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e **Z** é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, -NR₁ ou -N(O)R₁ em que **R₁** é definido como acima;

T é um halogênio ou **R₂**, em que **R₂** é definido como acima;

Z é O, S ou NR₃, em que **R₃** é definido como;

cada **L₁**, **L₂**, **L₃**, **L₄**, **L₅**, **L₈** e **L₉** é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:





em que:

n é um número inteiro ≤ 10 ;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

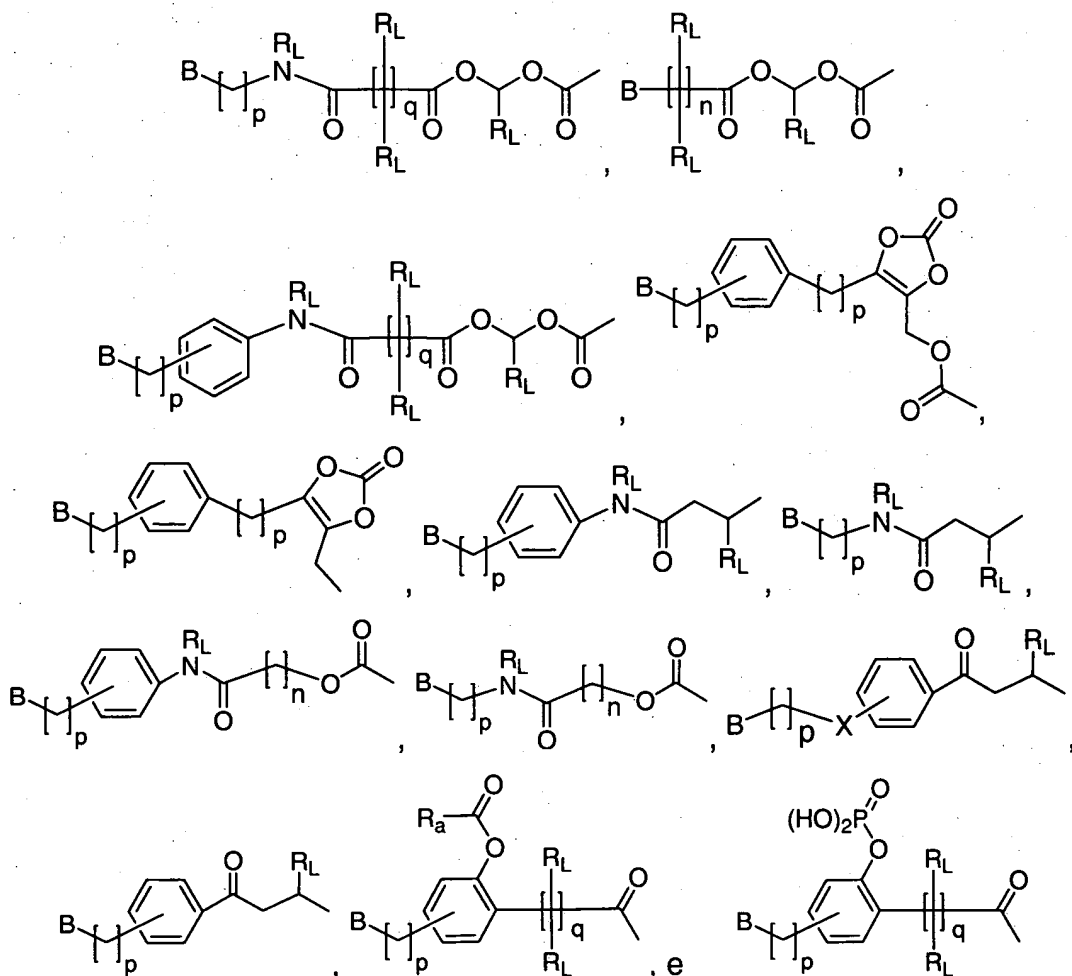
q é 2 ou 3;

5 r é 1, 2, 3, 4 ou 5;

w_1 e w_2 são números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3;

cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

10 cada L_6 e L_7 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

n é um número inteiro ≤ 10 ;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

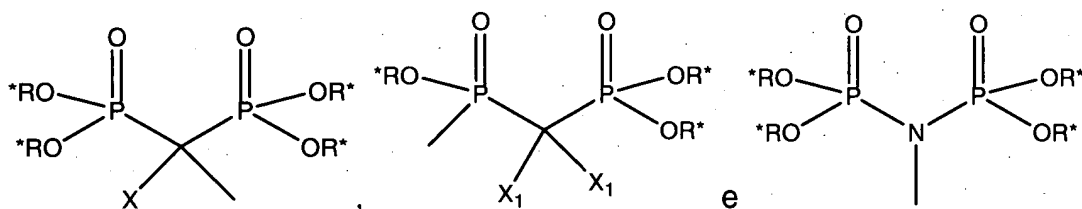
q é 2 ou 3;

5 cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

R_a é C_xH_y em que x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1 a $2x+1$; e

X é CH_2 ; $—CONR_L—$, $—CO—O—CH_2—$, ou $—CO—O—$;

B é um grupo fosfonado selecionado a partir do grupo que consiste em:



10 em que:

cada R^* é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois R^* seja H;

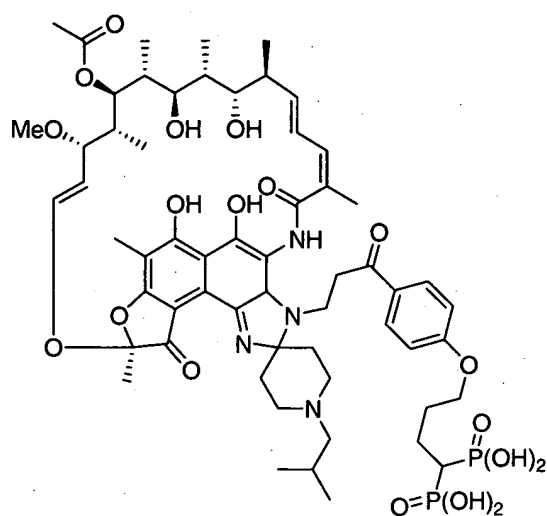
X é H, OH, NH_2 , ou um grupo halo;

15 cada X_1 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, OH, NH_2 , e um grupo halo;

com a condição que pelo menos um dentre L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_6 , L_7 , L_8 e L_9 esteja presente.

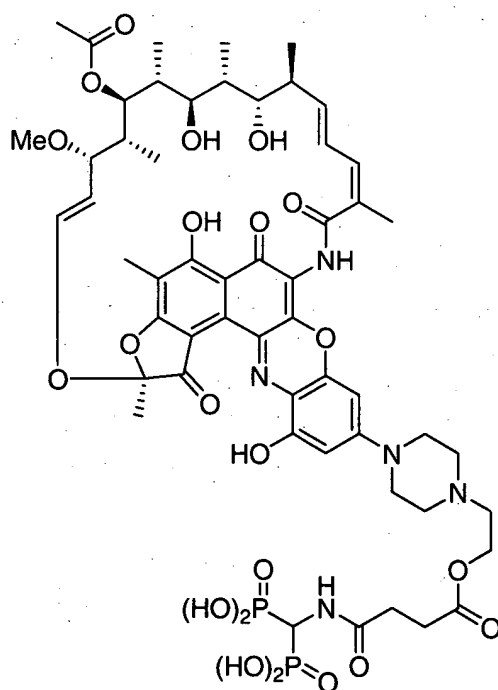
23. Composto de acordo com a reivindicação 22, em que R_2 é um grupo dialquil amino selecionado a partir do grupo que consiste em uma piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída, e em que o substituinte é um membro selecionado a partir do grupo que consiste em L_4O- , L_5S- e L_6NR_7- , em que R_7 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 7 carbonos.

25 24. Composto representado pela fórmula:



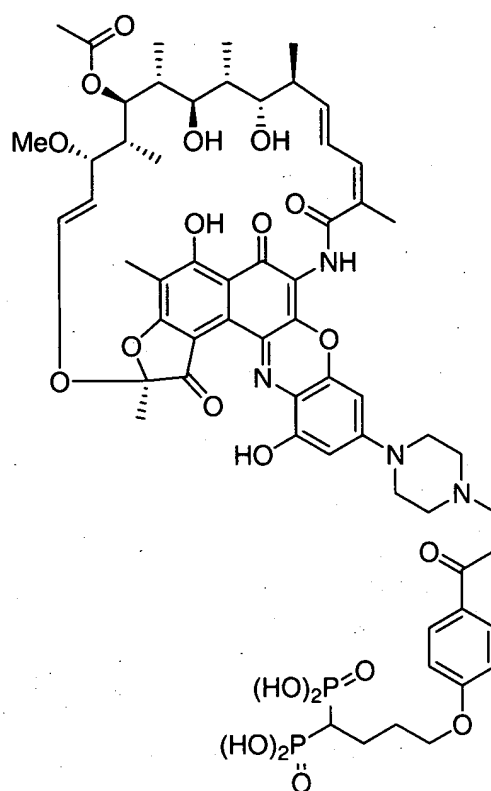
ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

25. Composto representado pela fórmula:



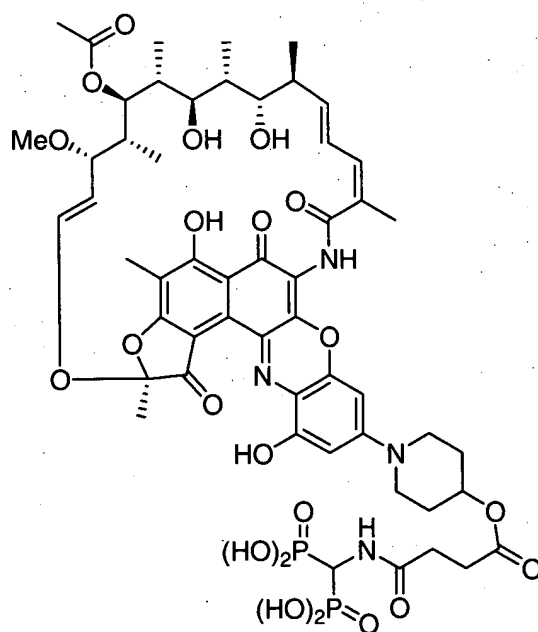
5 ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

26. Composto representado pela fórmula:



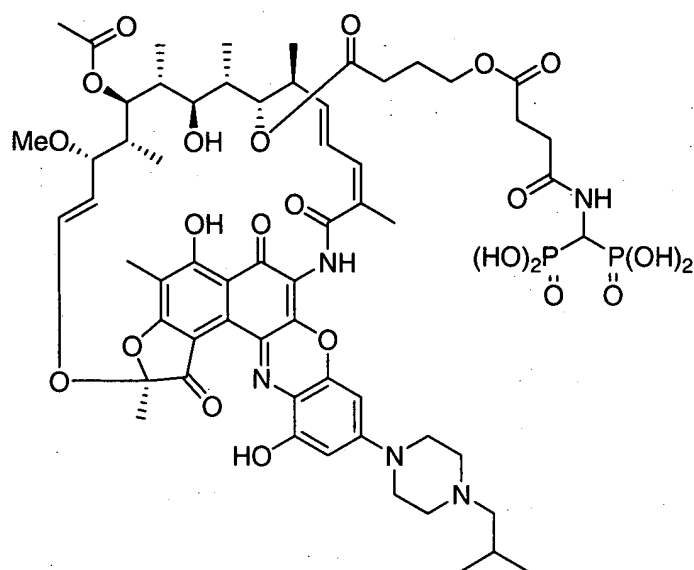
ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

27. Composto representado pela fórmula:



5 ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

28. Composto representado pela fórmula:



ou um sal farmaceuticamente aceitável deste.

29. Composição farmacêutica que compreende um composto como definido em qualquer uma dentre as reivindicações 1 e 21-28, e um excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável.

30. Método para tratar uma infecção bacteriana em um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade de tal tratamento uma quantidade farmaceuticamente eficaz de uma composição farmacêutica como definida na reivindicação 29.

31. Método de profilaxia para uma infecção bacteriana em um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade de tal profilaxia uma quantidade profilacticamente eficaz de uma composição farmacêutica como definida na reivindicação 29.

32. Método de acordo com a reivindicação 31, em que a referida composição farmacêutica é administrada ao referido indivíduo antes, durante, ou depois de um tratamento médico invasivo.

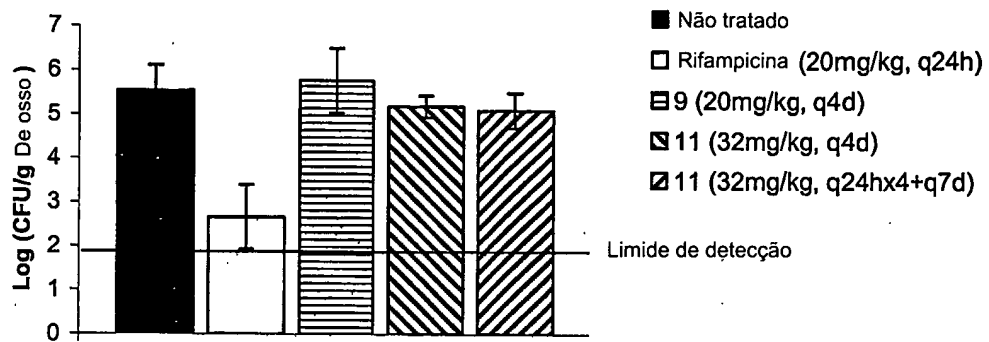
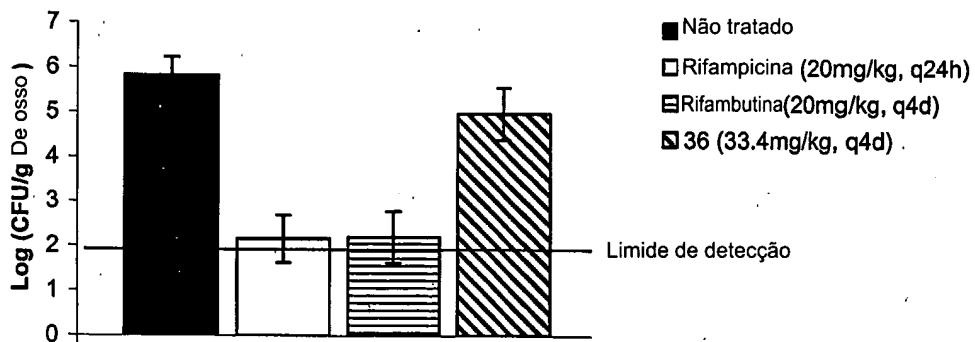
33. Método de acordo com a reivindicação 30, em que o referido indivíduo é um ser humano.

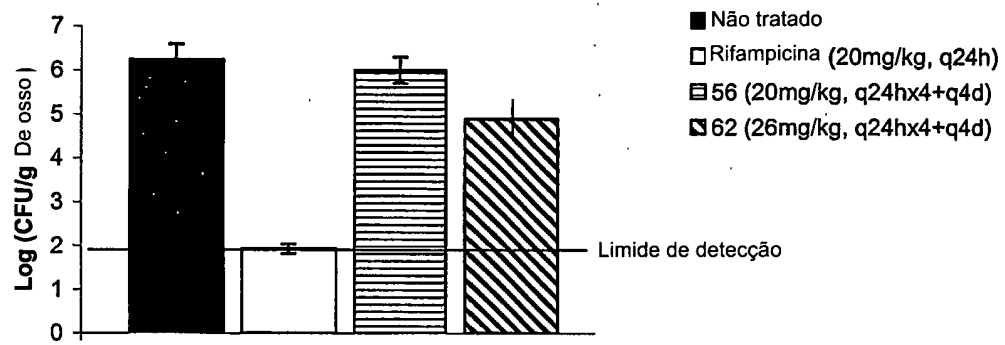
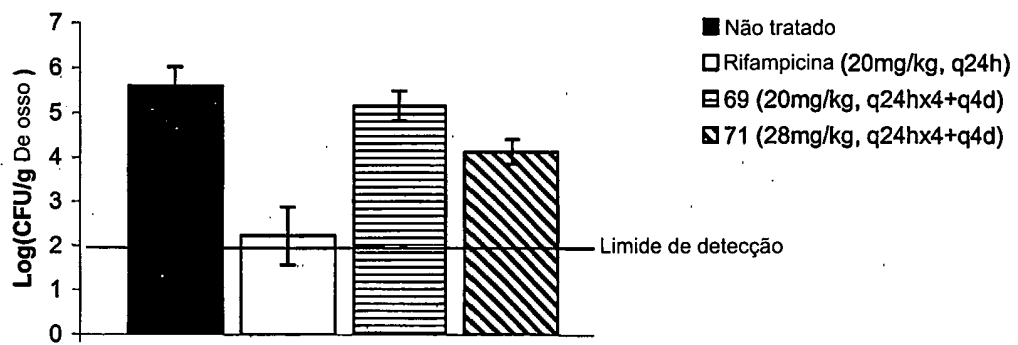
34. Método de acordo com a reivindicação 31, em que o referido indivíduo é um ser humano.

35. Método de acordo com a reivindicação 30, também compreendendo administrar um antibiótico simultâneo com administração da referida composição farmacêutica.

36. Método da reivindicação 35, em que o referido antibiótico é selecionado a partir do grupo que consiste em tetraciclina, um agente antibacteriano derivado de tetraciclina, glicilciclina, um agente antibacteriano derivado de glicilciclina, minociclina, um agente antibacteriano derivado de minociclina, um agente antibacteriano de oxazolidinona, um agente antibacteriano de aminoglicosídeo, um agente antibacteriano de quinolona, vancomicina, um agente antibacteriano derivado de vancomicina, uma teicoplanina, um agente antibacteriano derivado de teicoplanina, eremomicina, um agente antibacteriano derivado de eremomicina, cloroeremomicina, um agente antibacteriano derivado de cloroeremomicina, daptomicina, e um agente antibacteriano derivado de daptomicina.

37. Método para acumular uma Rifamicina em um osso de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 29.

*Fig.1**Fig.2*

*Fig.3**Fig.4*

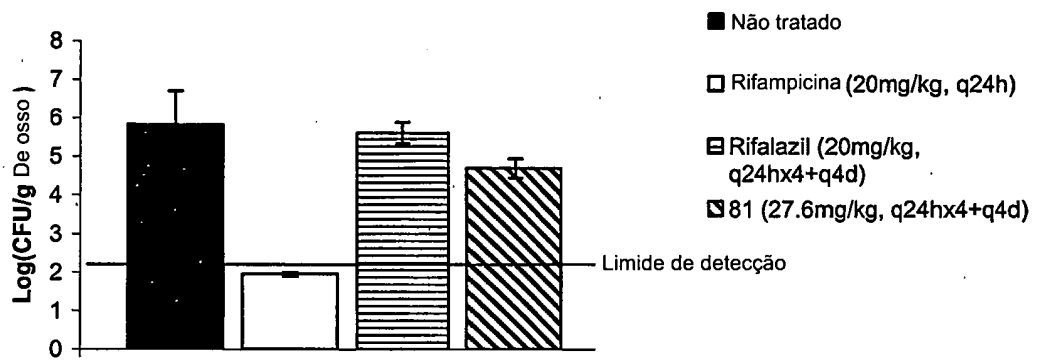


Fig.5

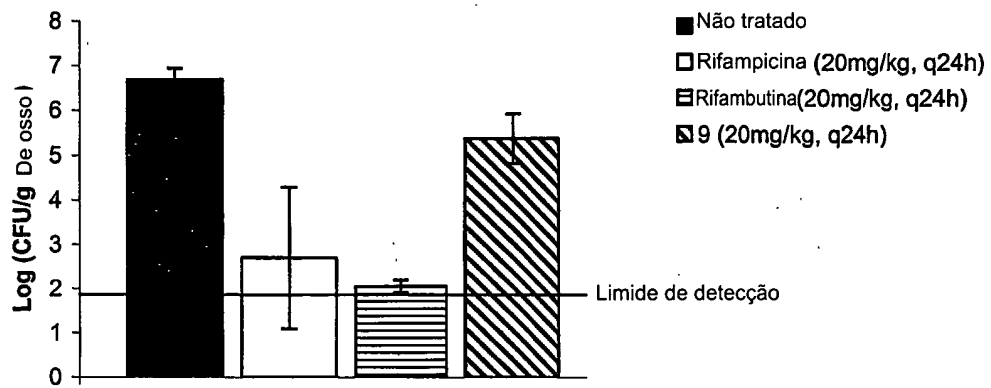
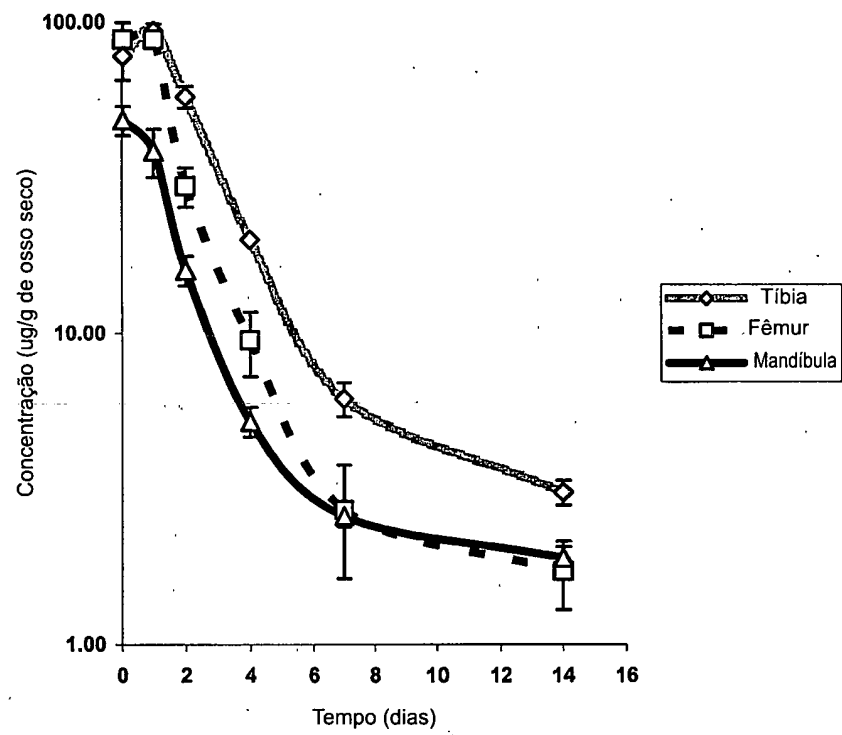
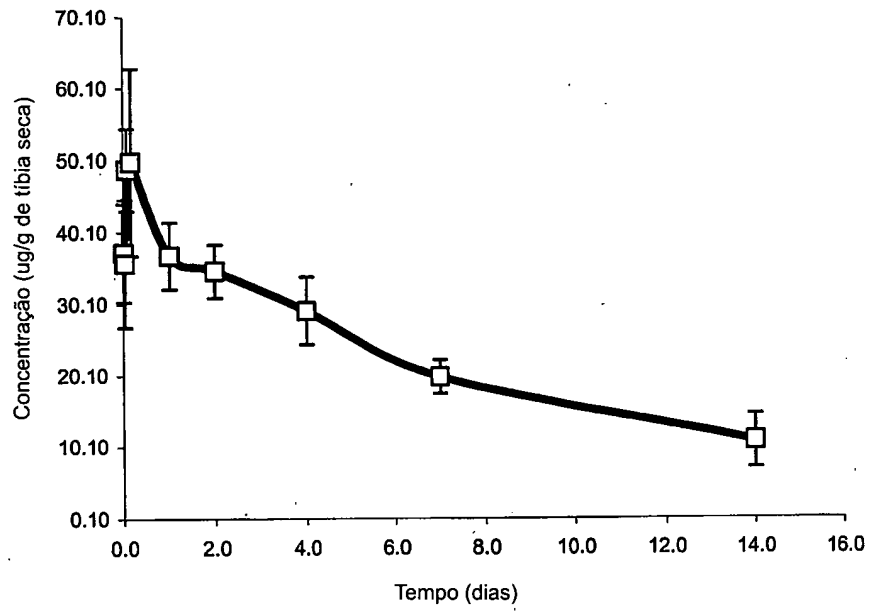
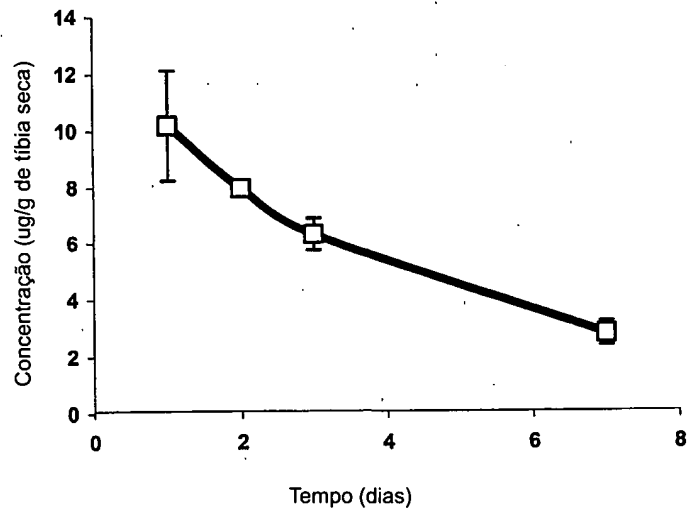


Fig.6

**Fig.7**

**Fig.8****Fig.9**

P.0610458-J

RESUMO

Patente de Invenção: "RIFAMICINAS FOSFONADAS E USOS DESTAS PARA A PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE INFECÇÕES NA ARTICULAÇÃO E OSSO".

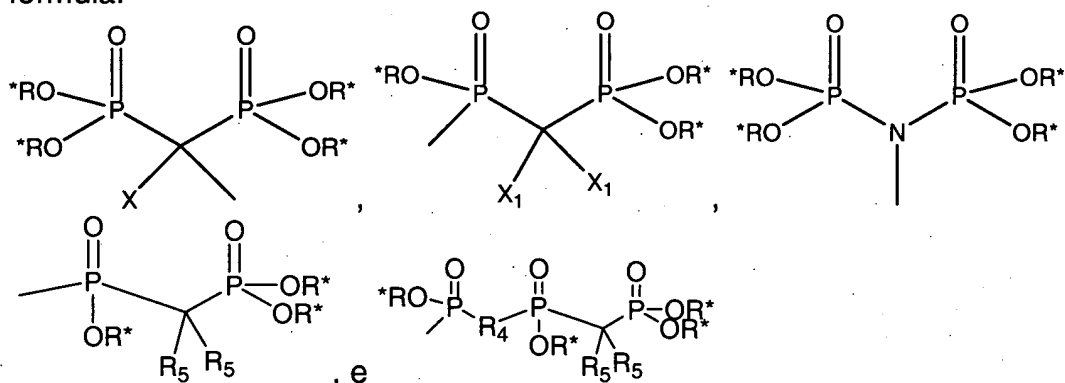
5. A presente invenção refere-se às Rifamicinas fosfonadas e métodos de preparar e empregar tais compostos. Estes compostos são úteis como antibióticos para profilaxia e/ou para o tratamento de infecções na articulação e osso, especialmente para a profilaxia e/ou tratamento de osteomielite.

Novas páginas 43 e 44 do relatório descritivo, incorporando as alterações correspondentes à da página 34 do pedido PCT, conforme relatório de exame preliminar.

(Elizanor Pharm.), US 6.548.042 (Arstad e Skattelbol) e WO 2004/089925 (Semaphore Pharmaceuticals).

Exemplos de grupos bisfosfonato e trisfosfonato adequados para a presente invenção incluem, porém, não são limitados àqueles tendo a fórmula:

5



em que:

10 cada R^* é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois, preferivelmente três, R^* sejam H;

R_4 é CH_2 , O, S, ou NH ;

15 cada R_5 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, R_6 , OR_6 , NR_6 , e SR_6 , em que R_6 é H, alquila inferior, cicloalquila, arila, heteroarila ou NH_2 ;

X é H, OH, NH_2 , e um grupo halo.

Embora monofosfonatos, bisfosfonatos, e tris- ou tetrafosfonatos possam ser empregados potencialmente, bisfosfonatos são preferidos. Mais preferivelmente, o grupo bisfosfonato é o bisfosfonato $-CH(P(O)(OH)_2)_2$.
 20 Como mostrado no Exemplo 3 em seguida, Rifamicinas que possuem um tal grupo bisfosfonato têm uma afinidade de ligação forte para pó de osso. Naturalmente, outros tipos de grupo fosfonado podem ser selecionados e sintetizados por aqueles versados na técnica. Por exemplo, o grupo fosfonado pode ser um radical de bisfosfonato ativado por esterase
 25 (Vepsäläinen J., Current Medicinal Chemistry, 9, 1201-1208, 2002) ou ser qualquer outro pró-farmaco adequado. Estes e outros grupos fosfonados adequados são abrangidos pela presente invenção.

Rifamicinas

Rifamicinas são uma classe bem-conhecida de agentes antimicrobianos semi-sintéticos. Rifampina (da mesma forma geralmente soletrada como Rifampicina) (US 3.342.810), Rifapentina (US 4.002.752),

5 Rifabutinaa (US 4.219.478), e Rifalazil (US 4.983.602) estão entre os melhores compostos conhecidos nesta classe. Estes fármacos provaram ser muito bem sucedidamente tanto economicamente quanto clinicamente. A presente invenção não está restringida a uma Rifamicina específicas, mas abrange moléculas antimicrobianas derivadas de Rifamicina que têm uma

10 atividade antimicrobiana adequada incluindo, mas não-limitadas a, Rifandina (US 4.353.826) e Rifaximina (US 4.341.785), bem como outros derivados de Rifamicina e híbridos, tais como aqueles descritos nos pedidos de patente dos Estados Unidos 2003/0105086, 2005/0043298, 2005/0143374, 2005/0203076, 2005/0203085, 2005/0209210, 2005/0256096,

15 2005/0261262, 2005/0277633, 2006/0019985, e 2006/0019986 ou aqueles descritos nas Publicações do Pedido de Patente Internacional WO03/045319, WO03/051299, WO04/034961 e WO05/062882. Aqueles versados na técnica prepararão facilmente as moléculas antimicrobianas derivadas de Rifamicina de acordo com a invenção. Se necessário, o técnico

20 versado pode referir-se às numerosas literaturas encontradas na técnica, incluindo as patentes US, pedidos de patente PCT e publicações científicas listadas aqui anteriormente, e incorporados aqui por referência.

De acordo com uma modalidade, as Rifamicinas para uso de acordo com a invenção são selecionadas a partir de compostos que incluem-

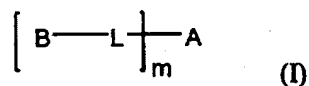
25 se dentro da seguinte fórmula genérica (A1) ilustrada abaixo:

Novo quadro reivindicatório (total de 37 reivindicações), incorporando as emendas às reivindicações, conforme relatório do exame preliminar.

Novo quadro reivindicatório (total de 20 reivindicações), incorporando as emendas às reivindicações, conforme relatório do exame preliminar.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de Fórmula (I) ou um sal farmacêuticamente aceitável deste:



em que:

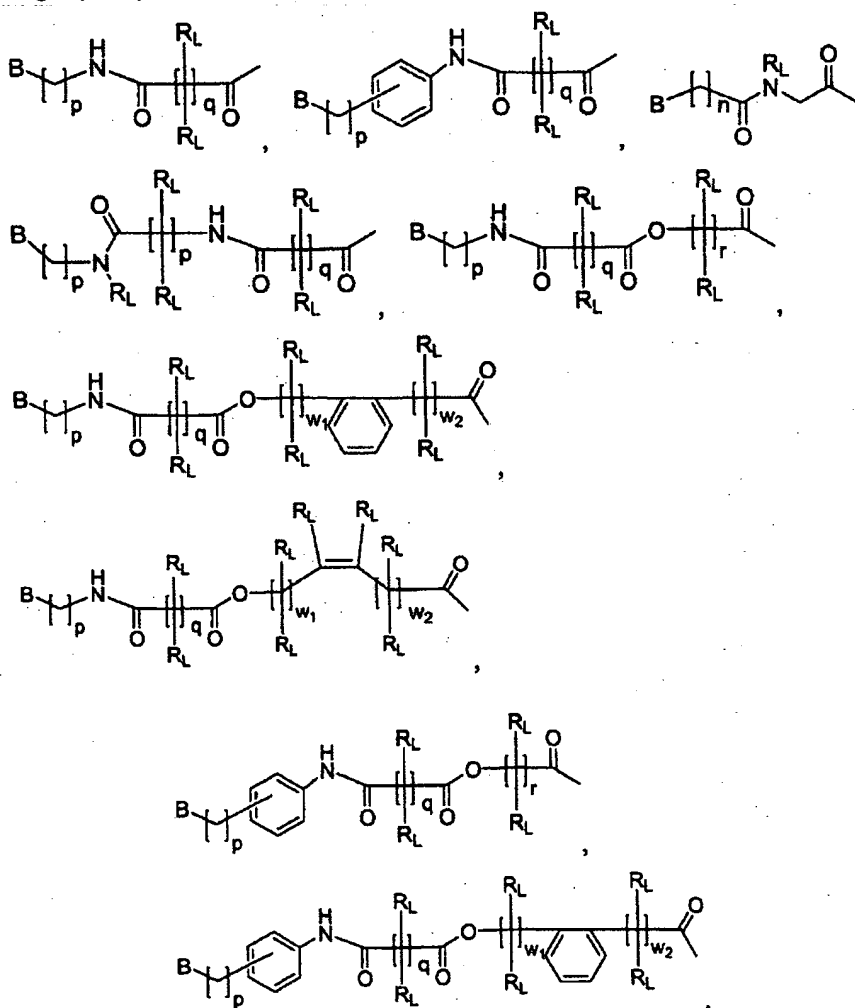
5 **B** é um grupo fosfonado;

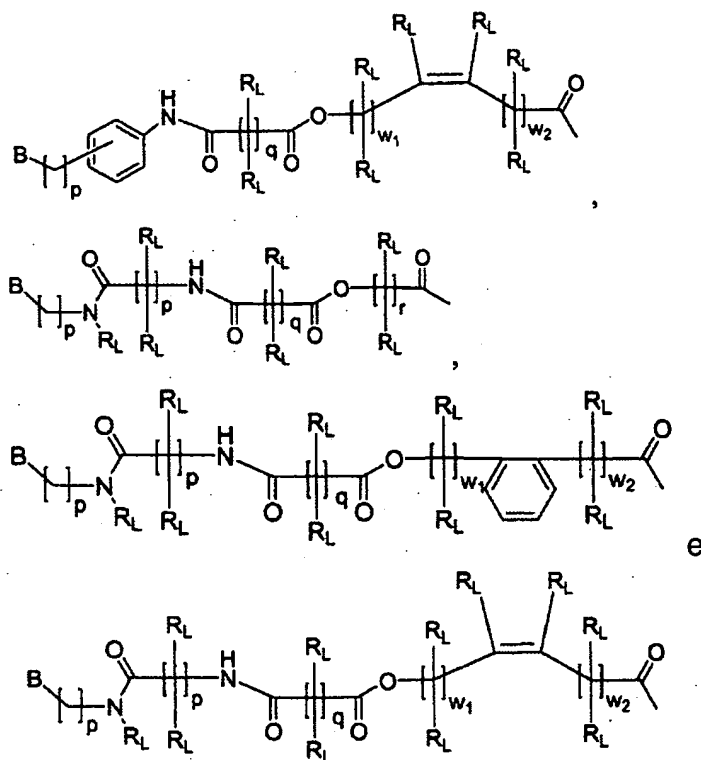
L é um ligante clivável para acoplar **B** a **A**;

n é 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7; e

A é uma Rifamicina.

10 em que pelo menos um do referido **B—L—** é acoplado a uma funcionalidade de hidroxila na referida Rifamicina **A**, e em que cada um dentre **B—L—** acoplado a uma funcionalidade de hidroxila é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:





em que

B representa o referido grupo fosfonado;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

cada **R_L** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

5

q é 2 ou 3;

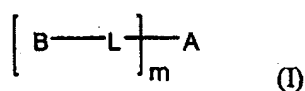
n é um número inteiro ≤ 10 ;

r é 1, 2, 3, 4 ou 5; e

w₁ e **w₂** são cada qual números inteiros ≥ 0 tal que sua soma (**w₁** + **w₂**) é 1,

10 2 ou 3.

2. Composto de Fórmula (I) ou um sal farmaceuticamente aceitável deste:

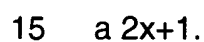


em que:

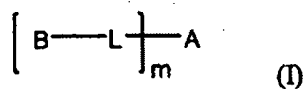
B é um grupo fosfonado;

15 **L** é um ligante clivável para acoplar **B** a **A**;

m é 1, 2, 3, 4, 5, 6 ou 7; e



3. Composto de Fórmula (I) ou um sal farmacêuticamente aceitável deste:



B é um grupo fosfonado;

L é um ligante clivável para acoplar **B** a **A**;

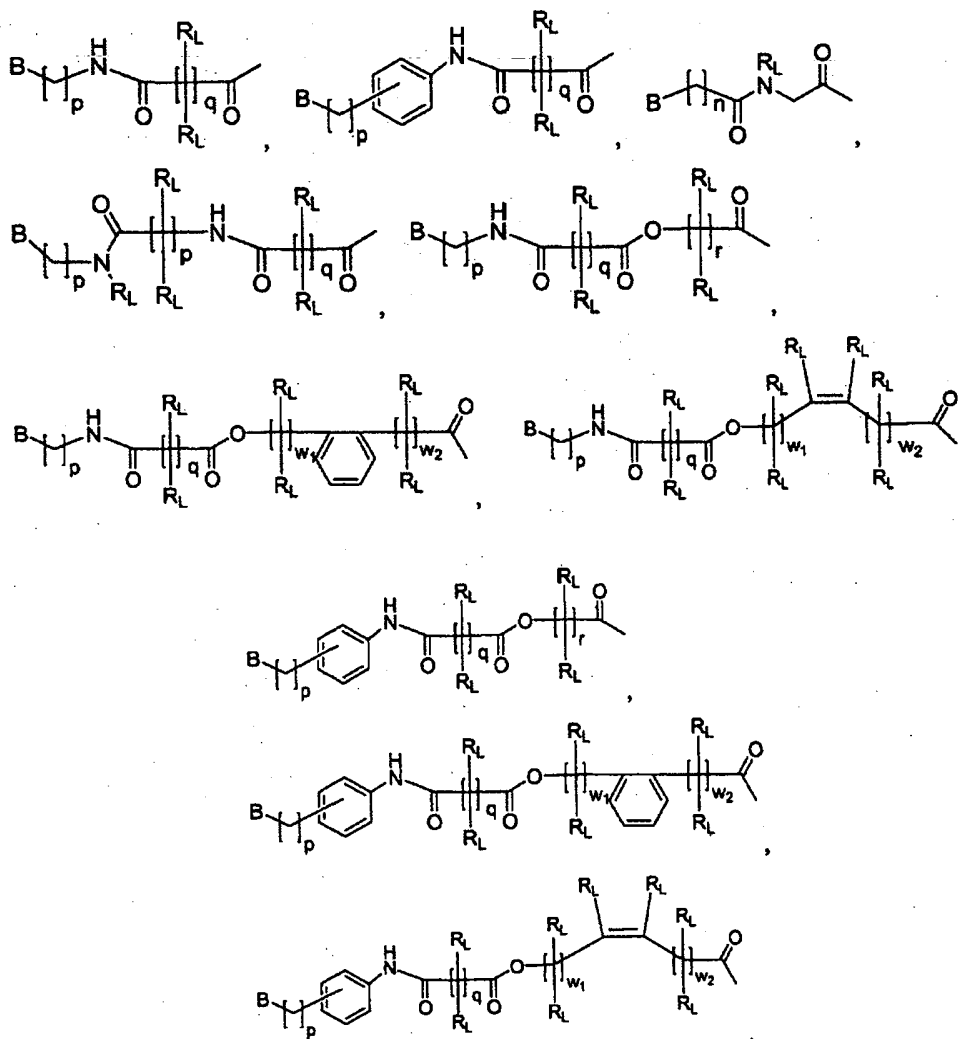
5 **m** é 2, 3, 4, 5, 6 ou 7; e

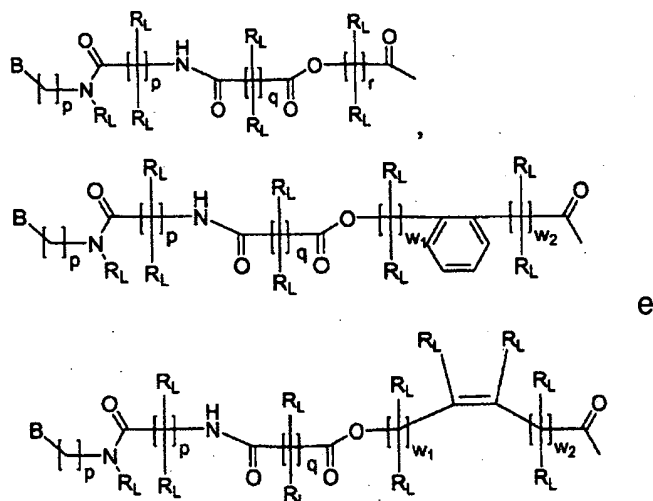
A é uma Rifamicina.

em que pelo menos um do referido **B—L—** é acoplado a uma funcionalidade de hidroxila na referida Rifamicina **A**, e pelo menos um dentre o referido

B—L— é acoplado a um átomo de nitrogênio na referida Rifamicina **A**, em

10 que cada do referido **B—L—** acoplado a uma funcionalidade de hidroxila é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:





em que:

B representa o referido grupo fosfonado;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

cada **R_L** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

q é 2 ou 3;

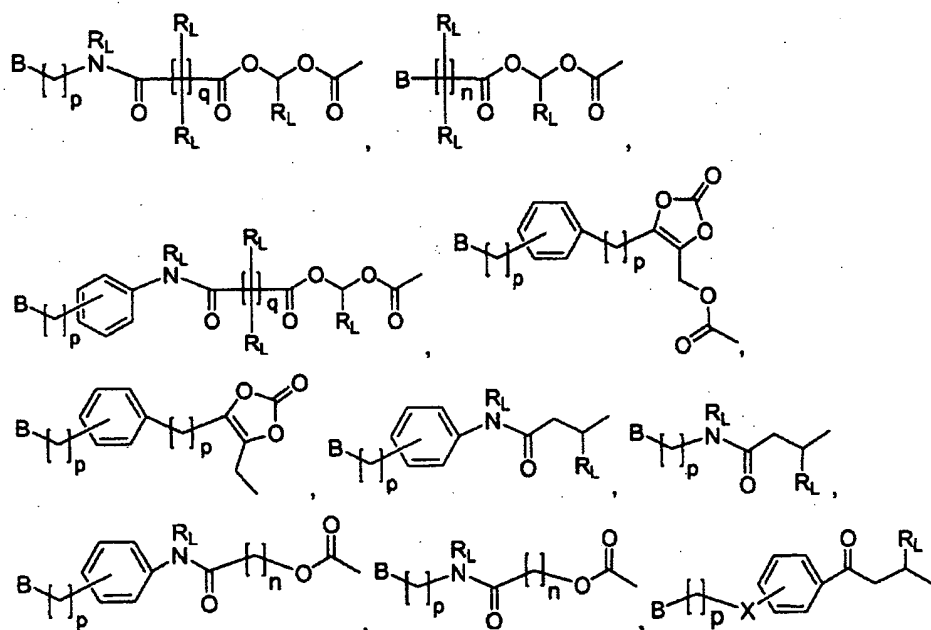
n é um número inteiro ≤ 10 ;

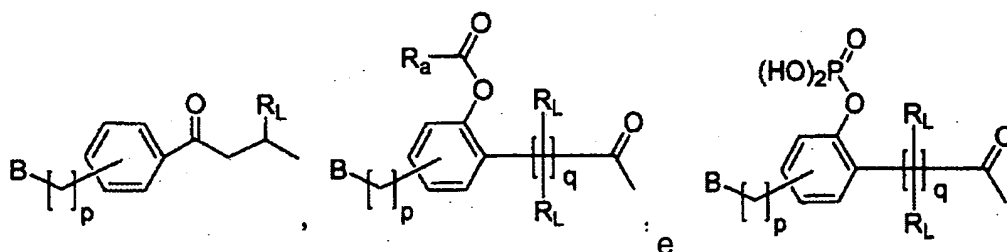
r é 1, 2, 3, 4 ou 5; e

w₁ e **w₂** são cada qual números inteiros ≥ 0 tal que sua soma (**w₁** + **w₂**) é 1,

2 ou 3,

e em que cada dentre o referido **B—L—** acoplado a um átomo de nitrogênio é independentemente selecionado a partir do grupo consistindo em:





em que:

B representa o referido grupo fosfonado;

n é um número inteiro ≤ 10 ;

cada **p** é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

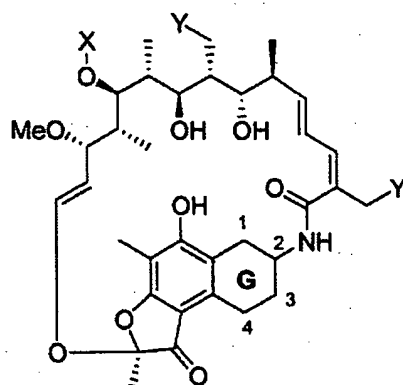
5 cada **R_L** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

q é 2 ou 3;

X é CH₂, —CONR_L—, —CO—O—CH₂— ou —CO—O—; e

10 **R_a** é C_xH_y onde **x** é um número inteiro de 0 a 20 e **y** é um número inteiro de 1 a 2x+1.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela seguinte Fórmula **A1**:

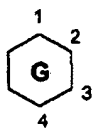


A1

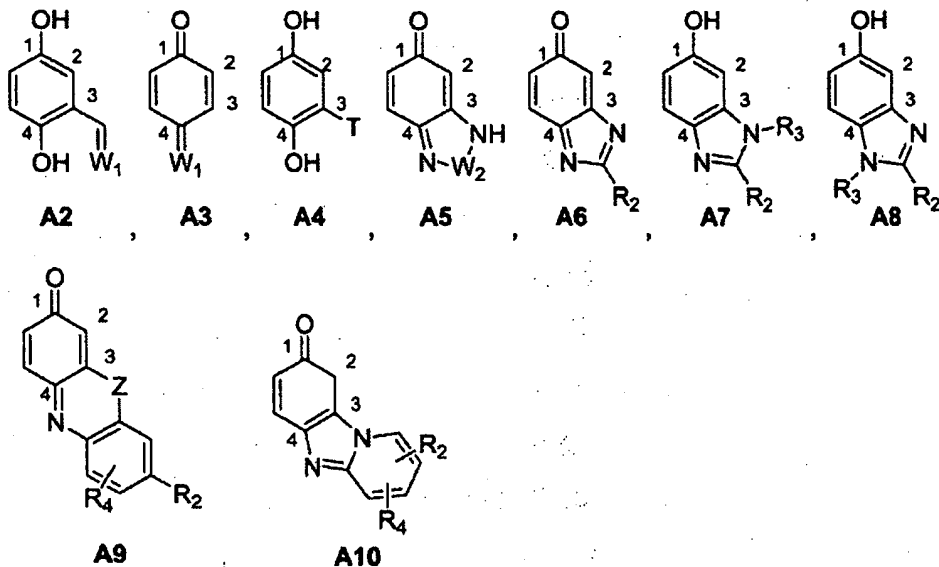
em que:

15 **X** é H- ou R₁CO-, em que **R₁** é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 6 carbonos;

cada **Y** é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H- e RO-, em que **R** é H-, R₁-, ou R₁CO-, com **R₁** definido como acima;



é selecionado a partir do grupo consistindo nas fórmulas **A2-A10**:



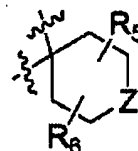
em que

R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-10 carbonos, ou um grupo dialquil amino;

5 R_3 é H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidril ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos;

W_1 é oxigênio ou $-NR_2$ com R_2 definido como acima;



10 W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, incluindo: , em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e Z' é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, $-NR_1$ ou $-N(O)R_1$ onde R_1 é definido como acima;

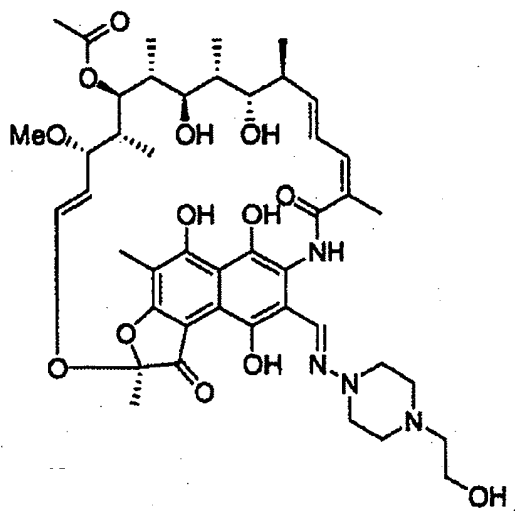
15 T é um halogênio ou R_2 , onde R_2 é definido como acima; e

Z é O, S ou NR_3 , onde R_3 é definido como acima.

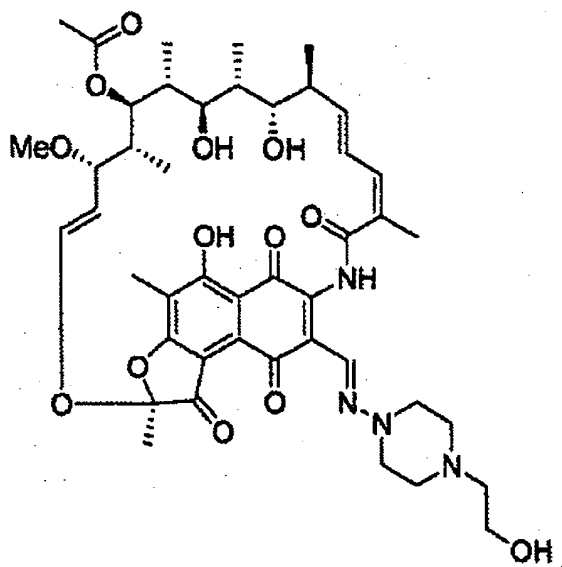
5. Composto de acordo com a reivindicação 4, em que R_2 é um

grupo dialquil amino selecionado a partir do grupo que consiste em uma piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída.

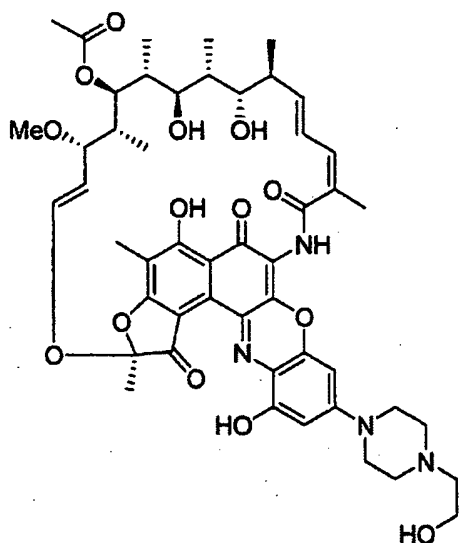
6. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



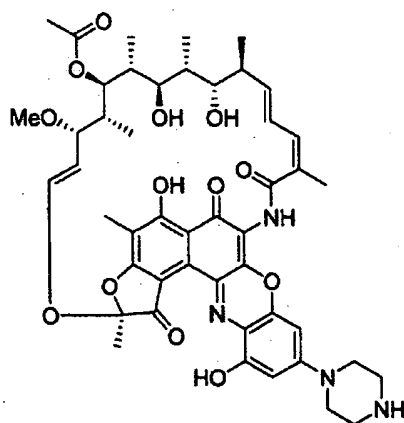
7. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



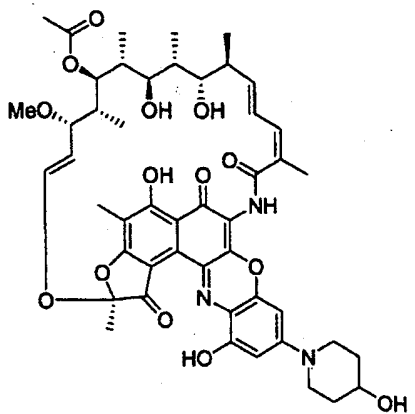
8. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



9. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



5 10. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** tem uma estrutura representada pela fórmula seguinte ou um derivado antimicrobiano desta:



11. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifampicina **A** é Rifampicina ou um derivado antimicrobiano desta.

12. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** é Rifapentina ou um derivado antimicrobiano desta.

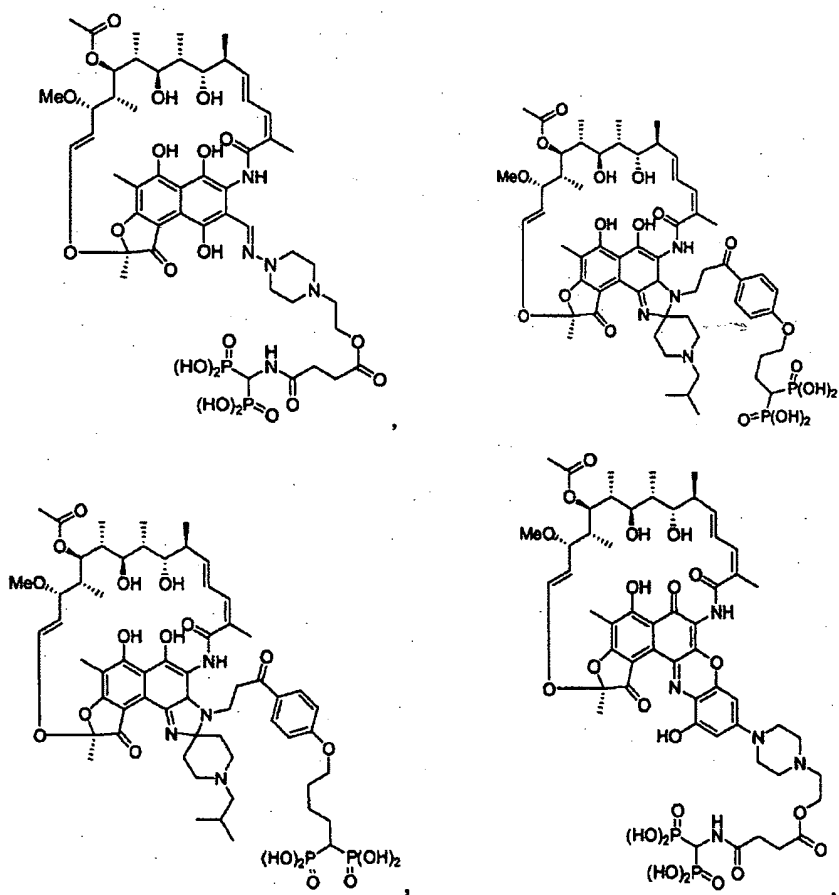
5 13. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** é Rifabutinaa ou um derivado antimicrobiano desta.

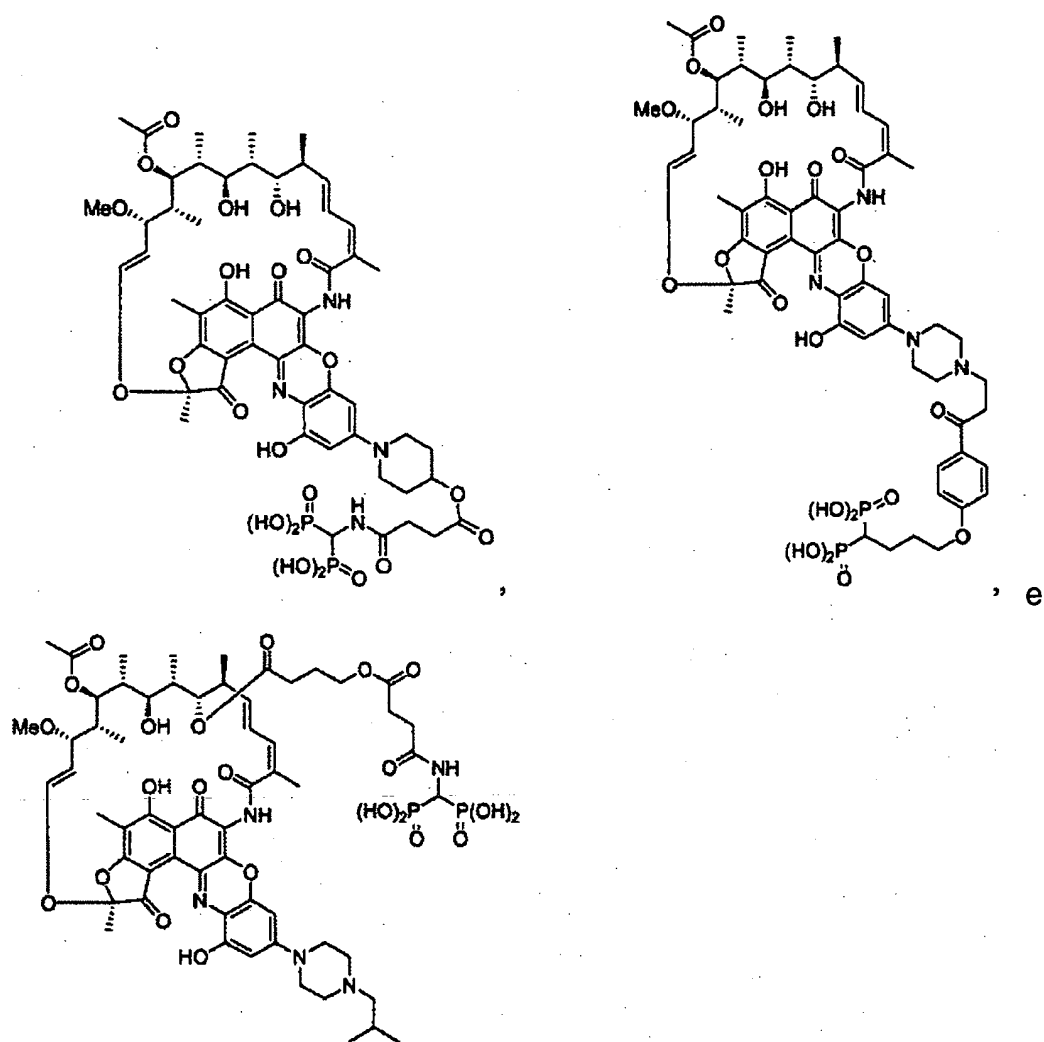
14. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** é Rifalazil ou um derivado antimicrobiano desta.

10 15. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** é Rifaximina ou um derivado antimicrobiano desta.

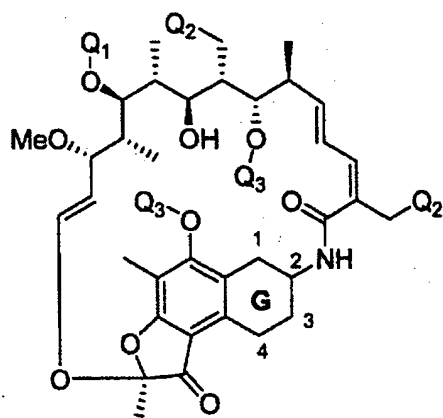
16. Composto de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, em que a referida Rifamicina **A** é Rifandina ou um derivado antimicrobiano desta.

17. Composto representado por uma forma selecionada a partir do grupo que consiste em:





18. Composto representado pela Fórmula (II) ou um sal farmaceuticamente aceitável deste:



(II)

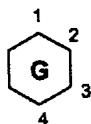
em que:

Q_1 é $H-$, R_1CO- ou L_1- , em que R_1 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-6 carbonos;

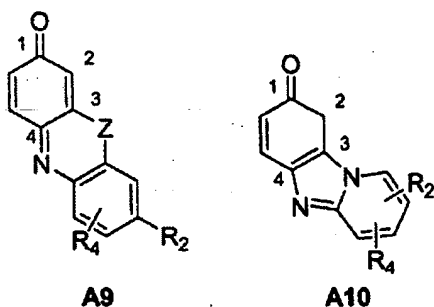
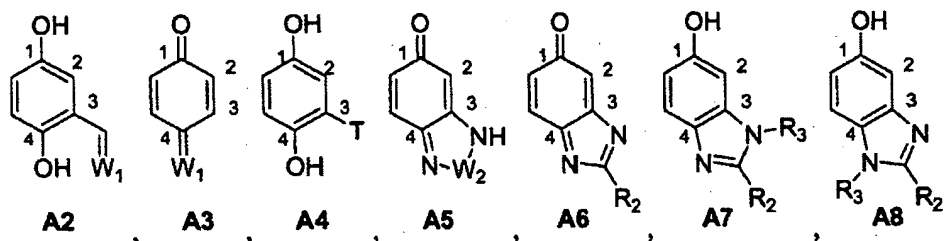
cada Q_2 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H-, RO - e L_2O -, em que R é H-, R_1 - ou R_1CO -, com R_1 definido como acima;

cada Q_3 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H- e L_3 -;

5



é selecionado a partir do grupo consistindo nas fórmulas **A2-A10**:



em que

R_2 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-10 carbonos ou um grupo dialquil amino, em que quando R_2 for uma cadeia de alquila substituída de 1-10 carbonos, o substituinte seja um membro selecionado a partir do grupo que consiste em L_4O -, L_5S - e L_6NR_7 -, em que R_7 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos;

10

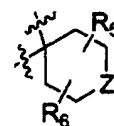
R_3 é H-, uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-7 carbonos ou

15

L_7 ;

R_4 é um grupo hidroxila, um grupo sulfidríla ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-3 carbonos, L_8O - ou L_9S ;

W_1 é oxigênio ou $-NR_2$, com R_2 definido como acima;



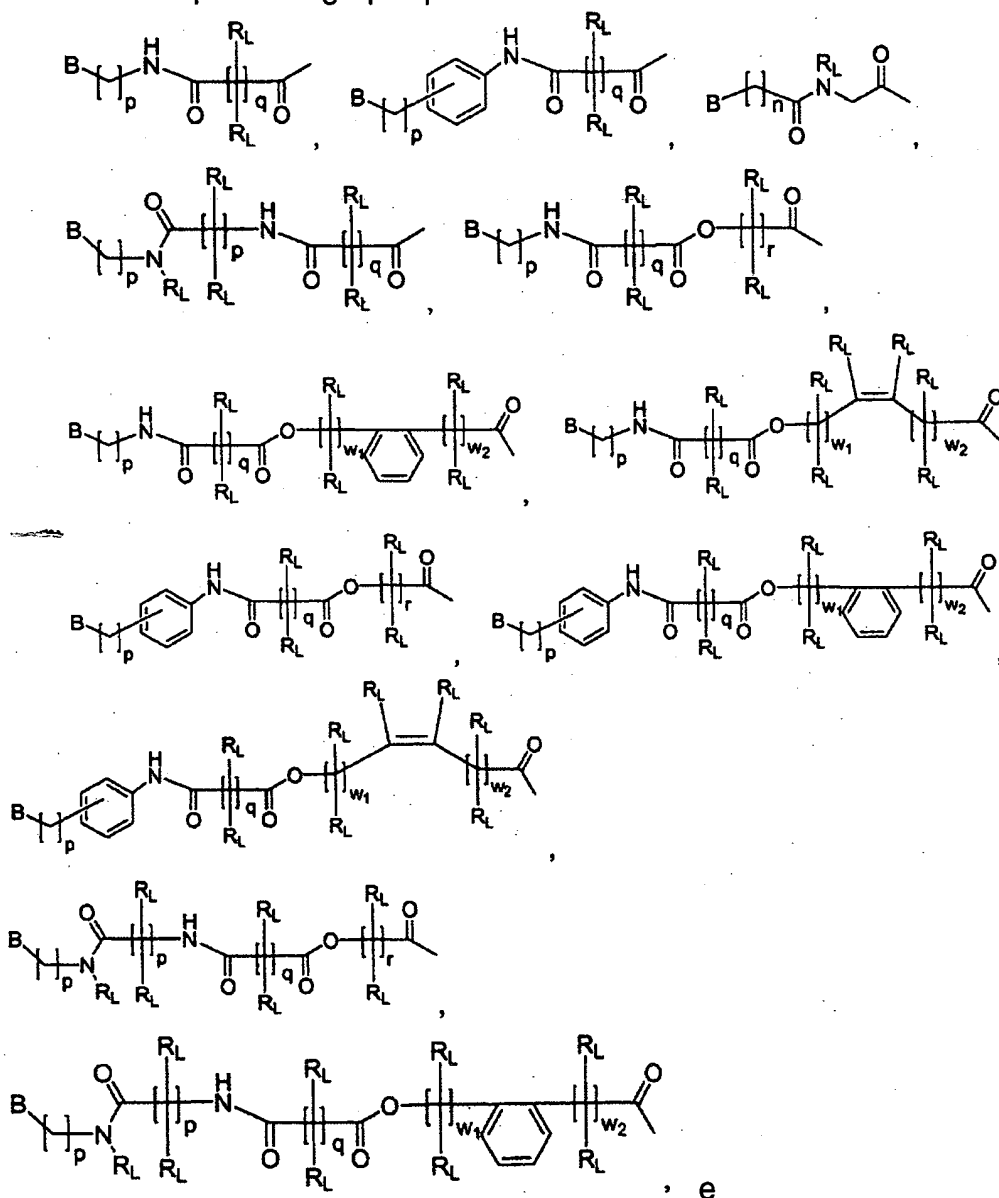
W_2 é um metileno substituído ou não-substituído, compreendendo em que R_5 e R_6 são independentemente H- ou uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1-5 carbonos, e Z' é um átomo de oxigênio, um átomo de enxofre, um metileno substituído, uma carbonila, -

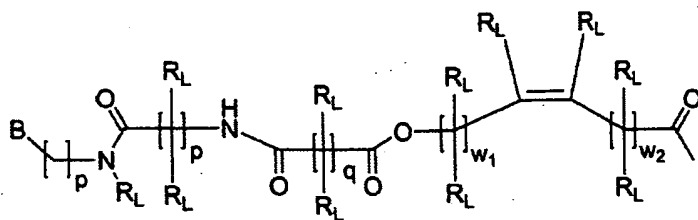
5 NR_1 ou $-N(O)R_1$ onde R_1 é definido como acima;

T é um halogênio ou R_2 , onde R_2 é definido como acima;

Z é O, S ou NR_3 , onde R_3 é definido como acima;

cada L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_8 e L_9 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:





em que:

n é um número inteiro ≤ 10 ;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

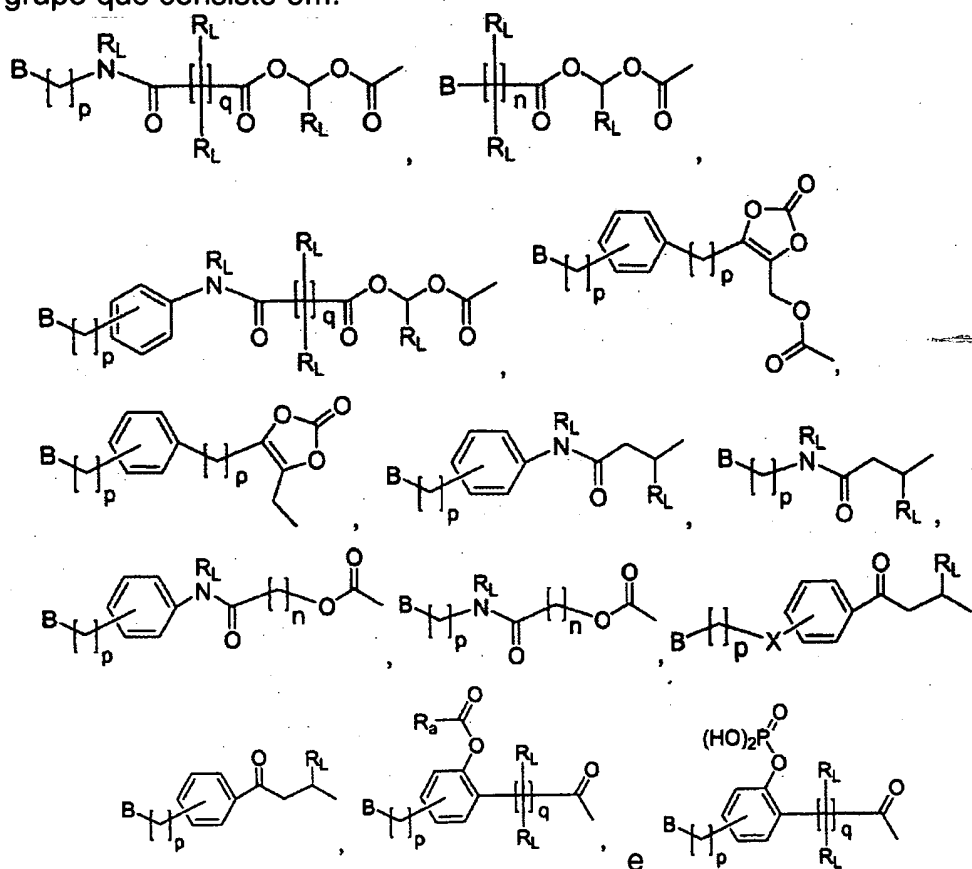
q é 2 ou 3;

5 r é 1, 2, 3, 4 ou 5;

w_1 e w_2 são números inteiros ≥ 0 tal que sua soma ($w_1 + w_2$) é 1, 2 ou 3;

cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

10 cada L_6 e L_7 é um ligante clivável independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

n é um número inteiro ≤ 10 ;

cada p é independentemente 0 ou um número inteiro ≤ 10 ;

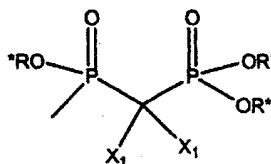
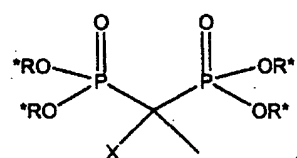
q é 2 ou 3;

cada R_L é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, etila e metila;

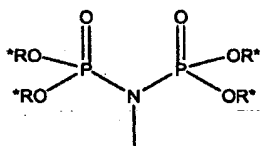
- 5 R_a é C_xH_y onde x é um número inteiro de 0 a 20 e y é um número inteiro de 1 a $2x+1$; e

X é CH_2 , $—CONR_L—$, $—CO—O—CH_2—$, ou $—CO—O—$;

B é um grupo fosfonado selecionado a partir do grupo que consiste em:



e



em que:

- 10 cada R^* é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois R^* sejam H;

X é H, OH, NH_2 , ou um grupo halo;

cada X_1 é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em

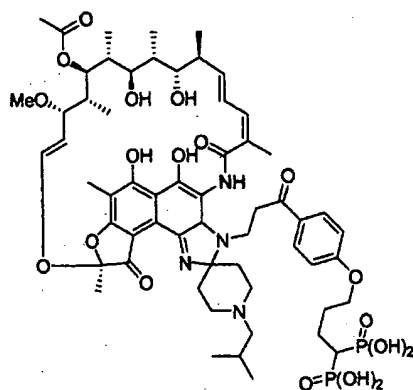
- 15 H, OH, NH_2 , e um grupo halo;

com a condição que pelo menos um dentre L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 , L_6 , L_7 , L_8 e L_9 esteja presente.

19. Composto de acordo com a reivindicação 18, em que R_2 é um grupo dialquil amino selecionado a partir do grupo que consiste em uma

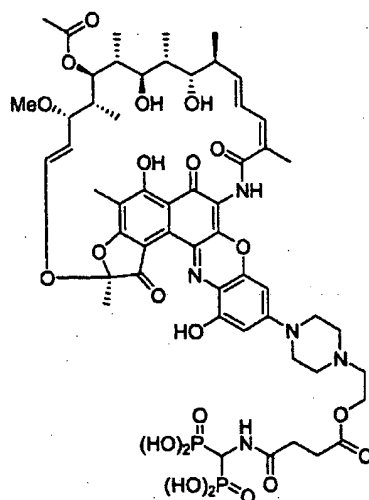
- 20 piperidina substituída, uma morfolina substituída ou uma piperazina substituída, e em que o substituinte é um membro selecionado a partir do grupo que consiste em L_4O- , L_5S- e L_6NR_7- , em que R_7 é uma cadeia de alquila substituída ou não-substituída de 1 - 7 carbonos.

20. Composto representado pela fórmula:



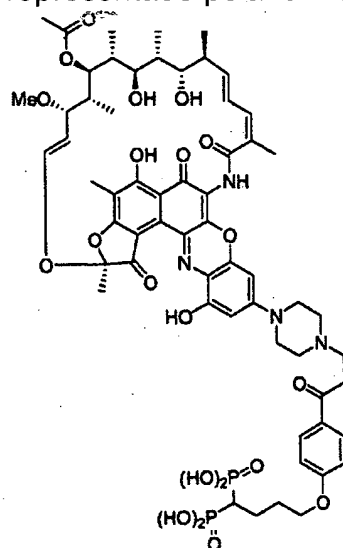
ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

21. Composto representado pela fórmula:



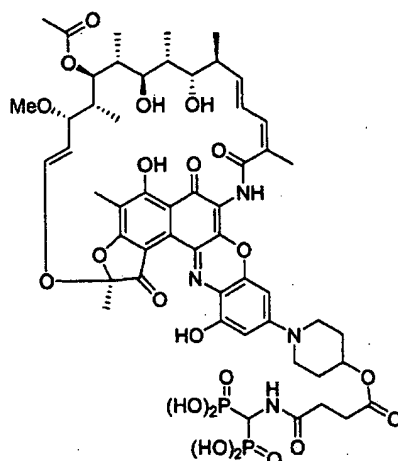
ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

22. Composto representado pela fórmula:



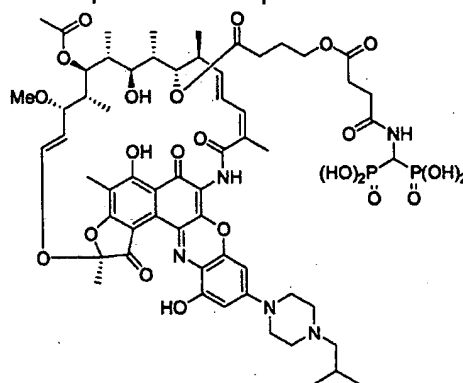
5 ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

23. Composto representado pela fórmula:



ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

24. Composto representado pela fórmula:



ou um sal farmacêuticamente aceitável deste.

25. Composição farmacêutica que compreende um composto
5 como definido em qualquer uma dentre as reivindicações 1, 2, 3 e 17 a 24, e um excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

26. Método para tratar uma infecção bacteriana em um osso ou
uma articulação de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo
em necessidade de tal tratamento uma quantidade farmacêuticamente eficaz
10 de uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 25.

27. Método de profilaxia para uma infecção bacteriana em um
indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade de tal
profilaxia uma quantidade profilacticamente eficaz de uma composição
farmacêutica como definido na reivindicação 25.

15 28. Método da reivindicação 27, em que a referida composição farmacêutica é administrada ao referido indivíduo antes, durante, ou depois de um tratamento médico invasivo.

29. Método da reivindicação 26, em que o referido indivíduo é um ser humano.

30. Método da reivindicação 27, em que o referido indivíduo é um ser humano.

5 31. Método da reivindicação 26, também compreendendo administrar um antibiótico simultâneo com administração da referida composição farmacêutica.

32. Método da reivindicação 31, em que o referido antibiótico é selecionado a partir do grupo que consiste em tetraciclina, um agente antibacteriano derivado de tetraciclina, glicilciclina, um agente antibacteriano derivado de glicilciclina, minociclina, um agente antibacteriano derivado de minociclina, um agente antibacteriano de oxazolidinona, um agente antibacteriano de aminoglicosídeo, um agente antibacteriano de quinolona, vancomicina, um agente antibacteriano derivado de vancomicina, uma teicoplanina, um agente antibacteriano derivado de teicoplanina, eremomicina, um agente antibacteriano derivado de eremomicina, cloroeremomicina, um agente antibacteriano derivado de cloroeremomicina, daptomicina, e um agente antibacteriano derivado de daptomicina.

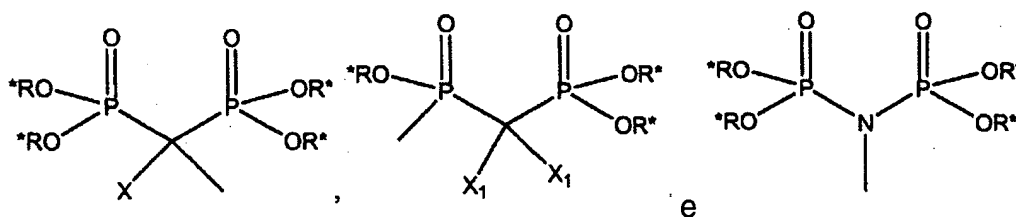
20 33. Método para acumular uma Rifamicina em um osso de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo uma composição farmacêutica como definido na reivindicação 29.

34. Composto da reivindicação 1 ou 2, em que **m** é 1, 2 ou 3.

35. Composto da reivindicação 3, em que **m** é 2 ou 3.

25 36. Composto da reivindicação 1, 2 ou 3, em que **B** é um bisfosfonato.

37. Composto da reivindicação 36, em que o referido bisfosfonato é selecionado a partir do grupo que consiste em:



em que:

cada R^* é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, alquila inferior, cicloalquila, arila e heteroarila, com a condição que pelo menos dois R^* sejam H;

X é H, OH, NH_2 , ou um grupo halo; e

- 5 X_1 são igualmente H, ou cada qual é independentemente selecionado a partir do grupo que consiste em H, OH, NH_2 , e um grupo halo.