

(11) Número de Publicação: **PT 1664093 E**

(51) Classificação Internacional:
C07K 11/02 (2007.10) **C07K 7/64** (2007.10)
A61K 38/15 (2007.10)

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

(22) Data de pedido: 2004.09.09	(73) Titular(es): PHARMA MAR, S.A.U. POLIGONO INDUSTRIAL LA MINA AVDA. DE LOS REYES, 1 COLMENAR VIEJO 28770 MADRID ES
(30) Prioridade(s): 2003.09.09 GB 0321066	
(43) Data de publicação do pedido: 2006.06.07	
(45) Data e BPI da concessão: 2008.04.30 154/2008	(72) Inventor(es): FERNANDO ALBERICIO PALOMERA ES ARIADNA FERNANDEZ DONIS ES ERNEST GIRALT LLEDO ES CAROLINA GRACIA CANTADOR ES PILAR LOPEZ RODRIGUEZ ES
	(74) Mandatário: ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **COMPOSTOS ANTITUMORAIS À BASE DE KAHALALIDE F**

(57) Resumo:

RESUMO

"COMPOSTOS ANTITUMORAIS À BASE DE KAHALALIDE F"

São proporcionados novos análogos de kahalalide F.

DESCRIÇÃO

"COMPOSTOS ANTITUMORAIS À BASE DE KAHALALIDE F"

ÁREA DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a novos compostos de kahalalide antitumorais, em particular a análogos de kahalalide F, a composições farmacêuticas que os contêm e à sua utilização como agentes antitumorais, antivirais, antifúngicos e no tratamento da psoríase.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Os compostos de kahalalide são péptidos isolados de uma espécie marinha de molusco herbívora do Haway, *Elysia rufescens* e da sua dieta, a alga verde *Bryopsis* sp.. O kahalalide F está descrito em Hamann, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 5825-5826.

Os kahalalides A-G estão descritos em Hamann, M. *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 6594-6600: "Kahalalides: bioactive peptides from a marine mollusk *Elysia rufescens* e its algal diet *Bryopsis* sp.".

O kahalalide H e J estão descritos em Scheuer P.

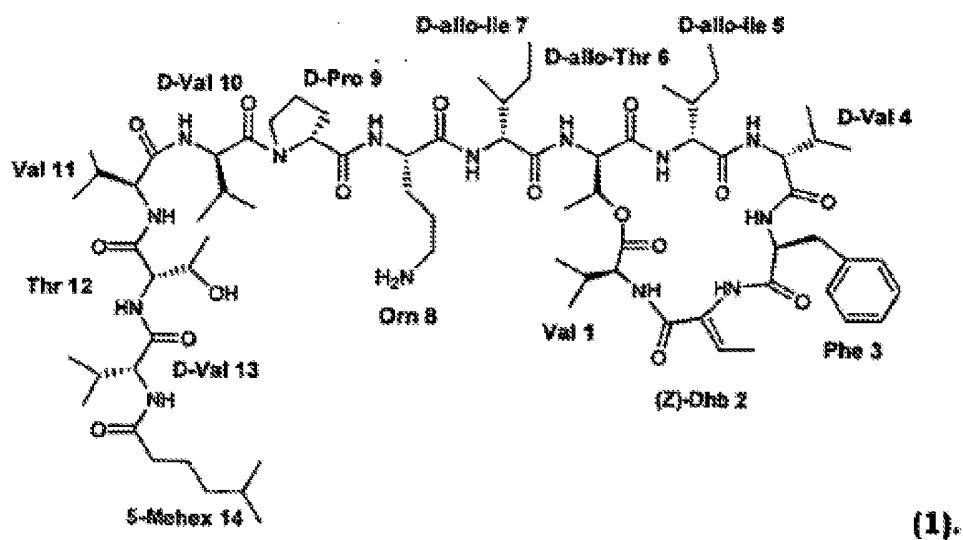
J. et al., *J. Nat. Prod.* 1997, 60, 562-567: "Two acyclic kahalalides from the sacoglossan mollusk *Elysia rufescens*".

O kahalalide O está descrito em Scheuer P. J. et al., *J. Nat. Prod.* 2000, 63(1) 152-4: "A new depsipeptide from the sacoglossan mollusk *Elysia omata* and the green alga *Bryopsis* species".

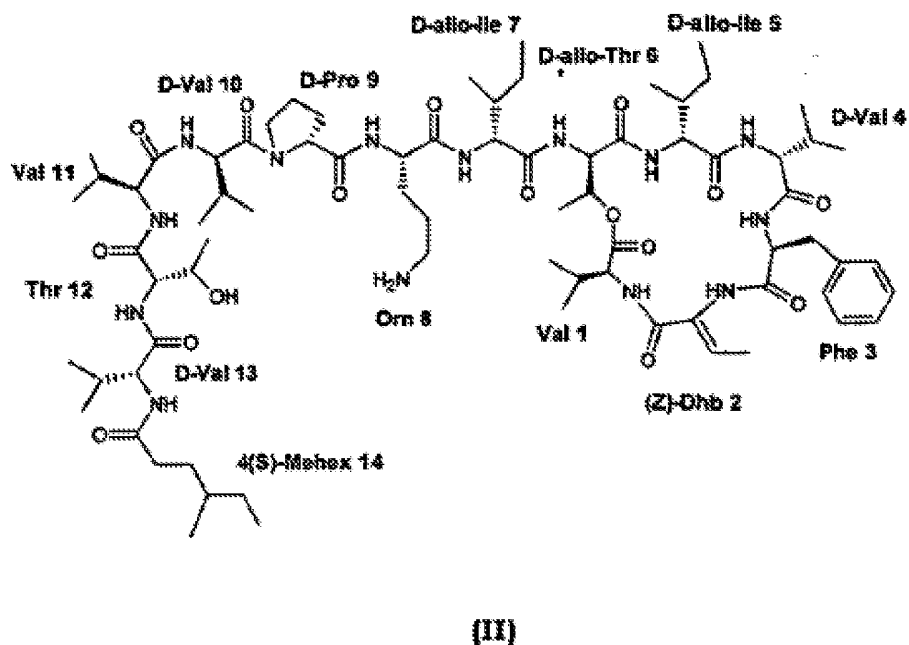
Para o kahalalide K, ver Kan, Y. et al., *J. Nat. Prod.* 1999 62(8) 1169-72: "Kahalalide K: A new cyclic depsipeptide from the hawaiian green alga *Bryopsis* species".

Para descrições relacionadas, ver também Goetz et al., *Tetrahedron*, 1999, 55; 7739-7746: "The absolute stereochemistry of Kahalalide F"; Albericio, F. et al. *Tetrahedron Letters*, 2000, 41, 9765-9769: "Kahalalide B. Synthesis of a natural cyclodepsipeptide"; Becerro et al. *J. Chem. Ecol.* 2001, 27(111), 2287-99: "Chemical defenses of the sarcoglossan mollusk *Elysia rufescens* e its host Alga *bryopsis* sp.".

Dos compostos de kahalalide, o kahalalide F é o mais prometedor devido à sua actividade antitumoral. A sua estrutura é complexa, compreendendo seis aminoácidos como uma parte cíclica, e uma cadeia exocíclica de sete aminoácidos com um grupo ácido gordo terminal. Originalmente o kahalalide F foi descrito como tendo a estrutura(I).



No WO 04035613 está descrito que o composto de 4(S)-metil-hexilo com a seguinte fórmula(II).



A actividade do kahalalide F contra culturas *in vitro* de células de carcinoma de pulmão humano A-549 e de carcinoma de cólon humano HT-29 está descrita na EP 610

078. O kahalalide F também demonstrou ter actividade antiviral e propriedades antifúngicas, para além de ser útil no tratamento da psoríase.

O WO 02 36145 descreve composições farmacêuticas contendo kahalalide F e novas utilizações deste composto na terapêutica do cancro.

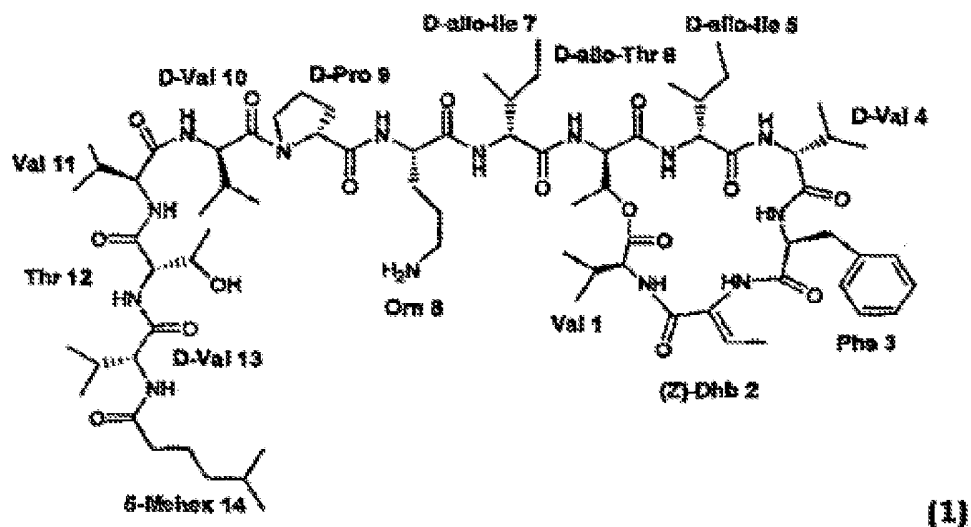
O WO 03 33012 descreve a utilização clínica em oncologia de compostos de kahalalide.

A síntese e actividades citotóxicas de compostos de kahalalide naturais e sintéticos está descrito no WO 01 58934. O WO 01 58934 descreve a síntese de kahalalide F e também de compostos com uma estrutura semelhante em que a cadeia de ácido gordo terminal está substituída por outros ácidos gordos.

Há ainda necessidade de proporcionar mais compostos antitumorais, em particular mais compostos de kahalalide com propriedades melhoradas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Foram encontrados compostos análogos de kahalalide com actividade biológica melhorada. A presente invenção é dirigida a um composto com base na estrutura do kahalalide F e que está de acordo com a fórmula 1,



excepto quanto à identidade do aminoácido L-Orn na posição 8 que pode estar substituído por outro aminoácido natural ou não natural, e/ou estar mascarado com um ou mais grupos orgânicos substituintes;

e composto esse que pode, opcionalmente, diferir também da fórmula 1 pela modificação do grupo acilo terminal.

Também é aqui descrita uma composição farmacêutica compreendendo um composto tal como definido anteriormente e um transportador, veículo ou diluente farmacêuticamente aceitável.

Os compostos da presente invenção podem ser utilizados num método de tratamento de qualquer mamífero, nomeadamente um ser humano, afectado por cancro, infecção viral, infecção fúngica ou psoríase que compreende a administração ao indivíduo afectado de uma quantidade

terapeuticamente eficaz de um composto tal como definido acima.

Os compostos da presente invenção podem ser utilizados particularmente para o tratamento de doentes com cancros refractários que não respondem favoravelmente a outros tratamentos. Em particular, as composições desta invenção podem ser utilizadas depois de ter sido tentada outra quimioterapia e que não funcionou.

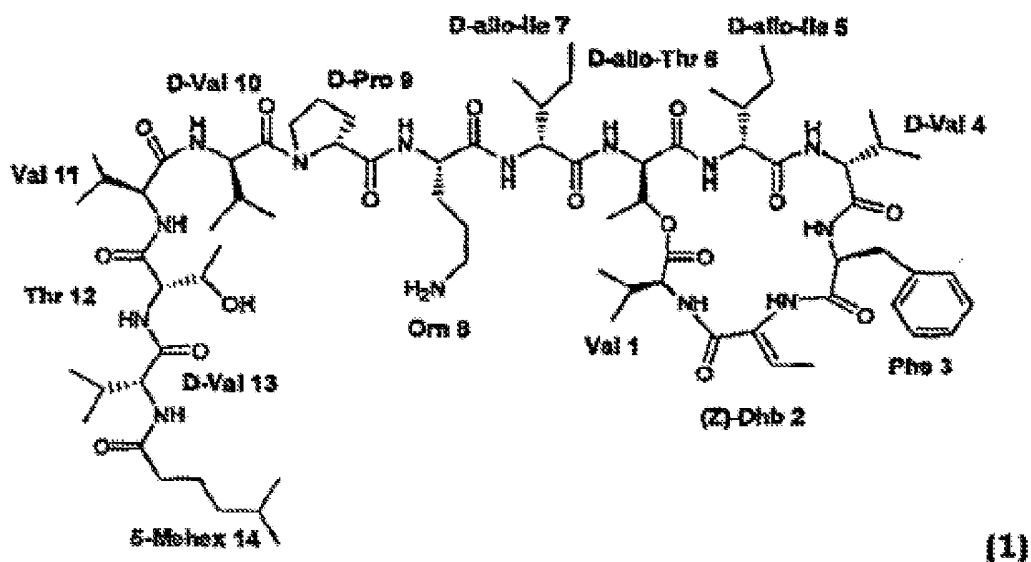
É aqui descrito o tratamento de doentes afectados com cancro da próstata, cancro da mama, carcinoma hepato-celular, melanoma, cancro colorrectal, cancro do rim, cancro do ovário, cancro NSCL, cancro epitelial, cancro do pâncreas e tumores que sobre-exprimem o oncogene Her2/neu.

Também é aqui descrita a utilização de um composto tal como definido acima no fabrico de um medicamento. Numa forma de realização preferida o medicamento é para o tratamento de cancro, psoríase, infecção viral ou infecção fúngica.

Também são aqui descritos kits compreendendo recipientes separados contendo uma composição farmacêutica compreendendo um composto tal como definido acima e um agente de reconstituição. Também são descritos métodos de reconstituição.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

Foram identificados análogos de kahalalide F que apresentam um melhoramento significativo da actividade em relação ao kahalalide F. A presente invenção é dirigida a compostos com base na estrutura de kahalalide F e que é de acordo com a fórmula 1,



excepto quanto à identidade do aminoácido L-Orn na posição 8 que está substituído por outro aminoácido natural ou não natural, e/ou está mascarado com um ou mais grupos orgânicos substituintes;

e composto esse que pode, opcionalmente, diferir também da fórmula 1 pela modificação do grupo acilo terminal.

Aminoácidos exocíclicos

O L-Orn pode ser substituída por D-Orn, ou por

outro aminoácido natural ou não natural. Por exemplo, o L-Orn pode ser substituído por um aminoácido natural, como a lisina; ou por um aminoácido natural protegido, tal como arginina ou lisina com um ou mais substituintes alquilo, fenilo ou oligometileno, por exemplo $N(Me)_2$, $N'(Me)_2$ -Arg, $N(Me, Ph)$, $N'(Me)_2$ -Arg, $N(CH_2)_4$, $N'(Me)_2$ -Arg, $N(CH_2)_4$, $N(CH_2)_4$ -Arg, $N^{\epsilon}(Me)^3$ -Lys.

O L-Orn pode estar protegido. Por exemplo, o grupo amino do L-Orn pode ter substituintes, nomeadamente substituintes alquilo que podem estar adicionalmente substituídos, nomeadamente com grupos heterocíclicos, por exemplo $N^{\delta}(CHN(CH_2)_4, N'(CH_2)_4)$ -Orn; ou substituintes mais complexos como em biotinilornitina ou Orn($N^{\delta}Tfa$).

Aminoácidos Cíclicos

Também são aqui descritos compostos de fórmula 1 em que um ou mais aminoácidos da cadeia cíclica foram substituídos por outros aminoácidos naturais ou não naturais, foram protegidos com grupos orgânicos ou foram removidos.

Estes compostos incluem os com 1, 2 ou 3 aminoácidos de substituição na cadeia cíclica.

São aqui descritos compostos de fórmula 1 em que um ou mais aminoácidos foram substituídos por outros aminoácidos naturais ou não naturais, e/ou foram protegidos

com grupos orgânicos, por exemplo o aminoácido L-Phe na posição 3.

São aqui descritos compostos de fórmula 1 em que o L-Phe na posição 3 foi substituído ou protegido.

O L-Phe pode ser substituído por D-Phe, ou por outro aminoácido natural ou não natural. Por exemplo, o L-Phe pode ser substituído por um aminoácido natural, tal como tirosina; um aminoácido substituído com alquilo, tal como N-metiltirosina; um aminoácido substituído com arilo, tal como 2-ácido amino-3-bifenil-4-il-propiónico, ácido 2-amino-3-naftalen-2-il-propiónico ou ácido aminofenil-acético; um aminoácido substituído com heterociclilo, tal como ácido 2-amino-3-tiofen-2-ilpropiónico; ou um aminoácido cíclico em que o grupo amino é parte de um heterociclo, tal como ácido 1,2,3,4-tetraisoquinolino-3-carboxílico ou ácido octa-hidroisoindole-1-carboxílico.

São aqui descritos compostos em que o L-Phe pode estar mascarado. Por exemplo, o anel fenilo pode estar parcialmente ou completamente saturado, e pode estar substituído com um ou mais substituintes. Os substituintes do anel fenilo podem ser como indicado, mas de preferência são halogéneo ou nitro. O grupo amino pode ter 1 ou 2 substituintes, nomeadamente alquilo tal como metilo, especialmente 1 substituintes metilo.

Grupo Acilo Terminal

Para além da modificação dos aminoácidos da cadeia exocíclica e/ou da parte cíclica, também pode haver compostos que têm uma modificação no grupo acilo terminal.

Por exemplo, o grupo acilo pode compreender um ou mais substituintes, especialmente grupos aromáticos, heterocíclicos ou carbocíclicos que por sua vez podem ter um ou mais substituintes, por exemplo pode ser um grupo benzoílo que pode ter um ou mais substituintes, um fenilalcanoílo que pode ter um ou mais substituintes ou a cinamoílo que pode ter um ou mais substituintes. Adicionalmente, o grupo acilo terminal pode ser outro ácido gordo tipicamente um ácido gordo saturado ou insaturado com 3 a 26 átomos de carbono, mais especialmente 12 a 20 átomos de carbono.

Grupos típicos para adopção em vez do grupo acilo terminal na fórmula 1 incluem:

- Cadeia alcanoílo linear com até 26 átomos de carbono e com um ou mais substituintes, especialmente substituintes escolhidos de cicloalquilo opcionalmente substituído tal como 4-metilciclo-hexilo; alquilo, especialmente alquilo de cadeia curta tal como metilo; arilo opcionalmente substituído especialmente fenilo tal como difluorofenilo; halogéneo tal como flúor até perflúor; oxo; amino; ou imino.

- Benzoílo opcionalmente substituído tal como o próprio benzoílo, ácido p-metilbenzoílo, ácido p-trifluorometilbenzoílo, piperoniloílo.

- Grupo arilalcenoílo de preferência com dois átomos de carbono no alcenoílo especialmente um grupo cinamoílo tal como p-trifluorometilcinamoílo.

Além disso, o grupo acilo pode estar substituído por outro grupo acilo, de preferência de fórmula $R'CO-$. R' é como definido e com vantagem é alquilo, alcenilo, arilo, heterociclilo ou carbociclilo, e pode estar ele próprio substituído.

Os compostos em que o L-Orn na posição 8 foi substituído ou mascarado podem adoptar outras modificações preferidas, incluindo um grupo 4(S)-metil-hexilo ou outro no grupo acilo terminal.

Os compostos em que o L-Phe na posição 3 foi substituído ou mascarado tal como aqui descrito podem adoptar outras modificações preferidas, incluindo um grupo 4(S)-metil-hexilo ou outro no grupo terminal da cadeia lateral.

Exemplos de grupos substituintes incluem C_1-C_{18} alquilo, C_2-C_{18} alcenilo, C_2-C_{18} alcinilo, arilo, grupos heterocíclicos, OR' , SR' , SOR' , SO_2R' , NO_2 , NHR' , $N(R')_2$,

NHCOR', N(COR')₂, NHSO₂R', CN, halogéneo, C(=O)R', COR', OC(=O)R' em que cada um dos grupos R' é seleccionado independentemente do grupo que consiste em H, OH, NO₂, NH₂, SH, CN, halogéneo, C(=O)H, C(=O)alquilo, CO₂H₂, C₁-C₁₈ alquilo substituído ou não substituído, C₂-C₁₈ alcenilo substituído ou não substituído, C₂-C₁₈ alcinilo substituído ou não substituído e arilo substituído ou não substituído. Os substituintes halogéneo nos compostos da presente invenção incluem F, Cl, Br e I.

Os grupos alquilo têm um grupo hidrocarboneto saturado linear ou ramificado incluindo, por exemplo, metilo, etilo, isopropilo, isobutilo, t-butilo, heptilo, dodecilo, octadecilo, amilo, 2-etil-hexilo, 2-metilbutilo, 5-metil-hexilo, 9-metil-3-decilo, e outros semelhantes, particularmente grupos alquilo que têm uma ramificação com um grupo metilo. Com vantagem o grupo alquilo é longo e tem 1 a 20 átomos de carbono, mais tipicamente 1 a 15 ou 1 a 10 átomos de carbono, ou pode ser curto e tem 1 a 6 ou 1 a 3 átomos de carbono. As cadeias carbonadas longas são candidatas para utilização no grupo ácido gordo terminal.

Os grupos alcenilo e alcinilo preferidos nos compostos da presente invenção têm uma ou mais ligações insaturadas e de 2 a 12 átomos de carbono, mais preferencialmente 2 a 8 átomos de carbono, ainda mais preferencialmente 2 a 6 átomos de carbono, e mais preferencialmente ainda 2,3 ou 4 átomos de carbono. Os termos alcenilo e alcinilo tal como aqui utilizados referem-se a grupos tanto

cíclicos como não cíclicos, embora os grupos não cíclicos lineares ou ramificados sejam geralmente mais preferidos. De modo geral, alcilideno está incluído em alcenilo, sendo ambos substituintes com uma ligação dupla.

Os grupos arilo adequados nos compostos da presente invenção incluem compostos com um ou múltiplos anéis, incluindo compostos com anéis múltiplos que contêm grupos arilo separados e/ou condensados. Os grupos arilo típicos contêm de 1 a 3 anéis separados ou condensados e de 6 a cerca de 18 átomos de carbono no anel. Grupos arilo especificamente preferidos incluem fenilo, naftilo, bifenilo, fenantrilo e antracilo substituídos ou não substituídos.

Os grupos acilo adequados incluem grupos alcanoílo que têm de 2 a cerca de 12 átomos de carbono, mais preferencialmente de 2 a cerca de 8 átomos de carbono, ainda mais preferencialmente de 2 a cerca de 6 átomos de carbono, mais preferencialmente ainda 2 átomos de carbono. Outros grupos acilo incluem alcenilacilo, alcinilacilo, arilacilo, heterociclilacilo.

Os grupos heterocíclicos adequados incluem grupos heteroaromáticos e heteroalíclicos. Os grupos heteroaromáticos adequados nos compostos da presente invenção contêm um, dois ou três heteroátomos seleccionados de átomos de N, O ou S e incluem, e.g., cumarinilo incluindo 8-cumarinilo, quinolinilo incluindo 8-quinolinilo, piri-

dilo, pirazinilo, pirimidilo, furilo, pirrolilo, tienilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, indolilo, benzofuranilo e benzotiazole. Os grupos heteroalíclicos adequados nos compostos da presente invenção contêm um, dois ou três heteroátomos seleccionados de átomos de N, O ou S e incluem, e.g., grupos tetra-hidrofuranilo, tetra-hidropiranilo, piperidinilo, morfolino e pirrolidinilo.

Os grupos acima referidos podem estar substituídos em uma ou mais posições disponíveis por um ou mais substituintes.

Os aminoácidos naturais incluem alanina, glicina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, triptofano, metionina, cisteína, aspartato, asparagina, ácido glutamático, glutamina, lisina, arginina, prolina, serina, treonina, histidina e hidroxiprolina.

Também se faz referência ao WO 0158934. Esse texto anterior proporciona orientações que são aplicáveis aos compostos desta invenção.

As abreviaturas utilizadas na descrição seguinte para aminoácidos e as designações de péptidos seguem as regras da Comissão da IUPAC-IUB sobre Nomenclatura Bioquímica em *J. Biol. Chem.*, 1972, 247, 977-983.

Utiliza-se as seguintes abreviaturas adicionais:

Alloc	aliloxicarbonilo
$N(CH_2)_4, N'(CH_2)_4$ -Arg,	ácido 2-amino-5-[(dipirrolidin-1-il-metileno)-amino]-pentanóico
AM	Ácido maslínico
AO	Ácido oleanólico
Bip	Ácido 2-amino-3-bifenil-4-il-propiónico
Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilo
BTFFH	Hexafluorofosfato de bis(tetrametileno)-fluoroformamidínio
t-Bu	<i>tert</i> -Butilo
Bza-OH	Ácido benzóico
Cha	Ciclo-hexilalanina ou ácido 2-amino-3-ciclo-hexil-propiónico
<i>p</i> -CF ₃ Bza-OH	Ácido 4-trifluorometilbenzóico
<i>p</i> -CF ₃ BzAc-OH	Ácido 3-(4-trifluorometilbenzil)acético
<i>p</i> -CF ₃ Cinn-OH	Ácido 3-(4-trifluorometilbenzil)acrílico
Resina de Cl-TrtCl	Resina de cloreto de 2-clorotritilo
Dha	Ácido 2-aminoacrílico ou didesidroalanina
Z-Dhb	Ácido α, β -didesidro- α -aminobutírico
DIPEA	<i>N, N</i> -diisopropiletilamina
DMF	<i>N, N</i> -dimetilformamida
EDC.HCl	Cloridrato de 1-etil-3-(3'-dimetilamino-propil)carbodiimida
Fmoc	9-fluorenilmetoxicarbonilo

(continuação)

6,6-dFHep-OH	Ácido 6,6-difluoro-heptanóico
3,5-dFPhAc-OH	Ácido (3,5-difluorofenil)acético
4-GuBut-OH	Ácido 4-guanidinobutírico
GI50	Inibidor do crescimento em 50%
HAPyU	Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-bis(tetrametileno)-urónio
HATU	Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio
hCh	Homociclo-hexilalanina ou ácido 2-amino-4-ciclo-hexilbutírico
Hep-OH	Ácido heptanóico
HOAc	Ácido acético
HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazole (3-hidroxi-3H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridina)
HOBt	1-hidroxibenzotriazole
Icos-OH	Ácido icosanóico
LC50	Concentração letal em 50%
Lit-OH	Ácido litocólico
MeHex-OH	Ácido metil-hexanóico
M ₂ A	Hexafluorofosfato de [(tetrametileno)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridino-1-ilmetileno]-N-metilmetanamínio
(c/t-4Me-cHexa)-OH	Ácido (cis/trans)-4-metilciclo-hexanocarboxílico
p-MeBza-OH	Acido 4-metil-benzóico

(continuação)

$N(\text{Me})_2, N'(\text{Me})_2\text{-Arg}$	Ácido 2-amino-5-(N', N', N'', N'' -tetrametil-guanidino)pentanóico
$N(\text{CH}_2)_4, N'(\text{Me})_2\text{-Arg}$	Ácido 2-amino-5-[(dimetilamino-pirrolidin-1-il-metileno)-amino]-pentanóico
MeOH	metanol
$N(\text{Me}, \text{Ph}), N'(\text{Me})_2\text{-Arg}$	Ácido 2-amino-5-(N', N', N' -trimetil- N'' -fenil-guanidino)pentanóico
NMM	<i>N</i> -metilmorfolina
Mst-OH	Ácido mirístico ou ácido tetradecanóico
NaI	Ácido 2-amino-3-naftalen-2-il-propiónico
Oct-OH	Ácido octanóico
6-OHep-OH	Ácido 6-oxo-heptanóico
Oic	Ácido octa-hidro-isoindole-1-carboxílico
$[\text{N}^\delta(\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_2)_4-N'(\text{CH}_2)_4)\text{-Orn}]$	Ácido 2-amino-5-[(dipirrolidin-1-il-metil)amino]pentanóico
Phf-OH	Ácido perfluoro-heptanóico
Phg	Fenilglicina ou ácido aminofenilacético
(5R)-Ph-Pro	Ácido 5-(R)-fenil-pirrolidino-2-carboxílico
Pip	Ácido pipecólico
Pipe-OH	Ácido benzo[1,3]dioxole-5-carboxílico
SPS	Síntese em fase sólida
Tfa	trifluoroacetilo

(continuação)

TFA	Ácido trifluoroacético
TFAA	Anidrido trifluoroacético
TGI	Inibição total do crescimento
Thi	ala-[3-(2-tienil)] ou ácido 2-amino-3-tiofen-2-il-propiónico
Tic	Ácido 1,2,3,4-tetraisoquinolino-3-carboxílico
Und-OH	Ácido undecanóico.
Os símbolos dos aminoácidos indicam a configuração L salvo indicação em contrário.	

Exemplos de compostos desta invenção incluem os de fórmula 1 em que há:

- Glu ou Lys em vez de L-Orn na posição 8;

- Icos, (c/t)-4-Me-cHexa, Und, (4R)-MeHex, (4RS)-MeHex, (4S)-MeHex, Oct, p-MeBza, Bza, p-CF₃Bza, 3,5-dFPhAc, Pipe, p-CF₃Cinn, p-CF₃PhAc, Pfh, 6-OHep, 6,6-dFHep, 4-GuBut, AM, AO ou C(=N(CH₃)₂) em vez de 5-MeHex na posição 14, e Lys em vez de L-Orn na posição 8;

- N(Me)₂,N'(Me)₂-Arg, N(Me,Ph),N'(Me)₂-Arg, N(CH₂)₄, N'(Me)₂-Arg, N(CH₂)₄, N'(CH₂)₄-Arg, N^δ(CHN(CH₂)₄), N'(CH₂)₄-Orn, N^ε(Me)₃-Lys, Orn(N^δTfa) ou Orn(Biot) em vez de L-Orn na posição 8, e opcionalmente (4S)-MeHex em vez de 5-MeHex na posição 14.

Os compostos da presente invenção têm centros assimétricos e por isso existem em diferentes formas enantioméricas e diastereoméricas. É aqui descrita a utilização de todos os isómeros ópticos e estereoisómeros dos compostos da presente invenção, e das suas misturas, e de todas as composições farmacêuticas e métodos de tratamento que os utilizam ou os contêm.

Os compostos da invenção podem estar em forma cristalina como compostos livres ou como solvatos (e.g. hidratos) e é intenção que ambas as formas estejam dentro do âmbito da presente invenção. Os métodos de solvatação são genericamente conhecidos na arte.

A presente invenção também inclui os compostos da presente invenção, e os seus sais farmacêuticamente aceitáveis, em que um ou mais átomos de hidrogénio, carbono ou outros átomos estão substituídos pelos seus isótopos. Esses compostos podem ser úteis como ferramentas para investigação e diagnóstico em estudos de farmacocinética do metabolismo e em ensaios de ligação.

Tal como aqui utilizados, os compostos desta invenção podem ser proporcionados como os seus derivados ou pró-fármacos farmacêuticamente aceitáveis. Um "derivado ou pró-fármaco farmacêuticamente aceitável" significa qualquer sal, éster, sal de um éster ou outro derivado farmacêuticamente aceitável de um composto desta invenção que, por administração a um quem o recebe, é susceptível de

proporcionar (directamente ou indirectamente) um composto desta invenção ou um seu metabolito ou resíduo. Os derivados e pró-fármacos particularmente preferidos são os que aumentam a biodisponibilidade dos compostos desta invenção quando esses compostos são administrados a um doente (e.g., permitindo que um composto administrado oralmente seja mais rapidamente absorvido no sangue), melhoram a administração do composto mãe a um dado compartimento biológico, aumentam a solubilidade para permitir a administração por injeção, alteram o metabolismo ou alteram a velocidade de excreção.

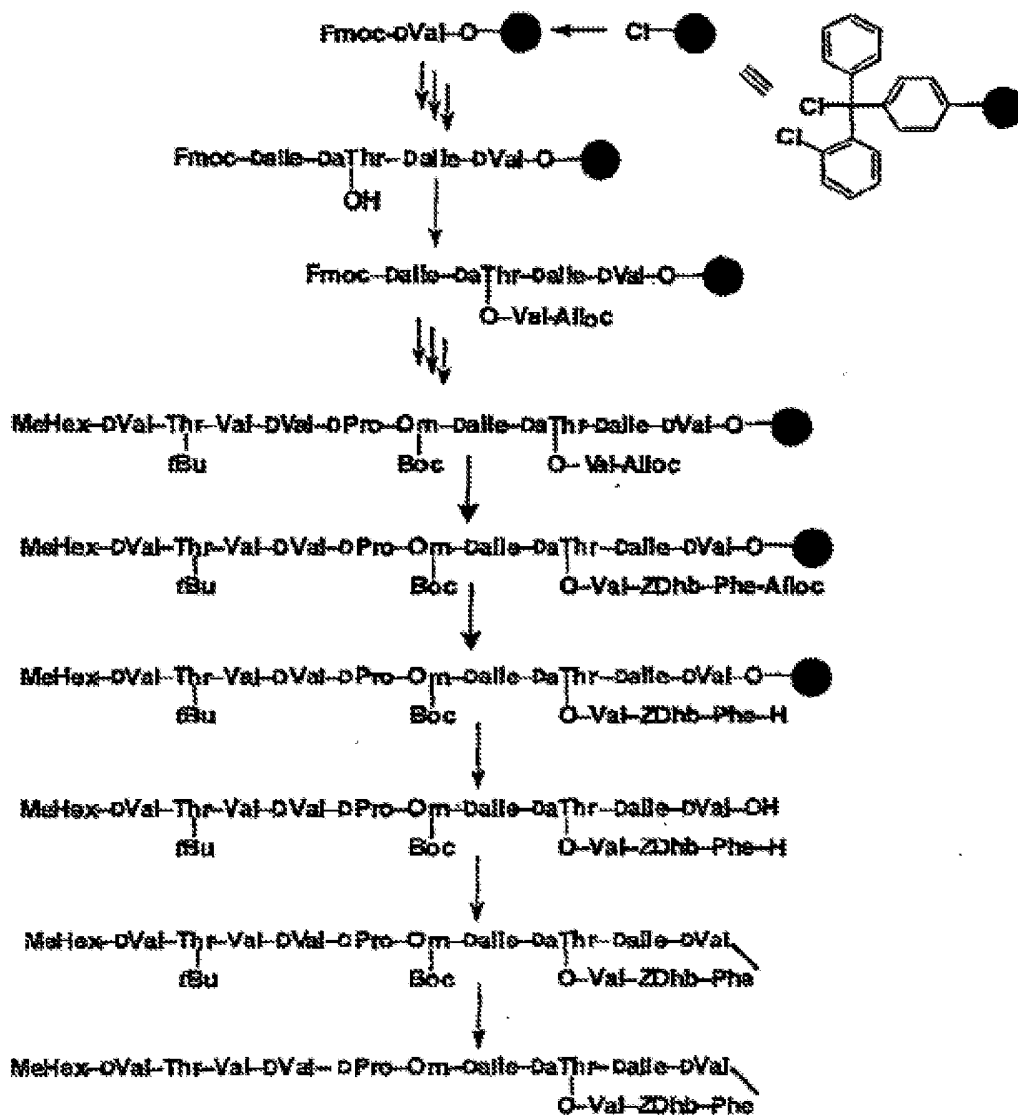
Os sais dos compostos da presente invenção podem incluir sais de adição de ácidos derivados de um azoto no composto de fórmula 1 ou 2. A actividade terapêutica reside na unidade derivada do composto da invenção tal como aqui definido e a identidade do outro componente tem menor importância embora para fins terapêuticos e profilácticos seja, de preferência, farmacologicamente aceitável para o doente. Exemplos de sais de adição de ácidos farmacologicamente aceitáveis incluem os derivados de ácidos minerais, tais como os ácidos clorídrico, bromídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico e sulfúrico, e ácidos orgânicos, tais como os ácidos tartárico, acético, trifluoroacético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzóico, glicólico, glucónico, succínico e metanossulfónico e arilsulfónico, por exemplo p-toluenossulfónico. Os sais preferidos incluem o sal trifluoroacetato e o sal cloridrato.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados de acordo com o processo sintético descrito no WO 01 58934, ou de acordo com o processo melhorado tal como aqui descrito. Portanto também está abrangido pela invenção um processo para a preparação de um composto de acordo com a fórmula 1.

Os passos chave do processo otimizado para uma síntese mais económica e segura de kahalalide F e dos seus análogos são: (i) incorporação parcial de Fmoc-D-Val-OH na resina de clorotritilcloro-poliestireno para uma carga inicial de 0,5 mmol/g; (ii) utilização como método de acoplamento de DIPCDI-HOBt, em vez de HATU-DIPEA, para a incorporação sequencial dos aminoácidos e ácidos carboxílicos alifáticos protegidos; (iii) passo de ciclização com DIPCDI/HOBt/DIPEA em CH₂Cl₂; estas condições evitam duas reacções secundárias: epimerização do resíduo Val, que está envolvida na activação; e trifluoroacetilação do Phe ou do seu substituinte; (iv) utilização de dietil-ditio-carbamato de sódio após a remoção de Alloc para evitar a presença de Pd(0) no produto final.

A síntese é de preferência um processo sintético em fase sólida.

O processo sintético está melhor ilustrado no Esquema 1, que é dirigido à formação dos compostos alvo.



Esquema 1

Como ilustrado acima no Esquema 1, o processo para a formação sintética de análogos de kahalalide F pode basear-se numa abordagem em fase sólida, ver por exemplo Lloyd-Williams, P. et al. *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*. CRC Press, Boca Raton (FL), 1997 e seguida por modificações do método já descrito para a preparação de kahalalide F e alguns dos seus análogos (WO 01 58934).

O processo do Esquema 1 compreende os passos sequenciais de:

(a) incorporação de Fmoc-DVal-OH numa resina de clorotritil cloro, formando uma ligação éster;

(b) alongamento da cadeia peptídica com três aminoácidos [DaIle, DaThr (OH livre), Dalle] utilizando uma estratégia com Fmoc/*t*Bu;

(c) incorporação de [Val(1)] utilizando uma estratégia com Alloc/*t*Bu;

(d) alongamento da cadeia peptídica com os restantes aminoácidos e ácidos carboxílicos alifáticos utilizando uma estratégia com Fmoc/*t*Bu;

(e1) incorporação do dipéptido Alloc-Phe-ZDhb-OH, que foi combinado e desidratado em solução;

(e2a) alongamento da cadeia peptídica com dois aminoácidos, de preferência Thr e Phe. O OH de Thr não está protegido e o grupo amina de Phe, ou do seu substituto, está protegido com Fmoc ou de preferência com Alloc; em alguns casos se está protegido com Fmoc, este é removido e é introduzido Alloc em fase sólida;

(e2b) desidratação em fase sólida para dar o dide-sidropéptido;

(f) remoção do grupo Alloc/Fmoc de Phe, ou do seu substituto, enquanto o péptido ainda está ancorado ao suporte sólido;

(g) clivagem do péptido com a cadeia lateral protegida do suporte sólido;

(h) ciclização do péptido em solução;

(i) remoção dos grupos protectores da cadeia lateral lábeis a TFA.

(j) Outras modificações de grupos funcionais em fase de solução.

O processo pode portanto ser realizado como a seguir:

Fmoc-DVal-OH é incorporado de preferência numa resina de clorotritil-poliestireno, ver Barlos, K.; Gatos, D.; Schäfer, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1991,30, 590-593, na presença de DIPEA mantendo o nível de substituição de aproximadamente 0,5 mmol/g. A utilização de cargas maiores leva à presença de péptidos terminados no produto final, ver Chiva, C.; Vilaseca, M.; Giralt, E.; Albericio, F. *J. Pept. Sci.* 1999,5, 131-140.

Todas as proporções de solventes são volume/volume salvo indicação em contrário.

A remoção do grupo Fmoc pode ser realizada com piperidina-DMF (2:8, v/v) (1 x 2 min, 2 x 10 min). Os acoplamentos de Fmoc-aa-OH (4-5 equiv) e dos ácidos na posição 14 podem ser realizados com DIPCDI-HOBt (quantidades equimolares de cada um deles em relação ao componente carboxílico) ou PyBOP-DIPEA (quantidade equimolar de PyBOP e dobro da quantidade de DIPEA) em DMF ou DMF-tolueno (1:1) durante 90 min. Após o acoplamento são realizados testes com ninidrina ou cloranil e se for positivo o acoplamento é repetido nas mesmas condições, caso contrário o processo é continuado. As lavagens entre os passos de desprotecção, de acoplamento e novamente de desprotecção podem ser realizados com DMF (5 x 0,5 min) e CH₂Cl₂ (5 x 0,5 min) utilizando por exemplo de cada vez 10 mL de solvente/g de resina.

A incorporação de Alloc-Val-OH (5 equiv) pode ser realizada com uma quantidade equimolar de DIPCDI e 10% de DMAP. Este acoplamento é repetido pelo menos duas vezes.

A remoção do grupo Alloc pode ser realizada com Pd(PPh₃)₄ (0,1 equiv) na presença de PhSiH₃ (10 equiv), ver Gomez-Martinez, P.; Thieriet, N.; Albericio, F.; Guibe, F. *J. Chem. Soc. Perkin I* 1999, 2871-2874, e lavagem da resina com dietilditiotiocarbamato de sódio em DMF 0,02 M (3 x 15 min).

O dipéptido Alloc-Phe-ZDhb-OH (4 equiv), que foi

preparado em solução a partir de Alloc-Phe-OH e H-Thr-OtBu com EDC.HCl, e posterior desidratação e tratamento com TFA, pode ser acoplado com DIPCDI-HOAt (4 equiv de cada) durante 5 h a de um dia para o outro. A utilização de outros reagentes de acoplamento baseados em HOBt, tais como HBTU ou DIPCDI-HOBt, levou a incorporações incompletas do dipéptido.

A desidratação pode ser realizada em fase sólida com EDC.HCl (carbodiimida solúvel em água, 20 equiv) na presença de CuCl (12 equiv) em CH₂Cl₂-DMF (9:1) durante 7 dias. EDC.HCl/CuCl foi utilizado por desidratação em solução de um resíduo de Thr num fragmento de Nisin (Fukase, K.; Kitazawa, M.; Sano, A.; Shimbo, K.; Horimoto, S.; Fujita, H.; Kubo, A.; Wakamiya, T.; Shibe, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1992, 65, 2227-2240) e em fase sólida para a preparação de didesidropéptidos a partir de Thr, Ser e fenilserina (Royo, M.; Jiménez, J. C.; Lopez-Macia, A.; Giralt, E.; Albericio, F. *Eur. J. Org. Chem.* 2001, 45-48).

A clivagem do péptido protegido da resina pode ser efectuada por TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5 x 30 s).

O passo de ciclização pode ser realizado com DIPCDI/HOBt/DIPEA em CH₂Cl₂. Estas condições evitam duas reacções secundárias: epimerização do resíduo Val, que está envolvido na activação, e trifluoroacetilação do Phe ou do seu substituto.

A desprotecção final pode ser realizada com TFA-H₂O (95:5) durante 1 hora.

Entender-se-á que a escolha particular de grupos protectores não é crítica, e que estão amplamente disponíveis outras escolhas. Por exemplo, os grupos do tipo Bzl podem substituir *t*Bu/Boc; Boc em vez de Fmoc; Fmoc em vez de Alloc; resina Wang em vez de resina de clorotritilo.

Mais pormenores sobre a síntese estão apresentados nos exemplos.

O processo desta invenção pode ser realizado a partir de materiais de partida de forma enantiocontrolada, estereocontrolada e rápida, tirando partido da metodologia sintética em fase sólida, em que a molécula em construção está ligada a um suporte insolúvel durante todas as operações sintéticas.

As formulações farmacêuticas dos compostos da invenção podem ser adaptadas para administração por qualquer via apropriada, por exemplo pela via oral (incluindo bucal ou sublingual), rectal, nasal, tópica (incluindo bucal, sublingual ou transdérmica), vaginal ou parentérica (incluindo subcutânea, intramuscular, intravenosa ou intradérmica). Essas formulações podem ser preparadas por qualquer método conhecido na arte da farmácia, por exemplo por associação do ingrediente activo com o ou os veículos ou excipientes.

As composições farmacêuticas preferidas dos compostos da invenção incluem líquidos (soluções, suspensões ou emulsões) com composição adequada para administração intravenosa, e podem conter o composto puro ou em combinação com qualquer veículo ou outros compostos farmacologicamente activos. Orientações adicionais relativas às composições farmacêuticas podem ser encontradas no WO 02 36145.

Assim, uma combinação de um tensoactivo não iónico e um ácido orgânico é adequada para utilização com um agente de volume para dar uma forma liofilizada de um composto da invenção adequada para reconstituição. A reconstituição de preferência é realizada com uma mistura de solubilizador emulsionante, álcool e água.

A composição liofilizada de preferência compreende sobretudo o agente de volume, tal como pelo menos 90% ou pelo menos 95% de agente de volume.

Exemplos de agentes de volume são bem conhecidos e incluem sacarose e manitol. Podem ser utilizados outros agentes de volume.

O tensoactivo não iónico na composição liofilizada é de preferência um éster de sorbitano, mais preferencialmente um éster de polietileno sorbitano, tal como um alcenoato de polioxietileno sorbitano, especial-

mente um monooleato de polioxietileno sorbitano, por exemplo polissorbato 80. O tensoactivo não iónico tipicamente constitui uma pequena % da composição, tal como 0 a 5% da composição, por exemplo 2 a 3 ou 4% da composição.

O ácido orgânico na composição liofilizada é tipicamente um ácido alifático, de preferência um ácido hidroxicarboxílico e mais preferencialmente um ácido hidroxipolicarboxílico, nomeadamente o ácido cítrico. O ácido orgânico tipicamente constitui uma pequena % da composição, tal como 0 a 5% da composição, por exemplo 2 a 3 ou 4% da composição.

A quantidade do composto da invenção na composição liofilizada é tipicamente inferior a 1%, ou frequentemente menos do que 0,1% da mistura. Uma quantidade adequada situa-se na gama de 50 a 200 µg, por exemplo cerca de 100 µg, por 100 mg da composição.

O solubilizador emulsionante para o agente de reconstituição compreende com vantagem um éster de polietileno glicol, nomeadamente um éster de um ácido gordo, mais preferencialmente um oleato de PEG tal como oleato de PEG-35. O solubilizador emulsionante é com vantagem 0 a 10% do agente de reconstituição, tipicamente cerca de 3 a 7%, por exemplo cerca de 5%. O alcanol é normalmente etanol e é com vantagem 0 a 10% do agente de reconstituição, tipicamente cerca de 3 a 7%, por exemplo cerca de 5%. O restante do agente de reconstituição é água e dá uma solução reconstituída para injeção intravenosa.

Pode ser apropriada uma maior diluição da solução reconstituída com soro fisiológico a 0,9% para perfusão do composto de kahalalide. O equipamento de perfusão adequado de preferência inclui um recipiente de vidro, em vez de um em polietileno. A tubagem é de preferência de silicone.

O agente de reconstituição preferido compreende então 2 a 7%, por exemplo cerca de 5%, de solubilizador emulsionante; 2 a 7%, por exemplo cerca de 5%, de álcool; e o restante de água.

As formulações podem ser apresentadas em recipientes de dose unitária ou de doses múltiplas, por exemplo ampolas e frascos selados, e podem ser armazenadas em estado liofilizado que só requer a adição de transportador líquido estéril, por exemplo água para injeções, imediatamente antes da utilização.

A administração dos compostos ou composições da presente invenção é por perfusão intravenosa. Podem ser utilizados tempos de perfusão até 72 horas, mais preferencialmente 1 a 24 horas, sendo mais preferido ainda cerca de 1 ou cerca de 3 horas. São especialmente desejáveis os tempos de perfusão curtos que permitem que o tratamento seja realizado sem uma estadia no hospital de um dia para o outro. contudo, se necessário a perfusão pode durar cerca de 24 horas ou ser até mais demorada.

A administração é realizada ciclos, no método de aplicação preferido, é administrada aos doentes uma perfusão intravenosa de um composto da invenção na primeira semana de cada ciclo, e deixa-se que os doentes recuperem durante o resto do ciclo. A duração preferida de cada ciclo é de 1, 3 ou 4 semanas; podem ser administrados ciclos múltiplos consoante necessário. Num protocolo de dosagem alternativo, o composto da invenção é administrado durante por exemplo cerca de 1 hora durante 5 dias consecutivos de 3 em 3 semanas. Podem ser concebidos outros protocolos como variantes.

São efectuados atrasos de dose e/ou reduções de dose e ajustamentos do regime consoante necessário dependendo da tolerância do doente individual aos tratamentos, em particular são recomendadas reduções da dose para doentes com níveis séricos superiores ao normal de transaminases hepáticas ou fosfatase alcalina.

É aqui descrito um método para tratamento de um doente ser humano afectado por cancro, compreendendo a administração ao referido doente de um composto da invenção numa dose inferior a $1200 \text{ mcg/m}^2/\text{dia}$, preferencialmente inferior a $930 \text{ mcg/m}^2/\text{dia}$ e mais preferencialmente inferior a $800 \text{ mcg/m}^2/\text{dia}$. com vantagem a dose é de pelo menos $320 \text{ mcg/m}^2/\text{dia}$. De preferência a dose está na gama de 400-900 $\text{mcg/m}^2/\text{dia}$, preferencialmente 500-800 $\text{mcg/m}^2/\text{dia}$, mais preferencialmente 600-750 $\text{mcg/m}^2/\text{dia}$. São especialmente preferidas as doses de cerca de 650-700 $\text{mcg/m}^2/\text{dia}$.

Também é descrito um método para tratamento de um doente ser humano que sofre de cancro, compreendendo a administração ao referido doente de um composto da invenção diariamente durante 5 dias numa dose inferior a 930 mcg/m²/dia, seguido por um período de repouso desde 1 a 4 semanas em que não é administrado o composto de kahalalide. A dose é de preferência 650-750 mcg/m²/dia, mais preferencialmente cerca de 700 mcg/m²/dia. O tempo de perfusão de preferência situa-se entre 1 e 24 horas, mais preferencialmente entre 1 e 3 horas. É especialmente preferido um tempo de perfusão de cerca de 1 ou de cerca de 3 horas. O período de repouso é de preferência de 2-3 semanas, mais preferencialmente cerca de 2 semanas.

Também se descreve um método para tratamento de um doente ser humano que sofre de cancro, compreendendo a administração ao referido doente de um composto da invenção uma vez por semana numa dose inferior a 800 mcg/m²/dia. A dose é de preferência de 600-700 mcg/m²/dia, mais preferencialmente de 650 mcg/m²/dia. O tempo de perfusão é preferencialmente de 1 e 24 horas, mais preferencialmente entre 1 e 3 horas.

Embora estejam apresentadas acima orientações quanto à dose, a dosagem correcta do composto irá variar de acordo com a formulação específica, o modo de aplicação, e o sítio específico, hospedeiro e tumor a ser tratado. Serão tidos em consideração factores como a idade, peso corporal,

sexo, dieta, momento da administração, taxa de excreção, estado do hospedeiro, associações de fármacos, sensibilidades de reacção e gravidade da doença. A administração pode ser feita continuamente ou periodicamente dentro da dose máxima tolerada.

Também é descrito um método de tratamento de uma doença da pele que envolve hiperproliferação das células da derme num mamífero que compreende a administração ao mamífero de uma quantidade eficaz, não tóxica de um composto da invenção. A doença da pele é de preferência psoríase. A presente invenção é de preferência dirigida ao tratamento de doentes seres humanos afectados por psoríase, em particular psoríase grave.

Os compostos desta invenção podem ser utilizados com outros fármacos para proporcionar uma terapêutica de associação. Os outros fármacos podem formar parte da mesma composição, ou podem ser proporcionados como uma composição separada para administração ao mesmo tempo ou em alturas diferentes. A identidade do outro fármaco não está particularmente limitada, embora esteja contemplada a associação com outros agentes quimioterapêuticos, hormonais ou anticorpos. As quantidades do composto da invenção e do outro ou outros agentes activos farmacêuticos e os momentos relativos de administração serão seleccionados de forma a se obter o efeito terapêutico combinado desejado.

Exemplos de Referência

Procedimentos Gerais.

Resina de Cl-TrtCl, derivados de aminoácidos protegidos com Fmoc, HOBt, HOAt eram de ABI (Framingham, MA), Bachem (Bubendorf, suíça), NovaBiochem (Laufelfingen, Suíça), os derivados de 4-MeHex de Narchem, HATU e outros derivados de guanidilação eram de ABI (Framingham, MA) ou preparados como em del Fresno, M.; El-Faham, A.; Carpino, L. A.; Royo, M.; Albericio, F. *Organic Lett.*, 2000, 2, 3539-3542.

Os alloc-aminoácidos foram preparados essencialmente como descrito por Dangles et al. ver Dangles, O.; Guibe, F.; Balavoine, G.; Lavielle, S.; Marquet. A. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 4984-4993 e Alloc-ZDhb-Phe-OH e Kahalalide F como descrito no WO 01 58934, DIPEA, DIPCDI, EDC HCl, Piperidina, TFA eram da Aldrich (Milwaukee, WI). A DMF e o CH₂Cl₂ eram da SDS (Peypin, França). O acetonitrilo (qualidade para HPLC) era de Scharlau (Barcelona, Espanha). Todos os reagentes e solventes comerciais foram utilizados tal como recebidos com exceção de CH₂Cl₂, que foi passado através de uma coluna de alumina para remover contaminantes ácidos.

As sínteses em fase sólida foram realizadas em seringas de polipropileno (10-50 mL) adaptadas com um disco

poroso de polietileno. Os solventes e reagentes solúveis foram removidos por sucção. A remoção do grupo Fmoc foi realizada com piperidina-DMF (2: 8, v/v) (1 x 2 min, 2 x 10 min). As lavagens entre os passos de desprotecção, acoplamento e, de novo, desprotecção foram realizados com DMF (5 x 0,5 min) e CH₂Cl₂ (5 x 0,5 min) utilizando de cada vez 10 mL de solvente/g de resina. As transformações da síntese de péptidos e as lavagens foram realizadas a 25°C. As sínteses realizadas em fase sólida foram controladas por HPLC dos intermediários obtidos após a clivagem com TFA-H₂O (1:99) durante 1 min de uma alíquota (aproximadamente 2 mg) da peptidil-resina. As colunas de HPLC de fase inversa [Nucleosil-C₁₈ 4,6 x 250 mm, 10 µm (coluna A); Nucleosil-C₄ 4,6 x 250 mm, 10 µm (coluna B) eram de Sharlau (Espanha); Symmetry™ C₁₈ 4,6 x 150 mm, 5 µm (coluna C); Symmetry300™ C₁₈ 4, 6 x 50 mm, 5 µm (coluna D) eram da Waters (Irlanda) e Zorbax SB C₁₈ 4,6 x 150 mm, 3,5 µm (coluna E) era da Agilent (EUA)]. A HPLC analítica foi realizada num instrumento Waters compreendendo duas bombas de distribuição de solventes (Waters 1525), injector automático (amostrados automático Waters 717), detector de comprimento de onda duplo (Waters 2487) e sistema de controlo (Breeze V3.20) e num instrumento Agilent 1100 compreendendo duas bombas de distribuição de solvente (G1311A), injector automático (G1329A), DAD (G1315B). A detecção por UV foi a 215 ou 220 nm, e utilizou-se gradientes lineares de CH₃CN (+0,036% de TFA) em H₂O (+0,045% de TFA) nas seguintes condições:

Tabela I

Condições cromatográficas	Caudal (mL/min)	Gradiente (% de CH ₃ CN)	Tempo do ensaio (min)
A	1,0	30 a 100	30
B	1,0	40 a 60	15
C	1,0	45 a 60	8
D	1,0	40 a 70	8
E	1,0	45 a 70	8
F	1,0	40 a 70	15
G	1,0	40 a 65	15
H	1,0	10 a 100	30
I	1,0	45 a 65	15
J	1,0	40 a 70	15
K	1,0	55 a 75	15
L	1,0	40 a 100	15
M	1,0	50 a 100	8
N	1,0	35 a 60	15
O	1,0	50 a 100	30
P	1,0	50 a 100	15
Q	1,0	isocrática a 45	15
R	1,0	30 a 100	15
S	1,0	20 a 100	8
T	0,6	35 a 90	25
U	0,7	40 a 70	50
V	0,8	10 a 48 em 15 min e isocrática 30 min	45

(continuação)

Condições cromatográficas	Caudal (mL/min)	Gradiente (% de CH ₃ CN)	Tempo do ensaio (min)
W	1,0	10 a 70	50
X	1,0	10 a 48 em 15 min e isocrática 30 min	45
Y	0,8	10 a 60	50
Z	0,7	15 a 70	55
AB	0,8	10 a 60	55
AC	0,8	30 a 60	45
AD	0,8	10 a 48 em 10 min e isocrática 30 min	40
AE	1,0	45 a 90	25
AF	1,0	40 a 100	8

Foram realizadas análises de amostras de péptidos por MALDI-TOF e ES-MS num PerSeptive Biosystems Voyager DE RP, utilizando matriz de DHB, e num espectrómetro Waters Micromass ZQ e num Agilent Ion Trap 1100 Series LC/MSDTrap. As amostras de péptido-resina foram hidrolisadas em HCl aquoso 12 N-ácido propiónico (1:1), a 155°C durante 1-3 h e as amostras isentas de péptido foram hidrolisadas em HCl aquoso 6 N a 155°C durante 1 h. As análises de aminoácidos subsequentes foram realizadas num auto analisador Beckman System 6300. A espectroscopia de ¹H-NMR [1H, NOESY, TOCSY a (278K)] foi realizada num Varian Unity Plus (500 MHz). Os

desvios químicos (δ) são expressos em partes por milhão para campo baixo em relação ao TMS. As constantes de acoplamento são expressas em hertz.

Os nomes dos análogos são atribuídos em relação ao isômero 5-metil-hexilo do Kahalalide F de fórmula(I), indicando entre parênteses rectos o resíduo modificado; o sufixo "não" indica a eliminação do resíduo natural da sequência.

Exemplo 1

(4S) -MeHex-D-Val-ThrVal-D-Val-D-Pro-Orn-D-*allo*-Ile-ciclo[D-*allo*-Thr-D-*allo*-Ile-D-Val-Phe-Dhb-Val], [(4S) -MeHex¹⁴]-Kahalalide F (Composto 1)

Passo 1

H-D-Val-O-TrtCl-resina.

Cl-TrtCl-resina (1 g, 1,64 mmol/g) foi colocada numa seringa de 20 mL de polipropileno adaptada com um disco de filtração de polietileno. A resina foi então lavada com CH₂Cl₂ (5 x 0,5 min) e adicionou-se uma solução de Fmoc-D-Val-OH (238 mg, 0,7 mmol, 0,7 equiv) e DIPEA (0,41 mL) em CH₂Cl₂ (2,5 mL) e a mistura foi agitada durante 15 min, quando se adicionou mais DIPEA (0,81 mL, total de 7 equiv, 7 mmol) e a mistura foi agitada durante

45 min. A reação foi terminada pela adição de MeOH (800 μ L), após agitação durante 10 min. A Fmoc-D-Val-O-TrtCl-resina foi submetida às seguintes lavagens/tratamentos com CH₂Cl₂ (3 x 0,5 min), DMF (3 x 0,5 min), piperidina como indicado nos Procedimentos Gerais, e DMF (5 x 0,5 min). A carga calculada por determinação de Fmoc era de 0,50 mmol/g.

Passo 2

Fmoc-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-resina.

Fmoc-D-*allo*-Ile-OH (707 mg, 2 mmol, 4 equiv), Fmoc-D-*allo*-Thr-OH (grupo hidroxilo livre) (683 mg, 2 mmol, 4 equiv), e Fmoc-D-*allo*-Ile-OH (707 mg, 2 mmol, 4 equiv) foram adicionados sequencialmente à H-D-Val-O-TrtCl-resina obtida acima utilizando DIPCDI (310 μ L, 2 mmol, 4 equiv) e HOBt (307 mg, 2 mmol, 4 equiv) em DMF (2,5 mL). Em todos os casos, após 90 min de acoplamento, o teste da ninidrina era negativo. A remoção do grupo Fmoc e as lavagens foram realizados como descrito nos Procedimentos Gerais. Alloc-Val-OH (502 mg, 2,5 mmol, 5 equiv) foi acoplado com DIPCDI (387 mg, 2,5 mmol, 5 equiv) na presença de DMAP (30,6 mg, 0,25 mmol, 0,5 equiv) e DIPEA (88 μ L, 0,5 mmol, 1 equiv) durante 45 min. Este acoplamento foi repetido nas mesmas condições duas vezes. Uma alíquota da peptidil-resina foi tratada com TFA e a HPLC (t_R 7,8 min, condições S, coluna

D) do produto em bruto obtido após evaporação mostrou uma pureza de >98%. ESMS, calculada para $C_{45}H_{63}N_5O_{11}$, 849,45. Determinada: m/z 850,1 $[M+H]^+$.

Passo 3

Fmoc-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-resina.

O grupo Fmoc foi removido e Fmoc-Orn(Boc)-OH (912 mg, 2 mmol, 4 equiv), Fmoc-D-Pro-OH(843 mg, 2,5 mmol, 5 equiv), e Fmoc-D-Val-OH (255 mg, 2,5 mmol, 5 equiv) foram adicionados sequencialmente à peptidil-resina acima referida (Passo 2) utilizando DIPCDI (310 μ L, para 2,0 mmol e 4 equiv; e 388 μ L para 2,5 mmol, 5 equiv) e HOBt (307 mg, para 2,0 mmol e 4 equiv; e 395 mg, 2,5 mmol, 5 equiv) durante 90 min. O teste da ninidrina após a incorporação de Orn e D-Pro foi negativo. O do cloranil após a incorporação de D-Val foi ligeiramente positivo e por isso se efectuou um reacoplamento deste resíduo com Fmoc-D-Val-OH (678 mg, 2,0 mmol, 4 equiv), DIPCDI (310 μ L, 2,0 mmol, 4 equiv) e HOBt (307 mg, 2,0 mmol, 4 equiv) durante 90 min. Uma alíquota da peptidil-resina foi tratada com TFA e a HPLC (t_R 10,1 min, condições S, coluna D) do material em bruto obtido após evaporação apresentou uma pureza de >98%. MALDI-TOF-MS, calculada para $C_{65}H_{97}N_9O_{16}$, 1.259,71. Determinada: m/z 1.282,16 $[M+Na]^+$.

Passo 4

(4S)-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-resina

O grupo Fmoc foi removido e Fmoc-Val-OH (678 mg, 2 mmol, 4 equiv), Fmoc-Thr(tBu)-OH (992 mg, 2,5 mmol, 5 equiv), Fmoc-D-Val-OH (678 mg, 2 mmol, 4 equiv) e (4S)-MeHex-OH (195 mg, 1,5 mmol, 3 equiv) foram adicionados sequencialmente à peptidil-resina acima referida (Passo 3) utilizando DIPCDI (233 µL, para 1,5 mmol e 3 equiv; 310 µL, para 2 mmol e 4 equiv; e 388 µL, para 2,5 mmol, 5 equiv) e HOBt (230 mg, para 1,5 mmol e 3 equiv; 307 mg, para 2 mmol e 4 equiv; e 395 mg, 2,5 mmol, 5 equiv) durante 90 min. Em todos os casos, após 90 min de acoplamento, o teste da ninidrina era negativo. A remoção do grupo Fmoc e as lavagens foram realizados como descrito nos Procedimentos Gerais.

Passo 5

(4S)-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-ZDhb-Phe-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-resina.

O grupo Alloc foi removido com Pd(PPh₃)₄ (58 mg, 0,05 mmol, 0,1 equiv) na presença de PhSiH₃ (617 µL, 5

mmol, 10 equiv) sob atmosfera de Ar e Alloc-Phe-ZDhb-OH (666 mg, 2 mmol, 4 equiv) e HOAt (273 mg, 2 mmol, 4 equiv) foram dissolvidos em DMF (1,25 mL) e adicionados à peptidil-resina, depois adicionou-se DIPCDI (310 μ L, 2 mmol, 4 equiv) e a mistura foi agitada durante 5 h, altura em que o teste da ninidrina era negativo. Após lavagens com DMF e CH_2Cl_2 , uma alíquota da peptidil-resina foi tratada com TFA- H_2O (1:99) durante 1 min e o produto foi caracterizado por MALDI-TOF-MS, calculada para $\text{C}_{88}\text{H}_{146}\text{N}_{14}\text{O}_{21}$, 1.7350,8. Determinada: m/z 1.758,67 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1.774,62 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

Passo 6

(4S)-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-ZDhb-Phe-H)-D-allo-Ile-D-Val-OH.

Após lavagens com DMF e CH_2Cl_2 , o grupo Alloc foi removido com $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (58 mg, 0,05 mmol, 0,1 equiv) na presença de PhSiH_3 (617 μ L, 5 mmol, 10 equiv) sob atmosfera de Ar. O péptido protegido foi clivado da resina por TFA- CH_2Cl_2 (1:99) (5 x 30 s). O filtrado foi recolhido em H_2O (4 mL) e a H_2O foi parcialmente removida num rotavapor. Adicionou-se então ACN para dissolver o sólido que apareceu durante a remoção da H_2O , e a solução foi liofilizada, para dar 639 mg (387 μ mol, 77% de rendimento) do composto em epígrafe com uma pureza de > 95% verificada por HPLC (condições R, coluna C, t_R 10,5 min).

Passo 7**(4S)-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-ciclo(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)**

O péptido protegido (Passo 6) (639 mg, 387 μ mol) foi dissolvido em CH_2Cl_2 (390 mL, 1 mM), e adicionou-se HOBt (237 mg, 1.55 mmol) dissolvido no volume mínimo de DMF para dissolver o HOBt, DIPEA (203 μ L, 1,16 mmol, 3 equiv) e DIPCDI (240 μ L, 1,55 mmol, 4 equiv). A mistura foi deixada com agitação durante 1 h, depois o decorrer da ciclização foi verificado por HPLC. O solvente foi removido por evaporação a pressão reduzida. O péptido cíclico protegido foi dissolvido em TFA- H_2O (19:1, 85 mL) e a mistura foi deixada com agitação durante 1 h. O solvente foi removido por evaporação a pressão reduzida e adiciona-se dioxano (30 mL) e o solvente é removido por evaporação a pressão reduzida (o processo foi repetido três vezes), em seguida adicionou-se H_2O (40 mL) e liofilizou-se. O produto em bruto foi purificado por HPLC (Kromasil C_8 5 μ m, 205 x 50 mm), isocrático 44% de acetonitrilo (+0,05% de TFA) em água (+0,05% de TFA), 55 mL/h, detecção a 220 nm, para dar o produto em epígrafe (192 mg, 0,13 mmol, 26% de rendimento, 92,3%). MALDI-TOF-MS, calculada para $\text{C}_{75}\text{H}_{124}\text{N}_{14}\text{O}_{16}$, 1.476,93. Determinada: m/z 1.500,12 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1.515,97 $[\text{M}+\text{K}]^+$. O espectro de ^1H -NMR (2,5 mM, 500 MHz, H_2O - D_2O (9:1) do composto está indicado na Tabela II).

Tabela II

RESÍDUOS	N-H	H α	H β	OUTROS
(Z)-Dhb	9,59 (s)	-	6,63 (q, J = 7,5 Hz)	1,19 (d, γ -CH ₃)
D-al lo-Ile 1	8,82 (d, J=9,0 Hz)	4,42	1,87	1,25, 1,09, 0,82 (γ -CH ₂ , γ -CH ₃ , δ -CH ₃)
L-Phe	8,75 (d, J = 5,5 Hz)	4,63	3,08 (m) 3,08 (m)	7,31 (2H Ar, t), 7,25 (3H Ar, d)
D-al· lo-Thr	8,67 (d, J = 9,0 Hz)	4,64	5,05 (m)	1,21 (γ -CH ₃)
D-Val 3	8,13 (d, J=7,5 Hz)	4,33	2,01	0,90 (2 γ -CH ₃)
L-Orn	8,29 (d, J = 7,5 Hz)	4,31	1,66 (2H)	1,88 (γ -CH ₂), 2,96 (bs, δ -CH ₂), 7,56 (ϵ -NH ₃ ⁺)
D-al·lo-Ile 2	7,92 (d)	4,18	1,80	1,25, 1,09, 0,81 (γ -CH ₂ , γ -CH ₃ , δ -CH ₃)
D-Val 5	8,01 (d)	4,08	2,07	0,87 (2 γ -CH ₃)
L-Thr	8,19 (d, J=7,5 Hz)	4,29	4,14 (m)	1,13 (γ -CH ₃)
D-Val 2	7,89 (d, J=7,5 Hz)	4,32	2,11	0,78 (γ -CH ₃)
L-Val 4	8,04 (d)	4,10	2,07	0,90 (2 γ -CH ₃)
L-Val 1	7,19 (d, J=9,0 Hz)	4,02	1,52	0,75 (γ -CH ₃), 0,65 (d, γ -CH ₃)
D-Pro	-	4,36	2,23, 1,99 (m, β -CH ₂), 1,85 (m, γ -CH ₂), 3,83 (1H, m, δ -CH ₂), 3,64 (1H, m, δ -CH ₂)	
4(S)-MeHex	-	2,26 (2H)	1,57 (β -CH ₂), 1,26, 1,10, 1,33, 0,79 (δ -CH ₂ , δ -CH ₃ , γ -CH, ϵ -CH ₃)	

Exemplo 2

Os análogos descritos na Tabela III foram sintetizados seguindo procedimentos experimentais como descrito no Exemplo 1, excepto o passo indicado na coluna (Passo), em que o(s) resíduos (A) foram substituídos por outro(s) (B) ou removidos (nenhum).

Tabela III

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[D-Thr ⁶]-KF	2	2	Fmoc-Dallo-Thr-OH 6	Fmoc-D-Thr-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Ser ⁶]-KF	3	2	Fmoc-Dallo-Thr-OH 6	Fmoc-D-Ser-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Glu ⁸]-KF	4	3	Fmoc-Orn (Boc)-OH 8	Fmoc-Glu (^t Bu)-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Lys ⁸]-KF	5	3	Fmoc-Orn (Boc)-OH 8	Fmoc-Lys (Boc)-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Val ¹²]-KF	6	4	Fmoc-Thr (^t Bu)-OH 12	Fmoc-Val-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[D-Thr ¹²]-KF	7	4	Fmoc-Thr (^t Bu)-OH 12	Fmoc-D-Thr (^t Bu)-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Cha ¹³]-KF	8	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Cha-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[hCh ¹¹]-KF	9	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-hCh-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[hCh ¹¹ , D-Cha ¹³]- KF	10	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-hCh-OH
			Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Cha-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Cha ⁴ , D-Cha ⁵ , D-Cha ⁷]-KF	11	1	Fmoc-D-Val-OH 4	Fmoc-D-Cha-OH
		2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 5	Fmoc-D-Cha-OH
		2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 7	Fmoc-D-Cha-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Val ⁵ , D-Val ⁷]-KF	12	2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 5	Fmoc-D-Val-OH
		2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 7	Fmoc-D-Val-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Icos ¹⁴]-KF	13	4	(4S)-MeHex 14	Ácido icosanóico
[(c/t)-4-Me- cHexa ¹⁴]-KF	14	4	(4S)-MeHex 14 (4S)- MeHex 14	Ácido cis/trans-2-(4-metil-ciclo- hexil)acético
[Und ¹⁴]-KF	15	4	(4S)-MeHex 14	Ácido undecanóico
[(4R)-MeHex ¹⁴]- KF	16	4	(4S)-MeHex 14	Ácido (4R)-metil hexanóico
[(4RS)-MeHex ¹⁴]- KF	17	4	(4S)-MeHex 14	Ácido (4RS)-metil hexanóico
[Oct ¹⁴]-KF	18	4	(4S)-MeHex 14	Ácido octanóico
[p-MeBza ¹⁴]-KF	19	4	(4S)-MeHex 14	Ácido p-metilbenzóico
[Bza ¹⁴]-KF	20	4	(4S)-MeHex 14	Ácido benzóico
[p-CF ₃ Bza ¹⁴]-KF	21	4	(4S)-MeHex 14	Ácido p-trifluorometilbenzóico
[3,5-dFPhAc ¹⁴]- KF	22	4	(4S)-MeHex 14	Ácido 3,5-difluorofenilacético
[Pipe ¹⁴]-KF	23	4	(4S)-MeHex 14	Ácido piperonílico
[p-CF ₃ Cinn ¹⁴]-KF	24	4	(4S)-MeHex 14	Ácido p-trifluorometilcinâmico
[p-CF ₃ PhAc ¹⁴]-KF	25	4	(4S)-MeHex 14	Ácido p-trifluorometilfenilacético
[Pfh ¹⁴]-KF	26	4	(4S)-MeHex 14	Ácido perfluoro-heptanóico
[6-OHep ¹⁴]-KF	27	4	(4S)-MeHex 14	Ácido 6-oxo-heptanóico

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[6,6-dFHep ¹⁴]-KF	28	4	(4S)-MeHex 14	Ácido 6,6-difluoro-heptanóico
[4-GuBut ¹⁴]-KF	29	4	(4S)-MeHex 14	Ácido 4- ([amino(imino)metil]amino)butanóico
[Lys ⁸ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	30	3	Fmoc- Orn (Boc)-OH 8	Fmoc-Lys (Boc)-OH
[noVal ¹¹ , noThr ¹² , noD- Val ¹³]-KF	31	3	Fmoc-Val-OH 11	nenhum
		4	Fmoc- Thr (tBu)-12	nenhum
		4	Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[noVal ¹¹ , noThr ¹² , noD- Val ¹³ , Mst ¹⁴]-KF	32	4	Fmoc-Val-OH 11	nenhum
		4	Fmoc- Thr (tBu)-12	nenhum
		4	Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum
		4	(4S)-MeHex 14	Ácido mirístico (tetradecanóico)
[Gly ¹³]-KF	33	4	Fmoc-D-Val- OH 13	Fmoc-Gly-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Ala ¹³]-KF	34	4	Fmoc-D-Val- OH 13	Fmoc-D-Ata-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[D-Leu ¹³]-KF	35	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Leu-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Phe ¹³]-KF	36	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Phe-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Pro ¹³]-KF	37	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Pro-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Val ¹³]-KF	38	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-Val-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Glu ¹³]-KF	39	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Glu-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Gln ¹³]-KF	40	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Gln-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Thr ¹³]-KF	41	4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-D-Thr-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Gly ¹¹]-KF	42	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Gly-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Phe ¹¹]-KF	43	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Phe-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Ala ¹¹]-KF	44	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Ala-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Leu ¹¹]-KF	45	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Leu-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Val ¹¹]-KF	46	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-D-Val-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Pro ¹¹]-KF	47	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Pro-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Gln ¹¹]-KF	48	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Gln-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Orn ¹¹]-KF	49	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Orn-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Thr ¹¹]-KF	50	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Thr-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Glu ¹¹]-KF	51	4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-Glu-OH
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Ala ¹² , noD- Val ¹³]-KF	52	4	Fmoc-Thr-OH 12	Fmoc-Ala-OH
			Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum
[Gly ¹² , noD- Val ¹³]-KF	53	4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
			Fmoc-Thr-OH 12	Fmoc-Gly-OH
[LeU ¹² noD- Val ¹³]-KF	54	4	Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum
			(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Pro ¹² , noD- Val ¹³]-KF	55	4	Fmoc-Thr-OH 12	Fmoc-Pro-OH
			Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum
[Glu ¹² , noD- Val ¹³]-KF	56	4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
			Fmoc-Thr-OH 12	Fmoc-Glu-OH
[Orn ¹² , noD- Val ¹³]-KF	57	4	Fmoc-Thr-OH 12	Fmoc-Orn-OH
			Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum
[Gln ¹² , noD- Val ¹³]-KF	58	4	Fmoc-L-Thr- OH 12	Fmoc-Gln-OH
			Fmoc-D-Val- OH 13	nenhum

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Pro ⁹ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	59	4	Fmoc-D-Pro- OH 9	Fmoc-Pro-OH
[D-Pip ⁹ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	60	4	Fmoc-D-Pro- OH 9	Fmoc-D-Pip-OH
[D-Tic ⁹ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	61	4	Fmoc-D-Pro- OH 9	Fmoc-D-Tic-OH
[(5R) -Ph-Pro ⁹ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	62	4	Fmoc-D-Pro- OH 9	Fmoc- (5R) -Ph-Pro-OH
[L-Val-d ₈ ¹¹]-KF	100	4	Fmoc-L-Val- OH 11	Fmoc-L-Val-d ₈ -OH
			(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[AM ¹⁴]-KF	101	4	(4S) -MeHex 14	AM
[AO ¹⁴]-KF	102	4	(4S) -MeHex 14	AO
[[C (=N (CH ₃) ₂) ¹⁴]- KF	103	4	(4S) -MeHex 14	C (=N (CH ₃) ₂)
[D-Ile ⁷]-KF	104	2	Fmoc-D- allo-Ile-OH 7	Fmoc-D-lie-OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[D-Val ⁷]-KF	105	2	Fmoc-D- allo-lie-OH 7	Fmoc-D-Val-OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[D-Orn ⁸ , L- Pro ⁹]-KF	106	3	Fmoc-L-Orn- OH 8	Fmoc-D-Orn-OH
			Fmoc-D-Pro- OH 9	Fmoc-L-Pro-OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[D-Cys ⁷ , L-Cys ¹¹]-KF	107	2	Fmoc-D-atllo-Ile-OH 7	Fmoc-D-Cys (Trt) -OH
		4	Fmoc-L-Val-OH 11	Fmoc-L-Cys (Trt) -OH
			(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[D-Cys ⁷ , D-Cys ¹⁰]-KF	108	2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 7	Fmoc-D-Cys (Trt) -OH
		3	Fmoc-D-Val-OH 10	Fmoc-D-Cys (Trt) -OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[D-homoCys ⁷ , D-homoCys ¹⁰]-KF	109	2	Fmoc-D-atto-Oe-OH 7	Fmoc-D-homoCys (Trt) -OH
		3	Fmoc-D-Val-OH 10	Fmoc-D-homoCys (Trt) -OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[D-VaI ¹]-KF	110	2	Alloc-L-Val-OH 1	Alloc-D-Val-OH
[Gly ¹²]-KF	111	4	Fmoc-Thr (tBu) -OH 12	Fmoc-Gly-OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
[Ala ¹²]-KF	112	4	Fmoc-Thr (tBu) -OH 12	Fmoc-Ala-OH
		4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex

(continuação)

ANÁLOGO	COMPOSTO #	PASSO	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Leu ¹²]-KF	113	4	Fmoc- Thr (tBu)-OH 12	Fmoc-Leu-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Phe ¹²]-KF	114	4	Fmoc- Thr (tBu)-OH 12	Fmoc-Phe-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Glu ¹²]-KF	115	4	Fmoc- Thr (tBu)-OH 12	Fmoc-Glu-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Orn ¹²]-KF	116	4	Fmoc- Thr (tBu)-OH 12	Fmoc-Orn-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Pro ¹²]-KF	117	4	Fmoc- Thr (tBu)-OH 12	Fmoc-Pro-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[D-Orn ¹³]-KF	118	4	Fmoc-D-Val- OH 13	Fmoc-D-Orn-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
[Gln ¹²]-KF	119	4	Fmoc- Thr (tBu)-OH 12	Fmoc-Gln-OH
		4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex

Exemplo 3**5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-*allo*-Ile-ciclo[D-*allo*-Thr-D-*alo*-Ile-D-Val-hCh-(Z)-Dhb-Val] (Composto 63)**

Procedimentos experimentais como descritos no Exemplo 1, excepto que no passo 4 (4S)-MeHex foi substituído por 5-MeHex e o passo 5 foi realizado de acordo com o seguinte procedimento experimental:

O grupo Alloc de 5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*allo*-Ile-D-*alo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-2-Clorotritil-Ps (250 mg, carga inicial = 0,5 mmol/g de resina) foi removido como acima com Pd(PPh₃)₄ na presença de PhSiH₃ em atmosfera de Ar. Fmoc-Thr-OH (grupo hidroxilo livre) (213,2 mg; 0,63 mmol; 5 equiv) e Fmoc-hCha-OH (254,0 mg; 0,63 mmol, 5 equiv) foram adicionados sequencialmente à peptidil-resina acima referida utilizando DIPCDI (96,8 mg; 0,63 mmol; 5 equiv) e HOBT (85 mg; 0,63 mmol; 5 equiv) em DMF. Após lavagens extensas com DMF (5 x 30 s), a peptidil-resina foi tratada com EDC-HCl (479 mg, 2,5 mmol, 20 equiv), CuCl (184 mg, 1,5 mmol, 12 equiv) em CH₂Cl₂-DMF(1: 9) por 6 dias. Após lavagens extensas com DMF, CH₂Cl₂ e DMF, seguiu-se os protocolos experimentais como descrito no exemplo 1 para obtenção do análogo de KF.

Exemplo 4

Os análogos descritos na Tabela IV foram sintetizados seguindo procedimentos experimentais como os descritos no Exemplo 1, excepto que no passo 4 (4S)-MeHex foi substituído por 5-MeHex; o passo 5 foi realizado como descrito no Exemplo 3, mas incorporando Fmoc-Phe-OH em vez de Fmoc-hCh-OH, e no passo indicado na coluna (Passo), o ou os resíduos (A) foram substituídos por outros (B) ou retirados (nenhum). Nos análogos 64-66, a reacção de desidratação não foi utilizada, porque os análogos são hidrogenados.

Tabela IV

Análogo	Composto #	Passo	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[D,L-Ser ²]-KF	64	5	Fmoc-Thr-OH 2	Fmoc-Ser-OH
[Gly ²]-KF	65	5	Fmoc-Thr-OH 2	Fmoc-Gly-OH
[Aib ²]-KF	66	5	Fmoc-Thr-OH 2	Fmoc-Aib-OH
[Dha ²]-KF	67	5	Fmoc-Thr-OH 2	Fmoc-Ser-OH
[Trp ³]-KF	68	5	Fmoc-Phe-OH 3	Fmoc-Trp-OH

(continuação)

Análogo	Composto #	Passo	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[D-Val ¹ , D-Phe ³ , Val ⁴ , alo-Ile ⁵ , alo-Thr ⁶ , alo-Ile ⁷ , D-Orn ⁸ , Pro ⁹ , Val ¹⁰ , D-Val ¹¹ , D-Thr ¹² , Val ¹³] KF	69	2	Alloc-Val-OH 1	Alloc-D-Val-OH
		5	Fmoc-Phe-OH 3	Fmoc-D-Phe-OH
		1	Fmoc-D-Val-OH 4	Fmoc-Val-OH
		2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 5	Fmoc-allo-Ile-OH
		2	Fmoc-D-allo-Thr-OH 6	Fmoc-allo-Thr-OH
		2	Fmoc-D-allo-Ile-OH 7	Fmoc-allo-Ile-OH
		3	Fmoc-Orn (Boc) - OH 8	Fmoc-D-Orn (Boc) -OH
			Fmoc-D-Pro-OH 9	Fmoc-Pro-OH
		3	Fmoc-D-Val-OH 10	Fmoc-Val-OH
		4	Fmoc-Val-OH 11	Fmoc-D-Val-OH
		4	Fmoc-Thr (tBu) - OH 12	Fmoc-D-Thr (tBu)-OH
		4	Fmoc-D-Val-OH 13	Fmoc-Val-OH

Exemplo 5

Os análogos descritos na Tabela V foram sintetizados seguindo procedimentos experimentais como os descritos no Exemplo 1, excepto que o passo 5 foi realizado como descrito no Exemplo 3, e no passo indicado na coluna (Passo) o ou os resíduos (A) foram substituídos por outros

(B). Além disso, antes da desidratação em fase sólida, o grupo Fmoc foi removido como descrito em Procedimentos Gerais, e em seguida o grupo amina foi protegido na forma de Alloc por reacção com Alloc-OSu (5 equiv) na presença de DIPEA(5 equiv) utilizando DMF como um solvente (2 horas).

Tabela V

Análogo	Composto #	Passo	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Phe (3,4-Cl ₂) ³ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	70	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (3,4-Cl ₂) - OH
[Phe (F ₅) ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	71	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (F ₅) -OH
[Phe (4-I) ³ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	72	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (4-I) -OH
[Phe (4-NO ₂) ³ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	73	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (4-NO ₂) -OH
[Phe (4-F) ³ , (4S) - MeHex ¹⁴]-KF	74	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (4-F) -OH
[Tyr (Me) ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	75	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Tyr (Me) -OH
[Thi ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	76	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Thi-OH
[Tic ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	77	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Tic-OH
[Tyr ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	78	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Tyr (tBu) -OH
[Oic ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	79	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Oic-OH
[NMePhe ³ , (4S) -MeHex ¹⁴]-KF	80	5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-NMe-Phe-OH
[Phe (2-Cl) ³]-KF	81	4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (2-C) -OH
[Phe (3-Cl) ³]-KF	82	4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (3-Cl) -OH
[Phe (4-Cl) ³]-KF	83	4	(4S) -MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe (4-Cl) -OH

(continuação)

Análogo	Composto #	Passo	Resíduo Substituído (A)	Resíduo Incorporado (B)
[Phe(3,4-F ₂) ³]-KF	84	4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe(3,4-F ₂)-OH
[Nal ³]-KF	85	4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Nal-OH
[Bip] ³ -KF	86	4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Bip-OH
[Phg ³]-KF	87	4	(4S)-MeHex 14	5-MeHex
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phg-OH
[Phe(3,4-Cl ₂) ³ , p-CF ₃ Cinn ¹⁴]-KF	88	4	(4S)-MeHex 14	p-CF ₃ Cinn-OH
		5	Fmoc-hCh-OH 3	Fmoc-Phe(3,4-Cl ₂)-OH

Exemplo 6**[N(Me)₂,N'(Me)₂-Arg⁸]-Kahalalide F (Composto 89)**

DIPEA (1,73 µL; 10,17 µmol) e HATU (3,86 mg; 10,15 µmol) foram adicionados a Kahalalide F (10,0 mg; 6,76 µmol) dissolvido em DMF (5 mL). A reacção foi acompanhada por HPLC e após 4 h, a DMF foi removida a pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido em CH₃CN-H₂O-AcOH (4,5:4,5:1,20 mL), liofilizado e purificado por HPLC semi-preparativa para dar o análogo em epígrafe (4,5 mg, 40%).

Exemplo 7**[N(Me,Ph),N'(Me)₂-Arg⁸]-Kahalalide F (Composto 90)**

Procedimentos experimentais como descritos no exemplo 6, mas utilizou-se HAPyU (4,87 mg; 10,15 μ mol) em vez de HATU: 1,63 mg, 12%.

Exemplo 8**[N(CH₂)₄,N'(Me)₂-Arg⁸]-Kahalalide F (Composto 91)**

Procedimentos experimentais como descritos no exemplo 6, mas utilizou-se M₂A (4,2 mg; 10,14 μ mol) em vez de HATU: 5,2 mg, 46%.

Exemplo 9**[N(CH₂)₄,N'(CH₂)₄-Arg⁸]-Kahalalide F (Composto 92a) e
[N^δ(CHN(CH₂)₄, N'(CH₂)₄)-Orn⁸]-Kahalalide F (Composto 92b)**

Procedimentos experimentais como descritos no exemplo 6, mas utilizou-se BTFFH (contendo uma impureza de aprox. 50% de 1,1'-(fluorometileno)dipirrolidina) (3,16 mg; 10,16 μ mol) em vez de HATU. Obteve-se dois produtos, 92a e 92b, e não foi possível separá-los (4,0 mg da mistura numa proporção de 1:1, 35,6%).

HPLC (Cond. A, coluna A), t_R : 20,8 min (92b) 45% e t_R : 20,9 min (43a) 46%. EM (MALDI-TOF, m/z): (92a) calculada 1,62705; determinada 1.630,8 $[M+H]^+$; 1.652,6 $[M+Na]^+$. (43b) calculada 1.629,06; determinada 1.632,7 $[M+H]^+$; 1.670,6 $[M+K]^+$.

Exemplo 10

$[N^{\epsilon}-(Me)_3-Lys^8, (4S)-MeHex^{14}]-KF$ (Composto 93)

DIPEA (10 μ L, 58,8 μ mol) e MeI (6 μ L, 0,100 mmol) foram adicionados a $[Lys^8, (4S)-MeHex^{14}]-Kahalalide$ F (Composto 30) (5,0 mg; 3,35 μ mol) dissolvido em DMF/DCM (1:1, 5 mL). A reacção foi acompanhada por HPLC e após 12 h, os solventes foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido em $CH_3CN-H_2O-AcOH$ (4,5:4,5:1,20 mL), liofilizado e purificado por HPLC semi-preparativa para dar o análogo em epígrafe (2,2 mg, 44%).

Exemplo 11

$[Thr(OTfa)^{12}, 4(S)MeHex^{14}]-Kahalalide$ F (Composto 94)

$[4(S)MeHex^{14}]-Kahalalide$ F (Composto 1; 10,0 mg; 6,7 μ mol) foi dissolvido em TFA-DCM (1:1, 20 mL) e deixado com agitação durante 3 dias à temperatura ambiente. Em seguida, o solvente foi removido a pressão reduzida e o

resíduo foi dissolvido em H₂O-CH₃CN (1:9) e purificado imediatamente minimizando o tempo em que a amostra esteve dissolvida em H₂O. As frações correspondentes ao análogo em epígrafe foram recolhidas num balão de fundo redondo mergulhado em N₂ líquido e liofilizadas (2,5 mg; 25%).

Exemplo 12

[Orn(N^δTfa)⁸, Thr(OTfa)¹², 4(S)MeHex¹⁴]-Kahalalide F (Composto 95)

[(4S)-MeHex¹⁴]-KF (Composto 1; 10 mg; 6,7 μmol) foi dissolvido em DCM (8 mL); adicionou-se TFAA (18,9 μL; 134 μmol) e DIPEA (22,8 μL; 134 μmol) e deixou-se reagir durante 12 h. Em seguida, o solvente foi removido a pressão reduzida e o resíduo foi redissolvido em H₂O-CH₃CN (1:1) e purificado imediatamente (2,0 mg, 20%).

Exemplo 13

[Orn(N^δTfa)⁸, 4(S)MeHex¹⁴]-Kahalalide F (Composto 96)

Procedimentos experimentais como descritos no exemplo 12, mas antes da purificação o análogo foi dissolvido em H₂O-CH₃CN (1:1), deixado em solução durante 2 h e purificado (4,3 mg, 43%).

Exemplo 14**[Thr(OTfa)¹², Lit(OTfa)¹⁴]-Kahalalide F (Composto 97)**

Procedimentos experimentais como descritos no Exemplo 1, excepto que no passo 4 (4S)-MeHex foi substituído por Lit-OH e no passo 7, o péptido cíclico foi dissolvido em TFA-DCM (1:1, 20 mL) e foi deixado com agitação durante 3 dias à temperatura ambiente. Após este período, o solvente foi removido a pressão reduzida de uma alíquota (10%) e o resíduo sólido foi dissolvido em H₂O-CH₃CN (1:9) e purificado imediatamente minimizando o tempo em que a amostra esteve dissolvida em H₂O. As fracções correspondentes ao análogo em epígrafe foram recolhidas num balão de fundo redondo submerso em N₂ líquido e liofilizadas (5,6 mg; 6% de rendimento com base na resina de partida).

Exemplo 15**[no5-MeHex¹⁴-N-(Hep)₂-D-Val¹³]-Kahalalide F (Composto 98)**

Procedimentos experimentais como descritos no Exemplo 1, excepto que no passo 4, heptanaldeído (60,65 µL; 0,75 mmol; 5 equiv) dissolvido em DMF-AcOH (99:1; 2 mL) foi adicionado a H-D-Val-Thr(^tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-

allo-Ile-D-*alo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-2-Cloro-tritil-Ps (300 mg; carga inicial = 0,5 mmol/g de resina) e após 5 min, adicionou-se NaBH₃CN (28,28 mg; 0,45 mmol; 3 equiv) dissolvidos em DMF-AcOH (99:1; 1 mL) e a mistura foi deixada reagir durante 2 h. Esse tratamento foi repetido mais duas vezes monitorizando a reacção por HPLC.

Exemplo 16

[Orn(Biot)⁸]-Kahalalide F (Composto 99)

Kahalalide F (150,0 mg; 94,3 µmol), d-biotina (37,0 mg, 151,5 µmol) e HATU (114,0 mg, 299,8 µmol) foram dissolvidos em DCM anidro (6,0 mL) em atmosfera de Ar e adicionou-se NMM (58 µL, 524,0 µmol). A mistura foi deixada com agitação durante 30 horas. Em seguida, o solvente foi removido a pressão reduzida e o resíduo foi dissolvido em MeOH e purificado. As fracções correspondentes ao análogo em epígrafe foram liofilizadas (74,0 mg; 43%).

Caracterização dos análogos de Kahalalide F

A caracterização está apresentada na Tabela VI e VII. EM na Tabela VI corresponde a MALDI-TOF e a massa exacta foi calculada por Chemwind 6.0, e EM na Tabela VII corresponde a APCI em modo positivo.

Tabela VI

Análogo	Composto #	Cromatografia		t _R (min)	Massa exacta	Encontrado
		Cond.	Coluna			
[(4S) -MeHex ¹⁴] -KF	1	N	C	10,22	1476,93	1500,1/1516,0
[D-Thr ⁶]-KF	2	F	C	7,75	1476,90	1477,5/14995/1515,4
[D-Ser ⁶]-KF	3	F	C	7,26	1462,92	1463,4/1485,4/1501,4
[Glu ⁸]-KF	4	A	A	19,30	1491,90	1514,4/1530,4
[Lys ⁸]-KF	5	A	A	18,00	1490,95	1491,8/1513,7/1529,6
[Val ¹²]-KF	6	I	C	12,48	1474,95	1496,8/1513,8
[D-Thr ¹²]-KF	7	B	C	10,21	1476,93	1476,6/1498,6/1514,5
[D-Cha ¹³]-KF	8	I	C	10,28	1,530,98	1532,0/1553,0/1569,0
[hCh ¹¹]-KF	9	J	C	11,79	1544,99	1 544,6/1566,3/1582,3
[hCh ¹¹ , D-Cha ¹³]-KF	10	K	C	9,77	1599,04	1599,2/1621,3/1637,3
[D-Cha ⁴ , D-Cha ⁵ , D-Cha ⁷]-KF	11	M	E	6,44	1611,04	1612,1/1633,1/1649,1
[D-Val ⁵ , D-Val ⁷]-KF	12	B	A	8,56	1448,90	1448,5/1470,5/1486,4
[Icos ¹⁴]-KF	13	A	B	23,40	1659,14	1662,8/1683,7/1699,7
[(c/t) -4-Me-cHexa ¹⁴] -KF	14	A	A	18,80	1488,93	1490,9/1513,9/1528,9
[Und ¹⁴]-KF	15	A	A	23,60	1532,99	1535,5/1556,5/1572,3
[(4R) -MeHex ¹⁴] -KF	16	J	C	7,30	1476,93	1477,8/1499,8/1515,7
[(4RS) -MeHex ¹⁴] -KF	17	J	C	7,29	1476,93	1478,5/1500,5
[Oct ¹⁴]-KF	18	A	A	12,11	1490,95	1491,4/1512,4/1528,3
[p-MeBza ¹⁴]-KF	19	A	A	16,70	1482,88	1484,6/1,506,6/1522,6

(continuação)

Análogo	Composto #	Cromatografia		t _R (min)	Massa exacta	Encontrado
		Cond.	Coluna			
[Bza ¹⁴]-KF	20	A	A	17,10	1468,87	1470,5/1492,5/1508,5
[p-CF ₃ Bza ¹⁴]-KF	21	A	A	19,90	1536,86	1538,1/1560,0/1576,0
[3,5-dFPhAc ¹⁴]-KF	22	A	A	17,30	1518,87	1520,6/1542,6/1558,6
[Pipe ¹⁴]-KF	23	A	A	17,20	1512,86 1514,2/1537,2/1	552,1
[p-CF ₃ cinn ¹⁴]-KF	24	AE	A	8,17	1562,87 1564,3/1586,2/1	602,2
[p-CF ₃ PhAc ¹⁴]-KF	25	A	A	16,70	1550,87	1551,4/1574,4/1590,4
[Pfh ¹⁴]-KF	26	A	A	20,00	1710,81	1712,3/1734,3/1750,3
[6-OHep ¹⁴]-KF	27	A	A	13,80	1490,91	1492,6/1514,6/1531,6
[6,6-dFHep ¹⁴]-KF	28	N	A	9,52	1512,91	1514,5/1536,4/1552,4
[4-GuBut ¹⁴]-KF	29	A	A	12,70	1491,90	1493,311516,3/1532,3
[Lys ⁸ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	30	Q	C	9,04	1490,95	1492,5/1513,6/1529,5
[noVal ¹¹ , noThr ¹² , noD-Val ¹³]-KF	31	A	A	13,70	1,177,75 1177,75	1180,9/1202,9/1218,8
[noVal ¹¹ , noThr ¹² , noD-Val ¹³ , Mst ¹⁴]-KF	32	A	A	20,40	1275,86	1279,0/1301,0/1317,0
[Gly ¹³]-KF	33	T	E	12,70	1434,89	1436,5/1458,0171
[D-Ala ¹³]-KF	34	T	E	13,50	1,448,90	1450,5/1472,0/725,7
[D-Leu ¹³]-KF	35	T	E	15,70	1,490,95	1492,8/1514,9/746,8
[D-Phe ¹³]-KF	36	T	E	15,70	1524,93	1526,5/1548,9/763,9
[D-Pro ¹³]-KF	37	T	E	14,60	1474,92	1476,6/1498,1/739,0

(continuação)

Análogo	Composto #	Cromatografia		t _R (min)	Massa exacta	Encontrado
		Cond.	Coluna			
[Val ¹³]-KF	38	T	E	14,70	1476,93	1478,5/1500,9/739,9
[D-Glu ¹³]-KF	39	T	E	12,90	1506,91	1508,8/754,9
[D-Gln ¹³]-KF	40	T	E	12,10	1505,92	1506,6/1528,6
[D-Thr ¹³]-KF	41	AD	E	18,50	1,478,91	1480,6/1502,8/741,0
[Gly ¹¹]-KF	42	T	E	12,70	1434,89	1436,4/1458,9
[Phe ¹¹]-KF	43	W	E	39,70	1524,93	1526,6/1547,6
[Ala ¹¹]-KF	44	T	E	13,50	1448,90	1449,6/1471,6
[Leu ¹¹]-KF	45	U	E	25,70	1490,95	1491,7/1513,6
[D-Val ¹¹]-KF	46	V	E	26,50	1476,93	1477,6/1499,6
[Pro ¹¹]-KF	47	X	E	22,20	1474,92	1475,6/1497,6
[Gln ¹¹]-KF	48	AC	E	26,50	1505,92	1507,0/1528,9/754,4
[Orn ¹¹]-KF	49	Y	E	35,70	1491,94	1493,4/1515,1/747,5
[Thr ¹¹]-KF	50	AB	E	46,20	1478,91	1480,4/1501,7/740,9
[Glu ¹¹]-KF	51	Z	E	37,30	1506,91	1508,5/754,9
[Ala ¹² , noD-Val ¹³]-KF	52	W	E	37,00	1347,85	1348,6/1370,6
[Gly ¹² , noD-Val ¹³]-KF	53	W	E	36,60	1333,84	1335,4/1357,1
[Leu ¹² , noD-Val ¹³]-KF	54	W	E	40,80	1389,90	1391,5/1413,2
[Pro ¹² , noD-Val ¹³]-KF	55	W	E	39,50	1373,87	1375,4/1397,1
[Glu ¹² , noD-Val ¹³]-KF	56	W	E	36,10	1405,86	1406,6/1428,6
[Orn ¹² , noD-Val ¹³]-KF	57	W	E	31,30	1390,90	1392,8/1414,1/697,1

(continuação)

Análogo	Composto #	Cromatografia		t _R (min)	Massa exacta	Encontrado
		Cond.	Coluna			
[Gln ¹² , noD-Val ¹³]-KF	58	W	E	35,20	1404,87	1406,0/1428,0
[Pro ⁹ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	59	R	C	7,68	1476,83	1477,3/1499,3/1515,2
[D-Pip ⁹ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	60	R	C	7,45	1490,95	1492,2/1514,2/1530,2
[D-Tic ⁹ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	61	R	C	8,17	1538,95	1540,1/1562,1
[(5R)-Ph-Pro ⁹ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	62	R	C	8,15	1552,96	1554,2/1,576,2
[hCh ³]-KF	63	G	C	13,20	1496,99	1562,0/1584,0/1600,0
[D,L-Ser ²]-KF	64	B	C	11,15	1480,93	1481,1/1503,1
[Gly ²]-KF	65	C	E	4,27	1450,92	1450,5/1472,5/1488,4
[Aib ²]-KF	66	D	E	5,92	1478,95	1478,2/1500,2/1516,2
[Dha ²]-KF	67	E	E	4,43	1462,92	1463,3/1485,3/1503,2
[Trp ³]-KF	68	B	C	10,21	1515,94	1516,8/1538,8/1554,7
[D-Val ¹ , D-Phe ³ , Val ⁴ , allo-Ile ⁵ , allo-Thr ⁶ , allo-Ile ⁷ , D-Orn ⁸ , Pro ⁹ , Val ¹⁰ , D-Val ¹¹ , D-Thr ¹² , Val ¹³] KF	69	F	C	7,30	1476,93	1499,3/1515,3
[Phe(3,4-Cl ₂) ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	70	R	C	8,52	1544,85	1545,7/1567,6/1583,6
[Phe(F ₃) ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	71	R	C	8,46	1566,88	1567,6/1589,6/1605,6
[Phe(4-I) ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	72	R	C	8,32	1602,86	1603,6/1625,6/1641,6
[Phe(4-NO ₂) ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	73	R	C	7,48	1521,92	1528,8/1545,8
[Phe(4-F) ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	74	R	C	7,53	1494,92	1495,8/1517,9/1533,9
[Tyr(Me) ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	75	R	C	7,36	1506,94	1508,4/1530,4/1546,4

(continuação)

Análogo	Composto #	Cromatografia		t _R (min)	Massa exacta	Encontrado
		Cond.	Coluna			
[Thi ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	76	R	C	7,40	1482,89	1482,9/1504,9/1520,4
[Tic ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	77	R	C	7,85	1488,93	1489,4/1511,4/1527,4
[Tyr ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	78	R	C	6,44	1492,93	1493,7/1515,7/1531,7
[Oic ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	79	R	C	7,99	1480,96	1481,4/1503,4/1519,4
[NMePhe ³ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	80	R	C	8,29	1490,95	1491,6/1513,5
[Phe(2-Cl) ³]-KF	81	R	C	7,95	1510,89	1512,3/1534,3/1550,2
[Phe(3-Cl) ³]-KF	82	R	C	7,94	1510,89	1512,1/1534,0/1550,0
[Phe(4-Cl) ³]-KF	83	S	C	6,75	1510,89	1512,3/1534,3/1550,3
[Phe(3,4-F ₂) ³]-KF	84	R	C	7,70	1512,91	1514,3/1536,3/1552,3
[NaI ³]-KF	85	R	C	8,07	1526,95	1528,3/1550,2/1566,2
[BiP ³]-KF	86	R	C	8,70	1552,96	1554,3/1576,3/1592,3
[Phg ³]-KF	87	R	C	7,23	1,462,92	1464,2/1486,2/1502,1
[Phe(3,4-Cl ₂) ³ , p-CF ₃ Cinn ¹⁴]-KF	88	R	C	9,00	1630,79	1632,4
[N(Me) ₂ , N'(Me) ₂ -Arg ⁸]-KF	89	A	A	19,60	1575,02	1577,3/1599,3/1615,3
[N(Me,Ph), N'(Me) ₂ -Arg ⁸]-KF	90	A	A	21,10	1637,03	1639,4/1661,3/1676,3
[N(CH ₂) ₄ , N'(Me) ₂ -Arg ⁸]-KF	91	A	A	21,00	1,601,03	1602,7/1623,6/1640,6
[N(CH ₂) ₄ , N'(CH ₂) ₄ -Arg ⁸]-KF	92	A	A	20,80	1629,06	1630,8/1632,7/1
[N ⁵ (CHN(CH ₂) ₄ , N'(CH ₂) ₄ -Orn ⁸)-KF				20,90	1627,05	652,6/1670,6
[N ⁶ (Me) ₃ -Lys ⁸ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	93	R	C	7,69	1,534,00	1534,36

(continuação)

Análogo	Composto #	Cromatografia		t _R (min)	Massa exacta	Encontrado
		Cond.	Coluna			
[Thr(OTFA) ¹² , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	94	AF	C	6,18	1572,91 594,6/1612,5	1498,7/1514,7/1
[Orn(N ⁵ TFA) ⁸ , Thr(OTFA) ¹² , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	95	L	C	13,88	1668,90	1670,0/1677,0/1693,0/ 1574,0/1596,0
[Orn(N ⁵ TFA) ⁸ , (4S)-MeHex ¹⁴]-KF	96	L	C	11,42	1572,91	1574,0/1596,0/1612,0
[Thr(OTFA) ¹² , Lit(OTFA) ¹⁴]-KF	97	P	C	14,57	1915,09	1916,5/1938,6/1820,3/ 1842,4/1724,6/1746,5/ 1762,5
[no 5-MeHex ¹⁴ , N(Hep) ₂ -Val ¹³]-KF	98	A	A	16,97	1406,85	1407,8/1429,8/1446,8
[Orn(Biot) ⁸]-Kahalalide F	99	T	E	16,80	1703,01	1704,6/1727,0
[L-Val-d ₈ ¹¹]-KF	100	A	C	10,68	1484,98	1508,3/1,524,2
[AM ¹⁴]-KF	101	R	C	8,91	1,819,20	1820,2/1841,9/1857,9
[AO ¹⁴]-KF	102	R	C	11,07	1803,19	1803,9/1825,8/1841,8
[C(=N(CH ₃) ₂) ¹⁴]-KF	103	R	C	4,23	1462,93	1464,2/1486,2/1503,2
[D-Ile ⁷]-KF	104	R	C	7,35	1476,93	1478,5/1500,5/1517,5
[D-Val ⁷]-KF	105	R	C	7,14	1462,90	1464,2/1486,1/1502,1
[D-Orn ⁸ , L-Pro ⁹]-KF	106	R	C	7,80	1476,90	1477,7/1499,7/1515,7
[D-Cys ⁷ , L-Cys ¹¹]-KF	107	R	C	6,53	1470,80	1471,9/1493,9
[D-Cys ⁷ , D-Cys ¹⁰]-KF	108	R	C	6,48	1470,80	1471,9/1493,9/1510,9
[D-homoCys ⁷ , D-homoCys ¹⁰]-KF	109	R	C	6,96	1498,80	1499,9/1521,9/1538,9
[D-Val ¹]-KF	110	R	C	7,37	1476,90	1478,0

Table VII

Análogo	Exemplo#	Massa exacta	Encontrado
[Gly ¹²]-KF	111	1432,91	1434,1/1456,0
[Ala ¹²]-KF	112	1446,92	1447,4/1449,4
[Leu ¹²]-KF	113	1488,97	1490,2/1512,3/1529,2
[Phe ¹²]-KF	114	1522,95	1524,1/1546,2
[Glu ¹²]-KF	115	1504,93	1506,2/1528,3
[Orn ¹²]-KF	116	1489,96	1491,1/1513,2/1526,1
[Pro ¹²]-KF	117	1472,94	1474,3/1496,0
[D-Orn ¹³]-KF	118	1491,94	1493,4/1515,3
[Gln ¹²]-KF	119	1503,94	1505,2/1527,2

Exemplo 17**Atividade biológica**

A bioatividade dos compostos aqui descritos é demonstrada pelos resultados nas tabelas seguintes obtidos com a metodologia descrita a seguir:

A finalidade deste ensaio é interromper o crescimento de uma cultura de células tumorais *in vitro* por meio de uma apresentação continuada das células à amostra a ser testada.

Linhas celulares

NOME	Nº ATCC	ESPÉCIE	TECIDO	CARACTERÍSTICAS
A-549	CCL-185	humana	pulmão	carcinoma do pulmão "NSCL"
SK-MEL-28	HTB-72	humana	melanoma	melanoma maligno
HT-29	HTB-38	humana	cólon	adenocarcinoma do cólon
LoVo	CCL-229	humana	cólon	adenocarcinoma do cólon
LoVo-Dox		humana	cólon	adenocarcinoma do cólon (MDR)
DU-145	HTB-81	humana	próstata	carcinoma da próstata, sem receptores de androgénios
LNCap	CRL-1740	humana	próstata	carcinoma da próstata, com receptores de androgénios
SK-BR-3	HTB-30	humana	mama	adenocarcinoma da mama, Her2/neu+, (efusão pleural)
IGROV-1		humana	ovário	adenocarcinoma do ovário
IGROV-ET		humana	ovário	adenocarcinoma do ovário, caracterizado como células resistentes a ET-743
SK-OV-3	HTB-77	humana	ovário	adenocarcinoma do ovário (ascite maligna)
HeLa	CCL-2	humana	colo do útero	carcinoma epitelóide do colo do útero
HeLa-APL	CCL-3	humana	colo do útero	carcinoma epitelóide do colo do útero, caracterizado como células resistentes a aplidina
K-562	CCL-243	humana	medula óssea	leucemia mielogénea crónica
PANC-1	CRL-1469	humana	pâncreas	carcinoma epitelóide do pâncreas
HMEC-1		humana	endotélio	

Um ensaio de tipo colorimétrico, utilizando a reacção da sulforrodamina B (SRB) foi adaptado para uma determinação quantitativa do crescimento e viabilidade celular [seguindo a técnica descrita por Philip Skehan *et al.* (1990), New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening, *J. Natl. Cancer Inst.*, 82:1107-1112].

Esta forma do ensaio utiliza microplacas de cultura de células com 96 poços de 9 mm de diâmetro (Faircloth, 1988; Mosmann, 1983). A maioria das linhas celulares são obtidas da American Type Culture Collection (ATCC) derivadas de diferentes tipos de cancros humanos.

As células são mantidas em RPMI 1640 com FBS a 10%, suplementado com 0,1 g/L de penicilina e 0,1 g/L de sulfato de estreptomicina e depois incubadas a 37°C, 5% de CO₂ e 98% de humidade. Para as experiências, as células foram colhidas de culturas subconfluentes utilizando tripsina e ressuspensas em meio fresco antes de serem colocadas nas placas.

As células são cultivadas em placas de microtitulação com 96 poços, a 5×10^3 células por poço em alíquotas de 195 µL de meio, e deixa-se que se fixem à superfície da placa por cultura em meio isento de fármaco

durante 18 horas. Em seguida, as amostras são adicionadas em alíquotas de 5 µL numa gama de 10 a 10⁻⁸ µg/mL, dissolvidas em DMSO:EtOH:PBS (0,5:0,5:99). Após uma exposição de 48 horas, o efeito antitumoral é medido pela metodologia de SRB: as células são fixadas por adição de 50 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 50% (p/vol) frio e incubação durante 60 minutos a 4°C. As placas são lavadas com água desionizada e secas. Cem µL de solução de SRB (0,4% p/vol em ácido acético a 1%) são adicionados a cada poço da placa de microtitulação e incubadas durante 10 minutos à temperatura ambiente. O SRB não ligado é removido por lavagem com ácido acético a 1%. As placas são secas ao ar e o corante ligado é solubilizado com tampão Tris. As densidades ópticas são lidas num leitor espectrofotométrico de placas automatizado num só comprimento de onda de 490 nm.

Calcula-se os valores da média ± DP dos dados de poços em triplicado. Podem ser calculados alguns parâmetros de respostas celulares: GI = inibição do crescimento, TGI = inibição total do crescimento (efeito citostático) e LC = morte celular (efeito citotóxico).

As Tabelas VIII e IX apresentam dados sobre a actividade biológica dos compostos da presente invenção.

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar)

		DU-145	LN-caP	SKOV-3	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28	H-MEC-1
1	GI50	3,27E-07	9,00E-07	-	1,58E-07	1,35E-07	4,34E-08	3,15E-07	-
	TGI	8,80E-07	2,14E-06	-	3,19E-07	2,89E-07	9,27E-08	4,10E-07	-
	LC50	2,54E-06	5,08E-06	-	6,41E-07	6,19E-07	4,69E-07	2,10E-06	-
2	GI50	5,29E-06	2,13E-06	-	1,99E-06	1,60E-06	4,47E-06	6,77E-06	-
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	-	5,33E-06	3,80E-06	6,77E-06	6,77E-06	-
	LC50	6,77E-06	6,77E-06	-	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	-
3	GI50	8,33E-07	3,72E-07	-	4,55E-07	2,64E-07	4,06E-07	1,57E-06	-
	TGI	1,69E-06	1,12E-06	-	1,27E-06	6,38E-07	6,23E-07	2,66E-06	-
	LC50	3,44E-06	2,94E-06	-	3,16E-06	2,11E-06	2,45E-06	4,53E-06	-
4	GI50	1,03E-06	3,71E-07	1,95E-07	4,90E-07	8,17E-07	-	2,95E-06	-
	TGI	2,00E-06	1,19E-06	5,85E-07	1,29E-06	1,69E-06	-	6,70E-06	-
	LC50	3,88E-06	3,62E-06	2,26E-06	3,31E-06	3,52E-06	-	6,70E-06	-
5	GI50	1,81E-08	1,42E-08	1,96E-07	1,83E-07	2,40E-07	1,69E-07	8,11E-07	1,56E-08
	TGI	3,20E-08	2,61E-08	4,08E-07	3,71E-07	4,88E-07	3,06E-07	1,87E-06	2,63E-08
	LC50	5,69E-08	4,79E-08	1,49E-06	1,23E-06	2,83E-06	5,54E-07	4,30E-06	4,46E-08
6	GI50	1,65E-07	3,13E-07	-	1,50E-07	1,54E-07	1,02E-07	1,75E-07	-
	TGI	2,94E-07	1,00E-06	-	2,99E-07	2,91E-07	2,22E-07	2,94E-07	-
	LC50	5,23E-07	2,78E-06	-	5,98E-07	5,49E-07	4,82E-07	4,92E-07	-
7	GI50	6,77E-06	6,04E-06	-	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	-
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	-	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	-
	LC50	6,77E-06	6,77E-06	-	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	-
8	GI50	1,33E-06	2,79E-06	-	1,04E-06	6,52E-07	4,84E-07	1,45E-06	-
	TGI	2,38E-06	6,53E-06	-	2,11E-06	1,44E-06	1,25E-06	2,42E-06	-
	LC50	4,26E-06	6,53E-06	-	4,29E-06	3,16E-06	3,17E-06	4,02E-06	-
9	GI50	4,55E-07	9,25E-07	-	2,37E-07	2,78E-07	1,49E-07	3,21E-07	-
	TGI	1,24E-06	2,33E-06	-	7,76E-07	8,09E-07	3,66E-07	9,44E-07	-
	LC50	3,28E-06	5,85E-06	-	3,31E-06	2,94E-06	1,36E-06	2,62E-06	-
10	GI50	4,29E-06	4,89E-06	-	1,99E-06	2,23E-06	1,31E-06	3,10E-06	-
	TGI	6,25E-06	6,25E-06	-	3,84E-06	4,56E-06	2,32E-06	6,25E-06	-
	LC50	6,25E-06	6,25E-06	-	6,25E-06	6,25E-06	4,16E-06	6,25E-06	-
11	GI50	2,20E-07	6,45E-07	-	1,90E-07	1,33E-07	1,06E-07	4,55E-07	-
	TGI	8,56E-07	1,40E-06	-	5,67E-07	3,03E-07	2,52E-07	1,28E-06	-
	LC50	2,64E-06	3,01E-06	-	2,99E-06	1,29E-06	5,99E-07	3,03E-06	-
12	GI50	1,61E-06	2,80E-06	-	1,85E-06	1,79E-06	1,74E-06	1,68E-06	-
	TGI	2,82E-06	3,79E-06	-	3,01E-06	2,97E-06	3,06E-06	3,12E-06	-
	LC50	4,92E-06	5,14E-06	-	4,93E-06	4,93E-06	5,38E-06	5,78E-06	-
13	GI50	1,28E-06	1,21E-06	-	1,36E-06	1,66E-06	8,61E-07	1,25E-06	-
	TGI	2,28E-06	2,39E-06	-	2,52E-06	2,81E-06	1,86E-06	2,21E-06	-
	LC50	4,04E-06	4,73E-06	-	4,68E-06	4,79E-06	3,99E-06	3,93E-06	-

14	GI50	6,12E-07	1,34E-06	-	3,82E-07	8,46E-07	1,52E-07	8,86E-07	-
	TGI	1,48E-06	2,87E-06	-	1,22E-06	1,94E-06	3,17E-07	1,89E-06	-
	LC50	3,36E-06	6,11E-06	-	3,47E-06	4,47E-06	6,57E-07	4,01E-06	-

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		A-549	K-562	PANC-1	HT-29	LOVO	LOVO-DOX	HELA	HELA-APL
1	GI50	9,07E-07	1,62E-06	1,82E-06	9,54E-08	1,16E-07	6,36E-08	2,54E-07	5,56E-07
	TGI	2,05E-06	2,96E-06	3,66E-06	2,18E-07	2,42E-07	2,29E-07	7,38E-07	1,52E-06
	LC50	4,63E-06	5,40E-06	6,77E-06	4,98E-07	5,02E-07	1,43E-06	2,56E-06	3,81E-06
2	GI50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	3,06E-06	6,77E-06	6,77E-06
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
	LC50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
3	GI50	1,36E-06	5,08E-06	3,08E-06	3,78E-07	1,89E-07	1,79E-07	1,35E-06	1,37E-06
	TGI	2,46E-06	6,83E-06	6,83E-06	1,22E-06	3,64E-07	3,37E-07	2,64E-06	2,28E-06
	LC50	4,47E-06	6,83E-06	6,83E-06	3,52E-06	7,58E-07	6,37E-07	5,21E-06	3,78E-06
4	GI50	1,77E-06	2,11E-06	1,82E-06	8,84E-07	3,48E-07	7,57E-07	-	-
	TGI	4,02E-06	5,10E-06	3,46E-06	2,00E-06	6,45E-07	1,77E-06	-	-
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	6,60E-06	4,55E-06	2,65E-06	4,15E-06	-	-
5	GI50	1,29E-07	7,71E-07	1,14E-06	1,58E-07	1,55E-07	1,62E-07	-	-
	TGI	2,75E-07	1,65E-06	2,37E-06	2,81E-07	2,71E-07	2,98E-07	-	-
	LC50	5,82E-07	3,55E-06	4,92E-06	4,98E-07	4,78E-07	5,52E-07	-	-
6	GI50	2,57E-07	6,61E-07	1,02E-06	1,48E-07	1,33E-07	1,59E-07	1,44E-07	3,79E-07
	TGI	8,54E-07	1,44E-06	1,96E-06	2,68E-07	2,48E-07	2,83E-07	2,63E-07	1,04E-06
	LC50	2,36E-06	3,07E-06	3,80E-06	4,85E-07	4,63E-07	5,03E-07	4,80E-07	3,11E-06
7	GI50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	5,14E-06	6,77E-06	6,77E-06
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
	LC50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
8	GI50	1,97E-06	1,93E-06	6,53E-06	9,92E-07	1,01E-06	9,86E-07	1,40E-06	1,70E-06
	TGI	4,18E-06	4,92E-06	6,53E-06	1,99E-06	1,96E-06	2,09E-06	2,30E-06	2,87E-06
	LC50	6,53E-06	6,53E-06	6,53E-06	3,99E-06	3,82E-06	4,43E-06	3,80E-06	4,86E-06
9	GI50	1,84E-07	1,72E-06	2,25E-06	8,60E-08	9,57E-08	5,07E-08	3,56E-07	3,91E-07
	TGI	4,48E-07	3,39E-06	5,27E-06	1,92E-07	1,93E-07	1,30E-07	1,12E-06	1,20E-06
	LC50	1,64E-06	6,47E-06	6,47E-06	4,29E-07	3,90E-07	3,05E-07	2,92E-06	2,75E-06
10	GI50	3,56E-06	6,25E-06	-	1,06E-06	1,12E-06	5,37E-07	2,67E-06	3,67E-06
	TGI	6,25E-06	6,25E-06	-	1,96E-06	2,27E-06	1,30E-06	6,25E-06	6,25E-06
	LC50	6,25E-06	6,25E-06	-	3,58E-06	4,59E-06	2,94E-06	6,25E-06	6,25E-06
11	GI50	1,32E-07	1,58E-06	1,43E-06	9,74E-08	9,74E-08	8,19E-08	2,23E-07	2,11E-07
	TGI	2,60E-07	2,56E-06	2,74E-06	1,91E-07	1,99E-07	1,64E-07	8,93E-07	8,31E-07
	LC50	5,11E-07	4,14E-06	5,25E-06	3,77E-07	4,06E-07	3,26E-07	2,55E-06	2,32E-06
12	GI50	2,17E-06	3,19E-06	4,67E-06	1,29E-06	1,26E-06	9,52E-07	1,75E-06	3,02E-06
	TGI	6,68E-06	5,46E-06	6,90E-06	2,51E-06	2,28E-06	1,97E-06	2,98E-06	6,01E-06

	LC50	6,90E-06	6,90E-06	6,90E-06	4,88E-06	4,13E-06	4,08E-06	5,07E-06	6,90E-06
13	GI50	1,18E-06	1,23E-06	2,02E-06	1,26E-06	9,03E-07	-	1,40E-06	1,25E-06
	TGI	2,13E-06	2,42E-06	5,48E-06	2,32E-06	1,79E-06	-	2,71E-06	2,23E-06
	LC50	3,82E-06	4,71E-06	6,02E-06	4,28E-06	3,58E-06	-	5,25E-06	3,98E-06
14	GI50	9,33E-07	2,02E-06	2,01E-06	1,89E-07	9,93E-08	1,44E-07	7,79E-07	6,11E-07
	TGI	2,15E-06	3,58E-06	6,71E-06	4,22E-07	2,34E-07	2,88E-07	1,84E-06	1,72E-06
	LC50	4,95E-06	6,32E-06	6,71E-06	1,83E-06	5,50E-07	5,76E-07	4,37E-06	4,56E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		DU-145	LN-caP	SKOV-3	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
15	GI50	1,62E-07	5,29E-07	-	1,58E-07	2,35E-07	2,67E-08	1,69E-07
	TGI	3,53E-07	1,44E-06	-	3,72E-07	8,41E-07	7,43E-08	4,45E-07
	LC50	1,04E-06	3,48E-06	-	1,54E-06	3,34E-06	4,68E-07	2,04E-06
16	GI50	1,20E-06	1,50E-06	-	9,41E-07	8,05E-07	1,25E-06	1,14E-06
	TGI	2,14E-06	2,46E-06	-	1,81E-06	1,62E-06	2,20E-06	2,09E-06
	LC50	3,82E-06	4,04E-06	-	3,50E-06	3,26E-06	3,86E-06	3,80E-06
17	GI50	2,52E-07	9,34E-07	-	1,85E-07	2,09E-07	1,62E-07	1,30E-06
	TGI	8,39E-07	2,10E-06	-	3,96E-07	4,24E-07	3,14E-07	2,54E-06
	LC50	2,65E-06	4,75E-06	-	1,49E-06	1,84E-06	6,06E-07	4,96E-06
18	GI50	1,49E-07	4,02E-07	-	1,68E-07	1,47E-07	1,21E-07	6,70E-07
	TGI	6,70E-07	1,34E-06	-	3,02E-07	3,02E-07	3,02E-07	1,14E-06
	LC50	1,47E-06	3,35E-06	-	1,07E-06	2,01E-06	5,36E-07	1,68E-06
19	GI50	7,75E-07	1,02E-06	-	3,43E-07	4,39E-07	1,70E-07	1,16E-06
	TGI	1,73E-06	2,55E-06	-	1,37E-06	1,44E-06	3,77E-07	2,24E-06
	LC50	3,87E-06	6,42E-06	-	4,23E-06	4,07E-06	1,40E-06	4,31E-06
20	GI50	9,39E-07	1,18E-06	-	7,14E-07	7,55E-07	3,20E-07	1,20E-06
	TGI	1,99E-06	2,87E-06	-	1,73E-06	1,78E-06	1,16E-06	2,26E-06
	LC50	4,25E-06	6,80E-06	-	4,20E-06	4,20E-06	3,38E-06	4,23E-06
21	GI50	2,41E-07	3,39E-07	-	1,77E-07	1,69E-07	1,11E-07	8,97E-07
	TGI	1,22E-06	1,30E-06	-	7,22E-07	7,61E-07	2,46E-07	1,85E-06
	LC50	3,28E-06	3,52E-06	-	3,45E-06	2,83E-06	5,43E-07	3,80E-06
22	GI50	1,43E-06	1,64E-06	-	9,80E-07	1,07E-06	4,64E-07	2,50E-06
	TGI	6,58E-06	6,58E-06	-	2,12E-06	2,32E-06	1,45E-06	6,58E-06
	LC50	6,58E-06	6,58E-06	-	4,57E-06	5,01E-06	3,64E-06	6,58E-06
23	GI50	-	-	-	-	-	-	-
	TGI	-	-	-	-	-	-	-
	LC50	-	-	-	-	-	-	-
24	GI50	4,77E-08	9,78E-08	5,95E-08	9,98E-08	3,32E-08	-	1,89E-07
	TGI	1,30E-07	2,65E-07	1,52E-07	2,39E-07	6,29E-08	-	3,98E-07
	LC50	3,41E-07	1,25E-06	3,70E-07	5,70E-07	2,92E-07	-	1,63E-06
25	GI50	2,51E-07	3,20E-07	1,26E-07	2,52E-07	2,00E-07	-	1,40E-06

	TGI	7,86E-07	1,19E-06	3,29E-07	4,54E-07	3,23E-07	-	2,14E-05
	LC50	2,38E-06	3,66E-06	1,13E-06	1,96E-06	5,21E-07	-	4,06E-06
26	GI50	5,96E-07	9,00E-07	-	6,48E-07	1,99E-07	1,44E-07	7,54E-07
	TGI	1,41E-06	1,72E-06	-	1,48E-06	5,14E-07	4,92E-07	1,50E-06
	LC50	3,35E-06	3,28E-06	-	3,36E-06	2,04E-06	2,18E-06	2,96E-06
27	GI50	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06	3,16E-06	6,70E-06
	TGI	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
28	GI50	2,15E-07	3,63E-07	1,45E-07	3,34E-07	2,28E-07	-	1,47E-06
	TGI	5,59E-07	1,09E-06	3,36E-07	7,86E-07	3,59E-07	-	2,55E-06
	LC50	2,09E-06	3,10E-06	1,01E-06	2,55E-06	5,68E-07	-	4,41E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		A-549	K-562	PANC-1	HT-29	LOVO	LOVO-DOX	HELA	HELA-APL
15	GI50	1,43E-07	1,15E-06	1,23E-06	1,27E-07	1,17E-07	4,08E-08	1,20E-07	2,29E-07
	TGI	3,39E-07	2,18E-06	2,28E-06	2,70E-07	2,67E-07	1,65E-07	2,65E-07	8,47E-07
	LC50	1,69E-06	4,10E-06	4,20E-06	5,74E-07	6,04E-07	4,78E-07	5,88E-07	3,55E-06
16	GI50	1,20E-06	3,73E-06	4,70E-06	7,38E-07	2,48E-07	2,88E-07	1,05E-06	1,56E-06
	TGI	2,26E-06	6,77E-06	4,24E-06	1,54E-06	7,78E-07	7,71E-07	1,93E-06	3,47E-06
	LC50	4,24E-06	6,77E-06	4,24E-06	3,22E-06	2,28E-06	2,19E-06	3,55E-06	6,77E-06
17	GI50	2,40E-07	2,37E-06	3,82E-06	1,47E-07	1,41E-07	1,80E-07	7,44E-07	7,58E-07
	TGI	7,51E-07	4,07E-06	6,77E-06	2,84E-07	2,67E-07	3,66E-07	1,71E-06	1,86E-06
	LC50	2,89E-06	6,77E-06	6,77E-06	5,50E-07	5,03E-07	1,27E-06	3,92E-06	4,59E-06
18	GI50	1,34E-07	2,41E-06	2,01E-06	2,01E-07	1,88E-07	1,07E-07	2,88E-07	5,36E-07
	TGI	2,82E-07	3,02E-06	3,35E-06	3,22E-07	2,68E-07	1,68E-07	8,04E-07	1,07E-06
	LC50	1,21E-06	4,02E-06	6,03E-06	5,36E-07	4,02E-07	3,35E-07	1,68E-06	3,35E-06
19	GI50	7,75E-07	7,62E-07	2,06E-06	3,14E-07	1,20E-07	-	8,49E-07	9,23E-07
	TGI	1,71E-06	2,01E-06	6,74E-06	1,12E-06	2,35E-07	-	1,95E-06	2,00E-06
	LC50	3,76E-06	5,30E-06	6,74E-06	3,42E-06	4,58E-07	-	4,48E-06	4,36E-06
20	GI50	9,52E-07	3,05E-07	3,79E-06	6,94E-07	1,28E-07	-	1,11E-06	1,01E-06
	TGI	1,95E-06	2,12E-06	6,80E-06	1,64E-06	3,03E-07	-	2,30E-06	2,08E-06
	LC50	3,97E-06	6,80E-06	6,80E-06	3,88E-06	8,10E-07	-	4,76E-06	4,27E-06
21	GI50	1,46E-07	6,50E-06	1,30E-06	1,14E-07	9,17E-08	-	3,19E-07	5,04E-07
	TGI	4,06E-07	6,50E-06	3,11E-06	2,59E-07	1,92E-07	-	1,28E-06	1,48E-06
	LC50	1,68E-06	6,50E-06	6,50E-06	5,85E-07	4,04E-07	-	3,91E-06	3,67E-06
22	GI50	1,17E-06	6,58E-06	5,45E-06	8,88E-07	2,88E-07	-	1,29E-06	1,96E-06
	TGI	2,16E-06	6,58E-06	6,58E-06	1,94E-06	1,06E-06	-	3,28E-06	6,58E-06
	LC50	3,99E-06	6,58E-06	6,58E-06	4,25E-06	3,11E-06	-	6,58E-06	6,58E-06
23	GI50	6,61E-07	-	-	1,32E-07	-	-	-	-
	TGI	1,98E-06	-	-	3,30E-07	-	-	-	-
	LC50	4,62E-06	-	-	5,28E-07	-	-	-	-

24	GI50	1,20E-07	8,82E-07	1,32E-06	1,38E-07	1,12E-07	5,73E-08	-	-
	TGI	3,73E-07	1,84E-08	2,34E-06	2,54E-07	2,25E-07	1,81E-07	-	-
	LC50	4,02E-08	3,80E-08	4,16E-06	4,69E-07	4,54E-07	5,67E-07	-	-
25	GI50	2,97E-07	1,42E-06	1,58E-06	5,55E-07	2,03E-07	1,76E-07	-	-
	TGI	9,67E-07	3,06E-06	3,07E-06	1,41E-06	4,59E-07	3,92E-07	-	-
	LC50	3,24E-06	6,44E-06	5,96E-06	3,32E-06	1,61E-06	1,43E-06	-	-
26	GI50	6,84E-07	1,33E-06	2,01E-06	2,03E-07	6,54E-07	1,31E-07	7,01E-07	4,55E-07
	TGI	1,48E-06	2,33E-06	5,50E-06	4,55E-07	1,38E-06	2,52E-07	1,57E-06	1,33E-06
	LC50	3,19E-06	4,07E-06	5,84E-06	1,89E-06	2,99E-06	4,84E-07	3,51E-06	3,52E-06
27	GI50	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	3,50E-06	2,14E-06	6,70E-06	6,70E-06
	TGI	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
28	GI50	3,28E-07	1,88E-06	1,48E-06	6,49E-07	1,96E-07	1,72E-07	-	-
	TGI	1,04E-08	2,99E-04	2,52E-06	1,54E-06	3,70E-07	3,18E-07	-	-
	LC50	4,25E-08	4,75E-06	4,30E-06	3,63E-06	8,72E-07	5,86E-05	-	-

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		DU-145	LN-caP	SKOV-3	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
29	GI50	6,70E-06	3,91E-06	-	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
	TGI	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06
30	GI50	3,29E-07	8,04E-07	-	2,05E-07	1,92E-07	1,59E-07	1,19E-06
	TGI	1,15E-06	1,72E-06	-	3,87E-07	3,50E-07	3,04E-07	2,39E-06
	LC50	4,20E-06	3,68E-06	-	1,09E-06	6,37E-07	5,79E-07	4,78E-06
31	GI50	3,30E-06	1,94E-06	2,21E-06	2,69E-06	2,69E-06	-	4,21E-06
	TGI	6,37E-06	3,79E-06	5,03E-06	4,10E-06	4,07E-06	-	8,49E-06
	LC50	8,49E-06	7,39E-06	8,49E-06	6,25E-06	6,18E-06	-	8,49E-06
32	GI50	2,12E-06	1,42E-06	2,34E-06	2,29E-06	2,06E-06	-	2,08E-06
	TGI	3,80E-06	3,08E-06	6,27E-06	3,56E-06	3,26E-06	-	3,63E-06
	LC50	6,81E-06	6,67E-06	7,83E-06	5,51E-06	5,16E-06	-	6,34E-06
33	GI50	6,96E-06	-	-	6,96E-06	5,27E-06	-	6,32E-06
	TGI	6,96E-06	-	-	6,96E-06	6,96E-06	-	6,96E-06
	LC50	6,96E-06	-	-	6,96E-06	6,96E-06	-	6,96E-06
34	GI50	2,21E-06	-	-	1,41E-06	1,58E-06	-	1,81E-06
	TGI	3,26E-06	-	-	2,38E-06	2,56E-06	-	3,01E-06
	LC50	4,79E-06	-	-	4,03E-06	4,14E-06	-	5,00E-06
35	GI50	9,05E-07	-	-	7,17E-07	6,84E-07	-	1,17E-06
	TGI	1,79E-06	-	-	1,53E-06	1,49E-06	-	2,10E-06
	LC50	3,53E-06	-	-	3,24E-06	3,26E-06	-	3,79E-06
36	GI50	2,66E-07	-	-	1,44E-07	8,52E-07	-	1,54E-07
	TGI	6,75E-07	-	-	9,90E-07	1,74E-06	-	7,21E-07

	LC50	2,49E-06	-	-	2,50E-06	3,55E-06	-	2,20E-06
37	GI50	2,28E-07	-	-	1,65E-07	1,21E-06	-	7,66E-08
	TGI	5,81E-07	-	-	8,27E-07	2,24E-06	-	2,76E-07
	LC50	1,96E-06	-	-	2,55E-06	4,15E-06	-	1,30E-06
38	GI50	1,66E-06	-	-	1,01E-06	1,97E-06	-	8,05E-07
	TGI	2,65E-06	-	-	1,89E-06	2,97E-06	-	1,68E-06
	LC50	4,22E-06	-	-	3,53E-06	4,49E-06	-	3,55E-06
39	GI50	3,48E-06	-	-	1,33E-06	1,29E-06	-	3,39E-06
	TGI	6,63E-06	-	-	2,33E-06	2,29E-06	-	6,63E-06
	LC50	6,63E-06	-	-	4,11E-06	4,09E-06	-	6,63E-06
40	GI50	1,79E-06	-	-	1,04E-06	1,31E-06	-	1,22E-06
	TGI	3,06E-06	-	-	1,94E-06	2,24E-06	-	2,27E-06
	LC50	5,24E-06	-	-	3,62E-06	3,79E-06	-	4,20E-06
41	GI50	1,00E-06	2,28E-06	-	7,77E-07	5,15E-07	-	1,23E-06
	TGI	1,93E-06	6,76E-06	-	1,56E-06	1,35E-06	-	2,20E-06
	LC50	3,73E-06	6,76E-06	-	3,13E-06	3,16E-06	-	3,96E-06
42	GI50	6,96E-06	3,03E-06	-	4,61E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06
	TGI	6,96E-06	6,96E-06	-	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06
	LC50	6,96E-06	6,96E-06	-	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		A-549	K-562	PANC-1	HT-29	LOVO	LOVO-DOX	HELA	HELA-APL
29	GI50	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	5,45E-06	-	6,70E-06	6,70E-06
	TGI	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	-	6,70E-06	6,70E-06
30	GI50	1,04E-06	1,02E-06	2,17E-06	1,73E-07	1,35E-07	1,64E-07	2,12E-07	6,77E-07
	TGI	2,24E-06	2,28E-06	5,28E-06	2,99E-07	2,45E-07	3,24E-07	5,42E-07	1,76E-06
	LC50	4,81E-06	5,07E-06	6,70E-06	5,17E-07	4,44E-07	6,39E-07	2,47E-06	4,58E-06
31	GI50	5,91E-06	2,21E-06	2,12E-06	8,49E-06	8,49E-06	2,38E-06	-	-
	TGI	8,49E-06	4,26E-06	3,63E-06	8,49E-06	8,49E-06	4,00E-06	-	-
	LC50	8,49E-06	8,18E-06	6,23E-06	8,49E-06	8,49E-06	6,75E-06	-	-
32	GI50	5,19E-06	1,91E-06	1,78E-06	7,66E-06	7,83E-06	2,15E-06	-	-
	TGI	7,83E-06	4,21E-06	3,12E-06	7,83E-06	7,83E-06	3,66E-06	-	-
	LC50	7,83E-06	7,83E-06	5,49E-06	7,83E-06	7,83E-06	6,21E-06	-	-
33	GI50	9,82E-07	6,96E-06	3,85E-07	4,51E-06	3,99E-06	4,85E-06	9,54E-07	6,96E-06
	TGI	3,08E-06	6,96E-06	1,70E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	3,22E-06	6,96E-06
	LC50	6,96E-06	6,96E-06	5,04E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06
34	GI50	1,98E-06	1,34E-06	1,28E-06	1,25E-06	9,04E-07	3,50E-07	1,46E-06	1,59E-06
	TGI	3,20E-06	2,66E-06	2,58E-06	2,32E-06	1,77E-06	9,73E-07	2,43E-06	2,63E-06
	LC50	5,17E-06	5,25E-06	5,21E-06	4,30E-06	2,98E-06	2,48E-06	4,06E-06	4,34E-06
35	GI50	1,24E-07	1,23E-06	7,51E-07	7,71E-07	2,00E-07	1,58E-07	8,78E-07	1,33E-08

	TGI	9,58E-07	2,30E-06	1,87E-06	1,62E-06	8,04E-07	3,46E-07	1,74E-07	1,31E-06
	LC50	2,65E-06	4,28E-06	4,67E-06	3,39E-06	2,28E-06	8,71E-07	3,43E-06	6,70E-06
36	GI50	4,81E-09	4,20E-07	6,62E-09	3,98E-07	1,36E-07	3,00E-07	7,86E-09	8,19E-08
	TGI	5,14E-08	1,25E-06	2,73E-08	1,21E-06	9,63E-07	9,63E-07	9,50E-08	6,55E-06
	LC50	9,90E-07	2,90E-06	9,76E-07	2,84E-06	2,44E-06	2,15E-06	7,01E-07	6,55E-06
37	GI50	1,74E-08	6,84E-07	1,54E-08	3,91E-07	1,14E-07	1,78E-06	1,29E-08	8,88E-07
	TGI	3,90E-08	1,48E-06	3,12E-08	6,78E-06	1,02E-06	4,30E-06	2,83E-08	2,01E-06
	LC50	8,13E-07	3,20E-06	6,28E-08	6,78E-06	2,97E-06	6,78E-06	6,20E-08	4,55E-06
38	GI50	3,07E-07	1,28E-06	2,54E-08	1,16E-06	1,29E-06	1,12E-06	4,60E-08	1,85E-06
	TGI	9,88E-07	2,28E-06	1,20E-07	2,12E-06	2,40E-06	1,94E-06	1,55E-07	2,88E-06
	LC50	2,44E-06	4,05E-06	9,88E-07	3,88E-06	4,47E-06	3,36E-06	5,83E-07	4,49E-06
39	GI50	4,41E-06	1,27E-06	4,10E-06	1,20E-06	8,89E-07	8,89E-07	4,18E-06	2,75E-06
	TGI	6,63E-06	2,47E-06	6,63E-06	2,16E-06	1,72E-06	1,70E-06	6,63E-06	6,63E-06
	LC50	6,63E-06	4,82E-06	6,63E-06	3,87E-06	3,34E-06	3,26E-06	6,63E-06	6,63E-06
40	GI50	3,18E-07	1,23E-06	1,30E-07	9,49E-07	6,64E-07	2,67E-07	6,42E-07	2,28E-06
	TGI	7,83E-07	2,34E-06	3,01E-07	1,87E-06	1,41E-06	8,23E-07	1,58E-06	5,94E-06
	LC50	2,45E-06	4,42E-06	8,63E-07	3,69E-06	2,98E-06	2,23E-06	3,86E-06	6,64E-06
41	GI50	1,63E-06	5,85E-06	2,69E-06	7,30E-07	1,55E-07	1,26E-07	1,02E-06	1,24E-06
	TGI	2,72E-06	6,76E-06	6,76E-06	1,57E-06	7,23E-07	2,53E-07	2,00E-06	2,15E-06
	LC50	4,53E-06	6,76E-06	6,76E-06	3,41E-06	2,90E-06	5,09E-07	3,94E-06	3,74E-06
42	GI50	6,96E-06	1,82E-06	5,08E-06	6,96E-06	3,87E-06	-	6,96E-06	6,96E-06
	TGI	6,96E-06	4,37E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	-	6,96E-06	6,96E-06
	LC50	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	6,96E-06	-	6,96E-06	6,96E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		DU-145	LN-caP	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
43	GI50	4,76E-07	8,52E-07	2,41E-07	2,33E-07	1,19E-07	7,80E-07
	TGI	1,34E-06	1,97E-06	7,67E-07	6,28E-07	2,75E-07	1,66E-06
	LC50	3,22E-06	4,55E-06	3,68E-06	2,53E-06	6,34E-07	3,57E-06
44	GI50	3,03E-06	2,78E-06	1,43E-06	1,50E-06	1,19E-06	3,69E-06
	TGI	6,90E-06	6,90E-06	2,86E-06	2,95E-06	2,52E-06	6,90E-06
	LC50	6,90E-06	6,90E-06	5,72E-06	5,77E-06	5,30E-06	6,90E-06
45	GI50	7,31E-07	1,02E-06	3,32E-07	4,21E-07	1,63E-07	1,03E-06
	TGI	1,61E-06	2,35E-06	1,23E-06	1,30E-06	4,10E-07	2,05E-06
	LC50	3,54E-06	5,44E-06	4,02E-06	3,69E-06	1,68E-06	4,11E-06
46	GI50	2,43E-06	2,42E-06	1,50E-06	1,67E-06	1,35E-06	6,77E-06
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	3,55E-06	3,62E-06	2,75E-06	6,77E-06
	LC50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	5,62E-06	6,77E-06
47	GI50	6,78E-06	3,45E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06
	TGI	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06
	LC50	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06

48	GI50	6,64E-06	3,10E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06
	TGI	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06
	LC50	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06
49	GI50	1,09E-06	2,20E-06	1,27E-06	1,91E-06	1,94E-06	1,33E-06
	TGI	2,50E-06	6,70E-06	2,75E-06	5,15E-06	5,57E-06	2,50E-06
	LC50	5,75E-06	6,70E-06	5,97E-06	6,70E-06	6,70E-06	4,69E-06
50	GI50	6,70E-06	6,76E-06	3,76E-06	2,70E-06	8,99E-07	6,76E-06
	TGI	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	2,58E-06	6,76E-06
	LC50	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06
51	GI50	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06
	TGI	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06
	LC50	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06
52	GI50	7,41E-06	-	7,41E-06	3,67E-06	-	7,41E-06
	TGI	7,41E-06	-	7,41E-06	7,41E-06	-	7,41E-06
	LC50	7,41E-06	-	7,41E-06	7,41E-06	-	7,41E-06
53	GI50	7,49E-06	-	7,49E-06	3,31E-06	-	7,49E-06
	TGI	7,49E-06	-	7,49E-06	7,49E-06	-	7,49E-06
	LC50	7,49E-06	-	7,49E-06	7,49E-06	-	7,49E-06
54	GI50	1,49E-06	-	1,11E-06	1,45E-06	-	1,24E-06
	TGI	2,62E-06	-	2,09E-06	2,57E-06	-	2,20E-06
	LC50	4,61E-06	-	3,92E-06	4,57E-06	-	3,90E-06
55	GI50	7,27E-06	-	7,27E-06	7,27E-06	-	7,27E-06
	TGI	7,27E-06	-	7,27E-06	7,27E-06	-	7,27E-06
	LC50	7,27E-06	-	7,27E-06	7,27E-06	-	7,27E-06
56	GI50	1,95E-06	-	2,78E-06	1,39E-06	-	7,11E-06
	TGI	7,11E-06	-	7,11E-06	7,11E-06	-	7,11E-06
	LC50	7,11E-06	-	7,11E-06	7,11E-06	-	7,11E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		A-549	K-562	PANC-1	HT-29	LOVO	LOVO-DOX	HELA	HELA-APL
43	GI50	5,21E-07	1,23E-06	1,79E-06	1,41E-07	1,05E-07	-	3,97E-07	7,93E-07
	TGI	1,40E-06	2,18E-06	4,86E-06	2,73E-07	2,22E-07	-	1,32E-06	1,77E-06
	LC50	3,41E-06	3,85E-06	6,55E-06	5,31E-07	4,71E-07	-	3,95E-06	3,93E-06
44	GI50	2,69E-06	3,06E-06	6,90E-06	1,34E-06	9,73E-07	-	2,85E-06	3,18E-06
	TGI	6,90E-06	6,90E-06	6,90E-06	2,61E-06	2,03E-06	-	6,90E-06	6,90E-06
	LC50	6,90E-06	6,90E-06	6,90E-06	5,08E-06	4,23E-06	-	6,90E-06	6,90E-06
45	GI50	9,25E-07	1,49E-06	2,32E-06	3,16E-07	1,13E-07	-	9,38E-07	9,12E-07
	TGI	1,90E-06	3,10E-06	6,70E-06	1,17E-06	2,32E-07	-	2,16E-06	1,94E-06
	LC50	3,93E-06	6,40E-06	6,70E-06	3,66E-06	4,76E-07	-	4,98E-06	4,13E-06
46	GI50	3,67E-06	3,04E-06	3,12E-06	2,50E-06	1,20E-06	-	4,61E-06	3,30E-06
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	2,30E-06	-	6,77E-06	6,77E-06

	LC50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	4,40E-06	-	6,77E-06	6,77E-06
47	GI50	6,78E-06	6,78E-06	5,63E-06	6,78E-06	5,85E-06	-	6,78E-06	6,78E-06
	TGI	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	-	6,78E-06	6,78E-06
	LC50	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	6,78E-06	-	6,78E-06	6,78E-06
48	GI50	5,82E-06	6,64E-06	5,10E-06	6,64E-06	5,17E-06	-	6,64E-06	6,64E-06
	TGI	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	-	6,64E-06	6,64E-06
	LC50	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	-	6,64E-06	6,64E-06
49	GI50	2,61E-06	1,50E-07	1,31E-06	1,58E-06	1,47E-06	3,22E-06	1,10E-06	1,07E-06
	TGI	6,70E-06	1,67E-06	3,09E-06	3,74E-06	3,80E-06	6,70E-06	2,20E-06	2,52E-06
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	4,40E-06	5,95E-06
50	GI50	6,76E-06	6,76E-06	4,16E-06	3,76E-06	1,21E-06	1,27E-06	5,58E-06	6,76E-06
	TGI	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	2,80E-06	2,54E-06	6,76E-06	6,76E-06
	LC50	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,47E-06	5,10E-06	6,76E-06	6,76E-06
51	GI50	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06
	TGI	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06
	LC50	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06	6,63E-06
52	GI50	7,41E-06	7,41E-06	6,64E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	6,18E-06	1,79E-08
	TGI	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06
	LC50	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06	7,41E-06
53	GI50	7,49E-06	7,49E-06	4,17E-06	7,49E-06	5,29E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06
	TGI	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06
	LC50	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06	7,49E-06
54	GI50	1,14E-06	1,31E-06	8,63E-07	1,88E-06	1,08E-06	1,55E-06	8,41E-07	1,08E-06
	TGI	2,19E-06	2,40E-06	2,01E-06	3,51E-06	2,14E-06	2,88E-06	1,73E-06	2,04E-06
	LC50	4,23E-06	4,41E-06	4,68E-06	6,55E-06	4,21E-06	5,37E-06	3,54E-06	3,88E-06
55	GI50	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06
	TGI	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06
	LC50	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06	7,27E-06
56	GI50	1,68E-07	7,11E-06	1,18E-07	7,11E-06	2,22E-06	7,11E-06	3,70E-07	7,11E-06
	TGI	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
	LC50	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		DU-145	LN-caP	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
57	GI50	7,18E-06	-	7,18E-06	7,18E-06	-	7,18E-06
	TGI	7,18E-06	-	7,18E-06	7,18E-06	-	7,18E-06
	LC50	7,18E-06	-	7,18E-06	7,18E-06	-	7,18E-06
58	GI50	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
	TGI	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
	LC50	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
64	GI50	6,75E-06	1,80E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

[illegible]

58	GI50	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
	TGI	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
	LC50	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06	7,11E-06
64	GI50	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06
	TGI	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06
	LC50	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06
65	GI50	1,95E-06	3,00E-06	6,89E-06	1,23E-06	1,03E-06	5,57E-07	1,21E-06	2,23E-06
	TGI	4,99E-06	6,89E-06	6,89E-06	2,54E-06	1,98E-06	1,53E-06	1,99E-06	6,89E-06
	LC50	6,89E-06	6,89E-06	6,89E-06	5,28E-06	3,81E-06	3,81E-06	3,26E-06	6,89E-06
66	GI50	4,96E-06	6,76E-06	6,76E-06	1,28E-06	1,30E-06	1,07E-06	3,17E-06	3,41E-06
	TGI	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	2,54E-06	2,47E-06	2,26E-06	6,76E-06	6,76E-06
	LC50	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	5,06E-06	4,71E-06	4,80E-06	6,76E-06	6,76E-06
67	GI50	1,44E-06	2,92E-06	6,83E-06	3,47E-07	1,73E-07	2,64E-07	1,15E-06	1,09E-06
	TGI	2,70E-06	6,83E-06	6,83E-06	9,63E-07	3,40E-07	5,61E-06	2,15E-06	2,03E-06
	LC50	5,06E-06	6,83E-06	6,83E-06	4,17E-06	6,69E-07	2,47E-06	4,00E-06	3,75E-06
68	GI50	1,56E-06	3,70E-06	6,59E-06	5,12E-07	3,37E-07	2,81E-07	1,03E-06	9,43E-07
	TGI	2,83E-06	6,59E-06	6,59E-06	1,40E-06	9,49E-07	6,47E-07	2,05E-06	1,90E-06
	LC50	5,12E-06	6,59E-06	6,59E-06	3,66E-06	2,62E-06	2,53E-06	4,04E-06	3,82E-06
69	GI50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
	TGI	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
	LC50	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06	6,77E-06
70	GI50	1,83E-07	-	1,00E-06	1,11E-07	6,85E-08	2,85E-08	1,25E-07	2,59E-07
	TGI	3,32E-07	-	1,85E-06	2,13E-07	4,11E-07	8,15E-08	2,22E-07	7,63E-07
	LC50	6,04E-07	-	3,42E-06	4,12E-07	1,73E-06	6,12E-07	3,97E-07	2,24E-06
71	GI50	1,75E-06	-	1,56E-06	3,30E-07	1,66E-07	1,84E-07	8,36E-07	1,33E-06
	TGI	2,62E-06	-	4,41E-06	9,82E-07	2,77E-07	2,90E-07	1,63E-06	2,22E-06
	LC50	3,92E-06	-	6,38E-06	2,67E-07	4,62E-07	4,56E-07	3,16E-06	3,70E-06
72	GI50	2,14E-07	-	8,85E-07	1,20E-07	1,29E-07	4,98E-08	1,33E-07	2,87E-07
	TGI	3,47E-07	-	1,68E-06	2,30E-07	2,35E-07	1,23E-07	2,24E-07	7,73E-07
	LC50	5,59E-07	-	3,20E-06	4,41E-07	4,28E-07	2,74E-07	3,79E-07	2,28E-06
73	GI50	5,32E-07	-	9,52E-07	1,27E-07	1,12E-07	3,35E-08	1,73E-07	5,21E-07
	TGI	1,24E-06	-	1,85E-06	2,32E-07	2,04E-07	9,46E-08	2,80E-07	1,30E-06
	LC50	2,76E-06	-	3,58E-06	4,26E-07	3,72E-07	2,55E-07	4,50E-07	2,95E-06
74	GI50	9,56E-07	-	1,08E-06	1,37E-07	1,39E-07	1,53E-07	2,14E-07	6,75E-07
	TGI	1,76E-06	-	1,98E-06	2,61E-07	2,35E-07	3,09E-07	3,78E-07	1,46E-06
	LC50	3,23E-06	-	3,60E-06	4,99E-07	3,95E-07	6,24E-07	6,86E-06	3,15E-06
75	GI50	1,03E-06	5,33E-07	1,70E-06	1,58E-07	1,26E-07	1,37E-07	5,09E-07	9,42E-07
	TGI	1,91E-06	2,15E-06	3,08E-06	2,80E-07	2,22E-07	2,27E-07	1,18E-06	1,78E-06
	LC50	3,55E-06	6,63E-06	5,59E-06	4,95E-07	3,91E-07	3,79E-07	2,50E-06	3,38E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		DU-145	LN-caP	SKOV-3	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
76	GI50	1,20E-06	-	-	1,18E-06	1,00E-06	3,13E-07	1,54E-06
	TGI	2,12E-06	-	-	2,14E-06	1,85E-06	6,26E-07	2,52E-06
	LC50	3,75E-06	-	-	3,87E-06	3,41E-06	2,04E-06	4,14E-06
77	GI50	3,63E-06	-	-	1,61E-06	1,42E-06	8,73E-07	1,58E-06
	TGI	6,71E-06	-	-	2,62E-06	2,34E-06	2,19E-06	3,41E-06
	LC50	6,74E-06	-	-	4,26E-06	3,86E-06	5,51E-06	6,71E-06
78	GI50	1,27E-06	-	-	8,77E-07	9,30E-07	2,66E-07	1,12E-06
	TGI	2,18E-06	-	-	1,71E-06	1,79E-06	1,02E-06	2,01E-06
	LC50	3,76E-06	-	-	3,33E-06	3,42E-06	2,58E-06	3,59E-06
79	GI50	6,01E-06	-	-	1,91E-06	1,98E-06	7,96E-07	2,31E-06
	TGI	6,75E-06	-	-	3,25E-06	4,28E-06	1,65E-06	6,75E-06
	LC50	6,75E-06	-	-	5,55E-06	6,75E-06	3,43E-06	6,75E-06
80	GI50	1,07E-06	-	-	4,16E-07	5,83E-07	1,23E-07	1,32E-06
	TGI	1,97E-06	-	-	1,17E-06	1,39E-06	3,29E-07	2,25E-06
	LC50	3,62E-06	-	-	2,82E-06	3,04E-06	1,43E-06	3,84E-06
89	GI50	-	-	-	-	-	-	-
	TGI	-	-	-	-	-	-	-
	LC50	-	-	-	-	-	-	-
90	GI50	-	-	-	-	-	-	-
	TGI	-	-	-	-	-	-	-
	LC50	-	-	-	-	-	-	-
91	GI50	-	-	-	-	-	-	-
	TGI	-	-	-	-	-	-	-
	LC50	-	-	-	-	-	-	-
92	GI50	1,22E-07	4,02E-07	1,57E-07	2,39E-07	2,11E-07	1,58E-07	1,00E-06
	TGI	3,32E-07	1,44E-06	4,18E-07	7,68E-07	5,41E-07	3,01E-07	2,00E-06
	LC50	1,29E-06	4,19E-06	1,76E-06	2,87E-06	2,84E-06	5,72E-07	3,98E-06
93	GI50	6,21E-09	7,95E-07	-	2,14E-07	2,66E-07	-	3,20E-07
	TGI	1,66E-08	2,16E-06	-	3,90E-08	7,17E-07	-	9,51E-07
	LC50	4,40E-08	5,88E-06	-	8,66E-07	2,49E-06	-	2,60E-06
94	GI50	7,18E-07	1,65E-06	-	3,13E-07	2,08E-07	2,26E-07	7,43E-07
	TGI	1,51E-06	4,92E-06	-	6,11E-07	4,00E-07	3,75E-07	1,50E-06
	LC50	3,18E-06	6,35E-06	-	3,05E-06	1,58E-06	6,25E-07	3,01E-06
95	GI50	8,92E-07	1,70E-06	-	1,78E-07	2,19E-07	7,31E-08	1,03E-06
	TGI	1,73E-06	5,99E-06	-	3,13E-07	3,77E-07	1,95E-07	1,84E-06
	LC50	3,36E-06	5,99E-06	-	5,50E-07	9,16E-07	5,20E-07	3,28E-06
96	GI50	9,85E-07	1,73E-06	-	1,84E-07	1,78E-07	6,48E-08	1,22E-06
	TGI	1,94E-06	4,60E-06	-	3,34E-07	3,32E-07	1,91E-07	2,15E-06
	LC50	3,81E-06	6,35E-06	-	6,07E-07	6,19E-07	5,60E-07	3,77E-06
97	GI50	5,17E-07	8,66E-07	-	2,44E-07	2,32E-07	4,55E-08	1,28E-07

TGI	1,21E-06	1,81E-06	-	4,64E-07	4,57E-07	1,17E-07	2,21E-07
LC50	2,81E-06	3,77E-06	-	2,20E-06	2,38E-06	3,24E-07	3,84E-07

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

	H-MEC-1	A-549	K-562	PANC-1	HT-29	LOVO	LOVO-DOX	HELA	HELA-APL
76	-	1,53E-06	1,71E-06	5,93E-06	8,42E-07	2,43E-07	1,47E-07	1,18E-06	1,35E-06
	-	2,60E-06	4,01E-06	6,74E-06	1,74E-06	7,21E-07	2,61E-07	2,01E-06	2,28E-06
	-	4,43E-06	6,74E-06	6,74E-06	3,59E-06	2,16E-06	4,63E-07	3,45E-06	3,86E-06
77	-	1,52E-06	1,70E-06	6,74E-06	1,23E-06	9,13E-07	2,71E-07	1,43E-06	1,57E-06
	-	2,58E-06	3,99E-06	6,74E-06	2,21E-06	1,76E-06	8,32E-07	2,29E-06	2,53E-06
	-	4,40E-06	6,71E-06	6,74E-06	3,97E-06	3,40E-06	2,14E-06	3,66E-06	4,07E-06
78	-	1,27E-06	1,65E-06	2,56E-06	1,08E-06	3,90E-07	1,35E-07	1,16E-06	9,64E-07
	-	2,23E-06	3,78E-06	6,69E-06	1,99E-06	1,16E-06	2,89E-07	1,97E-06	1,81E-06
	-	3,92E-06	6,69E-06	6,69E-06	3,70E-06	2,71E-06	6,21E-07	3,36E-06	3,42E-06
79	-	4,42E-06	1,71E-06	6,75E-06	1,44E-06	5,91E-07	3,87E-07	2,69E-06	4,80E-06
	-	6,75E-06	4,02E-06	6,75E-06	2,43E-06	1,40E-06	1,15E-06	6,75E-06	6,75E-06
	-	6,75E-06	6,75E-06	6,75E-06	4,09E-06	3,02E-06	2,56E-06	6,75E-06	6,75E-06
80	-	1,13E-06	7,44E-07	1,90E-06	1,78E-07	1,25E-07	1,20E-07	3,92E-07	8,45E-07
	-	2,03E-06	1,62E-06	3,82E-06	4,03E-07	2,61E-07	2,08E-07	1,19E-06	1,64E-06
	-	3,67E-06	3,54E-06	6,70E-06	1,20E-06	5,45E-07	3,59E-07	2,51E-06	3,19E-06
89	-	3,17E-07	-	-	6,35E-08	-	-	-	-
	-	4,44E-07	-	-	3,17E-07	-	-	-	-
	-	6,35E-07	-	-	5,71E-07	-	-	-	-
90	-	3,05E-07	-	-	6,11E-08	-	-	-	-
	-	4,27E-07	-	-	3,05E-07	-	-	-	-
	-	6,11E-07	-	-	5,49E-07	-	-	-	-
91	-	3,12E-07	-	-	6,24E-08	-	-	-	-
	-	4,37E-07	-	-	3,12E-07	-	-	-	-
	-	6,24E-07	-	-	5,62E-07	-	-	-	-
92	9,77E-07	1,33E-07	1,55E-06	3,62E-06	1,48E-07	1,26E-07	1,43E-07	-	-
	1,93E-06	2,91E-07	2,84E-06	6,14E-06	3,08E-07	2,44E-07	2,84E-07	-	-
	3,83E-06	7,06E-07	5,20E-06	6,14E-06	7,80E-07	4,74E-07	5,66E-07	-	-
93	-	1,86E-07	1,49E-06	1,11E-06	1,68E-07	8,08E-08	7,82E-08	4,91E-07	6,51E-07
	-	6,97E-07	2,72E-06	2,08E-06	2,72E-07	2,08E-07	1,82E-07	1,25E-06	1,43E-06
	-	2,44E-06	4,94E-06	3,90E-06	4,39E-07	5,37E-07	4,26E-07	3,25E-06	3,15E-06
94	-	1,12E-06	1,84E-06	2,86E-06	1,63E-07	1,68E-07	1,62E-07	4,13E-07	6,93E-07
	-	2,28E-06	3,75E-06	6,35E-06	3,43E-07	3,26E-07	3,55E-07	1,16E-06	1,65E-06
	-	4,66E-06	6,35E-06	6,35E-06	1,14E-06	6,32E-07	1,32E-06	3,02E-06	3,92E-06
95	-	1,15E-06	3,57E-06	3,58E-06	8,62E-08	1,25E-07	1,24E-07	1,62E-07	6,17E-07
	-	2,29E-06	5,99E-06	5,99E-06	1,93E-07	2,34E-07	2,41E-07	3,06E-07	1,52E-06
	-	4,55E-06	5,99E-06	5,99E-06	4,32E-07	4,37E-07	4,71E-07	5,79E-07	3,74E-06

96	-	1,26E-06	4,50E-06	6,04E-06	1,01E-07	1,40E-07	1,53E-07	2,44E-07	6,86E-07
	-	2,57E-06	6,35E-06	6,35E-06	2,11E-07	2,64E-07	2,93E-07	7,24E-07	1,62E-06
	-	5,23E-06	6,35E-06	6,35E-06	4,42E-07	5,00E-07	5,59E-07	2,59E-06	3,82E-06
97	-	1,05E-06	1,28E-06	2,64E-06	1,76E-07	1,28E-07	1,86E-07	8,09E-07	7,51E-07
	-	1,96E-06	2,34E-06	5,22E-06	3,36E-07	3,01E-07	3,96E-07	1,78E-06	1,61E-06
	-	3,64E-06	4,27E-06	5,22E-06	1,19E-06	1,09E-06	4,12E-06	3,89E-06	3,44E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		DU-145	LN-caP	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
98	GI50	6,40E-06	3,25E-06	3,90E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06
	TGI	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06
	LC50	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06
99	GI50	7,57E-07	1,02E-06	2,68E-07	8,74E-07	1,40E-07	8,39E-07
	TGI	1,57E-06	1,99E-06	8,98E-07	1,88E-06	2,84E-07	1,73E-06
	LC50	3,26E-06	3,89E-06	2,69E-06	4,04E-06	5,75E-07	3,54E-06
63	GI50	1,19E-07	3,36E-07	1,28E-07	7,61E-08	7,48E-08	8,28E-07
	TGI	4,25E-07	1,21E-06	4,29E-07	2,01E-07	1,86E-07	1,77E-06
	LC50	1,55E-06	2,85E-06	2,00E-06	5,29E-07	4,65E-07	3,79E-06
62	GI50	6,43E-06	2,19E-06	6,43E-06	4,13E-06	-	6,43E-06
	TGI	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	-	6,43E-06
	LC50	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	-	6,43E-06
61	GI50	1,72E-06	9,21E-07	1,36E-06	1,44E-06	-	3,79E-06
	TGI	4,24E-06	2,40E-06	2,86E-06	3,30E-06	-	6,49E-06
	LC50	6,49E-06	6,26E-06	5,98E-06	6,49E-06	-	6,49E-06
60	GI50	1,64E-06	1,23E-06	1,24E-06	1,21E-06	-	1,66E-06
	TGI	3,17E-06	2,59E-06	2,79E-06	2,68E-06	-	3,07E-06
	LC50	6,16E-06	5,43E-06	6,28E-06	5,95E-06	-	5,68E-06
59	GI50	6,76E-06	4,52E-06	6,76E-06	6,76E-06	-	6,76E-06
	TGI	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	-	6,76E-06
	LC50	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	-	6,76E-06
100	GI50	5,44E-07	-	7,81E-07	3,99E-07	3,48E-07	9,63E-07
	TGI	9,69E-07	-	1,16E-06	7,63E-07	8,19E-07	1,46E-06
	LC50	1,59E-06	-	1,73E-06	1,75E-06	1,45E-06	1,88E-06
111	GI50	7,25E-07	4,00E-07	1,67E-07	2,64E-07	4,10E-07	2,50E-07
	TGI	2,53E-06	6,97E-06	3,72E-07	1,00E-06	1,54E-06	6,31E-07
	LC50	6,97E-06	6,97E-06	1,33E-06	6,97E-06	5,94E-06	2,90E-06
112	GI50	1,34E-06	1,19E-06	1,31E-06	1,51E-06	3,97E-06	1,39E-06
	TGI	2,82E-06	2,64E-06	3,09E-06	3,44E-06	5,84E-06	2,74E-06
	LC50	5,91E-06	5,85E-06	6,91E-06	6,91E-06	6,91E-06	5,43E-06
113	GI50	9,06E-07	9,06E-07	4,15E-07	9,26E-07	2,92E-07	1,42E-06
	TGI	2,14E-06	2,20E-06	1,70E-06	2,48E-06	6,13E-07	2,77E-06
	LC50	5,09E-06	5,32E-06	6,71E-06	6,62E-06	6,71E-06	5,37E-06
114	GI50	1,80E-07	5,30E-08	1,14E-07	3,01E-07	2,07E-07	1,70E-07
	TGI	3,75E-07	3,00E-07	3,10E-07	8,40E-07	4,62E-07	3,36E-07
	LC50	1,73E-06	4,70E-06	6,56E-06	6,38E-06	6,56E-06	7,48E-07
115	GI50	3,25E-06	1,28E-06	1,54E-06	1,67E-06	1,35E-06	6,50E-06
	TGI	6,64E-06	2,54E-06	3,59E-06	3,12E-06	3,01E-06	6,64E-06
	LC50	6,64E-06	5,01E-06	6,64E-06	5,83E-06	6,64E-06	6,64E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

		A-549	K-562	PANC-1	HT-29	LOVO	LOVO-DOX	HELA	HELA-APL
98	GI50	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	1,36E-06	1,66E-06
	TGI	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	2,43E-06	3,46E-06
	LC50	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	6,40E-06	4,35E-06	6,40E-06
99	GI50	8,86E-07	3,30E-06	1,50E-06	1,24E-07	1,29E-07	1,39E-07	3,29E-07	9,51E-07
	TGI	2,05E-06	5,87E-06	3,50E-06	2,41E-07	2,53E-07	3,10E-07	1,19E-06	2,10E-06
	LC50	4,76E-06	5,87E-06	5,87E-06	4,67E-07	4,95E-07	3,93E-06	3,51E-06	4,65E-06
63	GI50	7,28E-07	1,48E-06	1,05E-06	1,32E-07	1,22E-07	1,30E-07	1,75E-07	2,92E-07
	TGI	1,60E-06	2,63E-06	2,10E-06	3,22E-07	2,40E-07	2,56E-07	4,99E-07	1,09E-06
	LC50	3,48E-06	4,69E-06	4,21E-06	1,13E-06	4,69E-07	5,02E-07	2,06E-06	3,23E-06
62	GI50	6,43E-06	6,43E-06	4,55E-06	6,43E-06	3,36E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06
	TGI	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06
	LC50	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06	6,43E-06
61	GI50	2,87E-06	6,49E-06	6,49E-06	1,18E-06	1,20E-06	1,17E-06	3,48E-06	4,93E-06
	TGI	6,49E-06	6,49E-06	6,49E-06	2,25E-06	2,65E-06	2,71E-06	6,49E-06	6,49E-06
	LC50	6,49E-06	6,49E-06	6,49E-06	4,26E-06	5,83E-06	6,28E-06	6,49E-06	6,49E-06
60	GI50	1,61E-06	5,30E-06	6,70E-06	1,04E-06	1,03E-06	6,24E-07	3,15E-06	2,05E-06
	TGI	3,66E-06	6,70E-06	6,70E-06	2,16E-06	2,44E-06	1,98E-06	6,70E-06	4,42E-06
	LC50	6,70E-06	6,70E-06	6,70E-06	4,47E-06	5,77E-06	6,14E-06	6,70E-06	6,70E-06
59	GI50	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	5,28E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06
	TGI	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06
	LC50	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06	6,76E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

100	GI50	1,88E-06	1,88E-06	1,88E-06	3,18E-07	1,81E-07	1,23E-07	6,81E-07	-
	TGI	1,88E-06	1,88E-06	1,88E-06	6,50E-07	6,38E-07	6,88E-07	1,15E-06	-
	LC50	1,88E-06	1,88E-06	1,88E-06	1,18E-06	1,26E-06	1,38E-06	1,88E-06	-
111	GI50	1,09E-06	1,44E-07	4,53E-07	5,11E-07	-	3,24E-07	1,26E-06	3,55E-07
	TGI	2,59E-06	3,66E-07	1,71E-06	2,59E-06	-	1,24E-06	2,94E-06	1,21E-06
	LC50	6,16E-06	2,06E-06	5,81E-06	6,97E-06	-	4,39E-06	6,86E-06	3,51E-06
112	GI50	1,45E-06	2,79E-06	1,91E-06	1,15E-06	-	1,11E-06	7,39E-07	1,42E-06
	TGI	2,87E-06	5,62E-06	5,43E-06	2,26E-06	-	2,76E-06	2,41E-06	2,85E-06
	LC50	5,64E-06	6,91E-06	6,91E-06	4,45E-06	-	6,85E-06	6,91E-06	5,75E-06
113	GI50	1,44E-06	1,84E-06	1,82E-06	6,91E-07	-	2,26E-07	1,91E-07	1,19E-06
	TGI	2,95E-06	3,24E-06	4,89E-06	1,76E-06	-	6,11E-07	4,95E-07	2,59E-06
	LC50	6,04E-06	5,72E-06	6,71E-06	4,50E-06	-	6,71E-06	5,79E-06	5,66E-06
114	GI50	1,57E-07	7,87E-08	2,33E-07	1,57E-07	-	1,80E-07	2,59E-07	1,43E-07
	TGI	3,50E-07	3,71E-07	1,16E-06	3,22E-07	-	3,94E-07	9,25E-07	3,49E-07
	LC50	1,52E-06	4,03E-06	6,56E-06	6,96E-07	-	4,27E-06	5,69E-06	2,03E-06
115	GI50	4,10E-06	6,64E-06	6,64E-06	1,33E-06	-	1,52E-06	6,64E-06	2,98E-06
	TGI	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	2,60E-06	-	3,00E-06	6,64E-06	6,64E-06
	LC50	6,64E-06	6,64E-06	6,64E-06	5,09E-06	-	5,92E-06	6,64E-06	6,64E-06

Tabela VIII: Dados de Actividade (Molar) (cont.)

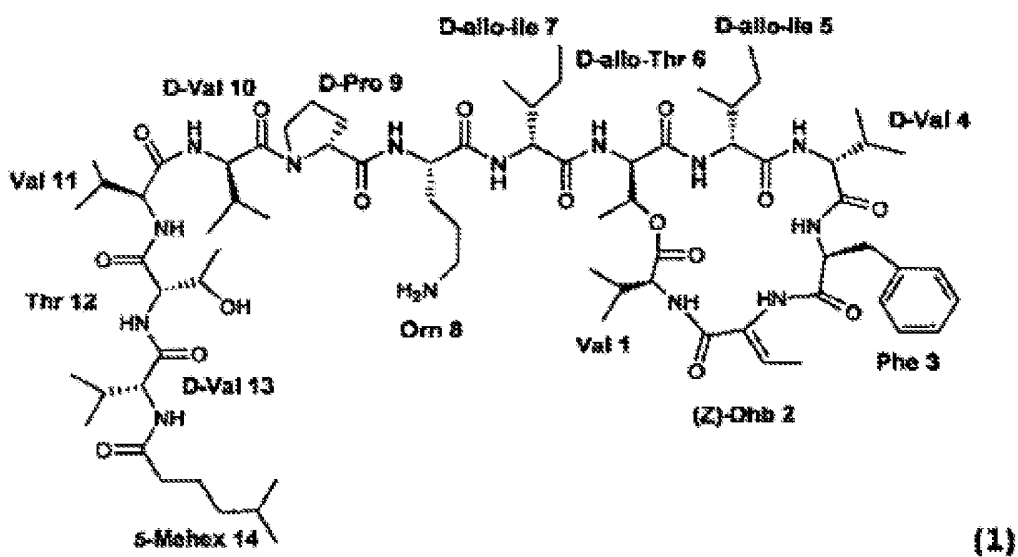
		DU-145	LN-caP	IGROV	IGROV-ET	SK-BR-3	MEL-28
116	GI50	3.32E-06	1.54E-06	2.05E-06	1.87E-06	1.45E-06	4.32E-06
	TGI	6.71E-06	3.10E-06	3.86E-06	3.23E-06	2.82E-06	6.71E-06
	LC50	6.71E-06	6.24E-06	6.71E-06	6.55E-06	6.51E-06	6.71E-06
117	GI50	2.41E-06	1.51E-06	1.97E-06	1.82E-06	1.55E-06	2.00E-06
	TGI	5.43E-06	2.87E-06	3.70E-06	3.11E-06	2.96E-06	4.26E-06
	LC50	6.78E-06	5.45E-06	6.78E-06	5.34E-06	5.62E-06	6.78E-06
118	GI50	1.86E-06	2.87E-06	1.45E-06	1.85E-06	8.51E-07	1.49E-06
	TGI	3.84E-06	6.70E-06	2.76E-06	3.74E-06	1.94E-06	2.88E-06
	LC50	6.70E-06	6.70E-06	5.24E-06	6.70E-06	4.42E-06	5.55E-06
119	GI50	1.99E-06	-	6.51E-07	7.64E-07	2.58E-07	1.99E-06
	TGI	1.99E-06	-	1.07E-06	1.37E-06	5.34E-07	1.99E-06
	LC50	1.99E-06	-	1.74E-06	1.99E-06	1.56E-06	1.99E-06
81	GI50	2.42E-07	7.56E-08	8.67E-08	1.00E-07	6.12E-08	3.62E-07
	TGI	8.83E-07	3.87E-07	2.09E-07	2.40E-07	1.18E-07	8.73E-07
	LC50	1.21E-06	1.27E-06	5.96E-07	6.39E-07	6.64E-07	1.68E-06
82	GI50	2.09E-07	-	6.95E-08	1.10E-07	5.89E-08	2.97E-07
	TGI	3.40E-07	-	1.13E-07	2.20E-07	1.04E-07	4.41E-07
	LC50	5.53E-07	-	1.82E-07	5.76E-07	1.84E-07	9.35E-07
83	GI50	8.30E-08	-	3.71E-08	6.52E-08	3.42E-08	2.06E-07
	TGI	2.07E-07	-	7.69E-08	1.21E-07	5.29E-08	3.40E-07
	LC50	4.81E-07	-	1.43E-07	5.87E-07	1.56E-07	5.61E-07
84	GI50	1.11E-07	-	4.72E-08	6.51E-08	2.73E-08	2.24E-07
	TGI	2.54E-07	-	9.40E-08	1.16E-07	5.34E-08	3.55E-07
	LC50	4.63E-07	-	1.55E-07	3.43E-07	1.36E-07	5.61E-07
85	GI50	1.11E-07	-	4.98E-08	7.43E-08	3.71E-08	2.30E-07
	TGI	2.53E-07	-	9.81E-08	1.44E-07	5.80E-08	3.64E-07
	LC50	4.88E-07	-	1.69E-07	4.25E-07	1.70E-07	5.79E-07
86	GI50	1.24E-07	-	1.81E-07	1.50E-07	2.89E-08	1.83E-07
	TGI	2.56E-07	-	5.23E-07	1.00E-06	1.79E-07	4.11E-07
	LC50	6.27E-07	-	6.43E-06	6.43E-06	5.07E-06	2.48E-06
87	GI50	1.90E-06	-	9.19E-07	1.29E-06	7.48E-07	1.90E-06
	TGI	1.90E-06	-	1.90E-06	1.90E-06	1.19E-06	1.90E-06
	LC50	1.90E-06	-	1.90E-06	1.90E-06	1.87E-06	1.90E-06
88	GI50	9.61E-08	-	1.32E-07	1.80E-07	9.73E-08	1.36E-07
	TGI	2.09E-07	-	3.49E-07	6.98E-07	2.24E-07	3.68E-07
	LC50	4.55E-07	-	2.51E-06	6.12E-06	5.15E-07	1.51E-06

Tabela IX: Dados de Actividade (Molar)

		MB-231	A-549	HT-29
101	G150	5.49E-06	5.49E-06	4.45E-06
	TGI	5.49E-06	5.49E-06	4.60E-06
	LC50	5.49E-06	5.49E-06	4.86E-06
102	G150	5.54E-06	4.53E-06	5.54E-06
	TGI	5.54E-06	5.54E-06	5.54E-06
	LC50	5.54E-06	5.54E-06	5.54E-06
103	G150	6.83E-06	6.83E-06	6.83E-06
	TGI	6.83E-06	6.83E-06	6.83E-06
	LC50	6.83E-06	6.83E-06	6.83E-06
104	G150	5.09E-06	9.42E-07	3.14E-07
	TGI	5.34E-06	1.13E-06	3.39E-07
	LC50	5.59E-06	1.51E-06	3.71E-07
105	G150	6.33E-06	2.28E-06	8.24E-07
	TGI	6.33E-06	2.60E-06	8.87E-07
	LC50	6.33E-06	3.04E-06	8.87E-07
106	G150	6.77E-06	6.77E-06	6.77E-06
	TGI	6.77E-06	6.77E-06	6.77E-06
	LC50	6.77E-06	6.77E-06	6.77E-06
107	G150	6.80E-06	6.80E-06	6.80E-06
	TGI	6.80E-06	6.80E-06	6.80E-06
	LC50	6.80E-06	6.80E-06	6.80E-06
108	G150	6.53E-06	6.53E-06	6.53E-06
	TGI	6.53E-06	6.53E-06	6.53E-06
	LC50	6.53E-06	6.53E-06	6.53E-06
109	G150	6.26E-06	6.26E-06	6.26E-06
	TGI	6.26E-06	6.26E-06	6.26E-06
	LC50	6.26E-06	6.26E-06	6.26E-06
110	G150	3.20E-06	8.79E-07	4.08E-07
	TGI	3.71E-06	1.13E-06	5.15E-07
	LC50	6.28E-06	1.63E-06	6.91E-07

REIVINDICAÇÕES

1. Composto baseado na estrutura de kahalalide F e que está de acordo com a fórmula 1,



excepto quanto à identidade do aminoácido L-Orn na posição 8 que pode estar substituído por outro aminoácido natural ou não natural, e/ou estar mascarado com um ou mais grupos orgânicos substituintes;

e composto esse que pode, opcionalmente, diferir também da fórmula 1 pela modificação do grupo acilo terminal

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que o aminoácido na posição 8 é um L-Orn mascarado.

3. Composto de acordo com a reivindicação 2, em que o L-Oxn na posição 8 está mascarado com um ou mais substituintes seleccionados do grupo que inclui grupos alquilo e grupos heterocíclicos.

4. Composto de acordo com a reivindicação 1, em que o L-Orn na posição 8 foi substituído por outro aminoácido natural ou não natural.

5. Composto de acordo com qualquer das reivindicações anteriores, em que o acilo terminal está modificado.

6. Composto de acordo com a reivindicação 5, em que o acilo terminal é (4S)-metil hexilo.

7. Composto baseado na estrutura do kahalalide F de fórmula 1 designado KF, e seleccionado de: [Glu⁸]-KF, [Lys⁸]-KF, [Lys⁸, (4S)-MeHex¹⁴]-KF, [N(Me)₂, N'(Me)₂-Arg⁸]-KF, [N(Me, Ph), N'(Me)₂-Arg⁸]-KF, [N(CH₂)₄, N'(Me)₂-Arg⁸]-KF, [N(CH₂)₄, N'(CH₂)₄-Arg⁸]-KF, [Nδ(CHN(CH₂)₄-N'(CH₂)₄)-Orn⁸]-KF, [Nε(Me)₃-Lys⁸, (4S)-MeHex¹⁴]-KF, [Orn(NδTFA)⁸, (4S)-MeHex¹⁴]-KF, e [Orn(Biot)⁸]-KF,

em que o aminoácido ou grupo indicado entre parênteses é a modificação introduzida na estrutura do kahalalide F.

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- WO 04035613 A
- EP 610078 A
- WO 0236145 A
- WO 0333012 A
- WO 0158334 A

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- HAMANN, M. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, vol. 115, 5825-5826
- HAMANN, M. et al. Kahalalides: bioactive peptides from a marine mollusk *Elysia rufescens* and its algal diet *Bryopsis* sp. *J. Org. Chem.*, 1996, vol. 61, 6594-6600
- SCHEUER P.J. et al. Two acyclic kahalalides from the sacoglossan mollusk *Elysia rufescens*. *J. Nat. Prod.*, 1997, vol. 60, 562-567
- SCHEUER P.J. et al. A new depsipeptide from the sacoglossan mollusk *Elysia ornata* and the green alga *Bryopsis* species. *J. Nat. Prod.*, 2000, vol. 63 (1), 152-4
- KAN, Y. et al. Kahalalide K: A new cyclic depsipeptide from the hawaiian green alga *Bryopsis* species. *J. Nat. Prod.*, 1999, vol. 62 (8), 1169-72
- GOETZ et al. The absolute stereochemistry of Kahalalide F. *Tetrahedron*, 1999, vol. 55, 7739-7746
- ALBERICIO, F. et al. Kahalalide B: Synthesis of a natural cyclodepsipeptide. *Tetrahedron Letters*, 2000, vol. 41, 9765-9769
- BECERRO et al. Chemical defenses of the sacoglossan mollusk *Elysia rufescens* and its host Alga *bryopsis* sp. *J. Chem. Ecol.*, 2001, vol. 27 (11), 2287-99
- *Commission of Biochemical Nomenclature in J. Biol. Chem.*, 1972, vol. 247, 977-983
- LLOYD-WILLIAMS, P. et al. *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*. CRC Press, 1997
- BARLOS, K. ; GATOS, D. ; SCHÄFER, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1991, vol. 30, 590-593
- CHIVA, C. ; VILASECA, M. ; GIRALT, E. ; ALBERICIO, F. *J. Pept. Sci.*, 1999, vol. 5, 131-140
- GÓMEZ-MARTÍNEZ, P. ; THIERIET, N. ; ALBERICIO, F. ; GUIBÉ, F. *J. Chem. Soc. Perkin*, 1999, vol. I, 2871-2874
- FUKASE, K. ; KITAZAWA, M. ; SANO, A. ; SHIMBO, K. ; HORIMOTO, S. ; FUJITA, H. ; KUBO, A. ; WAKAMIYA, T. ; SHIBE, A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1992, vol. 65, 2227-2240
- ROYO, M. ; JIMÉNEZ, J.C. ; LÓPEZ-MACIÀ, A. ; GIRALT, E. ; ALBERICIO, F. *Eur. J. Org. Chem.*, 2001, 45-48
- FRESNO, M. ; EL-FAHAM, A. ; CARPINO, L.A. ; ROYO, M. ; ALBERICIO, F. *Organic Lett.*, 2000, vol. 2, 3539-3542
- DANGLES, O. ; GUIBÉ, F. ; BALAVOINE, G. ; LAVIELLE, S. ; MARQUET, A. *J. Org. Chem.*, 1987, vol. 52, 4984-4993
- PHILIP SKEHAN et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, vol. 82, 1107-1112