



INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: PT 657458 E

(51) Classificação Internacional: (Ed. 6)

C07D498/22	A	A61K031/40	B
C07D471/22	B	C07D487/22	B
C07D513/22	B	C07D491/22	B

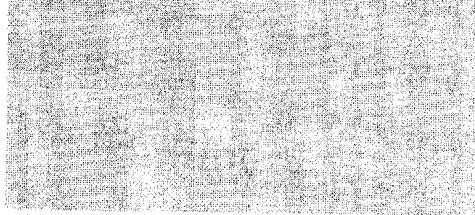
(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de depósito: 1994.12.02	(73) Titular(es): ELI LILLY AND COMPANY LILLY CORPORATE CENTER INDIANAPOLIS, IN 46285	US
(30) Prioridade: 1993.12.07 US 163060 1994.10.03 US 316973		
(43) Data de publicação do pedido: 1995.06.14	(72) Inventor(es): WILLIAM FRANCIS HEATH JR. MICHAEL ROBERT JIROUSEK CHRISTOPHER JOHN RITO JOHN HAMPTON MCDONALD, III	US US US US
(45) Data e BPI da concessão: 2001.08.22	(74) Mandatário(s): LUIΣ MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO RUA VITOR CORDON, N° 14 - 3º 1200 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: INIBIDORES DE PROTEÍNA CINASE C

(57) Resumo:

INIBIDORES DE PROTEÍNA CINASE C



DESCRICAÇÃO

"INIBIDORES DE PROTEÍNA CINASE C"

Proteína cinase C (PKC) consiste numa família de enzimas relacionadas intimamente que funcionam como cinases serina/teorina. A proteína cinase C tem um papel importante na sinalização célula-célula, expressão genética, e no controlo da diferenciação e crescimento das células. Presentemente, existem correntemente pelo menos dez isozimas conhecidas de PKC que diferem na sua distribuição do tecido, especificidade enzimática, e regulação. Nishizuka Y. Annu. Rev. Biochem. 58: 31-44 (1989); Nishizuka Y. Science 258: 607-614 (1992).

Isozimas proteína cinase C são cadeias polipeptídicas individuais que vão desde 592 até 737 aminoácidos em comprimento. As isozimas contêm um domínio regulador e um domínio catalítico ligados por uma peptídeo de ligação. Os domínios reguladores e catalíticos podem ser adicionalmente subdivididos em regiões constantes e variáveis. O domínio catalítico de proteína cinase C é muito semelhante ao que é visto noutra proteína cinase enquanto o domínio regulador é único para as isozimas PKC. As isozimas PKC demonstram homologia entre 40-80% no nível de amino ácido entre o grupo. Porém, a homologia de uma isozima individual entre espécies diferentes é geralmente maior do que 97%.

Proteína cinase C é uma enzima associada à membrana que é regulada alostericamente por numerosos factores, incluindo fosfolipídeos de membrana, cálcio, e certos lipídeos de membrana tais como diacilgliceroles que

são libertados em resposta às actividades de fosfolipases. Bell, R.M. and Burns, D.J., J. Biol. Chem. **266**: 4661-4664 (1991); Nishisuka, Y. Science **258**: 607-614 (1992). As isozimas proteína cinase C, alfa, beta-1, beta-2 e gama, requerem de fosfolipídeos de membrana, cálcio e ésteres de diaglycerol/forbol para activação total. As formas delta, epsilon, eta, e teta de PKC são independentes do cálcio no seu modo de activação. As formas zeta e lambda de PKC são independentes de ambos cálcio e diacilglicerol e sabe-se que requerem um fosfolípedeo de membrana para a sua activação.

Apenas uma ou duas isozimas proteínas cinase C podem ser envolvidas num dado estado de doença. Por exemplo, os elevados níveis de glicose no sangue em diabetes conduzem a uma elevação específica de isozimas da isozima beta-2 em tecidos vasculares. Inoguchi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **89**: 11059-11065 (1992). Uma elevação de isozima beta ligada a diabetes em plaquetas humanas tem sido co-relatada com a sua resposta alterada ao agonistas. Bastyr III, E.J. and Lu, J. Diabetes **42**: (Suppl. 1) 97^A (1993). O receptor humano de vitamina D demonstrou ser selectivamente fosforilatado pela proteína cinase C. Esta fosforilação tem sido ligada a alterações no funcionamento do receptor. Hsieh et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **88**: 9315-9319 (1991); Hsieh et al., J. Biol. Chem. **268**: 15118-15126 (1993). Adicionalmente, trabalho recente demonstrou que isozima beta-2 é responsável por proliferação de célula eritroleucemia enquanto que a isozima alfa está envolvida em diferenciação magacariócito nestas mesmas células. Murray et al., J. Biol. Chem., **268**: 15847-15853 (1993).

A natureza omnipresente das isozimas proteína cinase C e seus papéis importantes na fisiologia fornece incentivos para produzir inibidores PKC altamente selectivos. Dada a evidência da demonstrada ligação de certas isozimas a estados de doença, é razoável assumir que os compostos inibidores que são

selectivos a uma ou duas isozimas proteína cinase C relativas a outras isozimas PKC e outras proteínas são agentes de terapêutica superior. Tais compostos deveriam demonstrar maior eficácia e toxicidade inferior em virtude da sua especificidade.

O indolocarbazol microbiano, estaurosponina, é um potente inibidor de proteína cinase C que interage com domínio catalítico da enzima. Tamaoki et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 135: 397-402 (1986); Gross et al., Biochem Pharmacol. 40: 343-350 (1990). Porém, a utilidade terapêutica desta molécula e compostos intimamente relacionados está limitada pela sua falta de especificidade para proteína cinase C sobre outras proteínas cinase. Ruegg, U.T. and Burgess, G.M., Trends Pharmacol. Sci. 10: 218-220 (1989). Esta falta de selectividade resulta em toxicidade inaceitável nesta classe de moléculas.

Uma classe adicional de compostos relacionados à estaurosponina, as bisindolemaleimidas, tem sido objectivo do recente trabalho. Davis et al., FEBS Lett. 259: 61-63 (1989); Twoomy et al., Biochem. Biophys Res. Commun. 171: 1087-1092 (1990); Toullec et al., J. Biol. Chem. 266: 15771-15781 (1991); Davis et al., J. Med. Chem. 35: 994-1001 (1992); Bit et al., J. Med. Chem., 36: 21-29 (1993). Alguns destes compostos têm demonstrado selectividade para proteína cinase C sobre outras proteínas cinase.

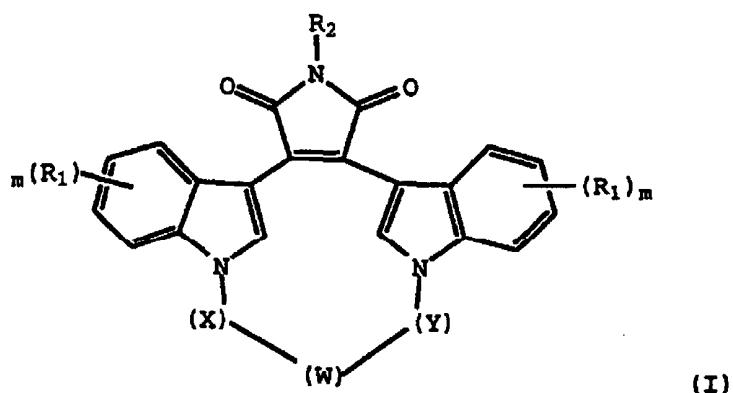
A EP 0410389 revela análogos indolocarbazol e sua utilização no tratamento de trombose, arteriosclerose, hipertensão, e para tratar inflamações, alergias, cancro, e certos danos degenerativos do sistema nervoso central assim como doenças do sistema imunitário. EP 0508792 revela análogos bisindolemaleimida e sua utilização como agentes anti-tumor e anti-psoríase. WO 94/07895 revela derivados bisindolemaleimida e sua utilização como agentes anti-tumor e anti-inflamatórios.

Very good summary

Apesar dos compostos que demonstram especificidade na proteína cinase C terem sido descobertos, conhece-se muito pouco sobre a selectividade da isozima. Por exemplo, análise da selectividade isozima de estaurosporina, mostra pouca selectividade isozima com exceção de pobre inibição da isozima beta relativa a outras isozimas. McGlynn et al., J. Cell. Biochem., 49: 239-250 (1992).; Ward, N.E., and O'Brian, C.A., Molec. Pharmacol. 41: 387-392 (1992). Estudos do composto PKC selectivo, 3-[1-(3-dimetilaminopropil)-indol-3-il]-4-(1H-indol-3-il)-1H-pirrol-2,5-diona, sugerem uma leve selectividade para as isozimas dependentes de cálcio. Toullec et al., J. Biol. Chem., 266: 15771-15781 (1991). Estudos subsequentes deste composto não observaram diferença, ou possibilidade de ligeira selectividade, para isozimas alfa sobre isozimas beta-1 e beta-2. Martiny-Baron et al., J. Biol. Chem. 268: 9194-9197 (1993); Wilkinson, et al., Biochem. J. 294: 335-337 (1993). Portanto, apesar de anos de pesquisa e a identificação de classes de compostos que inibem a proteína cinase C versus proteína cinase, permanece uma necessidade a pesquisa de inibidores selectivos de isozima terapeuticamente efectivos.

O presente invento fornece novos, potentes inibidores proteína cinase C. Os compostos do presente invento são selectivos para proteína cinase C sobre outras cinases e são, bastante surpreendentemente, altamente selectivo das isozimas. Como inibidores selectivos os compostos são úteis no tratamento de doenças associadas a diabetes mellitus e suas complicações, isquémia, inflamação, perturbações do sistema nervoso central, doença cardio vascular, doença dermatológica e cancro.

Este invento fornece compostos de Fórmula I:



em que :

W é $-O-$, $-S-$, $-SO_2-$, $-CO-$, alquíleno C_2-C_6 , alquíleno substituído, alquenileno C_2-C_6 , -arilo-, $-arilo(CH_2)_mO-$, -heterociclo-, -heterociclo- $(CH_2)_mO-$, -bicíclico condensado-, bicíclico condensado- $(CH_2)_mO-$, $-NR_3$, $-NOR_3-$, $-CONH-$, ou $-NHCO-$;

X e Y são independentemente alquíleno C_1-C_4 , alquíleno substituído, ou em conjunto X, Y, e W combinam-se para formar $-(CH_2)_nAA-$;

R₁ é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C_1-C_4 , hidroxi, alcoxi C_1-C_4 , haloalquilo, nitro, NR_4R_5 ou $-NHCO(alquilo\ C_1-C_4)$;

R₂ é hidrogénio, CH_3CO- , NH_2 , ou hidroxi;

R₃ é hidrogénio, arilo($CH_2)_m$, alquilo C_1-C_4 , $-COO(alquilo\ C_1-C_4)$, $-CONR_4R_5$, $-(C=NH)NH_2$, $-SO(alquilo\ C_1-C_4)$, $-SO_2(NR_4R_5)$, ou $-SO_2(alquilo\ C_1-C_4)$;

R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C_1-C_4 , fenilo, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual eles estão ligados para formar um

anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros;

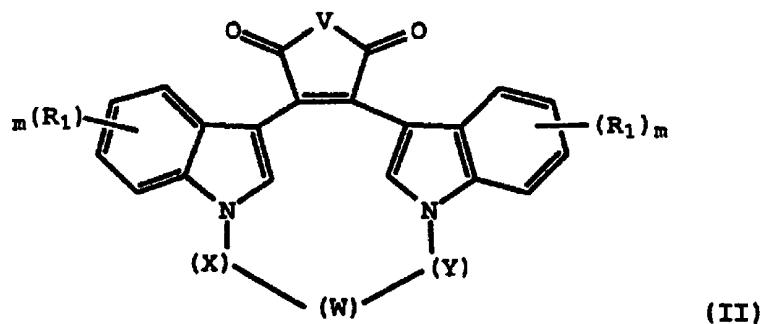
AA é um resíduo aminoácido;

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

e

n é independentemente 2, 3, 4, ou 5.

● São também fornecidos novos intermediários dos compostos anteriores. Estes intermediários são compostos de Fórmula II:



● em que:

V é -O- ou $N\text{-CH}_3$;

W é -O-, -S-, -SO-, - SO_2 -, -CO-, alquíleno ($C_2\text{-}C_6$), alquíleno substituído, alquenileno $C_2\text{-}C_6$, -arilo-, -arilo(CH_2) $_m$ O-, -heterociclo-, -heterociclo-(CH_2) $_m$ O-, -bicíclico condensado-, -bicíclico-(CH_2) $_m$ O-, - NR_3 -, - NOR_3 -, -CONH-, ou -NHCO-;

X e Y são independentemente alquíleno $C_1\text{-}C_4$, alquíleno

Very Sincere Greeting

substituído, ou em conjunto X, Y e W combinam para formar $-(CH_2)_n-AA-$;

R_1 é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C₁-C₄, hidroxi, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo, nitro, NR₄R₅, ou $-NHCO(alquilo\ C_1-C_4)$;

R_3 é hidrogénio, arilo (CH₂)_m, alquilo C₁-C₄, $-COO(alquilo\ C_1-C_4)$, $-CONR_4R_5$, $-(C=NH)NH_2$, $-SO(alquilo\ C_1-C_4)$, $-SO_2(NR_4R_5)$, ou $-SO_2(alquilo\ C_1-C_4)$;

R_4 e R_5 são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, fenilo, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros:

AA é um resíduo aminoácido;

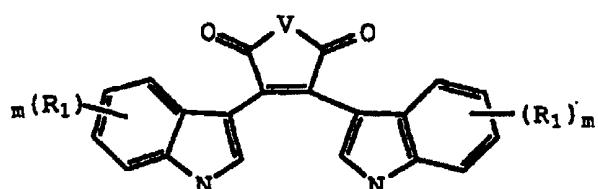
m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

e

n é independentemente 2, 3, 4, ou 5.

Um aspecto adicional deste invento é um processo de preparação dos compostos de Fórmula II, o qual compreende:

Combinação de uma mistura de um composto numa concentração de cerca de 1,5 molar até cerca de 0,001 molar de fórmula:



em que:

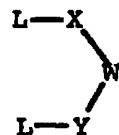
May 2002 Cerny

V é O, ou N-CH₃;

R₁ é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C₁-C₄, hidroxi, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo, nitro, NR₄R₅, ou -NHCO(alquilo C₁-C₄);

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

• é um agente de alquilação numa concentração de cerca de 1,5 molar até cerca de 0,001 molar de fórmula:



em que

• L é um grupo dissociável;

W é -O-, -S-, -SO-, -SO₂-, -CO-, alquíleno (C₂-C₆), alquíleno substituído, alqueníleno C₂-C₆, -arilo-, -arilo(CH₂)_mO-, -heterociclo-, -heterociclo-(CH₂)_mO-, -bicíclico condensado-, -bicíclico-(CH₂)_mO-, -NR₃-, -NOR₃-, -CONH-, ou -NHCO-;

X e Y são independentemente alquíleno C₁-C₄, ou alquíleno substituído;

R₃ é hidrogénio, arilo (CH₂)_m, alquilo C₁-C₄, -COO(alquilo C₁-C₄),

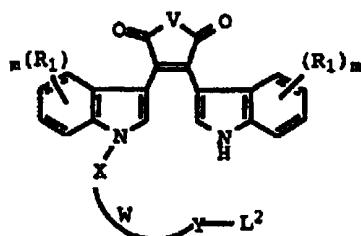
-CONR₄R₅, -(C=NH)NH₂, -SO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), ou -SO₂(alquilo C₁-C₄);

R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, fenilo, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros:

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

com cerca de 0,5 até cerca de 10 equivalentes de Cs₂CO₃ numa proporção de desde cerca de 0,1 mL/hora até cerca de 2,0 mL/hora num solvente aprótico polar.

Porém outros processos de preparação dos compostos de Fórmula II, compreende: a combinação de um composto numa concentração de cerca de 3 molar até cerca de 0,001 molar de fórmula:



em que

L² é independentemente um grupo dissociável;

V é -O- ou N-CH₃,

W é -O-, -S-, -SO-, -SO₂-, -CO-, alquíleno C₂C₆, alquíleno substituído, alquenileno C₂-C₆, -arilo-, -arilo(CH₂)_mO-, heterociclo-, -heterociclo-(CH₂)_mO, -bicíclico condensado-, -bicíclico condensado-(CH₂)_mO-, -NR₃-, -NOR₃-, -CONH-, ou -NHCO-;

X e Y são independentemente alquíleno C₁-C₄ ou alquíleno substituído;

R₁ é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C₁-C₄, hidroxi, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo, nitro, NR₄R₅, ou -NHCO(alquilo C₁-C₄);

R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, fenilo, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros;

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

com cerca de 0,5 até cerca de 10 equivalentes de Cs₂CO₃ numa proporção de desde cerca de 0,1 mL/hora até cerca de 2,0 mL/hora num solvente aprótico polar.

Um aspecto adicional do invento é um método de inibição de Proteína cinase C, o qual compreende a administração a um mamífero que precise de tal tratamento uma quantidade terapeuticamente efectiva de um composto de Fórmula I. Está também incluído um método de inibir selectivamente as isozimas proteína cinase C beta-1 e beta-2, as quais compreendem a administração a um mamífero que precise de tal tratamento uma quantidade farmaceuticamente efectiva de um composto de Fórmula I.

O invento fornece adicionalmente métodos para o tratamento de doenças em que a proteína cinase C demonstrou um papel na patologia, tal como isquémia, inflamação, perturbações do sistema nervoso central, doença cardiovascular, doença dermatológica, e cancro, o qual compreende a administração a um mamífero que precise de tal tratamento uma quantidade farmaceuticamente efectiva de um composto de Fórmula I.

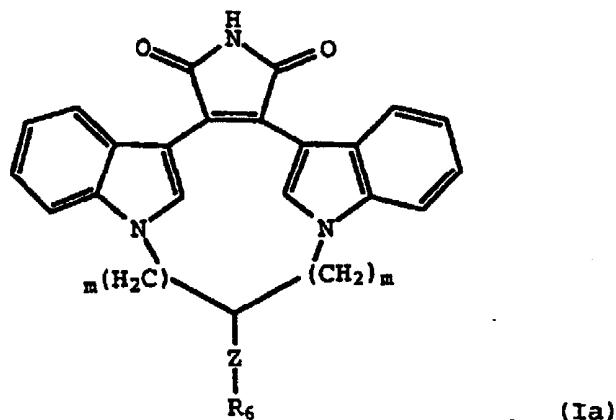
Este invento é particularmente útil no tratamento de complicações diabéticas. Portanto, este invento fornece adicionalmente um método para o tratamento de diabetes mellitus, o qual compreende a administração a um mamífero que precise de um tal tratamento uma quantidade terapeuticamente efectiva de um composto de Fórmula I.

Um aspecto final do invento são as formulações farmacêuticas que compreendem um composto de Fórmula I em conjunto com um ou mais excipientes, veículos ou diluentes farmaceuticamente aceitáveis.

Como notado anteriormente, o invento fornece compostos de Fórmula I o qual inibe selectivamente proteína cinase C. Os compostos preferidos deste invento são aqueles de Fórmula I em que as porções $-X-W-Y-$ contêm 4 até 8 átomos, os quais podem ser substituídos ou insubstituídos. Mais preferencialmente, as porções $-X-W-Y-$ contêm 6 átomos.

Outros compostos preferidos deste invento são aqueles compostos de Fórmula I em que R_1 e R_2 são hidrogénio; e W é um alquíleno substituído, $-O-$, $-S-$, $-CONH-$, $-NHCO-$, ou $-NR_3-$;

Compostos particularmente preferidos são os compostos de Fórmula Ia:



em que

Z é $-(CH_2)_pO$ ou $(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-$;

R_6 é hidroxi, $-SH$, alquilo C_1-C_4 , arilo($CH_2)_m$, $-NH(arilo)$, ou $-NR_4R_5$;

R_4 é hidrogénio ou alquilo C_1-C_4 ;

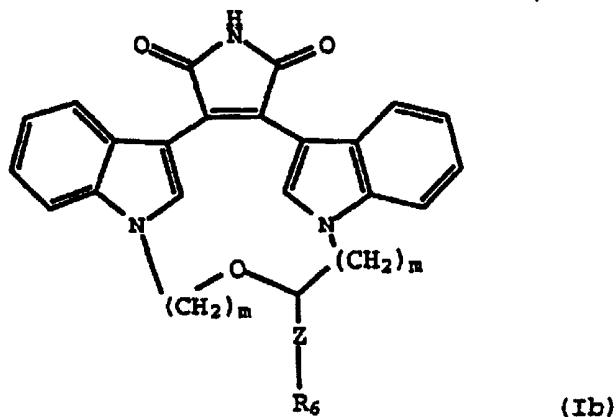
R_5 é hidrogénio, alquilo C_1-C_4 , ou benzilo;

p é 0, 1, ou 2; e

m é independentemente 2 ou 3;

Compostos mais preferidos de Fórmula Ia são aqueles em que Z é CH_2 ; R_6 é $-NH_2$ ou $N(CH_3)_2$.

Outros compostos preferidos são compostos em que W é $-O-$, Y é substituído por alquíleno, e X é alquíleno. Estes compostos são representados pela Fórmula Ib:



(Ib)

em que

Z é $-(CH_2)_p$; R₆ é NR₄R₅; R₄ e R₅ são independentemente H ou alquilo C₁-C₄; p é 0, 1, ou 2; e m é independentemente 2 ou 3. Compostos mais preferidos de Fórmula Ib são aqueles em que p é 1; e R₄ e R₅ são metilo.

O termo "halo" representa flúor, cloro, bromo ou iodo.

O termo "alquilo C₁-C₄" representa um grupo alquilo de cadeia linear ou ramificada tendo desde um até quatro átomos de carbono tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo e semelhantes. Um haloalquilo é um tal como alquilo substituído por um ou mais átomos halo, de preferência um até três átomos halo. Um exemplo de haloalquilo é trifluorometilo. Um alcoxi C₁-C₄ é um grupo alquilo C₁-C₄ covalentemente ligado a uma ligação -O-.

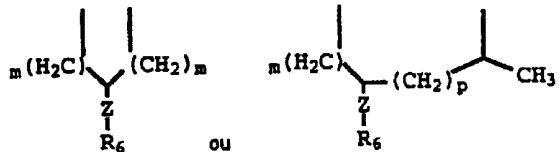
O termo "alquíleno C₁-C₄) representa uma porção alquíleno linear de um até quatro carbono de fórmula $-(CH_2)_r$ em que r é um até quatro. Exemplos de alquíleno C₁-C₄ inclui metileno, etileno, trimetileno, metiletíleno,

tetrametileno, e semelhantes. Semelhantemente, um "alquíleno C₂-C₄" representa uma porção alquíleno linear de dois até seis carbonos. De preferência, alquíleno C₂-C₆ é um alquíleno de dois até quatro carbonos.

O termo "alquenileno C₂-C₆" representa um hidrocarboneto linear ou ramificado de dois até seis carbonos, contendo uma ou mais ligações duplas, de preferência uma ou duas ligações duplas. Exemplos de um alquíleno C₂-C₆ inclui etíleno, propileno, 1,3-butadienilo, e 1,3,5-hexatrienilo.

O termo "arilo" representa um fenilo ou naftilo substituído ou insubstuído. Arilo pode ser opcionalmente substituído por um ou dois grupos independentemente seleccionados a partir de hidroxi, carboxi, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo, nitro, -NR₄R₅, -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCO(benzilo), -NHCO(fenilo), SH, S(alquilo C₁-C₄), -OCO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), -SO₂(alquilo C₁-C₄), -SO₂(fenilo), ou halo. O termo arilo(CH₂)_m é de preferência benzilo ou fenilo.

O termo "alquíleno substituído" representa uma porção de fórmula:



em que

Z é -(CH₂)_p- ou -(CH₂)_p-O-(CH₂)_p-;

R₆ é alquilo alcoxi C₁-C₄, arilo (CH₂)_m, ariloxi (CH₂)_m, hidroxi, carboxi,

COO(alquilo C₁-C₄), -COO(arilo (CH₂)_m), -CO(alquilo C₁-C₄), -NR₄R₅,

N(R₄R₅) (OR₅), -NH arilo (CH₂)_m, NH pirodilo (CH₂)_m, -CONH(arilo(CH₂)_m), -

CONH(alquilo C₁-C₄), -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCO arilo (CH₂)_m,
OCONH(alquilo C₁-C₄), -OCONH arilo (CH₂)_m, -NHCOO(alquilo),
NHCOO(benzilo), -NSO₂ (alquilo C₁-C₄), -NSO₂ arilo (CH₂)_m, -CN, -SH,
-S(alquilo C₁-C₄), -S(arilo), -SO₂(NR₄R₅), -SO₂(alquilo C₁-C₄), -SO(alquilo
C₁-C₄), glicolilo, ou heterociclo;

R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, fenilo, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual eles estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros;

p é independentemente 0, 1, ou 2;

e m é independentemente 0, 1, 2, ou 3. De preferência Z é -CH₂-; e R₆ é alquilo C₁-C₄, arilo, ou -NR₄R₅.

O termo “heterociclo” representa um anel estável, substituído ou insubstuído de 5 ou 6 membros, tendo o referido anel desde um até quatro heteroátomos que são idênticos ou diferentes e que são seleccionados a partir do grupo que consiste em enxofre, oxigénio e azoto; e quando o heterociclo contém dois átomos de carbono adjacentes, o átomo de carbono adjacente pode ser estruturado para formar um grupo de fórmula -CH=CH-; contando que

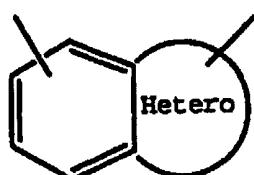
(1) quando o anel heterociclo contém 5 membros, os heteroátomos não compreendem mais do que dois átomos de enxofre ou dois átomos de oxigénio mas não ambos;

(2) quando o anel heterocíclico contém 6 membros e é aromático, enxofre e oxigénio não estão presentes. O heterociclo pode estar ligado a qualquer carbono ou azoto o qual consegue uma estrutura estável. O heterociclo pode ser

substituído por um ou dois grupos independentemente seleccionado a partir de alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, hidroxi, acetilo, carboxi, haloalquilo, nitro, -NR₄R₅, -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCO (benzilo), -NHCO(fenilo, SH, S(alquilo C₁-C₄), -OCO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), -SO₂(alquilo C₁-C₄), -SO₂(fenilo), ou halo. Exemplos de um heterociclo inclui pirazole, pirazolina, imidazole, acetilimidazole, isoxazole, triazole, tetrazole, oxazole, 1,3-dioxolona, tiazole, oxadiazole, tiadiazole, piridina, dipiridilo, pirimidina, piperizina, morfolina, pirazina, pirrolidina, piperidina, piperazina, oxazolidinona, imidozolidinona, e aminopiridina.

O termo “glicosilo” representa açúcares de 5 ou 6 carbonos, de preferência seleccionados a partir de alosilo, altrosilo, glucosilo, manosilo, gulosilo, idosilo, galactosilo, talosilo, arabinosilo, xilosilo, ramnosilo, ribosilo, deoxifuranosilo, deoxipiranosilo, e deoxiribosilo. A glicose pode ser azida substituída, O-acetilado, O-metilado, amino, mono, e di-alquilamino substituído, ou acilamino substituído.

O termo “bicíclico condensado” representa um sistema de anel bicíclico condensado de fórmula:



em que Hetero representa um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado inssubstituído, tendo o referido anel desde um até três heteroátomos que são idênticos ou diferentes e que são seleccionados a partir do grupo que consiste em enxofre, oxigénio, e azoto; e quando Hetero contém dois átomos de carbono

adjacentes, os átomos de carbono adjacentes podem ser estruturados para formar um grupo de fórmula $-\text{CH}=\text{CH}-$; contando que

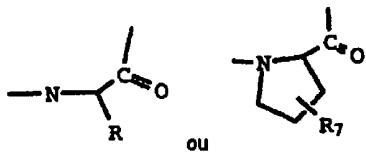
(1) quando o anel Hetero contém 5 membros, os heteroátomos não compreendem mais do que dois átomos de enxofre ou dois átomos de oxigénio mas não ambos;

e

(2) quando o anel Hetero contém 6 membros e é aromático, enxofre e oxigénio não estão presentes. O bicíclico condensado pode estar ligado a qualquer átomo de carbono ou átomo de azoto o qual consegue uma estrutura estável. O bicíclico condensado pode ser substituído por um ou dois grupos independentemente seleccionados a partir de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_4$, hidroxi, carboxi, haloalquilo, nitro, $-\text{NR}_4\text{R}_5$, $-\text{NHCO}(\text{alquilo C}_1\text{-C}_4)$, $-\text{NHCO}(\text{benzilo})$, $-\text{NHCO}(\text{fenilo})$, SH , $\text{S}(\text{alquilo C}_1\text{-C}_4)$, $-\text{OCO}(\text{alquilo C}_1\text{-C}_4)$, $-\text{SO}_2(\text{NR}_4\text{R}_5)$, $-\text{SO}_2(\text{alquilo C}_1\text{-C}_4)$, $-\text{SO}_2(\text{fenilo})$, ou halo.

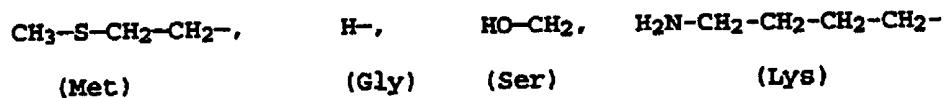
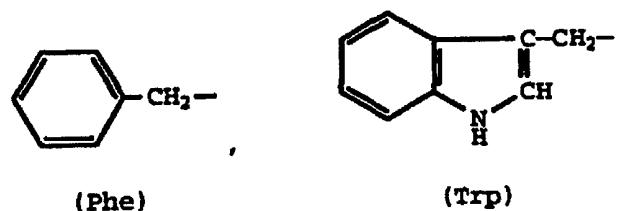
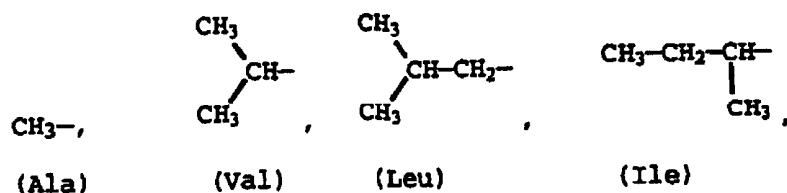
Exemplos de um bicíclico condensado incluem indole, imidazole(1,2-a)piridina, benzotriazole, benzimidazole, benzotriazole, benzoxazazole, benzoxatiazole, quinolina, isoquinolina, fatalazina, quinazolina, quinoxalina, e aminoisoquinolina.

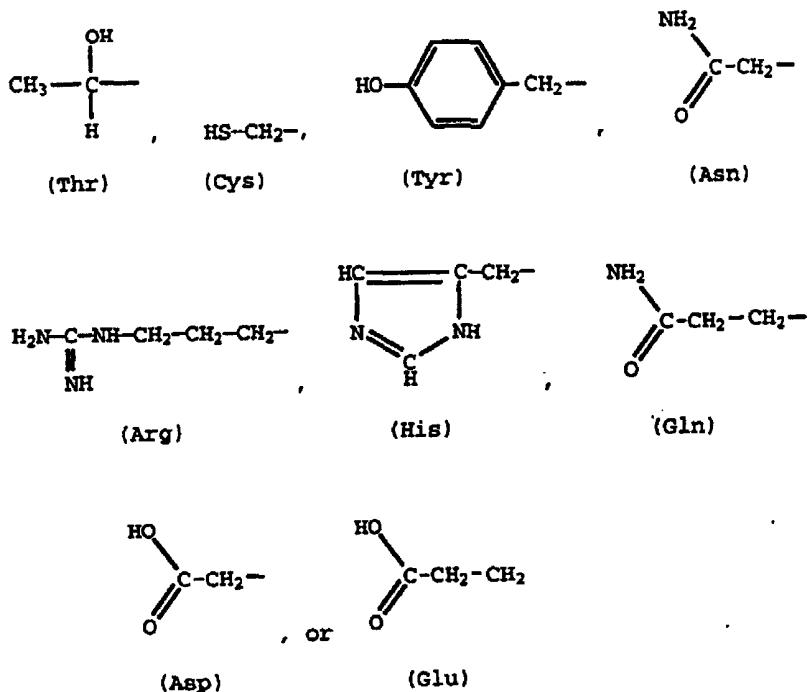
O termo “resíduo aminoácido” refere-se a porção da fórmula



em que R representa a cadeia lateral variável de um aminoácido e R_7 é hidrogénio ou hidroxi. A cadeia lateral variável de um aminoácido representa o átomo ou grupo ligado a um átomo α -carbono tendo também a ele ligado um grupo carboxilo ou um grupo amino. Por exemplo, a região variável dos ácidos amino

que ocorrem naturalmente são as fórmulas:





Adicionalmente aos ácidos que ocorrem naturalmente, o termo resíduo aminoácido inclui isómeros posicionais e variantes. Exemplos de isómeros posicionais e variantes representadas pelo resíduo aminoácido incluem: ácido 2-aminoadípico (Aad), ácido 3-aminoadípico (bAad), β -alanina (bAla), ácido 2-aminobutírico (Abu), ácido 4-aminobutírico (4Abu), 6-aminocapróico (Acp), ácido 2-aminoheptanóico (Ahe), ácido 2-aminoisobutírico (Aib), ácido 3-aminoisobutírico (bAib), ácido 2-aminopimélico (Apm), ácido 2,4-diaminobutírico (Dbu), desmosina (Des), ácido 2,2'-diaminopimélico (Dpm), ácido 2,3-diaminopropiónico (Dpr), N-etilglicina (EtGly), N-etilasparagina (EtAsn), hidroxilisina (Hyl), halohidroxilisina (aHyl), 3-hidroxiprolina (3Hyp), 4-hidroxiprolina (4Hyp), isodesmosina (Ide), allo-isoleucina (alle), naftilglicina, N-metilglicina (MeGly), N-metilisoleucina (Melle), N-metillisina (MeLys), norvalina (Nva), norleucina (Nle), ornitina (Orn), fenilglicina, cianoalanina (CA),

γ -carboxiglutamato, O-fosfoserina, α -naftilalanina (NA), β -naftilalanina (bNA), S-galactosil cisteína, glicinamida, N-formilmetionina, tirosina-O-sulfato e semelhantes. Estes resíduos aminoácidos podem estar ou na configuração D ou L. A não ser especificado de outra maneira, a referência a um aminoácido deverá referir-se à configuração L.

O termo “grupo dissociável” como aqui utilizado na descrição é compreendido pelos técnicos. Geralmente, um grupo dissociável é qualquer grupo ou átomo que realce a electrofilicidade do átomo ao qual ele está ligado para deslocamento. Grupos dissociáveis preferidos são triflato, mesilato, tosilato, imidato, cloreto, brometo, e iodeto. Se o agente de alquilação contém um resíduo aminoácido (isto é, X, W, e Y combinam-se para formar $-(CH_2)_n-AA-$) o grupo dissociável ligado ao carboxi é de preferência éster pentafluorofenílico ou éster para-nitrofenílico.

O termo “grupo de protecção carboxi” como utilizado na descrição refere-se a um dos derivados éster do grupo ácido carboxílico geralmente empregue para bloquear ou proteger o grupo ácido carboxílico enquanto as reacções são efectuadas em outros grupos funcionais no composto. As espécies do grupo de protecção carboxi empregue não é crítica desde que o derivado ácido carboxílico seja estável na condição da reacção(ões) subsequentes e podem ser removidas no ponto apropriado sem perturbar o restante da molécula. T.W. Greene e P. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1991, Chapter 5, fornece uma lista de grupos de protecção empregues geralmente. Ver também E. Haslam, Protective Groups in Organic Chemistry, J.G.W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N.Y., 1973. Um termo relacionado é “carboxi protegido”, o qual refere um grupo de protecção carboxi.

O termo “grupo de protecção hidroxi” como aqui utilizado na descrição refere-se a um dos derivados éter ou éster do grupo hidroxi empregue geralmente para bloquear ou proteger o grupo hidroxi enquanto as reacções são efectuadas em outros grupos funcionais no composto. As espécies de grupo de protecção hidroxi empregue não é crítica desde que o grupo derivado de hidroxi seja estável à condição da reacção (ões) subsequente e possa ser removido no ponto apropriado sem perturbar o restante da molécula. T.W. Greene and P. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1991, fornece uma lista de grupos de protecção empregues geralmente. Grupos de protecção hidroxi preferidos são terc-butildifenilsiloxi (TBDPS), terc-butildimetilsiloxi (TBDMS), trifenilmetilo (tritilo), metoxitritilo, ou um éster alquilo ou arilo. O termo referido é “hidroxi protegido”, o qual se refere a um grupo de protecção hidroxi.

O termo “grupo de protecção amino” como utilizado na descrição refere-se a substituintes do grupo amino geralmente empregue para bloquear ou proteger a funcionalidade amino enquanto se faz reagir outros grupos funcionais no composto. As espécies do grupo de protecção de amino empregue não é crítica desde que o grupo amino derivado seja estável na condição da reacção(ões) subsequente e pode ser removido no ponto apropriado sem perturbar a restante molécula. T.W. Greene and P. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Chapter 7, fornece uma lista de grupos de protecção empregues geralmente. Ver também J.W. Barton, Protective Groups in Organic Chemistry, Chapter 2. Grupos de protecção de amino são t-butoxicarbonilo, ftalamida, um alquilo cílico, e benziloxicarbonilo. O referido termo “amino protegido” define um grupo amino substituído por um grupo de protecção amino como definido.

O termo “grupos de protecção -NH” como utilizados na descrição

referem-se a sub-classes de grupos de protecção de amino que são geralmente empregues para bloquear ou proteger a funcionalidade $-\text{NH}$ enquanto se faz reagir outros grupos funcionais no composto. As espécies do grupo de protecção empregue não é crítica desde que o grupo amino derivado seja estável na condição das subsequentes reacção (ões) e pode ser removido no ponto apropriado sem perturbar o restante da molécula. T.W. Greene and P. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Chapter 7, page 362-385, fornecem um alista de grupos de protecção empregues geralmente. Os grupos de protecção $-\text{NH}$ preferidos são carbamato, amida, alquilo ou arilo sulfonamida. O referido termo “ $-\text{NH}$ protegido” define um grupo substituído por um grupo de protecção $-\text{NH}$ como definido.

O termo “quantidade farmaceuticamente efectiva”, como aqui utilizado, representa uma quantidade de um composto do invento que é capaz de inibir actividade PKC em mamíferos. A dose particular do composto administrado de acordo com este invento deverá, claro, ser determinada pelas circunstâncias particulares que rodeiam o caso, incluindo o composto administrado, a via de administração, a doença particular a ser tratada, e semelhantes considerações. Os compostos podem ser administrados por várias vias de administração incluindo a via oral, rectal, transdérmica, subcutânea, tópica, intravenosa, intramuscular ou intranasal. Para todas as indicações, uma dose diária típica deverá conter desde cerca de 0,01 mg/Kg até cerca de 20 mg/Kg do composto activo deste invento. Doses diárias preferidas deverão ser de cerca de 0,05 até cerca de 10 mg/Kg, idealmente cerca de 0,1 até cerca de 5 mg/Kg. Porém, para administração tópica uma dosagem típica é de cerca de 1 até cerca de 500 µg de composto por cm^2 de tecido afectado. De preferência, a quantidade de composto aplicada deverá atingir desde cerca de 30 até cerca de 300 µg/ cm^2 , mais preferencialmente, desde cerca de 50 até cerca de 200 µg/ cm^2 , e mais preferencialmente, desde cerca de 60 até cerca de 100 µg/ cm^2 .

Very well. Henry

O termo "tratamento", como aqui utilizado, descreve o manuseamento e o cuidado de um doente com a finalidade de combater a doença, condição, ou perturbação e inclui a administração de um composto do presente invento para evitar a instalação de sintomas ou complicações, aliviando os sintomas ou complicações, ou eliminando a doença, condição ou perturbação.

O termo "isozima selectiva" significa a inibição preferencial da isozima proteína cinase C beta-1 ou beta-2 sobre isozimas proteína cinase C, alfa, gama, delta, epsilon, zeta e eta. Em geral, os compostos demonstram um mínimo de um diferencial de oito vezes (de preferência um diferencial de dez vezes) numa dosagem requerida para inibir isozima PKC beta-1 ou beta-2 e a dosagem requerida para inibição igual da isozima proteína cinase C alfa como medida no ensaio PKC. Os compostos demonstram este diferencial através de uma gama de inibição e são exemplificados no IC_{50} , isto é, uma inibição de 50%. Deste modo, os compostos selectivos de isozima inibem as isozimas de proteína cinase C beta-1 e beta-2 em concentrações muito menores com toxicidade inferior em virtude da sua inibição mínima de outras isozimas PKC.

Em virtude das suas porções acídicas, os compostos de Fórmula I incluem os seus sais de adição de base farmaceuticamente aceitáveis. Tais sais incluem os derivados das bases inorgânicas tais como amónio e alcali e hidróxido de metal alcalino trroso, carbonatos, bicarbonatos, e semelhantes, assim como sais derivados de aminas orgânicas básicas tais como aminas alifáticas e aromáticas, diaminas alifáticas, hidroxi alcaminas, e semelhantes. Tais bases úteis na preparação dos sais deste invento incluem deste modo hidróxido de amónio, carbonato de potássio, bicarbonato de sódio, hidróxido de cálcio, metilamina, dietilamina, etilenodiamina, ciclohexilamina, etanolamina e semelhantes.

Por causa desta porção básica, os compostos de Fórmula I podem

Very Sincere G. L. Murray

também existir como sais de adição de ácido farmaceuticamente aceitáveis. Ácidos geralmente empregues para formar tais sais incluem ácidos inorgânicos tais como ácidos clorídrico, bromídrico, ioídrico, sulfúrico e fosfórico, assim como ácidos orgânicos tais como para-toluenossulfônico, metanossulfônico, oxálico, para-bromofenilsulfônico, carbónico, succínico, cítrico, benzólico, ácido acético, e ácidos inorgânicos e orgânicos relacionados. Tais sais farmaceuticamente aceitáveis deste modo incluem sais de sulfato, pirossulfato, bissulfato, sulfito, bissulfito, fosfato, mono-hidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloreto, brometo, iodeto, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formato, isobutirato, heptanoato, propionato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, 2-butino-1,4 dioato, 3-hexeno-2,5-dioato, benzoato, clorobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, xilenossulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, hippurato, β -hidroxibutirato, glicolato, maleato, tartrato, metanossulfonato, propanossulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato e semelhantes.

Em adição a sais farmaceuticamente aceitáveis, outros sais são incluídos no invento. Poderão servir como intermediários na purificação dos compostos, na preparação de outros sais, ou na identificação e caracterização dos compostos ou intermediários.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis dos compostos de Fórmula I podem também existir como vários solvatos, tais como com água, metanol, etanol, dimetilformamida, acetato de etilo e semelhantes. Misturas de tais solvatos também podem ser preparadas. A fonte de tal solvato pode ser do solvente da cristalização, inerente no solvente de preparação ou cristalização, ou estranho a tal solvente. Tais solvatos estão dentro do âmbito do presente invento.

*Very Satisfied
C. L. C. (Signature)*

É reconhecido que várias formas estereoisoméricas dos compostos de Fórmula I podem existir; por exemplo, W pode conter um átomo de carbono quiral na porção alquíleno substituída. Os compostos são normalmente preparados como racematos e podem ser utilizados convenientemente como tal, mas enanteómeros individuais podem ser isolados ou sintetizados por técnicas convencionais se assim for desejado. Tais racematos e enanteómeros individuais e suas misturas formam parte do presente invento.

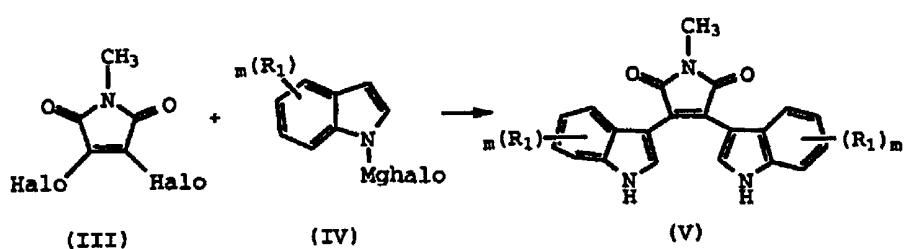
O invento também inclui as prodrogas farmaceuticamente aceitáveis dos compostos de Fórmula I. Uma prodroga é uma droga é modificada quimicamente e pode ser biologicamente inactiva no seu lugar de acção, mas a qual pode degradar-se ou modificar-se por um ou mais processos enzimáticos ou outros processos in vivo para a forma bioactiva de origem. Esta prodroga deveria ter um perfil farmacocinético diferente do de origem, capacitando absorção mais fácil através do epitélio mucoso, melhor formação de sal ou solubilidade, e/ou estabilidade sistémica melhorada (um aumento meia vida no plasma, por exemplo). Tipicamente, tais modificações químicas incluem o seguinte:

- 1) derivados éster ou amida os quais podem ser clivados por esterases ou lipases;
- 2) peptídeos que podem ser reconhecidos por proteases específicas ou não-específicas; ou
- 3) derivados que acumulam num lugar de acção através da selecção de membrana de uma forma de prodroga ou uma forma de prodroga modificada; ou qualquer combinação de 1 até 3, supra. Processos convencionais para a selecção e preparação de derivados prodrogas adequados, são descritos por exemplo, em H, Bundgaard, Design of Prodrugs, (1985).

A síntese de certos derivados bis-indole-N-maleimida é descrita em Davis et al. na Patente U.S. 5.057.614, aqui incorporada por referência. Geralmente, os compostos do presente invento podem ser preparados como se

segue:

Esquema 1

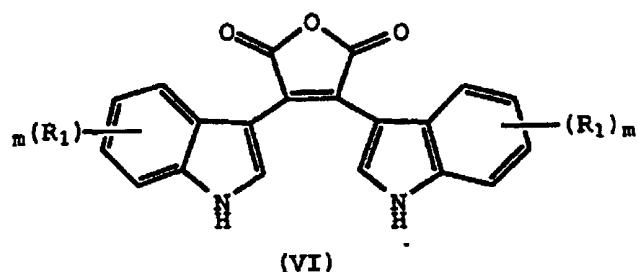


R_1 , m e halo são idênticos como previamente definidos. Halo é de preferência cloro, bromo, ou iodo. O composto III é de preferência 2,3-dicloro N-metilmaleimida.

A reacção entre o Composto III e o indole, Composto IV, é geralmente conhecida como a Reacção Grignard. A reacção é efectuada num solvente inerte, tal como tolueno, a uma temperatura entre a temperatura ambiente e a temperatura de refluxo da mistura de reacção. Mais significativamente, a reacção descrita no Esquema 1 é dependente das condições solventes. Quando efectuada num sistema solvente tolueno:THF:éter, a reacção fornece o Composto V com rendimento maior do que 80 porcento e maior do que 95 porcento de pureza. O produto é precipitado a partir da mistura de reacção com cloreto de amónio, NH_4Cl . O intermediário resultante, Composto V, pode ser isolado por técnicas normalizadas.

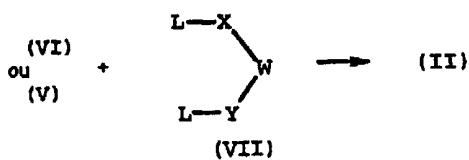
Bis-3,4-(3'-indolil)-1N-metil-pirrole-2,5-diona, Composto V, pode então ser convertido por hidrólise alcalina no anidrido correspondente de Fórmula VI por técnicas conhecidas na técnica e descritas em Brenner et al.,

Tetrahedron 44: 2887-2892 (1988). De preferência, o Composto V é feito reagir com KOH a 5N em etanol a uma temperatura abrangendo desde 25°C até refluxo.



Os compostos de Fórmula V são geralmente mais estáveis do que os compostos de Fórmula VI. Portanto, é preferível que os Compostos V sejam feitos reagir de acordo com o Esquema 2 para produzir os compostos de Fórmula I. Porém, um técnico reconhecerá que os compostos da Fórmula VI, pode também ser feitos reagir de acordo com o Esquema 2.

Esquema 2



X, Y e W são idênticos como definido anteriormente. L é um bom grupo dissociável tal como cloro, bromo, iodo, mesilo, tosilo, e semelhantes. L pode ser também um hidroxi ou outro percursor que pode ser prontamente convertido num bom grupo dissociável por técnicas conhecidas na técnica. Por exemplo, o hidroxi pode prontamente ser convertido num éster sulfônico tal como mesilo por reacção do hidroxi com cloreto metanossulfônico para produzir o grupo dissociável

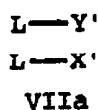
Indole Chemistry

mesilato.

A reacção representada pelo Esquema 2 é concluída por qualquer dos métodos conhecidos de preparação de indoles N-substituídos. Esta reacção habitualmente envolve aproximadamente quantidades equimolares dos dois reagentes, apesar de outras proporções, especialmente aquelas em que o reagente de alquilação está em excesso, serem também operativas. A reacção é melhor efectuada num solvente aprótico polar empregando um sal metal alcalino ou outro tal como condições de alquilação como as que são apreciadas na técnica. Quando grupo dissociável é bromo ou cloro, uma quantidade catalítica de sal iodeto, tal como iodeto de potássio pode ser adicionada para acelerar a reacção. Condições de reacção incluem o seguinte: hexametildisilazeto de potássio em dimetilformamida ou tetrahidrofurano, hidreto de sódio em dimetilformamida.

De preferência, a reacção é efectuada sob adição reversa lenta com carbonato de céssio quer em acetonitrilo, dimetilformamida (DMF), ou tetrahidrofurano (THF). A temperatura de reacção é de preferência de desde cerca a temperatura ambiente até cerca da temperatura de refluxo da mistura de reacção.

Um técnico deverá reconhecer que a reacção descrita no Esquema 2 pode ser empregue com compostos de Fórmula VIIa.

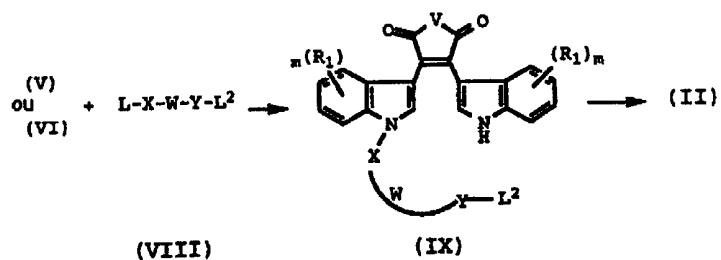


X' e Y' são carboxi protegido, hidroxi protegido, ou uma amina protegida. Depois da alquilação do esquema 2, X' e Y' podem ser convertidos em porções

capazes de acoplar para formar W. Este método é o preferido da preparação de compostos de Fórmula I em que W é -S-, -O-, ou NR₃. O acoplamento de X' e Y' para formar os vários derivados éter, tioéter ou aminoéter é conhecido na técnica e descrita em, por exemplo, Ito, et al., Chem. Pharm. Bull. 41(6): 1066-1073 (1993); Kato, et al, J. Chem. Pharm. Bull. 34: 486 (1986); Goodrow et al. Synthesis 1981: 457; Harpp, et al., J. Am. Chem. Soc. 93: 2437 (1971); e Evans, et al. J. Org. Chem. 50 : 1830 (1985).

Um técnico também reconhecerá que os compostos de Fórmula V podem ser convertidos nos compostos de Fórmula II numa síntese de duas fases como descrito no Esquema 3.

Esquema 3



R₁, X, W, Y, V e L são idênticos como definido anteriormente. L² é um hidroxi protegido ou outro grupo que pode ser prontamente convertido num bom grupo dissociável por técnicas conhecidas na técnica. O acoplamento entre o Composto V ou VI e o Composto VIII é uma alquilação como debatida anteriormente. O intermediário monoalquilado, IX, é desprotegido, e L² é convertido num grupo dissociável. Por exemplo, se o hidroxi é protegido com t-butildimetilsililo (TBDMS), TBDMS é selectivamente removido utilizando metanol acídico. O hidroxi livre resultante é então convertido num grupo

Very well done

dissociável, tal como um haleto de alquilo, de preferência um iodeto ou brometo de alquilo (CBr_4 em trifenilfosfina) ou sulfona (cloreto de mesilo em trietilamina). O macrólito é então formado por alquilação sob adição reversível lenta a uma solução de base, tal como hexametildisilazeto de potássio, ou hidreto de sódio mas de preferência Cs_2CO_3 num solvente aprótico polar tal como acetonitrilo, DMF, THF a temperaturas atingindo desde ambiente até refluxo.

Os Esquemas 2 e 3 exemplificam o processo do presente invento. Mais inesperadamente, os compostos de Fórmula II podem ser preparados com rendimento substancialmente mais alto quando a alquilação é efectuada sob adição reversível lenta de Cs_2CO_3 num solvente aprótico polar. Adição reversível lenta envolve a combinação de uma mistura de composto e agente de alquilação (Esquema 2) ou o composto (Esquema 3) com a base numa proporção de desde cerca de 0,1 mL/hora até cerca de 2,0 mL/hora. A concentração de cada reagente na mistura é de cerca de 1,5 molar até cerca de 0,001 molar. Quando efectuada com o composto monoalquilado (Esquema 3) a concentração é desde cerca de 3 molar até cerca de 0,001 molar. A adição lenta resulta numa concentração de reagentes num frasco de reacção de cerca de 0,01 μmolar até 1,5 molar. Um técnico reconhecerá que para uma proporção de adição mais alta uma concentração de reagentes mais baixa poderia ser utilizada na reacção. Do mesmo modo, a uma proporção de adição mais baixa, uma concentração de reagentes mais alta poderia ser utilizada na reacção. De preferência, o composto é adicionado a cerca de 0,14 mL/hora com o composto e o agente de alquilação a 0,37 molar. É preferível que o Cs_2CO_3 seja adicionado em excesso – mais preferencialmente a proporção 4:1 Cs_2CO_3 para agente de alquilação. Solventes apróticos polares são acetonitrilo, dimetilformamida (DMF), acetona, dimetilsulfóxido (DMSO), dioxano, éter dietíleno glicol metílico (diglima), tetrahidrofurano (THF), ou outros solventes apróticos polares nos quais os reagentes são solúveis. A reacção é efectuada a temperaturas atingindo desde

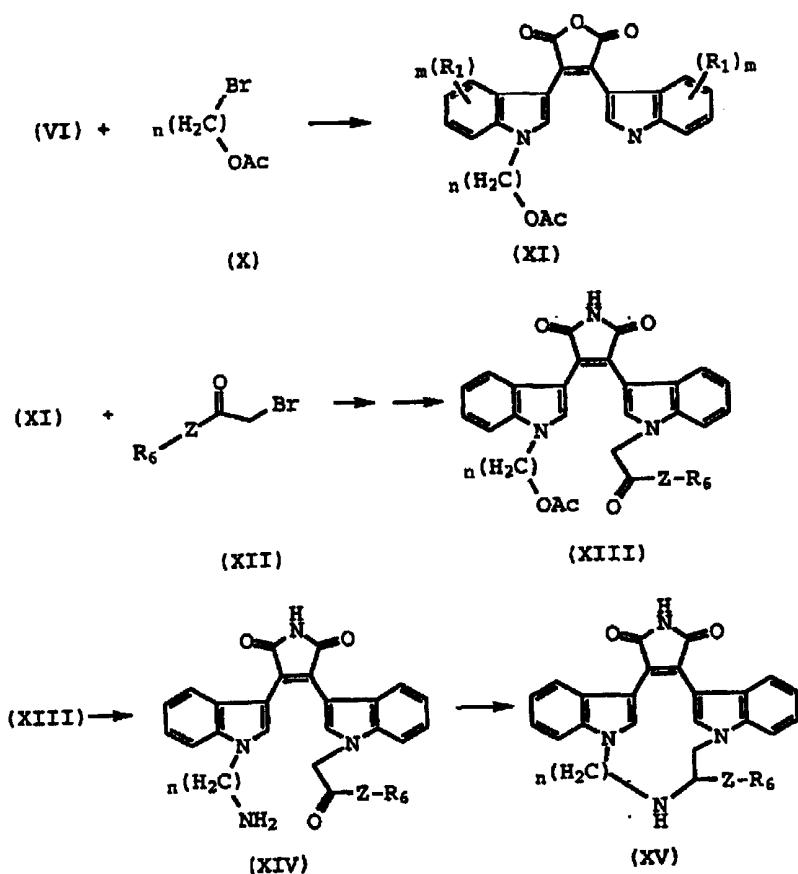
cerca de 0°C até refluxo. Um técnico reconhecerá que a proporção da mistura do composto e o agente de alquilação não é crítica. Porém, é preferível que os reagentes sejam misturados numa proporção de 0,5 até 3 equivalentes de cada um. Mais preferencialmente, os reagentes são misturados 1:1.

Quando V é N-CH₃, o Composto II é convertido no anidrido correspondente (V é O) por hidrólise alcalina. A hidrólise alcalina envolve a reacção do composto com uma base, tal como hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, em álcool C₁-C₄ (de preferência etanol), DMSO/água, dioxano/água, ou acetonitrilo/água a uma temperatura abrangendo desde cerca de 25°C até de preferência cerca do refluxo. A concentração dos reagentes não é crítica.

O anidrido (V é O) é convertido na maleimida de Fórmula I por amnólise. Amnólise envolve a reacção do anidrido com um excesso de hexametildisilazano ou um sal de amónio (acetato brometo, ou cloreto de amónio,) e álcool C₁-C₄ (de preferência metanol) num solvente aprótico polar tal como DMF à temperatura ambiente. De preferência, o hexametildisilazano ou um sal de amónio é feito reagir a uma proporção maior do que cerca de 5:1 equivalentes de anidrido.

Porém, outro método de preparação de compostos de Fórmula I é sublinhado no Esquema 4. Este método é particularmente útil quando W é -NH e X ou Y é um alquíleno substituído.

Esquema 4

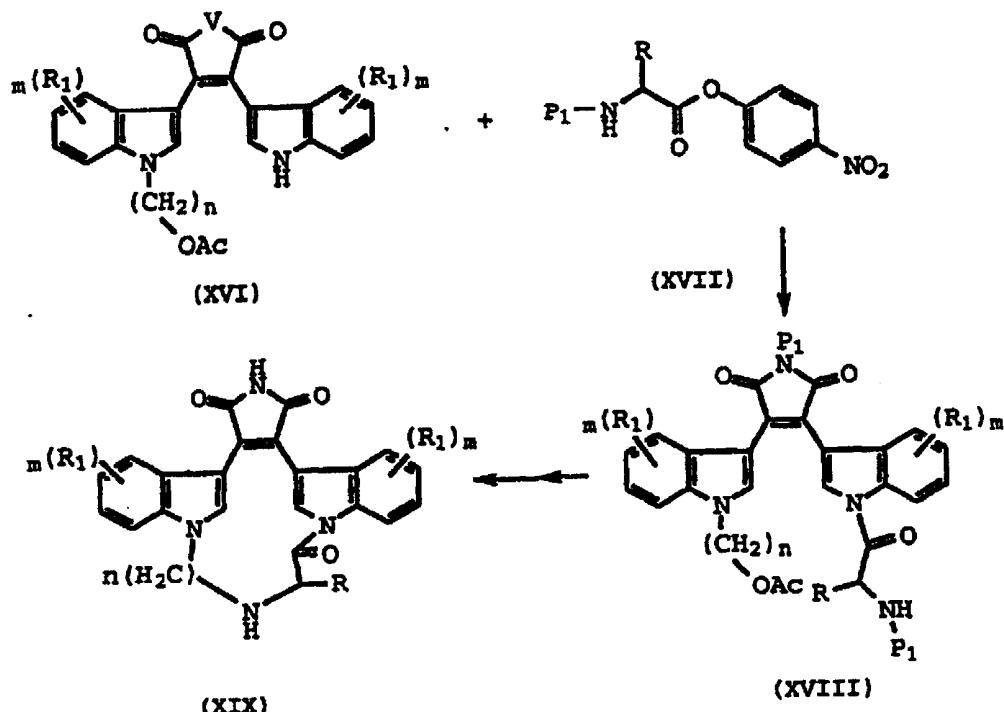


Ac é acetilo, R_1 , R_6 , Z , n , e m são idênticos como definido anteriormente. A alquilação do Composto VI com X ocorre sob condições previamente descritas e conhecidas na técnica. Da mesma maneira, a alquilação do Composto XI com a cetona α -halo, o Composto XII, ocorre sob condições previamente debatidas. A conversão do anidrido em maleimida, Composto XV, ocorre como descrito previamente. Por exemplo, o anidrido pode ser convertido na maleimida bis-indole fazendo reagir o anidrido com hexametildisilazano e metanol num solvente orgânico inerte tal como DMF à temperatura ambiente.

O hidroxi protegido, representado por Oac, é prontamente hidrolizado para formar um álcool (por exemplo, K_2CO_3 em metanol aquoso e THF). O álcool resultante é convertido num grupo dissociável pelos métodos apreciados na técnica tal como fazendo reagir o álcool com cloreto de mesilo em trietilamina a $0^{\circ}C$. O grupo dissociável é substituído por um azeto, tal como NaN_3 em DMF a $50^{\circ}C$. O azeto resultante é reduzido para formar a amina empregando catalisador de Lindlar na presença de H_2 . O macrociclo é fechado por meio de uma base Schiff intramolecular. A base Schiff é reduzida sob condições normalizadas, tais como $NaCNBH_3$ ou outros agentes de redução, para formar os monociclos de Fórmula I.

Porém outro método de preparação de compostos de Fórmula I é sublinhado no Esquema 5. Este método é particularmente útil quando X, W, e Y são tomados em conjunto para formar $-(CH_2)_n-AA^-$.

Esquema 5

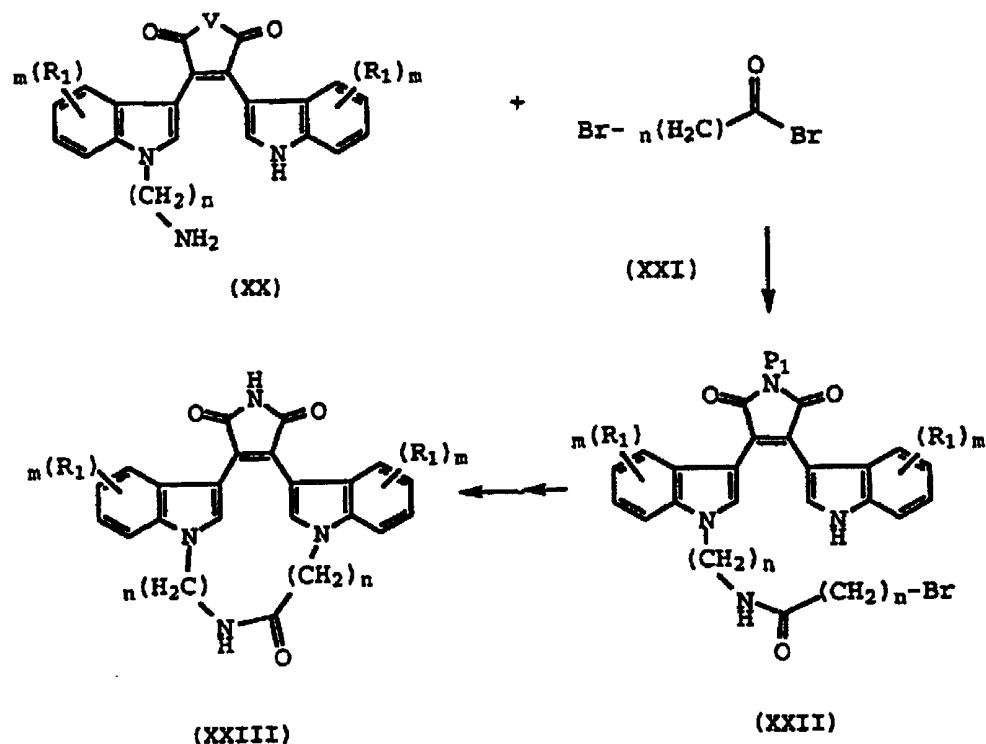


R_1 , Ac, V, m, e n são idênticos como previamente definidos. P_1 representa um grupo de protecção de amino. R representa a cadeia lateral variável de um aminoácido. A acilação do composto XVI com um aminoácido activado (tal como o éster para-nitrofenílico, ilustrado) é efectuada utilizando 18-coroa-6 e KF em THF, DMF, ou dimetoxietano à temperatura ambiente como descrito em Klausner, et al., J.Chem. Soc., PERKINI 607-631 (1977); e Nakagawa, et al., J. Am. Chem. Soc., 105: 3709-3710 (1983). O fecho do macrociclo para formar Composto XIX é efectuado por meio da formação da base intramolecular Schiff como descrito no Esquema 4.

Um método adicional de preparação de compostos de Fórmula I e um método preferido quando W é $-CONH-$ ou $-NHCO-$, é descrito no Esquema

6.

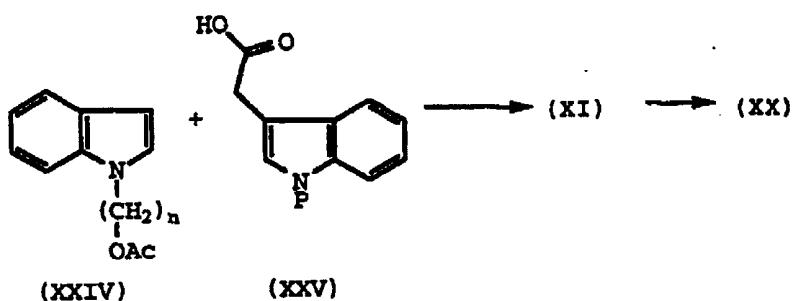
Esquema 6



R_1 , Ac , V , P_1 , m , e n são idênticos como definido anteriormente. A reacção entre Composto **XX** e Composto **XXI** ocorre na presença de etil diisopropilamina em cloreto de metíleno a 0°C . O macrociclo é formado por meio de uma alquilação intramolecular do azoto indole livre e o carbonilo α -halo terminal sob condições de alquilação previamente descritas. A maleimida protegida é desprotegida como debatido anteriormente para produzir o Composto **XXIII**.

Um método alternativo de preparação de intermediários, os Compostos **XI** e **XX**, é descrito no Esquema 7.

Esquema 7



Ac é idêntico como previamente definido; P é um grupo de protecção indole tal como t-butoxicarbonilo ou outro grupo de protecção indole conhecido na técnica. T.W. Greene and P. Wuts, Protecting Groups in Organic Synthesis, Chapter 7, page 385. A reacção descrita no Esquema 7 é conhecida como Condensação Perkin. A reacção é descrita em Hill et al., J. Med. Chem. 36: 21-29 (1993). Geralmente, cloreto oxalilo é adicionado a entre -78°C e a temperatura de refluxo da mistura (de preferência a 0°C) a uma solução anidro do Composto XXIV num solvente orgânico inerte tal como um hidrocarboneto alifático halogenado como cloreto de metíleno. Depois de cerca de uma a três horas, os voláteis são removidos. Os sólidos resultantes são dissolvidos num solvente hidrocarboneto alifático halogenado seco, por exemplo, cloreto de metíleno; e adicionou-se o Composto XXV na presença de um agente de ligação ácido, de preferência uma amina terciária tal como uma trietilamina, à temperatura ambiente.

O anidrido resultante, Composto XI é feito reagir de acordo com os Esquemas 4 ou 5 ou é convertido na maleimida ou uma maleimida protegida como debatido previamente.

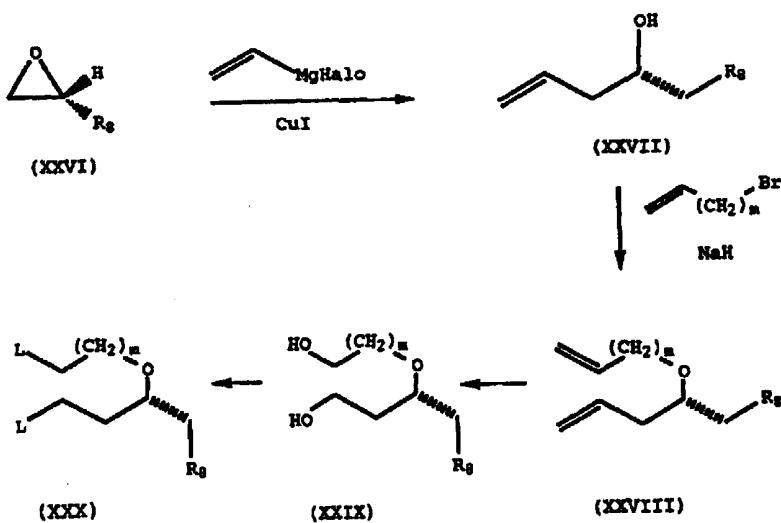
O hidróxi protegido (de preferência oAc, ilustrado) do Composto XI pode ser convertido num álcool por técnicas conhecidas na técnica. Por

Very good. (Continued)

exemplo, o Composto XI é feito reagir com NH₄OH ou amoníaco aquoso em DMF a elevadas temperaturas, por exemplo 140°C. O álcool resultante é convertido na amina, Composto XX, por métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, o álcool em diclorometano e colidina sob um a atmosfera de azoto é feito reagir com anidrido trifílico em diclorometano. Depois de aproximadamente duas horas, a mistura é tratada com amoníaco aquoso. A amina resultante, Composto XX é então feita reagir de acordo com o Esquema 6.

Um intermediário do presente invento é preparado de acordo com o Esquema 8. Este esquema é particularmente útil na preparação de compostos em que W é -O-, Y é alquíleno substituído, e X é alquíleno.

Esquema 8



R_8 é N_3 , grupo NH-protégido, grupo de protecção de amina, ou grupo de protecção hidroxi; m é independentemente 0, 1, 2, ou 3; e L é um bom grupo dissociável tal como cloro, bromo, iodo, mesilo, tosilo e semelhantes. L é

de preferência mesilo. R_8 é de preferência um hidroxi protegido, mais preferencialmente -Otritilo.

O Esquema 8 apresenta uma síntese estereoselectiva da porção de ligação (-X-W-Y-) do macrociclo. O enanteómero S é ilustrado anteriormente; porém, um técnico reconhecerá que o enanteómero complementar ou mistura de enanteómeros poderia ser preparada de uma maneira análoga. Adicionalmente, um técnico reconhecerá que uma reacção análoga com epóxido metil substituído ou reagente Grignard poderia ser utilizado para preparar os vários ligantes (-X-W-Y-) contendo um alquíleno metil substituído.

Na reacção anterior, o epóxido, Composto (XXVI), é aberto utilizando um reagente Grignard. A reacção é efectuada na presença de agente de complexante de cobre; porém outras condições de alquilação são operativas. A reacção é efectuada num solvente inerte a uma temperatura entre -30°C e temperatura de refluxo da mistura de reacção. A reacção produz Composto (XXVII) o qual pode ser adicionalmente feito reagir sem purificação. O Composto (XXVII) é alilado sob condições gerais conhecidas na técnica para preparação de éteres. A reacção ilustrada no Esquema 8 é uma síntese Williamson. A formação de alcósido de sódio utilizando NaH , NaOH , ou KOH seguida da alquilação com brometo de alilo produz dieno, Composto (XXVIII). O Composto (XXVIII) é convertido no álcool, Composto (XXIX), sob técnicas normalizadas. Por exemplo, Composto (XXVIII) pode ser convertido num ozonido pelo tratamento com ozono a baixas temperaturas. O ozoneto é então reduzido com NaBH_4 , LiAlH_4 , BH_3 ou hidrogenação catalítica com excesso de H_2 para produzir o álcool, Composto (XXIX). As porções hidroxi do Composto (XXIX) são convertidas no grupo dissociável, L, por técnicas normalizadas tais como fazendo reagir o álcool com cloreto de mesilo em trietilamina.

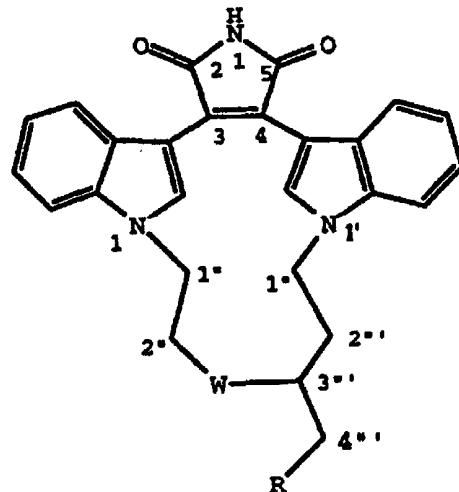
W. J. S. (W. J. S.)

Em todos os esquemas anteriores, é preferido que as reacções sejam efectuadas com grupos de protecção apropriados. Em particular, é preferido que R_1 seja protegido durante as alquilações e/ou acilações e subsequentemente desprotegidos. Da mesma maneira, se R_6 é um $-NR_4R_5$, as reacções são melhor efectuadas com um grupo de protecção de amino. Porém, um técnico reconhece que muitas destas reacções podem ser efectuadas sem grupos de protecção se as condições de reacções apropriadas, reagentes de bloqueamento, ou semelhantes são utilizados. É preferido que quando W contém uma porção hidroxi, é protegido como terc-butildifenilsiloxi (TBDPS) ou trifenilmetilo (tritilo) durante a alquilação ou acilação do indole. Os compostos resultantes de Fórmula I podem ser isolados e purificados por técnicas normalizadas.

Compostos III, IV, V, VII, VIIa, VIII, X, XII, XVII, XXI, XXIV, XXV, XXVI e quaisquer outros reagentes requeridos para as reacções anteriores, ou estão comercialmente disponíveis, conhecidas na técnica, ou podem ser preparados por técnicas descritas em Edge et al., Chem. And Ind. 130 (1991); O Composto IV é preparado de preferência *in situ* pela reacção de um indole apropriadamente substituído por um haleto de alquilmagnésio tal como brometo de etilmagnésio de uma maneira conhecida.

Os exemplos e preparações seguintes são fornecidos meramente para ilustrar adicionalmente o invento. O âmbito do invento não é construído como consistindo meramente nos seguintes exemplos. Para ajudar um técnico, a seguinte estrutura é fornecida para ilustrar com um composto representativo a nomenclatura aqui adoptada:

May 2000 - 10:00 AM



Nos exemplos e preparações seguintes, o ponto de fusão, espectro de ressonância magnética nuclear, espectro de massa, cromatografia líquida de alta pressão em gel de sílica, N,N-dimetilformamida, paládio sobre carvão, tetrahidrofurano, e acetato de etilo são abreviados M. Pt., RMN, MS, HPLC, DMF, Pd/C, THF, e EtOAc respectivamente. Os termos "RMN" e "MS" indicam que o espectro foi consistente com a estrutura desejada.

Preparação 1

2,3-bis-(3'indolil)-furan-1,4-diona

Etóxido de sódio (3,56 g, 50 mmol) foi adicionado a uma solução contendo anidrido 2,3-dicloromaleico (5,56 g, 33,3 mmol) e hidrocloreto de metilamina (3,50 g, 55,0 mmol) em 40 mL de ácido acético. A mistura foi agitada sob um tubo de secagem CaCl_2 a 25°C durante 16 horas e depois foi refluxado durante 4 horas. A mistura arrefecida foi deitada em água (350 mL) e extraída com EtOAc (3 x 75 ml). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com porções de 100 mL de NaHCO_3 aquoso saturado, água e salmoura e secos (MgSO_4). O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi

Very good drawing

recristalizado a partir de etanol para dar 3,82 g (64%) de 2,3-dicloro N-metilmaleimida como cristais brancos. A concentração do licor mãe e cromatografia do resíduo por cromatografia de camada radial preparativa (Crometotron, Harrison Research), deu um adicional 0,81 g de 2,3-dicloro N-metilmaleimida, aumentando o rendimento para 77%.

Uma solução de indole (10,5 g, 90 mmol) em 175 mL de tolueno seco foi tratada gota a gota durante 1 hora sob N₂ com uma solução de brometo de etilmagnésio (1,0M em THF, 90 mL, 90 mmol). Depois da adição estar completa, uma solução verde clara foi aquecida a 40°C durante 30 minutos e depois arrefecida para 25°C. Uma solução de 2,3-dicloro N-metilmaleimida (3,8 g, 21 mmol) em 50 ml de tolueno foi adicionada durante um período de 30 minutos. A mistura de reacção foi aquecida a 100°C durante 3 horas, depois arrefecida para 25°C, e temperada com 100 mL de ácido cítrico 20 porcento aquoso. As camadas foram separadas. A fase aquosa foi extraída com EtOAc (50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre MgSO₄ anidro. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi retirado em 30 mL de acetona e deixado repousar a 5°C durante 40 horas. Os sólidos foram recolhidos e lavados com éter arrefecido com gelo para dar 5,25 g (73 porcento) de 3,4-bis-(3'-indolil)-1-metil-pirrol-2,5-diona como um sólido vermelho, M. Pt. 276-278°C.

A uma solução de 3,4-bis-(3'-indolil)-1-metil-pirrol-2,5-diona em 150 mL de etanol foi adicionado KOH a 5N (50 mL). A mistura foi agitada 4 horas a 25°C e diluída com 150 mL de água. A maior parte do etanol foi evaporada sob pressão reduzida. A mistura foi então acidificada para pH 1. O produto precipitado foi filtrado e lavado com água. O produto bruto foi dissolvido num mínimo de CH₂Cl₂ e lentamente foi filtrado através de uma coluna de duas polegadas de gel de sílica eluindo com 50 porcento de EtOAc em

Anal. Calcd.

hexano para dar o composto em título (3,10 g 79 porcento) como um sólido vermelho. M. Pt. 225-228°C

Preparação 2

Bis-2,6-dibromometil piridina

A uma mistura contendo 2,6-piridinodimetilmelanol (735 mg, 5,28 mmol) e trifenilfosfina (3,20 g, 12,2 mmol) em 35 mL de CH_2Cl_2 seco a 0°C sob N_2 foi adicionado N-bromossuccinimida (2,16 g, 12,2 mmol) em porções durante 10 minutos. A mistura foi agitada durante 1 hora a 0°C e depois foi deixada repousar a 5°C durante 16 horas. A maior parte do solvente foi removida sob pressão reduzida. Foi adicionado éter (100 mL) ao resíduo. A camada de éter foi decantada e concentrada para 20 mL e depois foi diluída com 3:1 hexano/EtOAc (50 mL). A solução turva foi colocada num frigorífico durante a noite. Depois da evaporação dos solventes *in vacuo*, o produto bruto foi recristalizado a partir de hexano para se conseguir 766 mg (55 porcento) de bis-2,6-dibromometil piridina como um sólido branco cristalino. MS.

Preparação 3

(±)-3-(Benziloxi)metileno-1,6-dibromohexano

Uma solução de t-butóxido de potássio (1,0 M em THF, 8,27 mL, 8,27 mmol) foi adicionada gota a gota a uma solução de (\pm) -3-ciclohexeno-1-metanol (853 mg, 7,60 mmol) em THF (35 mL) a 25°C sob N_2 . A mistura resultante foi agitada a 25°C durante 30 minutos. Brometo de benzilo (1,0 mL, 8,37 mmol) foi adicionado gota a gota. A mistura de reacção foi deixada agitar à temperatura ambiente durante 16 horas e depois foi tratada com NH_4Cl aquoso saturado (5 mL) e concentrada. O resíduo foi dissolvido em éter (50 mL), lavada com água (20 mL) e salmoura (20 mL), e foi seca sobre MgSO_4 . O solvente foi

evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi sujeito a cromatografia radial em gel de sílica eluindo com EtOAc a 5 porcento em hexano para dar (\pm)-3-(Benziloxi)metil-1-ciclohexeno (1,42 g, 92 porcento) como um óleo incolor. RMN.

Ozono foi feito borbulhar através de uma solução de (\pm)-3-Benziloximetileno-1-ciclohexeno (1,35 g, 6,70 mmol) em CH_2Cl_2 (65 mL) a -78°C até a cor azul de ozono não reagido se manter. A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente, enquanto azoto seco era feito borbulhar através da reacção. Complexo sulfeto de dimetil-borano (10,0 M em THF, 2,7 mL, 27,8 mmol) foi adicionado por meio de uma seringa durante vários minutos, e a mistura de reacção foi deixada repousar à temperatura ambiente durante 24 horas. A mistura de reacção foi tratada com HCL a 5 porcento aquoso (1 mL) e foi agitado vigorosamente durante uma hora. NaHCO_3 sólido foi adicionado até a mistura se tornar básica em papel de tornesol. A mistura foi seca sobre MgSO_4 anidro. A mistura de reacção foi filtrada e concentrada para se conseguir o (\pm)-3-(benziloxi)metil-1,6-hexanodiol em bruto (1,49 g, ca. 100 porcento) como um óleo. Este material, que mostrou essencialmente uma mancha única na análise TLC, $R_f = 0,25$, EtOAc a 25 porcento em hexano, foi utilizado directamente na fase seguinte sem purificação adicional.

N- Bromossuccinimida (2,49 g, 14,0 mmol) foi adicionada a uma mistura agitada de (\pm)-3-(benziloxi)metil-1,6-hexanodiol (1,45 g, 6,10 mmol) e trifenilfosfina (3,67 g, 14,0 mmol) em CH_2Cl_2 seco (50 mL) a 0°C sob N_2 . Depois de 12 horas, a reacção foi concentrada e foi adicionado éter (100 mL) ao resíduo. A mistura foi agitada durante 15 minutos; e a camada de éter foi decantada a partir dos sólidos. Os extracto de éter combinados foram concentrados para 50 mL depois foram diluídos com hexano (100 mL). Depois de repousar a 5°C durante a noite, a solução foi decantada dos sólidos precipitados e foi concentrada para se conseguir dibrometo de (\pm)-3-(benziloxi)metil-1,6-

dibromohexano (1,09 g, 49 porcento) como um óleo amarelo claro o qual foi essencialmente homogéneo por TLC, $R_f = 0,75$ (EtOAc a 10 porcento em hexano). RMN.

Preparação 4

1-(terc-butildimetsilsiloxi)-4-(terc-butildifenilsiloxi)-buten-3-ol

A uma solução de CH_2Cl_2 anidro (110 mL) de 3-buten-1-ol (15 g, 0,21 mol) foi adicionado imidazole (28,6 g, 0,42 mol, 2 eq), seguido de cloreto de terc-butildimetsilsililo (32 g, 0,22 mol). Depois de 90 minutos, a reacção foi completada como indicado por TLC (10% EtOAc/hexano). A solução CH_2Cl_2 (110 mL), lavada com água (200 mL), e salmoura (200 mL). A camada orgânica foi recolhida, seca sobre MgSO_4 , filtrada, e o solvente foi removido para render um óleo (1-(O-TBDMS)-3-buteno) o qual foi levado para a reacção seguinte. MS

O óleo anterior foi dissolvido numa mistura de acetona (400 mL) e água (50 mL). N-metilmorfolina-N-óxido (85,2 g, 0,63 mol, 3 eq) foi então adicionado. A pasta resultante foi arrefecida para 0°C, e depois de 10 minutos uma quantidade catalítica de OsO_4 (0,3g) foi adicionada. A pasta resultante foi deixada agitar durante a noite, aquecendo gradualmente até à temperatura ambiente. TLC (25% EtOAc/hexano) indicou que a reacção estava completa. A mistura de reacção foi temperada com bissulfito de sódio, diluída com éter (1 L), lavada com água (400 mL), e salmoura (400 mL). A camada orgânica foi recolhida. A camada aquosa foi extraída com éter (2 x 500 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas, filtradas, e concentradas para render 4-(O-TBDMS)-1,2-butanodiol como um óleo, o qual foi levado para a seguinte reacção.

O óleo anterior foi dissolvido em CH_2Cl_2 anidro (250 mL).

Imidazole (30 g, 0,44 mol, 2,5 eq) foi adicionado à solução como um sólido com agitação. A solução resultante foi arrefecida para 0°C. Depois do arrefecimento durante 15 minutos, uma solução CH₂Cl₂ (50 mL) de cloreto de terc-butildifenilsililo (50 g, 0,18 mol, 1 eq) foi adicionado gota a gota durante 45 minutos. Depois da adição estar completa, continuou a agitação a 0°C durante 2,5 horas. A solução foi transferida para um funil separador, diluída com CH₂Cl₂ (250 mL), lavada com água, salmoura, seca sobre MgSO₄, e filtrada. O solvente foi removido sob pressão reduzida para dar o produto bruto como um óleo. O produto bruto foi purificado por eluição (10% EtOAc/hexano) através de uma pequena coluna de gel de sílica. O solvente eluído foi removido *in vacuo* para deixar um óleo viscoso do intermediário em título. (78,1 g, 93% rendimento total). MS

Preparação 5

1-(terc-butildimetilsiloxi)-3-(3-iodopropiloxi)-4-(terc-butildifenilsiloxi)-butano

A uma solução de cloreto de metileno (20 mL)/ciclohexano (100 mL) do álcool da Preparação 4 (17,82 g, 88 mmols, 2,2 eq) sob um balão de N₂ seguido de ácido trifluorometanossulfônico (50 μ L/g de material de partida, 0,91 mL). Depois de 20 horas, a solução foi filtrada, e o filtrado foi lavado com NaHOC₃ saturado aquoso, água, e depois salmoura. A camada orgânica foi recolhida e seca sobre MgSO₄. O solvente foi removido para dar um óleo, o qual foi purificado por cromatografia flash em gel de sílica eluindo com hexanos e aumentando a polaridade da fase móvel para 5% acetato de etilo em hexanos sobre vários litros para render 19,27 g de éter alílico, 1-(terc-butildimetilsiloxi)-3-(propanooxi)-4-(terc-butildifenilsiloxi)-butano como um óleo castanho claro (97% rendimento). MS.

A uma solução de THF (60 mL) do anterior éter alilo (14,16 g, 28,38 mmols, 1 eq) foi adicionado 9-BBN (9-borabiciclo[3,3,1]nonano, solução em THF a 0,5 M, 60 mL, 30 mmols, 1,1 eq) gota a gota sob azoto. Depois de 3 horas, TLC (10% EtOAc em hexanos) da reacção mostrou que o material de partida tinha sido consumido. A esta solução foi adicionado NaOH a 3M aquoso (10,41 mL, 31,22 mmols, 1,1 eq) seguida de adição lenta em gota a gota (1,5 h) de 30% peróxido de hidrogénio (10,3 mL, 90,82 mmols, 3,2 eq). A temperatura de reacção durante o temporeo de peróxido foi mantida abaixo de 50°C (banho de gelo).

Depois de 30 minutos, cloreto de sódio foi adicionado até a solução estar saturada. A camada orgânica foi removida; a camada aquosa foi extraída com éter; as camadas orgânicas combinadas foram secas e filtradas; e o filtrado foi concentrado para dar um óleo. O óleo bruto foi purificado por cromatografia flash em gel de sílica eluindo com EtOAc/hexanos a 10% e aumentando a polaridade para 20% EtOAc/hexanos depois de cerca de 1,5 litros do solvente para render 9,53 g de um óleo amarelo claro (65% rendimento). MS.

A uma solução de éter anidro 0°C (150 mL) do álcool anterior foi adicionado trietilamina (2,93 g, 28,91 mmols, 1,5 eq) seguido de adição gota a gota de cloreto de mesilo (3,31 g, 28,91 mmols), 1,5 eq) com agitação vigorosa. Depois de 3 horas a 0°C, TLC (10% EtOAc em hexanos) indicou o material de partida como consumido. A reacção foi diluída com éter, lavada com água, salmoura, seca sobre $MgSO_4$, e o solvente removido. O óleo resultante foi passado através de uma almofada de sílica eluindo com 25% EtOAc/hexanos, e o eluente foi concentrado. A uma solução de acetona (200 mL) do óleo resultante foi adicionado $NaOCO_3$ (0,17 g, 1,93 mmols, 0,1 eq), e NaI (28,88 g, 192,7 mmols, 10 eq.). Depois da agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente sob atmosfera de azoto, a reacção foi aquecida até 50°C com um banho de água.

Depois de 2,5 horas, TLC (10% EtOAc em hexanos) indicou que o mesilato foi consumido. A mistura de reacção foi diluída com éter (500 mL), lavada com Na_2SO_3 aquoso saturado frio, água, salmoura, seco (MgSO_4), e o solvente removido. O óleo resultante foi passado através de uma almofada de sílica eluindo com 5% EtOAc em hexanos para dar o composto em título purificado 10,3 g como um óleo incolor (85% rendimento).

Preparação 6

3-bromopropil acetato

3-bromopropan-1-ol (0,54 moles, 75 g) em CH_2Cl_2 (500 mL) a 0°C sob N_2 foi tratado com cloreto de acetilo (0,5 moles, 40,2 mL). A esta solução foi adicionado trietilamina (0,54 moles, 75 mL) em porções (5 mL) lentamente por seringa. A mistura de reacção foi deixada voltar gradualmente (12 horas) à temperatura ambiente. O precipitado foi filtrado, e o filtro foi lavado com CH_2Cl_2 . O filtrado foi lavado com água (2 X), salmoura (2X) e seco sobre Na_2SO_4 , e filtrado. O filtrado foi concentrado para dar o acetato em título 91 g (93%) como um óleo. MS.

Preparação 7

N-(3-acetoxipropilo)-indole

A uma suspensão agitada de DMF a 0°C (400 mL) de NaH (60% em óleo mineral, 0,705 moles, 28,2 g, 1,5 eq.) num frasco de três gargalos equipado com um condensador de refluxo e um funil de adição foi adicionada uma solução de DMF (150 mL) de indole (55 g, 0,47 moles) gota a gota. Depois de 30-60 minutos, uma solução de DMF (50 mL) do haleto de alquilo, foi adicionado 3-bromopropilo acetato (170 g, 0,94 moles). A reacção foi aquecida a 50°C durante 6 horas e depois foi deixada a agitar à temperatura ambiente durante 5-15 horas.

O solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi dividido entre CH_2Cl_2 e água. A camada orgânica foi lavada com HCl a 1N (3 X), água, salmoura, seca sobre Na_2SO_4 , e filtrada. O filtrado foi concentrado para dar o alquil indole em título 102 g como um óleo que cristalizou lentamente. NS.

Preparação 8

Ácido N-(terc-butoxicarbonil)-indol-3-il-acético

A uma solução agitada de acetona (800 mL) de ácido indole-3-acético (26,25 g, 0,15 moles) foi adicionado carbonato de césio (48,9 g, 0,15 moles) seguido de brometo de alilo (15 mL, 0,17 moles, 1,16 eq). Depois de 12 horas o solvente foi removido. O resíduo foi dividido entre água e CHCl_3 . A camada orgânica foi lavada com salmoura, seca sobre Na_2SO_4 , e filtrada. O filtrado foi concentrado para dar o éster alílico 27,9 g (74% rendimento) como um óleo.

A uma solução acetonitrilo (500 mL) do éster alílico (27,9 g) foi adicionado dicarbonato di-*terc*-butilo (29,1 g, 0,133 moles, 1,2 eq) e 4-dimetilaminopiridina (1,36 g, 0,011 moles, 0,1 eq). Depois de 15 minutos, a mistura de reacção foi diluída com EtOAc (1,2 L) e lavada com HCl a 0,1N, água (2X), e salmoura (2X). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 , filtrada, e concentrada para dar éster protegido por BOC (32,9 g, 94%) como um óleo que cristalizou lentamente.

A uma solução $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ 10:3 (325 mL) de éster protegido por BOC foi adicionado 2-etylhexanoato de sódio (17,3 g, 0,104 moles), trifenilfosfina (4,93 g, 18,8 mmol, 0,18 eq) e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (4,56 g, 3,95 mmol, 0,04 eq). Depois de 1 hora, o solvente foi removido. O resíduo foi dividido entre

Preparação 9

$(\pm)3,4-[N,N'-1,1'-(3''-3\text{-terc\text{-}butildifenilsiloximetileno})\text{hexano}\text{-}bis\text{-}(3,3'\text{-indolil})]\text{-}1\text{-}(metil)\text{-pirrole}\text{-}2,5\text{-diona}$

Uma solução DMF (50 mL) de bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil-pirrole-2,5-diona (3,41 g, 10,0 mmol) contendo o dibrometo de 3-terc-butildifenil-siloximetileno-1,6-dibromohexano (5,64 g, 11 mmol, preparado de uma maneira semelhante ao derivado benzilo na Preparação 2) foi adicionada utilizando uma bomba seringa durante um período de 15 horas a uma pasta DMF (350 mL) de Cs_2CO_3 (11,2 g, 34,3 mmol) a 60°C. Depois de 4 horas a partir da adição estar completa, a reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente, deitada em água (1,5 L), e extraída com CH_2Cl_2 (3 x 300mL). A fase orgânica foi lavada com água, seca, filtrada e concentrada. O concentrado foi purificado por cromatografia flash eluindo com 10% até 25% acetato de etilo/hexano para dar o macrociclo 3,4-[$(N,N'\text{-}1,1'-(3''\text{-}3\text{-terc\text{-}butildifenilsiloximetileno})\text{hexano}\text{-}bis\text{-}(3,3'\text{-indolil})]\text{-}1\text{-}(metil)\text{-pirrole}\text{-}2,5\text{-diona}$ 2,95 g (43% rendimento) como um óleo vermelho. MS.

Preparação 10

butirato de 4-terc-butildifenilsiloxi-3-(aliloxi) (S)-metilo

A uma solução ciclohexano (400 mL) de butirato de 4-terc-butildifenilsiloxi-3-(hidroxi) (S)-metilo (20,0 g, 53,7 mmol) foi adicionado

tricloroacetimidato de alilo (21,74 g, 107,4 mmol), seguido de ácido trifluorometanossulfónico (1 mL, 50 mL/g de álcool) em cinco porções durante 30 minutos, com agitação sob atmosfera de azoto. Depois de 70 horas, os sólidos que se formaram foram filtrados, e o bolo do filtro foi lavado com ciclohexano, e os voláteis foram removidos *in vacuo*. O óleo resultante foi colocado num tampão de sílica e lavado com hexano, e o produto eluiu com 10% acetato de etilo/hexano. RMN indicou a presença do imidato residual (ca. 10%); porém o material foi efectuado sem purificação adicional. O resíduo rende 24,76 g do material, do qual aproximadamente 22,2 g era produto desejado (100%). MS.

Preparação 11

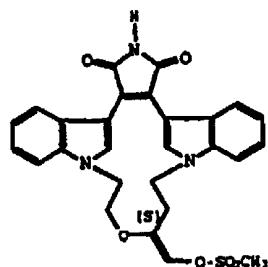
(S)-4-terc-butildifenilsiloxi-3-(2-iodoetoxi)-1-iodobutano

DIBAL-H (231 mL, tolueno em 1,0M, 231 mmol) foi adicionado gota a gota durante 40 minutos a uma solução de butirato de 4-terc-butildifenilsiloxi-3-(aliloxi) (S)-metilo (23,8 g, 57 mmol) dissolvido em THF anidro (1,0 L) a -75°C sob N₂. Depois da agitação durante 1,5 horas, a mistura foi deixada aquecer até -10°C e foi temperada com 5% água em metanol e uma grande quantidade de Celite. A reacção temperada foi filtrada através de uma almofada de Celite; o filtrado foi concentrado e dividido entre éter e ácido cítrico a 20%. A camada de éter foi seca e concentrada *in vacuo*. O óleo residual foi passado através de uma almofada de sílica eluindo com clorofórmio para render 20,6 g (93%) de (S) 4-terc-butildifenilsiloxi-3-aliloxi-butan-1-ol.

A uma solução metanol (500 mL) de (S) 4-terc-butildifenilsiloxi-3-aliloxibutan-1-ol (20,6 g, 53,6 mmol) foi adicionado ozono a -78°C durante 12 minutos aproximadamente. A mistura de reacção desenvolveu uma cor azul desmaiada, NaBH₄ (12,2 g, 321 mmol, 6 eq) foi adicionado ao recipiente de reacção. A reacção foi deixada voltar à temperatura ambiente. Os voláteis foram

removidos *in vacuo*. O resíduo foi passado através de um tampão de sílica eluindo com acetato de etilo para render 16,4 g (79%) de (S) 4-terc-butildifenilsiloxi-3-(2-hidroxi-etoxi)-butan-1-ol como um óleo incolor.

A uma solução de éter (600 mL) de (S) 4-terc-butildifenilsiloxi-3-(2-hidroxi-etoxi)-butan-1-ol (15,7 g, 40,4 mmol) a 0°C sob azoto foi adicionado trietilamina (16,8 mL, 121 mmol) seguido de cloreto de mesilo (9,38 mL, 121 mmol). Depois de 3 horas, a solução foi filtrada; o filtrado foi lavado com água (2X), salmoura (2X), seco sobre Na_2SO_4 e concentrado *in vacuo*. O resíduo deu 21,9 g (>99%) do bismesilato como um óleo amarelo que foi efectuado directamente. O bismesilato foi dissolvido em acetona (1,4 l), o qual tinha sido destilado a partir de carbonato de potássio. A esta solução foi adicionado MgI (90,4 g, 603 mmol) e 0,05 eq. NaHCO_3 (170 mg, 2 mmol). A mistura de reacção foi mantida a 56°C durante 24 horas e filtrada; e o filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo foi dividido entre éter e Na_2SO_3 a 10%, a camada de éter foi lavada com salmoura, seca sobre Na_2SO_4 , e concentrada para dar 17,9 g (73,2%) de (S)-4-terc-butildifenilsiloxi-3-(2-iodoetoxi)-1-iodobutano como um óleo incolor. O rendimento total foi de 54%. MS: MW= 608,39; observado: 559 ($M - \text{tercbutilo}$; FD, CHCl_3).



Preparação 12

(S)-3,4-[(N,N'-1,1')-((2''-etoxi)-3''''-(O)-4''-(metanossulfonyloxi)-butano)-]

(bis)-(3-indolil)-1H-pirrole-2,5-diona

3,4-(bis)-(3-indolil)-1H-pirrol-2,5-diona (10,04 g, 29,4 mmol) e (S)-4(terc-butildifenilsiloxi)-3-(2-iodoetoxi)-1-(iodo)butano (17,9 g, 29,4 mmol) foram combinados e dissolvidos em DMF anidro (80 mL). A solução foi adicionada por meio de uma seringa bomba de adição durante 72 horas a uma suspensão de carbonato de césio (38,3 g, 118 mmol) em THF anidro (1,7 L) a 50°C sob N₂. O DMF foi removido *in vacuo*. O resíduo foi dividido entre CHCl₃/HCl a 1N. A camada acídica foi extraída com clorofórmio e acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com HCl a 1N (1X), água (2X), salmoura (2X), secas sobre Na₂SO₄, e reduzidas para dar um sólido magenta. A mistura de reacção em bruto foi utilizada sem purificação adicional.

A mistura de reacção em bruto foi suspensa em etanol (700 mL) e tratada com KOH a 5N (800 mL). A temperatura de reacção foi elevada até 80°C. Depois de 72 horas o etanol foi removido *in vacuo*; a suspensão aquosa foi arrefecida para 0°C, e acidificada com HCl a 5N. O precipitado violeta foi recolhido e passado através de um tampão de gel de sílica eluindo com acetato de etilo. O eluente foi concentrado para render 8,7 g de maleimida sililada parcialmente como um sólido magenta que foi utilizado na reacção seguinte sem purificação adicional.

A uma solução DMF (1L) do anidrido anterior (8,7 g, 19,7 mmol) foi adicionado 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (41,6 mL, 197 mmol) e metanol (4 mL, 98,5 mmol) sob azoto à temperatura ambiente. Depois de 40 horas, a reacção foi concentrada *in vacuo*, foi adicionada uma solução 2:1 (v/v) MeCN/HCl a 1N (100 mL). O resíduo foi agitado durante uma hora. O solvente orgânico foi removido; e a suspensão aquosa foi extraída com acetato de etilo. Os solventes foram removidos para renderem 8,9 g de maleimida que foi utilizada sem

purificação adicional.

A uma suspensão CH_2Cl_2 (800 mL) da maleimida anterior (8,9 g, 20 mmol) sob azoto à temperatura ambiente foi adicionada piridina (4,85 mL, 60 mmol) e um leve excesso de anidrido metanossulfônico (4,21 g, 24 mmol). Depois de 16 horas a mistura de reacção foi lavada com HCl a 0,1N, salmoura, e a camada orgânica foi concentrada. O resíduo foi passado através de um tampão de sílica eluindo com um gradiente lento de 0-10% MeCN em CH_2Cl_2 . A fracção eluente contendo o mesilato desejado foi concentrada para render 2,8 g do composto em título como um sólido magenta. O rendimento total do diiodeto é de 18%. MS: MW= 520; observado 520 (FD, CHCl_3).

Preparação 13

3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1-ciclohexeno

A uma mistura de 3-ciclohexeno-1-metanol (Aldrich, 13,0 mL, 0,11 mol), *N,N*-diisopropiletilamina (43 mL, 0,244 mol) e 4-dimetilaminopiridina (2,70 g, 0,022 mol) em 375 mL de CH_2Cl_2 sob N_2 a 25°C foi adicionado terc-butildifenilclorosilano (32 mL, 0,123 mol). A mistura foi agitada a 25°C durante 48 horas. A mistura de reacção foi lavada sequencialmente com porções de 150 mL de HCl a 1N, água, salmoura e secas sobre MgSO_4 anidro. O solvente foi evaporado. O resíduo foi carregado numa coluna 4"X 4" de sílica e eluiu lentamente utilizando hexanos como eluente. 3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1-ciclohexeno, 33,6 g (86%), foi obtido como um óleo incolor o qual foi homogeneizado por TLC (R_f = 0,4, hexanos).

Calculado analiticamente para $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{Osi}$ (0,3 H_2O):

C, 77,6; H, 8,67.

Encontrado: C, 77,38; H, 8,72.

Preparação 14

3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-hexanodiol

Ozono foi feito borbulhar através de uma solução bem agitada de 3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1-ciclohexeno, (18,0 g, 51,3 mmol) em CH_2Cl_2 (550 mL) a -78°C até persistir a cor azul do ozono não reagido. A mistura de reacção foi deixada aquecer até 25°C . N_2 seco foi feito borbulhar através da solução durante 30 minutos. Complexo borano-dimetilsulfeto (10,0 M, 23 mL, 0,23 mol) foi adicionado gota a gota durante 10 minutos. A mistura foi lentamente agitada sob N_2 a 25°C durante 24 horas. HCl a 5% (15 mL) foi adicionado, e a mistura de reacção foi agitada durante 1 hora. NaHCO_3 sólido foi adicionado até a mistura se tornar básica em papel pH (humidade externa). Depois da filtração, o filtrado foi lavado com porções de 200 mL de NaHCO_3 a 5% e água e foi seco sobre MgSO_4 anidro. Depois da evaporação do solvente sob pressão reduzida, o produto bruto foi purificado por cromatografia através de uma almofada de 4" x 4" de gel de sílica eluindo com EtOAc . Foi obtido 3-(terc-(butildifenilsiloxi)metileno)-1,6-hexanodiol 17,8g (90%) como um óleo viscoso incolor o qual foi homogeneizado por TLC (R_f 0,5, éter).

Calculado analiticamente para $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{Si}$ (0,2 H_2O):

C, 70,80; H, 8,88.

Encontrado: C, 70,72; H, 8,86.

Preparação 15

3-terc-butildifenilsiloximetileno-1,6-dibromohexano

N-bromossuccinimida (19,3 g, 109 mmol) foi adicionado em porções durante cinco minutos a uma solução agitada contendo 3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-hexanodiol (17,5 g, 45,2 mmol) e trifenilfosfina

(28,6 g, 109 mmol) em CH_2Cl_2 seco (550 mL) a 0°C sob N_2 . A mistura de reacção foi agitada 5 horas a 0°C depois colocada num frigorífico a 5°C durante 16 horas. Depois da remoção da maioria do solvente, éter seco (300 mL) foi lentamente adicionado ao resíduo. A camada de éter foi decantada a partir de sólidos precipitados. Os sólidos foram lavados com 200 mL adicionais de éter fresco. A camada combinada de éter foi concentrada (100 mL), triturada com 300 mL de hexanos, e decantada a partir de sólidos precipitados. Os sólidos foram lavados com 25% éter em hexanos e as camadas combinadas de éter foram secas sobre MgSO_4 e concentradas. O produto bruto foi colocado numa coluna 4" x 4" de gel de sílica e eluiu com 25% éter em hexanos para dar 3-terc-butildifenilsiloximetileno-1,6-dibromohexano 20,1 g, (86%) como um óleo incolor o qual foi homogeneizado por TLC ($R_f = 0,75$, 10% EtOAc em hexanos).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 1,06 (s, 9H), 1,35-2,10 (m, 7H), 3,55 (m, 4H), 3,56 (app d, 2H, $J=4\text{Hz}$), 7,40 e 7,64 (m, 10H).

^{13}C RNMN (75 MHz, CDCl_3) 19,2, 26,9, 29,3, 30,0, 31,9, 33,8, 34,7, 38,5, 65,0, 127,7, 129,7, 133,4, 135,5.

Preparação 16

(S)-(-)-3-ciclohexeno-1-metanol

Uma solução de LiAlH_4 (1,0 M em THF, 75,8 mL, 75,8 mmol) foi adicionado gota a gota durante 15 minutos a uma solução arrefecida do éster conhecido (Ireland et al. J. Org. Chem. 1992, 57 (19), 5071-5073 e aqui referida), (S)-(-)-3-ciclohexeno-1-metilenooxi-(S)-N-metil-2-hidroxissuccinimida, (8,20 g, 34,5 mmol) em THF (90 mL). A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada a 25°C durante 2 horas, arrefecida e temperada com água e NaOH a 1N. A mistura foi filtrada através de Celite. Os sólidos foram

Very Good Quality

lavados com THF (100 mL). Depois da evaporação do filtrado, sob pressão reduzida, o resíduo foi dissolvido em 150 mL de éter e lavado com água (2 x 50 mL) e salmoura (50 mL) e seco sobre MgSO₄ anidro. A evaporação do solvente deu (S)-(-)-3-ciclohexeno-1-metanol 3,24 g (83%) como um óleo transparente [a]D = -90:3 (C = 1, CH₃OH). Ambas as propriedades de TLC e espectro ¹H RMN deste material foram idênticas em todos os pormenores relativos ao material racémico (Aldrich).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃), 1,21-1,42 (m, 2H), 1,68-1,88 (m, 3H), 2,04-2,21 (m, 3H), 3,54 (brs, 2H), 5,69 (s, 2H).

Preparação 17

(S)-(-)-3-tercbutildifenilsiloximetileno-1-ciclohexeno

(S)-(-)-3-Ciclohexeno-1-metanol (3,17 g, 28,3 mmol) foi tratado com terc-butildifenilclorosilano (8,15 mL, 31,1 mmol), N,N-diisopropiletilamina (10,9 mL, 62,3 mmol) e dimetilaminopiridina (1,03 g, 8,5 mmol) em CH₂Cl₂ (100 mL) para se conseguir, depois de processado e sujeito a cromatografia, éter silílico de (S)-(-)-3-tercbutildifenilsiloximetileno)-1-ciclohexeno 8,73 g (88%) como um óleo transparente. Ambas as propriedades TLC e espectro ¹H RMN deste material foram idênticas em todos os pormenores relativos ao éter silílico racémico 3-tercbutildifenilsiloximetileno)-1-ciclohexeno.

¹H RMN 8300 MHz, CDCl₃) 1,05 (s, 9H), 1,29 (m, 1H), 1,71-2,18 (m, 4H), 3,54 (d, 2H, J=6Hz), 5,66 (br s, 2H), 7,38 e 7,66 (m, 10H).

Preparação 18

(S)-(-)-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-hexanodiol

Seguindo o mesmo processo descrito para a preparação do diol racémico 3-(terc-butildifenilsililoximetileno)-1,6-hexanodiol, éter silílico (S)-(-)-3-terc-butildifenilsililoximetileno)-1-ciclohexeno (8,35 g, 23,9 mmol) foi ozonizado, depois redutivamente processado ($\text{BH}_3\text{-Me}_2\text{S}$) para se conseguir (S)-(-)-3-(terc-butildifenilsililoximetileno)-1,6-hexanodiol – 5,01 g (55%) como um óleo viscoso incolor, o qual foi homogeneizado por TLC ($R_f = 0,4$ EtOAc).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 1,05 (s, 9H), 1,21-1,81 (m, 7H), 2,32 (br s, 2H), 3,50-3,75 (m, 6H), 7,32 e 7,70 (m, 10H).

Preparação 19

(S)-3-(terc-butildifenilsililoximetileno)-1,6-dibromohexano

Seguindo o mesmo processo descrito para a preparação de dibrometo racémico, 3-(terc-butildifenilsililoximetil)-1,6-dibromohexano, (S)-(-)-3-(terc-butildifenilsililoximetil)-1,6-hexanodiol (4,85 g, 12,53 mmol) foi feito reagir com N-bromossuccinimida (5,35 g, 30,1 mmol) e trifenilfosfina (7,87 g, 30,1 mmol) CH_2Cl_2 (150 mL) a 0°C para se conseguir o composto (S)-(-)-3-(terc-butildifenilsililoximetil)-1,6-dibromohexano 4,81 (75%) como um óleo incolor, transparente o qual foi homogeneizado por TLC ($R_f = 0,8$, 10% EtOAc em hexanos. Ambas as propriedades TLC e espectro ^1H deste composto eram idênticas em todos os pormenores relativos ao isómero racémico. MS.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 1,06 (s, 9H), 1,35-2,10 (m, 7H), 3,55 (m, 4H), 3,56 (app d, 2H, $J=4\text{Hz}$), 7,40 e 7,64 (m, 10H).

Preparação 20

(R)-3-(terc-butildifenilsililoximetileno)-1,6-dibromohexano

Segundo o mesmo processo para a preparação de (S)-(-)3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-dibromohexano, (S)-(-)3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-hexenodiol (5,05 g, 13,04 mmol) foi feito reagir com N-bromossuccinimida (5,57 g, 31,32 mmol) e trifenilfosfina (8,21 g, 31,32 mmol) em CH_2Cl_2 (160 mL) a 0°C para se conseguir dibrometo de (R)-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-dibromohexano quiral, 5,85 g, (87%) como um óleo incolor transparente, o qual foi homogeneizado por TLC (R_f = 0,8, 10% EtOAc em hexanos. MS.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) 1,06 (s, 9H), 1,35-2,10 (m, 7H), 3,55 (m, 4H), 3,56 (app d, 2H, $J=4\text{Hz}$), 7,40 e 7,64 (m, 10H).

Preparação 21

Áciido 2-alilo-4-pentenóico

A uma suspensão de metóxido de sódio (59,4 g, 1,1 mol) em metanol seco (1L) a 0°C foi adicionado (57 mL, 0,5 mol) gota a gota sob N_2 . Depois de 30 minutos, brometo de alilo (95 mL, 1,1 mol) foi adicionado numa porção. Depois de 14 horas, à temperatura ambiente a reacção foi concentrada *in vacuo*. O resíduo dissolvido em metanol (0,5 L) e tratado com NaOH a 5N (500 mL). Depois da agitação durante 24 horas, o metanol foi removido *in vacuo*, e a camada aquosa básica foi lavada com acetato de etilo (2 X). A camada aquosa foi acidificada com HCl a 5N (0,5 L) e extraída com acetato de etilo. O extracto orgânico foi lavado com água (2 X), salmoura, seco com Na_2SO_4 , e concentrado *in vacuo* num sólido branco. A trituração do sólido resultante com pentano e secagem atmosférica deu 51,4 g (57% rendimento) de diácido. O diácido (50 g, 274 mmol) foi aquecido (150°C) até evolução de CO_2 cessar (cerca de 2 horas). O óleo castanho residual foi eluído com acetato de etilo através de um pequeno tampão de sílica para render o composto em título 32,8 g (85%) como um óleo

dourado. O rendimento total para a três fases é 48%.

^1H RMN: (CDCL_3) δ 2,4 (m, 4H), 2,5 (m, 1H), 5,05 (dd, 2H), 5,15 (dd, 2H), 5,9 (m, 2H), 12,8 (br, 1H). MS.

Preparação 22

3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-pentano-1,5-diol

A uma suspensão agitada a 0°C de LAH (4,33 g, 114 mmol) em éter anidro (125 mL) foi adicionado ácido 2-alil-4-pentenóico (16,0 g, 114 mmol) gota a gota sob N_2 . A mistura de reacção foi deixada voltar até à temperatura ambiente. Depois de 16 horas, a reacção foi temperada com etanol (25 mL) seguida de HCl a 4N (40 mL), extraída com éter (2X), seca, e concentrada *in vacuo* para dar um álcool, 2-alil-4-penten-1-ol, como um óleo incolor 11,7 g (82%) que foi utilizado sem purificação adicional.

A uma solução CH_2Cl_2 (0,5 mL) de 2-alil-4-penten-1-ol (11,7 g, 93 mmol), foi adicionado imidazole (12,6 g, 185 mmol) seguido de cloro tercbutildifenilsilano (25,48 g, 93 mmol), e foi agitada durante 16 horas. A reacção foi filtrada, o filtrado foi lavado com água, salmoura, seca e concentrada *in vacuo* para dar o éter silílico, 3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-pent-1,4-eno, 32,5 g (96%) como um óleo que foi utilizado sem purificação adicional.

Foi feito borbulhar ozono através de uma solução de metanol seco a -78°C (500 mL) de 3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,5-pentanodiol (17 g, 47 mmol) até persistir uma tinta azul (30 minutos). A reacção foi purgada com azoto (20 minutos) e foi adicionado NaBH_4 (17,6 g, 47 mmol). O banho frio foi removido e a reacção foi trazida até à temperatura ambiente. A reacção foi concentrada *in vacuo* e o resíduo foi dividido entre éter e salmoura. A camada de éter foi concentrada e o resíduo eluiu sobre um tampão de sílica com 0-50%

acetato de etilo/hexanos. O componente menor foi recolhido e concentrado para render o diol, 3-(tercbutildifenilsiloximetileno)-pentano-1,5-diol, 3,8 g (22%) do diol desejado como um óleo incolor. A totalidade dos rendimentos das três fases é 17%. MS.

^1H RMN: (CDCL_3) δ 1,17 (s, 9H), 1,6 (dt, 4H), 1,83 (m, 1H), 2,14 (s, 2H), 3,6 (m, 6H), 7,41 (t, 4H), 7,45 (t, 2H), 7,66 (d, 4H).

Preparação 23

1,5-diodo-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-pentano

A uma solução de éter a 0°C (300 mL) de 3-(tercbutildifenilsiloximetileno)-pentano-1,5-diol (6,9 g, 19 mmol) foi adicionado cloreto de metanossulfônico (4,3 mL, 56 mmol) seguido de Et_3N (7,7 mL, 56 mmol). Depois de 3-16 horas, gradualmente aquecendo até à temperatura ambiente, a reacção foi lavada com água, salmoura seca sobre MgSO_4 , e concentrada para dar 1,5-bis(metanossulfônico)-3-(tercbutildifenilsiloximetileno)-pentano 8,5 g (90%) como um óleo incolor que foi utilizado sem purificação adicional.

A uma solução de acetona destilada recentemente (500 mL) de bis-mesilato, 1,5-bis(metanossulfônico)-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-pentano, (8,5 g, 16 mmol) foi adicionado NaI (36,1 g, 241 mmol) e NaHCO_3 (67 mg, 0,8 mmol). A reacção foi refluxada (57°C) durante 72 horas, arrefecida até à temperatura ambiente e filtrada. O filtrado foi concentrado *in vacuo*. O resíduo foi diluído com éter, lavado com Na_2SO_4 a 10%, seco, e concentrado para dar o composto em título 7,4 g (78% rendimento) como um óleo incolor. O rendimento total para as duas fases é de 70%. MS.

^1H RMN: (DMSO-d_6) δ 1,06 (s, 9H), 1,78 (m, 1H), 1,8-2,06 (m, 4H), 3,13 (m, 4H), 3,57 (d, 2H), 7,38-7,46 (m, 3H), 7,64 (d, 2H).

Preparação 24

Brometo de 2-(2'-Bromoetoxi)-benzilo

Foi feito brobulhar ozono a -78°C numa solução de metanol seco de álcool 2-(aliloxi)benzilo (LaChapelle et al Tetrahedron, **44**(16), 5033-5044 (1988)) (7,0g, 43 mmol) durante 3 minutos, verificando o perfil TLC da reacção todos os 2 minutos para completo desaparecimento do olefina de partida ($R_f = 0,8$, 75% EtOAc/hexano). A mistura de reacção foi purgada com azoto, NaBH_4 (9,7 g, 0,25 mol) foi adicionado e a temperatura de reacção foi trazida para 0°C. Depois de 30 minutos, a reacção foi aquecida até à temperatura ambiente, concentrada, diluída com éter, lavada com água, salmoura, seca e concentrada num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma almofada de sílica com EtOAc/hexanos (eluição gradiente 15% -75% EtOAc). A evaporação do solvente em eluição deu o diol, álcool 2-(2'-hidroxietoxi)-benzilo (4,8 g, 67%) como um óleo. MS: MW = 168; observado 168, FD; CHCl_3 .

A uma solução CH_2Cl_2 seca a 0°C (250 mL) do diol, álcool 2-(2'-hidroxietoxi)-benzílico, (4,38 g, 26 mmol) foi adicionado trifenilfosfina (15,8 g, 60 mmol) e N-bromossuccinimida (10,7 g, 60 mmol). Depois de 2 horas a 0°C, a reacção foi completada por análise TLC (20% EtOAc/ CH_2Cl_2), e a reacção foi concentrada *in vacuo*. O concentrado foi eluído (hexano-15% EtOAc/gradiente hexano) através de uma almofada de gel de sílica. A concentração da eluição das fracções deu o dibrometo, brometo de 2-(2'-bromoetoxi)-benzilo, (6,91 g, 90% rendimento) como um óleo incolor. MS.

^{13}C -RMN: (CDCl_3 , 75,4 MHz) δ 28,7, 29,1, 68,2, 112,3, 121,6, 126,8, 130,2, 131,1, 156,0.

¹H-RMN: (CDCL₃, 200 MHz) δ 3,72 (2H, t, J=5Hz), 4,34 (2H, t, J=5Hz), 4,59 (2H, s), 6,84 (H, d, J=7Hz), 6,95 (H, t, J=7Hz), 7,25-7,38 (2H).

Preparação 25

1-(terc-butildimetsilsiloxi)-3-(2-iodoetoxi)-4-(terc-butildifenil)-butano

O éter alílico, 1-(terc-butildimetsilsiloxi)-3-(aliloxi)-4-(terc-butil-difenil)-butano, (21,6 g, 43,4 mmol) foi dissolvido em metanol (500 mL) e arrefecido para -78°C sob azoto. Foi feito borbulhar ozono na reacção e depois de 11 minutos depois julgou-se que a reacção estava completa por TLC (9 hexano/ 1 acetato de etilo). Borohidreto de sódio (9,9 g, 6 eq.) foi adicionado e depois de 5 minutos a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente. O metanol foi removido *in vacuo*. O resíduo foi suspenso em éter (800 mL). O eter foi lavado com água, e os aquosos lavados com éter. Os orgânicos combinados foram lavados com salmoura, secos (Na₂SO₄), filtrado e concentrado *in vacuo* para dar um óleo. O material foi passado através de uma almofada de sílica com 5% acetato de etilo/hexano seguida de eluição do produto com 25% acetato de etilo/hexano para fornecer 11,0 g (50% rendimento) do álcool, 1-(terc-butildimetsilsiloxi)-3-(2-(hidroxi)etoxi)-4-(terc-butildifenil)-butano como um óleo amarelo claro. MS. RMN.

A uma solução éter anidro (200 mL) de álcool, 1-(terc-butildimetsilsiloxi)-3-(2-(hidroxi)etoxi)-4-(terc-butildifenil)-butano, (11,0 g, 21,9 mmol) sob azoto a 5°C foi adicionada trietilamina (4,6 mL, 1,5 eq) e cloreto de metanossulfônico (2,5 mL, 1,5 eq). Depois de 1,5 horas a reacção estava completa por TLC (5% acetato de etilo/diclorometano). A reacção foi diluída com éter (250 mL), lavada com água (2X), salmoura (2X), seca (Na₂SO₄), filtrada e concentrada *in vacuo* para dar um óleo,. O material foi passado através de uma almofada de sílica eluindo com 5% acetato de etilo/hexano seguida de 25% acetato de

etilo/hexano para fornecer 11,6 g (91% rendimento) do mesilato, 1-(terc-butildimetsilsiloxi)-3-(2-(metanossulfoniloxi)etoxi)-4-(terc-butildifenil)-butano como um óleo. MS. RMN.

A uma solução acetona (300 mL) de mesilato, 1-(terc-butildimetsilsiloxi)-3-(2-(metanossulfoniloxi)etoxi)-4-(terc-butildifenil)-butano, (11,6 g, 20 mmol) sob azoto foi adicionado iodeto de sódio (44 g, 15eq) e bicarbonado de sódio (170 mg, 0,1 eq). A mistura foi refluxada durante 18 horas seguido da remoção da acetona *in vacuo*. O resíduo resultante foi suspenso em éter, lavado com água (2X), e os aquosos lavados em contra corrente com éter. As porções combinadas de éter foram lavadas com solução sulfito de sódio a 10%, salmoura (2X), secas ($MgSO_4$), filtradas e concentradas *in vacuo* para fornecer 10,7 g (87% rendimento) do iodeto em título como um óleo que foi utilizado sem purificação adicional. MS. RMN.

Preparação 26

1-(2-(metilsulfoniloxi)-2-((metilsulfoniloxi)-etil)-3-(terc-butildifenilsiloxi)propano

A uma solução agitada de malonato de dimetil alilo (34 g, 0,2 mmol) em álcool t-butílico (0,5 L) foi adicionado borohidreto de sódio sólido (19 g, 0,5 mol). A reacção foi aquecida (70°C) e foi adicionado metanol (162 mL) gota a gota durante um período de 1 hora. A mistura foi agitada durante a noite à temperatura ambiente. Foi adicionada água (20 mL) para destruir o borohidreto em excesso. A mistura resultante foi filtrada através de celite. O filtrado foi concentrado (100 mL), e extraído com acetato de etilo (20 mLx 4). Os extractos combinados foram secos sobre $MgSO_4$ e concentrados sob pressão reduzida para se conseguir diol relativamente limpo, 2-alilpropan-1,3-diol, (19 g, 83% rendimento) que foi efectuado sobre a reacção seguinte sem qualquer purificação adicional.

A uma solução agitada de diol, 2-(2-propan-1-il)propan-1,3-diol, (23,2 g, 0,19 mol) em tolueno (1L) foi adicionado anisaldeído (27,3 g, 0,20 mol) e ácido PPTS (4 g, 10 mol,). O frasco foi equipado com um sifão Dean Stark, e a mistura de reacção foi refluxada. Depois de 5 horas, a mistura de reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente, diluída com éter (1 L), lavada com NaHCO_3 sat. (50 mL X 3), água (50 mL X 3), e salmoura (50 mL). A camada orgânica foi seca sobre MgSO_4 , e concentrada sob pressão reduzida para dar um resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna pequena de gel de sílica com 10% acetato de etilo em hexano e a evaporação do solvente eluente deu o anisilideno, 1,3-O-anisilideno-2-(2-propen-1-il)propano (40 g, 89%). ($R_f = 0,62$ acetato de etilo em hexano).

A uma mistura agitada de anisilideno, 1,3-O-anisilideno-2-(2-propeno-1-il)propano (10,0 g, 85,3 mmol) em CH_2Cl_2 (500 mL) e tampão pH 7,0 (25 mL) a 0°C foi adicionado DDQ (38,7 g, 170,7 mmol). A mistura de reacção foi agitada vigorosamente e deixada aquecer até à temperatura ambiente. Depois de 12 horas, a reacção foi diluída com éter (1L), lavada com NaHCO_3 aqu. Sat. (200 mL X 2), e 10% Na_2SO_3 aq (200 mL X 3), seca, e concentrada sob pressão reduzida num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna de gel de sílica com acetato de etilo/hexano (gradiente acetato de etilo a 10% -25%) e a evaporação do solvente eluente deu o anizoato contendo álcool, 3-O-(4-metoxibenzoato)-2-(2-propen-1-il)-propan-1-ol (12,7 g, 61%). $R_f = 0,14$ (acetato de etilo a 25% em hexano). RMN.

A uma solução agitada de álcool, 3-O-(4-metoxibenzoato)-2-(2-propen-1-il)-propan-1-ol, (16,58 g, 66,32 mmol) em CH_2Cl_2 (250 mL) foi adicionado imidato de tricloroalilo (24,80 g, 132,64 mmol) em ciclohexano (500 mL). A esta mistura foi adicionado ácido trifluoroacético (1 mL) sob uma

atmosfera N₂. Depois de 12 horas formou-se um precipitado branco. A reacção foi filtrada. O filtrado foi diluído com éter (500 mL), lavado com água (100 mL X 3), e salmoura (100 mL), seco, e a concentração reduzida num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna de gel de sílica com acetato de etilo/hexano (gradiente acetato de etilo a 0% - 25%). O dieno, 1-(2-propeno-1-oxi)-2-(2-propeno-1-il)-3-O-(4-metoxibenzoato)-propano (24 g) contendo alguma acetamida foi levado para a fase seguinte sem purificação adicional. (R_f = 0,38 (25% acetato de etilo em hexano).

O éster, 1-(2-propeno-1-oxi)-2-(2-propeno-1-il)-3-O-(4-metoxibenzoato)-propano, (24 g) foi dissolvido em THF (60 mL) e metanol (100 mL) e NaOH aquoso a 1N (40 mL) foi adicionado. A mistura resultante foi agitada durante a noite seguida da remoção de metanol e THF sob pressão reduzida. A mistura de reacção concentrada foi diluída com éter (250 mL), extraída com éter (100 mL X 3), seca, e concentrada sob pressão reduzida para dar um resíduo. O resíduo eluiu através de uma coluna de gel de sílica com 10% acetato de etilo/hexano e evaporação do solvente eluente deu o álcool, 1-(2-propeno-1-oxi)-2-(2-propeno-1-il)-propan-3-ol (4,10 g, 30% para duas fases). RMN. R_f = 0,23 (acetato de etilo a 25% em hexano).

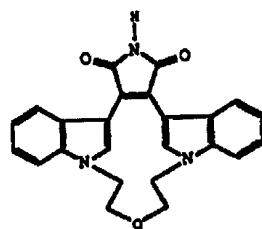
A uma solução agitada CH₂Cl₂ (150 mL) de álcool, 1-(2-propeno-1-oxi)-2-(2-propeno-1-il)-propan-3-ol (4,10 g, 26,2 mmol) foi adicionado imidazole (2,70 g, 39,7 mmol) sob uma atmosfera de N₂. Depois do imidazole ser dissolvido, terc-butilclorodifenilsilano (8,24 g, 29,97 mmol) em CH₂Cl₂ (50 mL) foi adicionado durante 10 minutos. Depois da agitação durante 12 horas, a reacção foi diluída com éter (100 mL) temperada com água (100 mL), e extraída com éter (100 mL X 3). A fase orgânica combinada foi lavada com salmoura (100 mL), seca, e concentrada sob pressão reduzida para dar um resíduo. O resíduo foi eluído com uma coluna curta de gel de sílica com acetato de

etilo/hexcano (gradiente acetato de etilo a 0% até 15%) e evaporação do solvente resultante deu o éter silílico, 1-(2-propeno-1-oxi)-2-(2-propeno-1-il)-3-(terc-butildifenilsiloxi)-propano (7,41 g, 72% rendimento). $R_f = 0,76$ (acetato de etilo a 25% em hexano).

Foi feito borbulhar ozono através de uma solução de metanol -78°C (500 mL) de dieno, 1-(2-propeno-1-oxi)-2-(2-propeno-1-il)-3-(terc-butildifenilsiloxi)-propeno, (7,41 g, 18,80 mmol). Depois do desaparecimento do material de partida (TLC, 25% acetato de etilo/hexano), a mistura de reacção foi purgada com N_2 e foi adicionado boro hidreto de sódio (2,13 g, 56,30 mmol). A reacção foi aquecida até á temperatura ambiente. Depois de 12 horas, a reacção foi concentrada. O resíduo branco foi temperado com água, e extraído com acetato de etilo (100 mL X 3). A fase orgânica combinada foi lavada com salmoura, seca, e concentrada sob pressão reduzida para dar um resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna curta de gel de sílica com acetato de etilo/hexano (gradiente acetato de etilo a 10% até 50%) e evaporação do solvente eluente deu o 1,7 diol, 1-(2-hidroxietoxi)-2-(2-hidroxietil)-3-(terc-butildifenilsiloxi)propano (5,48 g, 72% rendimento). $R_f = 0,21$ (50% acetato de etilo em hexano). RMN.

A uma solução agitada CH_2Cl_2 (400 mL) de diol, 1-(2-hidroxietoxi)-2-(2-hidroxietil)-3-(terc-butildifenilsiloxi)-propano (5,48 g, 13,6 mmol) sob atmosfera N_2 foi adicionado TEA (11,2 mL, 78 mmol), seguido de adição gota a gota de cloreto de sulfônio metano (3 mL, 39,00 mmol) em CH_2Cl_2 (100 mL) durante um período de 30 minutos. Depois de 12 horas, a reacção foi diluída com éter (500 mL), lavada com água (100 mL X 3), salmoura (100 mL), seca, e concentrada sob pressão reduzida num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna curta de gel de sílica com acetato de etilo/hexano (gradiente acetato de etilo a 10% até 50%) e evaporação do solvente eluente deu o bismesilato, 1-(2-(metilsulfoniloxy)-etoxi)-2-((metilsulfoniloxy)etil)-3-(terc-butildifenilsiloxi)-

propano (7,40 g, 97%). $R_f = 0,55$ (50% acetato de etilo em hexano). RMN.



Exemplo 1

3,4-[(N,N'-1,1'-etoxietil)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

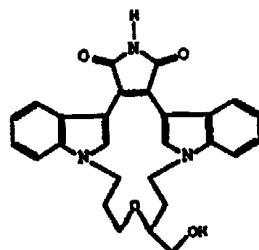
Hidreto de sódio (dispersão a 60 porcento em óleo mineral, 113 mg, 2,82 mmol) foi adicionado em porções durante 15 minutos a uma solução de 3,4-bis(3'-indolil)furan-2,5-diona (337 mg, 1,02 mmol) em 5 mL de DMF seco sob N_2 . A mistura foi agitada 1,5 horas e depois diluída com 5 mL de DMF. Éter bis 2,2'-dibromo-étílico (0,14 mL, 1,13 mmol) foi adicionado gota a gota à solução verde. A mistura de reacção foi agitada durante 30 minutos a 25°C e depois aquecida a 50°C durante a noite. A mistura arrefecida foi deitada em ácido cítrico aquoso diluído (75 mL) e extraída com EtOAc (2 X 40 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água (3 X 20 mL) e salmoura (20 mL), e secos sobre $MgSO_4$ anidro. O resíduo foi passado através de uma coluna curta de gel de sílica (50 porcento EtOAc/hexanos), e depois sujeito a cromatografia de camada preparativa radial (Chromatotron) eluindo com 50 porcento EtOAc-hexanos para se conseguir 82 mg (20 porcento) de 2,3-[(N,N'-1,1'-etoxietil)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-furan-2,5-diona como um sólido cor de vinho, M. Pt. > 320°C.

Uma solução de 2,3-[(N,N'-1,1'-etoxietil)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-furan-2,5-diona (58 mg, 0,15 mmol) em DMF (1,5 mL) sob N₂ foi tratada com uma mistura de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (0,33 mL, 1,45 mmol) e CH₃OH (23 mg, 0,73 mmol) (pré-misturado 10 minutos). Depois da agitação durante 16 horas à temperatura ambiente, a mistura foi deitada em água (20 mL) e extraída com EtOAc (3 X 5 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados várias vezes com água, secos (MgSO₄) e concentrados. O resíduo foi purificado por cromatografia radial eluindo com 3 porcento CH₃OH em CHCl₃ para se conseguir 3,4-[(N,N'-1,1'-etoxietil)-bis-(3,3'-indolil)-1H-pirrole-2,5-diona (41,5 mg, 72 porcento) como um sólido violeta. M. Pt. > 320°C. MS

Calculado para C₂₄H₁₉N₃O₃:

397,1426.

Encontrado: 397,1438.



Exemplo 2

3,4-[(N,N'-1,1')-((3''-propoxi)-3'''(O)-4''''(hidroxi)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A uma solução agitada DMF (125 mL) de bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (4,35 g, 12,8 mmol) contendo carbonato de césio (8,31

g, 25,5 mmol) foi adicionado gota a gota durante 15 minutos a uma solução DMF (20 mL) de 1-(terc-butildimetilsiloxi)-3-(3-iodopropiloxi)-4-(terc-butildifenilsiloxi)-butano (4,0 g, 6,4 mmol) sob N₂. Depois de 3 horas, TLC (1:1 acetato de etilo/hexano) indicou o consumo do iodeto de partida. A reacção foi diluída com acetato de etilo (200 mL) e lavada com água. A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (200 mL); e as camadas orgânicas combinadas foram secas e concentradas. O concentrado foi purificado por cromatografia flash eluindo com 10% até 25% acetato de etilo/hexano para dar o produto monoalquilado desejado 3-[(N-1-(3-hidroxi-3(O)-4-terc-butildifenilsiloxi-1-terc-butildimetilsiloxi)-butano]-4-(3'-indolil)-1(metil)-pirrole-2,5-diona 3,94 g (69% rendimento) como um óleo vermelho. MS.

A uma solução metanol (100 mL) do produto de alquilação anterior (3,14 gr., 3,74 mmol) foi adicionado ácido toluenossulfônico (60 mg, 2%). Depois de 2 horas, TLC (50% acetato de etilo/hexano) indicou o consumo de material de partida. A reacção foi concentrada em metade do volume, diluiu com acetato de etilo (300 mL), lavada com NaOH a 1N, salmoura, seca, e concentrada. O concentrado foi purificado por passagem através de uma almofada de gel de sílica eluindo com 50% acetato de etilo/hexano para dar o iodeto desejado como um óleo 3-[(N-1-(3-propoxi-3(O)-4-terc-butildifenilsiloxi-1-iodobutano]-4-(3'-indolil)-1(metil)-pirrole-2,5-diona 1,71 g (85% rendimento). MS.

Uma solução DMF (10 mL) do iodeto anterior 3-[(N-1-(3-propoxi-3(O)-4-terc-butildifenilsiloxi-1-iodobutano]-4-(3'-indolil)-1(metil)-pirrole-2,5-diona (2,0 g, 2,4 mmol) foi adicionado lentamente por seringa bomba durante 80 horas a um DMF (400 mL) pastoso de carbonato de césio (3,12 g, 9,6 mmol). Depois de 3 horas a partir da finalização da adição, TLC (50% acetato de etilo/hexano) indicou o consumo de material de partida. A reacção foi diluída

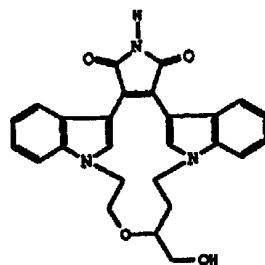
com acetato de etilo (1L) lavada com água e salmoura. A porção aquosa foi extraída com acetato de etilo (500 mL). As camadas orgânicas combinadas foram concentradas e o concentrado foi purificado pela passagem através de uma almofada de sílica eluindo com (50% acetato de etilo/hexano). A concentração do eluente deu o macrociclo desejado 3,4-[(N,N'-1,1')-((3''-propoxi)-3'''(O)-4''''-(hidroxi)butano]-bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-2,5-diona 1,65 g (97% rendimento). MS.

• A uma solução de etanol (100 mL) da N-metil maleimida anterior, 3,4-[(N,N'-1,1')-((3''-propoxi)-3'''(O)-4''''-(hidroxi)butano]-bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-2,5-diona (1,7 g, 2,4 mmol) foi adicionado KOH a 5N (50 mL). Depois de 12 horas, a reacção foi aquecida a 50°C durante 2 horas. A reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente, concentrada, diluída com acetato de etilo, e lavada com água. A fase orgânica foi seca e concentrada para dar o anidrido desejado 2,3-[(N,N'-1,1')-((3''-propoxi)-3'''(O)-4''''-hidroxibutano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona 1,37 g (83% rendimento) como um sólido vermelho. MS.

• A uma solução DMF (100 mL) do anidrido anterior 2,3-[(N,N'-1,1')-((3''-propoxi)-3'''(O)-4''''-(hidroxi)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona (1,37 g, 3 mmol) foi adicionado 1,1,1,3,3-hexametildisilazano (12,6 mL, 20 eq) e metanol (1,21 mL, 10 eq). Depois de 24 horas, o material de partida tinha sido completamente consumido (TLC, 50% acetato de etilo/hexano). A reacção foi diluída com acetato de etilo, lavada com HCl a 1N, água, foi seca, e concentrada. O concentrado foi agitado em HCl a 1N ou com fluoreto de césio para remover grupo TMS residual. A reacção foi diluída com acetato de etilo, lavada com água, seca, e concentrada para dar a maleimida desejada, 3,4-[(N,N'-1,1')-((3''-propoxi)-3'''(O)-4''''-(hidroxi)butano]-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona 1,02 g (75% rendimento) como um sólido vermelho. MS.

¹H-RMN: (300 MHz em d6-DMSO): 2,1 (m, 4H), 2,4 (m, 2H), 3,28 (br, m), 3,4 (m, 1H), 4,25 (m, 4H), 4,5 (t, J=6Hz, 1H), 7,0-7,9 (m, 10H), 11,0 (s, 1H).

¹³C-RMN : (75 MHz em d6-DMSO): 20,9, 28,9, 30,3, 30,9, 34,3, 40,2, 41,6, 42,4, 62,4, 65,9, 78,1, 104,0, 104,1, 110,0, 110,1, 119,6, 119,7, 121,4, 121,8, 24,8, 126,5, 126,6, 127,9, 131,5, 131,6, 131,7, 135,8, 135,9, 139,1, 151,4, 172,2



Exemplo 3

3,4-[(N,N'-1,1')-((2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(hidroxi)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A uma solução de dimetilformamida (250 mL) de bis-(3,3'-indolil)-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (17,9 g, 52,5 mmol), 3 eq) sob azoto foi adicionado carbonato de césio (68,4 g 4 eq). À suspensão resultante foi adicionado iodeto, 1-(terc-butildimethylsiloxy)-3-(2-idoetoxi)-4-(terc-butildifenilsiloxi)-butano, (10,7 g, 17,5 mmol). A reacção foi agitada durante 18 horas à temperatura ambiente. TLC (5% acetato de etilo/hexano) mostrou desaparecimento de iodeto. A reacção foi deitada em acetato de etilo (1200 mL) e lavada com HCl a 1N (400 mL) seguido de nova lavagem com acetato de etilo (2X). As porções acetato de etilo combinadas foram lavadas com solução de bicarbonato de sódio saturado, salmoura (2 X), secas ($MgSO_4$), filtradas e concentradas *in vacuo*. Formato de dimetilo foi removido por azeotropicamente com xileno. A goma vermelha

May 2014

resultante foi empastada em diclorometano e acetonitrilo para dar uma suspensão sólida. Foi concentrada, foi adicionado mais diclorometano, foi arrefecida e filtrada para dar um sólido vermelho. Algum do produto desejado foi extraído deste sólido por outra trituração em diclorometano e depois em acetato de etilo. Os filtrados foram concentrados *in vacuo* e o resíduo resultante foi absorvido em sílica e aplicado numa coluna flash extensa. O produto dialquilado foi removido por eluição com 5 hexano/1 acetato de etilo seguido de eluição do produto com 3 hexano/1 acetato de etilo para fornecer 8,2 g (57%) do produto monoalquilado, 3-[(N-1)-(2-etoxi-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(terc-butildimetsilsiloxi)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona. MS. RMN.

A uma solução metanol (450 mL) de éter terc-butildimetsilsiloxi, 3-[(N-1)-(2-etoxi-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(terc-butildimetsilsiloxi)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona (8,2 g, 9,9 mmol) sob azoto a 5°C foi adicionado ácido p-toluenossulfónico, monohidrato (0,16 g, 0,085 eq). Depois de 2 horas, TLC (50% acetato de etilo/hexano) mostrou que a reacção estava quase completa. A reacção foi temperada com bicarbonato de sódio sólido (0,14 g). O metanol foi removido *in vacuo*. O resíduo resultante foi dissolvido em acetato de etilo, lavado com hidróxido de sódio a 0,1N, salmoura (2X), seco ($MgSO_4$), filtrado e concentrado *in vacuo* para dar uma espuma vermelha. Este material foi absorvido em sílica e colocado numa almofada de sílica. A eluição com 2 hexano/1 acetato de etilo removeu o material de partida residual seguido de eluição com 1 hexano/1 acetato de etilo e 1 hexano/2 acetato de etilo para fornecer 6,4 g (91%) do álcool, 3-[(N-1)-(2-etoxi-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(hidroxi)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona. MS. RMN.

A uma solução éter anidro (500 mL) de álcool, 3-[(N-1)-(2-etoxi-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(hidroxi)-butano))-indol-3-il]-4-

[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona (6,36 g, 8,9 mmol) sob azoto e 5°C foi adicionado trietilamina (1,9 mL, 1,5 eq) e cloreto de metanossulfônico (1,0 mL, 1,5 eq). Depois de 3 horas, trietilamina adicional (1,25 mL, 1,0 eq) e cloreto de metanossulfônico (0,7 mL, 1,0 eq) foram adicionados. Depois de uma hora, a reacção mostrou estar completa por TLC (50% acetato de etilo/hexano). A reacção foi diluída com éter (250 mL), lavada com água, HCl a 0,1N e salmoura (2X). O éter foi seco ($MgSO_4$), filtrado, e concentrado *in vacuo* para fornecer 7,0 g de mesilato, 3-[(N-1)-(2-etoxy-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(metanossulfônico)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona. MS.

A uma solução acetona (200 mL) do mesilato, 3-[(N-1)-(2-etoxy-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(metanossulfônico)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona, (7,0 g, 8,9 mmol) sob azoto foi adicionado iodeto de sódio (13,3 g, 10 eq) e bicarbonato de sódio (75 mg, 0,1 eq). A mistura foi agitada a 50°C durante 13 horas. A reacção foi concentrada *in vacuo*, e o resíduo foi dissolvido em éter e lavado com solução sulfito de sódio a 10%. As camadas foram separadas, e a porção de éter foi lavada com solução sulfito de sódio a 10%, água, salmoura (2 X), seca e concentrada *in vacuo*. O resíduo foi passado através de uma almofada de sílica eluindo com 1 hexano/1 acetato de etilo e 1 hexano/2 acetato de etilo para fornecer 7,6 g do iodeto, 3-[(N-1)-(2-etoxy-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(iodo)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona como um sólido vermelho (rendimento quantitativo para as duas fases). MS. RMN.

A uma suspensão dimetilformamida (1L) de carbonato de césio (12,0 g, 4 eq) sob azoto foi adicionado o iodeto, 3-[(N-1)-(2-etoxy-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-1''''-(iodo)-butano))-indol-3-il]-4-[indol-3-il]-1N(metil)-pirrole-2,5-diona (7,6 g, 9,2 mmol), dissolvido em dimetilformamida (25 mL) por

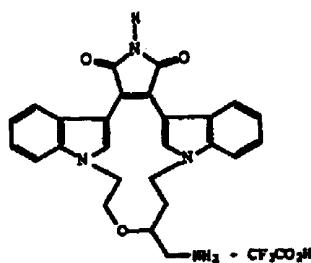
mcio de uma scringa bomba durante 65 horas. Três horas depois da adição estava completa, a reacção foi concentrada *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em acetato de etilo (700 mL), lavado com água (2 X 300 mL), e a camada aquosa lavada de novo com acetato de etilo (2 x 200 mL). As porções combinadas de acetato de etilo foram lavadas com salmoura (2 X 200 mL), secas ($MgSO_4$), filtradas e concentradas *in vacuo* para fornecer um resíduo púrpura. O material foi absorvido em sílica e foi aplicado numa coluna flash. Eluiu com 3 hexano/1 acetato de etilo para dar 5,2 g (82%) do macrociclo, 3,4-[(N,N'-1,1'-((2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona. MS. RMN.

Uma suspensão de N-metil maleimida, 3,4-[(N,N'-1,1'-((2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(terc-butildifenilsiloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona em KOH a 5N (150 mL) e etanol (300 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 65 horas e depois durante uma hora a 60°C. A reacção foi concentrada (150 mL) *in vacuo*, o resíduo foi suspenso em água, arrefecido para 5°C, e acidificado (pH 3) com ácido clorídrico concentrado. A suspensão aquosa vermelha foi extraída com acetato de etilo (4 X 200 mL), seca, e concentrada *in vacuo* para dar 3,3 g do álcool anidrido em bruto, 2,3-[(N,N'-1,1'-((2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona como um sólido púrpura. MS.

A uma solução dimetilformamida (250 mL) de anidrido 2,3-[(N,N'-1,1'-((2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona, (3,3 g, 7,5 mmol) sob azoto foi adicionado 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (32 mL, 2 eq) e metanol (3 mL, 10eq). A reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 16 horas e depois aquecida a 60°C durante 2 horas. A dimetilformamida foi removida *in vacuo*, e o resíduo resultante foi dissolvido em acetonitrilo (250 mL). HCl a 1N (50 mL) foi adicionado. A reacção foi agitada

durante 15 minutos. A reacção foi concentrada, dividida entre acetato de etilo (1 L) e água (250 mL). O produto foi um sólido que precipitou dando a álcool maleimida, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, 0,92 (28%) de produto. Uma pequena quantidade (50 mg) foi absorvida em sílica e aplicada numa coluna flash. Eluiu com diclorometano, 5% acetonitrilo/diclorometano e depois 10% acetonitrilo/diclorometano para dar 38 mg de material analiticamente puro. O acetato de etilo foi concentrado e cromatografado para dar 8% adicionais do produto bruto. MS.

^1H RMN (d_6 -DMSO): δ 1,96 (1H, m), 2,09 (1H, m), 3,31 (1H, m), 3,40 (1H, m), 3,51 (1H, m), 3,62 (1H, m), 3,89 (1H, m), 4,18 (3H, m), 4,35 (1H, m), 4,68 (1H, t, $J=2\text{Hz}$), 7,11 (2H, m), 7,19 (2H, m), 7,44 (1H, s), 7,46 (1H, d, $J=9\text{Hz}$), 7,51 (1H, s), 7,53 (1H, d, $J=9\text{Hz}$), 7,79 (1H, d, $J=8\text{Hz}$), 7,83 (1H, d, $J=8\text{Hz}$), 10,91 (1H, s).



Exemplo 4

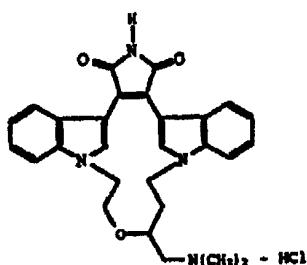
Sal trifluoroacetato de 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(amino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A uma solução tetrahidrofurano anidro (15 mL) do álcool, 3,4-

[(N,N'-1,1'-(2''-ctoxi)-(3''''(O)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (155 mg, 0,35 mmol) sob azoto foi adicionado 2,4,6,-olidina (180 μ L, 3 eq). A solução foi arrefecida para -78°C e tratada com anidrido trifluorometanossulfónico (118 μ L, 2eq). Depois de 1,5 horas a -78°C, um grande excesso de hidróxido de amónio concentrado (2 mL) foi adicionado. Depois de 10 minutos, a reacção foi aquecida para -42°C com um banho de gelo seco/acetonitrilo e depois foi agitado durante 18 horas enquanto se deixava aquecer até à temperatura ambiente. A reacção foi concentrada *in vacuo*. O resíduo resultante foi dissolvido em acetato de etilo (400 mL), lavado com água, salmoura, seco, e concentrado *in vacuo* para fornecer a amina primária em bruto. A amina foi absorvida em sílica e aplicada numa coluna flash a qual foi sequencialmente eluída com 1 acetato de etilo/1 hexano, acetato de etilo, acetato de etilo/5% metanol e finalmente 50 acetato de etilo/45 acetonitrilo/4 metanol/2 isopropilamina para eluir a amina, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-ctoxi)-(3''''(O)-4''''-(amino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (38 mg). O álcool de partida (104 mg, 67%) foi também recuperado. O produto foi purificado adicionalmente utilizando cromatografia de exclusão de dimensão de fase reversa eluindo com 85 acetonitrilo/15 (0,01% TFA/água). As fracções recolhidas azeotropadas com acetato de etilo para dar 23 mg(12%) de um pó como sal TFA. MS.

1 H RMN (d_6 -DMSO): δ 1,99 (1H, m), 2,08 (1H, m), 2,82 (1H, m), 3,18 (1H, m), 3,57 (2H, m), 3,75 (1H, m), 4,13 (2H, m), 4,29 (1H, m), 4,44 (1H, m), 7,09 (2H, t, J =7Hz), 7,18 (2H, t, J =7Hz), 7,47 (4H, m), 7,70 (3H, bs), 7,78 (2H, m).

De uma maneira idêntica foram preparados o enanteómero S, 4s como sal HCl, e enanteómero R, 4r como o sal HCl.



Exemplo 5

Sal HCl 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A uma suspensão diclorometano anidro (140 mL) do álcool, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (472 mg, 1,07 mmol) sob azoto foi adicionado piridina (160 μ L, 3 eq) e anidrido metanossulfônico (242 mg, 1,3 eq). Depois de 4 horas, a reacção foi diluída com diclorometano, lavada com HCl a 1N (2X) e filtrada para remover o material de partida (54 mg). A porção diclorometano foi lavada com salmoura (2X), seca, e concentrada para dar o mesilato em bruto, como um sólido púrpura. O material foi absorvido em sílica e aplicado a uma coluna flash a qual foi eluída sequencialmente com diclorometano, 5% acetonitrilo/diclorometano e 10% acetonitrilo/diclorometano para fornecer 288 mg (52% rendimento) do mesilato, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(metanossulfoniloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona. MS. RMN.

A uma solução de tetrahidrofurano (20 mL) do mesilato 3,4-[(N,N'-

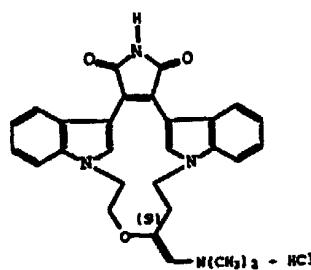
May

1,1'-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(metanossulfoniloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (304 mg, 0,59 mmol) foi adicionada uma solução a 8,9 M de dimetilamina em tetrahidrofuran (7 mL, 100 eq). Depois do aquecimento (65°C) durante 24 horas num tubo selado, a reacção foi diluída com acetato de etilo (200 mL), lavada com salmoura (2X), seca, e concentrada para fornecer o derivado dimetilamina como um sólido. O material foi absorvido em sílica e aplicado numa coluna flash que foi eluída sequencialmente com 3 acetato de etilo/1 hexano, acetato de etilo e 2% isopropilamina/acetato de etilo para dar o derivado dimetilamina 193 mg (70% rendimento) o qual era 90% puro por HPLC. O derivado dimetilamina, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, foi purificado para mais do que 95% como sal trifluoroacetato utilizando HPLC de fase reversa de exclusão de dimeensão por eluição com 85 acetonitrilo/15 (0,01% TFA/água).

O sal trifluoroacetato de 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona foi convertido no sal HCl por suspensão do sal em acetato de etilo e lavando suavemente com NaOH a 0,1N (5 x 50 mL). A porção acetato de etilo foi lavada com salmoura (2X), seca, e concentrada para fornecer a base livre, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona. A uma suspensão metanol anidro (50 mL) de base livre, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona foi adicionado HCl a 1N em éter anidro (13 mL, 50 eq). O éter foi evaporado, e o resíduo foi seco sob vácuo para dar 143 mg (52% rendimento) de sal hidrocloreto de 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona como um sólido vermelho. MS.

¹H RMN (d₆-DMSO): δ 2,03 (1H, m), 2,26 (1H, m), 2,68 (6H, t, J=5Hz), 3,24

(1H, m), 3,28 (1H, m, depois agita D₂O); 3,64 (1H, m), 3,77 (2H, m), 4,07-4,38 (1H, m), 7,08 (2H, m), 7,17 (2H, m), 7,43 (3H, m), 7,52 (1H, d, J=8Hz), 7,79 (2H, m), 10,33 (1H, bs), 10,92 (1H, s).



Exemplo 5s

Sal hidrocloreto de (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A uma solução THF (300 mL) de mesilato, (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(metanossulfoniloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (2,8 g, 5,39 mmol) foi adicionado dimetilamina (100 mL, 40% em água) num recipiente selado. Depois do aquecimento (50°C) durante 24 horas, a reacção foi concentrada. O resíduo foi passado através de uma almofada de sílica eluindo com etilo e depois com 10% trietilamina/acetato de etilo o qual eluiu o desejado derivado (S)-dimetilamina. O eluente foi concentrado para render 1,7g (67% rendimento) de base livre (S) 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-(3'''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona como um sólido violeta. A base livre foi convertida no sal hidrocloreto por suspensão da base livre 3,4-[(N,N'-1,1')-(4''-N,N-dimetilamino)-3(S)-''etoxi-butano]-bis-(3-indolil)-1H-pirrole-2,5-diona (1,7 g, 3,6 mmol) em metanol (300 mL) e pela adição de HCl anidro a 1,0N em éter (10 mL, 10 mmol). Depois de

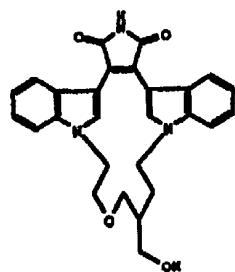
0,5 horas à temperatura ambiente, o precipitado cor de laranja brilhante foi recolhido, lavado com éter, e seco sob vácuo para render 1,4 g (77% rendimento) de sal hidrocloreto de 3,4-[(N,N'-1,1')-(4''-N,N-dimetilemino-3-(S)-''etoxi-butano)]-(bis)-(3-indolil)-1(H)-pirrole-2,5-diona. MS.

¹H RMN: (d₆-DMSO) δ 2,1 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,68 (s, 6H), 3,2 (m, 1H), 3,33 (m, 1H), 3,66 (br t, 1H), 3,8 (br. T, 1H), 3,85 (m, 1H), 4,17 (m, 1H), 4,2-4,4 (m, 3H), 7,1 (d, 1H), 7,13 (d, 1H), 7,2 (m, 2H), 7,44 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,5 (d, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,82 (br t, 2H), 10,59 (br., 1H), 10,96 (s, 1H).

Exemplo 5r

Sal hidrocloreto de (R)-3,4-[(N,N'-1,1')-(2''-etoxi)-(3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

O enanteómero R foi preparado de uma maneira idêntica ao enanteómero (S), excepto que se utilizou o (R)-4-terc-butildifenilsiloxi-3-(2-iodoetoxi)-1-iodobutano como material de partida. MS. RMN.



Exemplo 6

3,4-[(N,N'-1,1')-(2''-etoxi)-(3''''(O)-metileno)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-

indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

Uma solução DMF seco (100 mL) de (bis)mesilato, 1-(2-metilsulfoniloxi)-etoxi)-2-((metilsulfoniloxi)etil)-3-(terc-butildifenilsiloxi)-propano, (7,40 g, 13,30 mmol) e bis(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (4,43 g, 13,30 mmol) foi adicionado durante 16 horas a uma suspensão agitada de Cs_2CO_3 (25,4 g, 78 mmol) em DMF (400 mL) a 50°C. Depois de 8 horas, a reacção foi concentrada sob pressão reduzida a 80°C para dar um resíduo. O resíduo foi diluído com acetato de etilo (200 mL), lavado com água (50 mL). A camada orgânica foi separada, e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (50 mL X 3). A porção orgânica combinada foi seca, e concentrada num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna de gel de sílica com 25% acetato de etilo em hexano seguida de 5% metanol em CH_2Cl_2 para dar os produtos predominantes: produto macrociclo éter silílico, 2,3-[(N,N'-1,1'-(4'''-etoxi-1'-il-(3'''-(terc-butildifenilsiloxi)metileno)butan-1-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-1,4-diona, (2,35 g)

MS: calculado para $\text{C}_{44}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}$: Mol. Mass: 707,31, encontrado 708.

R_f = 0,84 (50% acetato de etilo em hexano), o produto macrociclo álcool desililado (600 mg). MS.

A uma solução agitada EtOH (500 mL) de macrociclo N-metilo, 2,3-[(N,N'-1,1'-(4'''-etoxi-1'-il-(3'''-(terc-butildifenilsiloxi)metileno)butan-1-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-1,4-diona, (1,65 g, 2,33 mmol) foi adicionado KOH a 5N (100 mL). Depois de 12 horas a 50°C, a mistura de reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente e concentrada sob pressão reduzida num resíduo. O resíduo foi acidificado com HCl concentrado para pH 1 e extraído com acetato de etilo (200 mL X 5). A fase orgânica combinada foi seca, concentrada sob pressão reduzida, e foi eluída com uma coluna curta de

sílica com 5% metanol em diclorometano. A evaporação do solvente que eluiu deu um resíduo contendo o anidrido, 2,3-[$(N,N'$ -1,1'-((4''''-etoxi-1'-il-(3''''-(terc-butildifenilsiloxi)metileno)butan-1-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-1,4-diona que foi utilizado na reacção seguinte.

A uam solução DMF seca (250 mL) de anidrido, 2,3-[$(N,N'$ -1,1'-((4''''-etoxi-1'-il-(3''''-(terc-butildifenilsiloxi)metileno)butan-1-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-1,4-diona, (600 mg, 1,3 mmol) foi adicionado HMDS (2,1 g, 14 mmol) seguido de metanol (109 mg, 6,5 mmol). Depois de 48 horas, a reacção foi concentrada, e o resíduo foi dissolvido em acetato de etilo (100 mL), lavado com HCl a 1N aquoso (25 mL), água (15 mL) e salmoura (25 mL) respectivamente. A fase orgânica resultante foi então seca e concentrada para dar um resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna de gel de sílica com metanol/CH₂Cl₂ (0% até 5% metanol). A evaporação do solvente em eluição deu a imida, 3,4-[$(N,N'$ -1,1'-((2''-etoxi-(3-''((O)-metileno)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, como um sólido (300 mg, 50% rendimento). MS.

¹H RMN (CDCl₃) δ 9,65 (s, 1H), 7,79 (t, J=7,65Hz), 7,61 (s, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,46-7,40 (m, 2H), 7,24-7,08 (m, 2H), 7,07-7,02 (m, 2H), 4,43-4,33 (m, 2H), 4,30-4,21 (m, 1H), 4,144,06 (m, 1H), 3,64 (t, J=4,64 Hz), 3,58-3,38 (m, 5H), 3,71 (t, J=8,64 Hz), 1,89-1,85 (m, 1H).

Exemplo 7

Sal hidrocloreto de 3,4-[$(N,N'$ -1,1'-((2''-etoxi-(3-''((O)-metileno)-4''''-(N-pirrolidino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

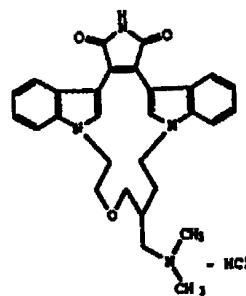
A uma solução CH₂Cl₂ seca (50 mL) de álcool imida, 3,4-[$(N,N'$ -1,1'-((2''-etoxi-(3-''((O)-metileno)-4''''-(hidroxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-

1(H)-pirrole-2,5-diona (140 mg, 0,30 mmol) contendo piridina (120 mg, 1,5 mmol) foi adicionado anidrido metanossulfónico (106 mg, 0,61 mmol) sob uma atmosfera de N₂. Depois de 2 horas, a reacção foi temperada com água (25 mL), diluída com CH₂Cl₂ (50 mL), lavada com HCl a 0,2N (20 mL X 2), bicarbonato de sódio aq. (20 mL), água (20 mL), salmoura (20 mL), seco, e concentrado num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna curta de gel de sílica com 5% metanol em diclorometano e evaporação do solvente em eluição deu o mesilato, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi-(3-''((O)-metíleno)-4''''-(metanossulfoniloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona que foi utilizado na reacção seguinte.

A uma solução THF num tubo selado (20 mL) com mesilato, 3,4-[(N,N'-1,1'-etoxi-(3''''((O)-metileno)-4''''-(metanossulfoniloxi)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, (157 mg, 0,29 mmol) foi adicionado pirrolideno (203 mg, 2,90 mmol). Depois do aquecimento (50°C) durante 12 horas, a reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente concentrada sob pressão reduzida, dissolvida em CH₂Cl₂ (50 mL), lavada com água (20 mL X 2), salmoura (20 mL), seca, e concentrada sob pressão reduzida num resíduo. O resíduo foi eluído através de uma coluna curta de gel de sílica com 5% metanol em diclorometano e evaporação do solvente em eluição deu pirrolidina, 3,4-[(N,N'-1,1'-etoxi-(3''''((O)-metileno)-4''''-(N-pirrolidino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona. MS: calculado para C₃₁H₃₂N₄O₃; massa Mol: 508,62, encontrado 508, R_f = 0,14 (5% metanol em diclorometano, vestígio de trietilamina). A pirrolidina foi purificada adicionalmente por cromatografia de fase reversa de permeação de gel para dar o macrociclo pirrole como sal de ácido trifluoroacético (55 mg, 37% rendimento). O sal de ácido trifluoroacético do pirrole foi convertido no hidrocloreto composto em título pela extração de NaOH a 1N (5 mL) pasta de sal de ácido trifluoroacético (55 mg) com acetato de etilo (25 mL)/metanol (2 mL), o extracto foi seco, e concentrado num resíduo. O

resíduo foi empastado em éter/metanol (10:1) e uma solução HCl de éter foi adicionada. Depois de 30 minutos, a pasta foi concentrada e seca no vácuo para dar o composto em título (48 mg, 88% rendimento). MS.

^1H RMN: δ 10,98 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,70-7,62 (m, 3H), 7,56-7,50 (m, 1H), 7,24-7,02 (m, 4H), 4,50-4,20 (m, 4H), 3,76-3,42 (m, 4H), 2,82-2,44 (m, 4H), 2,26-2,24 (m, 1H), 1,82-1,60 (m, 6H), 1,26-1,02 (m, 2H).



Exemplo 8

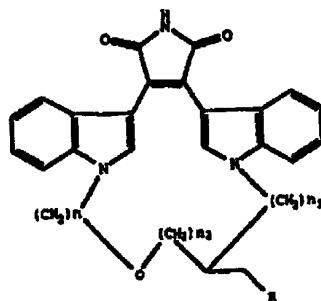
Sal hidrocloreto de 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi-(3'''(O)-metileno)-4''''-(N,N-dimetilamino)-butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A amina terciária em título foi preparada por deslocamento do mesilato com dimetilamina (58 mg, 75% rendimento). MS.

^1H RMN (CDCl₃) δ 10,93 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,69-7,64 (m, 3H), 7,47 (d, $J=7,97$ Hz, 1H), 7,13-7,02 (m, 4H), 4,40-4,11 (m, 4H), 3,73-3,20 (m, 4H), 2,50 (s, 3H), 2,33 (s, 1H), 2,13-1,96 (m, 2H), 1,86-1,70 (m, 1H), 1,21-1,10 (m, 2H).

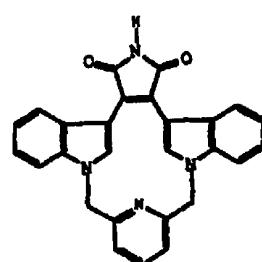
Os seguintes compostos foram preparados de uma maneira idêntica

aos Exemplos aqui descritos e ilustram adicionalmente os compostos do invento. Nos exemplos seguintes, a estrutura do composto foi confirmada por RMN, MS, e/ou análise elementar. Durante a síntese, R é um hidroxi protegido, de preferência um éter silílico preferencialmente butildifenilsiloxi (TBDPS). O éter silílico pode ser convertido num grupo dissociável e substituído para produzir os seguintes exemplos:



Exemplo	N	n1	n2	R
9	3	2	0	-NH ₂
10	3	2	0	-NH ₂ .HCl
11	3	2	0	-N(CH ₃) ₂ .HCl
12	3	2	0	.HCl
13	3	2	0	-NHCH ₂ C ₆ H ₅ .HCl
14	3	2	0	-NHCOCH ₃
15	3	2	0	-NHSO ₂ C ₆ H ₅
16	3	2	0	-NHC(O)OCH ₂ C ₆ H ₅
17s enanteómero S	2	2	0	-NHCH ₃ .HCl
18s enanteómero S	2	2	0	-NHCH ₂ C ₆ H ₅ .HCl
18r enanteómero R				

19r enanteómero R	2	2	0	<chem>-NHC(=O)c1ccccc1</chem>
20r enanteómero R	2	2	0	<chem>.HCl</chem>
20s enanteómero S				
21r enanteómero R	2	2	0	<chem>-NHSO2Cc6H5</chem>
21s enanteómero S				
22	2	2	0	<chem>-NHCH2(c1ccccc1).HCl</chem>
23s enanteómero S	2	2	0	<chem>-Nc1ccccc1-CH3</chem>
24s enanteómero S	2	2	0	<chem>-Nc1ccccc1</chem>
25r enanteómero R	2	2	0	<chem>-NHC(=O)OCH2Cc6H5</chem>



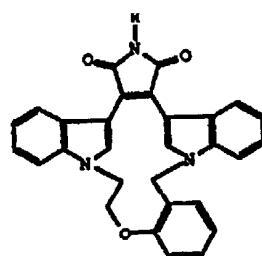
Exemplo 26

3,4-[N,N'-1,1'-(2-metileno-6-metilenopiridina)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-

2,5-diona

Seguindo o mesmo processo como descrito no Exemplo 1, anidrido 2,3-bis-indolemaleico (287 mg, 0,88 mmol em 5 mL DMF foi tratado com hidreto de sódio (60 porcento em óleo, 88 mg, 2,19 mmol) durante 1,5 horas, depois foi diluído em 11 mL com DMF, e tratado com piridina bis-2,6-dibromometilo (245 mg, 0,93 mmol). Depois da agitação a 50°C durante a noite, a mistura de reacção foi trabalhada (EtOAc) e filtrada através de um tampão curto de sílica (50 porcento EtOAc em hexanos). Anidrido N,N'-(2,6-piridina-em ponte)-bis-indolemaleico (142 mg, 37 porcento) foi obtido como um sólido vermelho escuro, o qual mostrou essencialmente uma só mancha na análise TLC e utilizado directamente na fase seguinte sem purificação adicional.

3,4-[N,N'-1,1'-(2-metileno, 6-metilenopiridina)-bis-(3,3'-indolil)-1H-furan-2,5-diona (140 mg, 0,32 mmol) em 2 mL de DMF foi tratado com uma mistura de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (0,72 mL, 3,2 mmol) e CH₃OH (0,063 mL, 1,6 mmol) para dar, depois de processado e purificado por cromatografia radial em gel de sílica, 42 mg do N,N'-(2,6-piridina-em ponte)-bis-indolemaleimida em título, como um sólido cor de vinho. Este material foi homogenizado por TLC ($R_f = 0,35$, 3 porcento CH₃OH em CHCl₃).



Exemplo 27

Very Satisfactory

Hidrocloreto de 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-benzil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

Uma solução DMF seco (45 mL) de dibrometo, 2-(2'-bromoetoxi)-benzilbrometo, (2,0g, 6,8 mmol) e bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-2,5-diona (2,3g, 6,8 mmol) foi adicionado por meio de uma seringa bomba durante 20 horas a uma suspensão de Cs_2CO_3 (8,9 g, 27 mmol) em DMF seco (550 mL) com agitação vigorosa a 55°C sob N_2 . Depois de 2 horas adicionais, a mistura de reacção foi concentrada *in vacuo*, o resíduo dissolveu em CH_2Cl_2 , lavado com HCl a 1N, salmoura, seco, e concentrado *in vacuo* para dar um óleo violeta. O óleo foi passado através de um tampão de sílica eluindo com 1:1 hexanos/acetato de etilo. O eluente foi reduzido para render o macrociclo, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-benzil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-2,5-diona 2,76 g (71% rendimento) como um sólido magenta. A recristalização a partir de isopropanol/cloreto de metíleno deu material analiticamente puro. MS: MW = 473; observado 473, FD; CHCl_3 , EA: calculado (observado): C 76,09 (75,86); H 4,90 (4,93), N, 8,87 (8,79).

A uma suspensão etanol (100 mL) de macrociclo, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-benzil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(metil)-pirrole-2,5-diona (710 mg, 15 mmol) contendo THF (20 mL) foi adicionado KOH a 5N (80 mL). A reacção foi aquecida (55°C) durante 70 horas com agitação, arrefecida até à temperatura ambiente, e o etanol foi removido *in vacuo*. O concentrado foi acidificado para pH 1 com HCl a 5N (350 mL), extraído com acetato de etilo, lavado com salmoura (2 X), seco, e concentrado para dar o anidrido, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-benzil)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-2,5-diona 700 mg (conversão quantitativa) como um resíduo.

A uma solução DMF seco (500 mL) do anidrido, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-benzil)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-pirrole-2,5-diona (760 g, 17 mmol),

foi adicionada uma solução de metanol (0,34 mL, 8,3 mmol) e 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (3,5 mL, 17 mmol). Depois do aquecimento (55°C) 22 horas a reacção foi concentrada *in vacuo*, diluída com acetato de etilo, lavada com HCl a 0,1N. A camada orgânica combinada foi seca, e concentrada num resíduo violeta. O resíduo foi aplicado num tampão curto de sílica e eluída com CH₂Cl₂/hexano (gradiente de 0 – 100% CH₂Cl₂). A evaporação do solvente deu a maleimida NH, 3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-benzil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona 483 mg (70% rendimento) como um sólido púrpura. O composto em título foi cristalizado a partir de CH₂Cl₂/hexano. MS.

¹H RMN : (DMSO-d₆) δ 4,19 (2H, bs), 5,23 (2H, bs), 5,23 (2H, bs), 6,90-6,99 (2H), 7,01-7,18 (3H), 7,20-7,27 (2H), 7,59-7,68 (2H), 7,71-7,80 (5H). 10,92 (H, s).

Exemplo 28

3,4-[(N,N'-1,1'-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

A uma solução de 3,4-bis-(3-indolil)-1-metil-pirrole-2,5-diona (499 mg, 1,46 mmol) em 10 mL de DMF sob N₂ foi adicionado hidreto de sódio (60 porcento em óleo, 146 mg, 3,65 mmol) em porções de 30 minutos. A solução verde resultante foi agitada durante 1 hora. A mistura foi diluída com 10 mL de DMF e depois foi tratada gota a gota com 1,6-dibromohexano (0,24 mL, 1,57 mmol). A mistura de reacção foi agitada 30 minutos à temperatura ambiente e depois aquecida a 45°C durante 16 horas. A mistura arrefecida foi deitada em NH₄Cl aquoso diluído (125 mL) e extraído com EtOAc (3 x 40 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água e secos (MgSO₄). Depois da remoção do solvente *in vacuo*, o resíduo foi purificado por cromatografia flash em gel de sílica eluindo com CH₂Cl₂-hexanos, 1:1 até 3:1 (eluição gradiente) para se conseguir o composto 3,4-[(N,N'-1,1'-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1metil-pirrole-2,5-diona (137 mg, 22 porcento) como sólido púrpura, M. Pt. > 320°C.

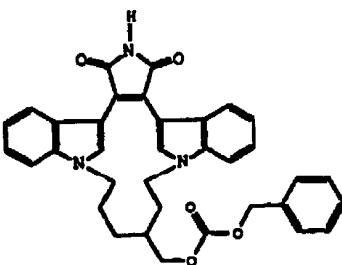
Uma mistura contendo 3,4-[(N,N'-1,1'-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-metil-pirrole-2,5-diona (137 mg, 322 mmol), etanol (15 mL), KOH a 5N (5 mL) e THF (2 mL) foi agitada 4 horas à temperatura ambiente. Nessa altura a análise TLC mostrou o material de partida a ser consumido. A mistura foi diluída com água (15 mL) e concentrado no evaporador rotativo. A mistura foi arrefecida, acidificada para pH 1 com HCl a 3N e extraída com CH₂Cl₂ (3 X 10 mL). Os extractos orgânicos combinados foram bem lavados com água, secos sobre MgSO₄ anidro e concentrados. O sólido púrpura obtido (116 mg) foi encontrado por análise RMN como sendo uma mistura 4:1 do anidrido desejado e material de partida. Este material foi utilizado directamente na fase seguinte sem purificação adicional.

Da mesma maneira que foi descrito no Exemplo 1, uma solução de 3,4-[(N,N'-1,1'-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-2,5-diona (108 mg, 0,263 mmol) em DMF (1,5 mL sob N₂) foi tratado com uma mistura de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (0,59 mL, 2,62 mmol) e CH₃OH (0,05 mL, 1,31 mmol) durante a noite. Depois de processado (EtOAc), o produto bruto foi sujeito cromatografia flash em gel de sílica (CH₂Cl₂-EtOAc, 10:1 – 5:1, eluição gradiente) para se conseguir as duas fracções coloridas. A primeira fracção colorida a eluir continha 3,4-[(N,N'-1,1'-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-metil-pirrole-2,5-diona impureza trazida das reacções anteriores. A segunda fracção colorida continha o produto desejado, 3,4-[(N,N'-1,1'-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (56 mg). M. Pt. > 320°C. MS

Calculado para C₂₆H₂₃N₃O₂ (0,3 H₂O):

C, 76,26; H, 5,66, N, 10,26.

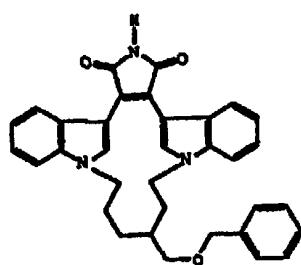
Encontrado: C, 75,21; H, 5,65; N, 10,05.



Exemplo 29

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(benzilcarbonato)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

A uma solução diclorometano a 0°C de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroxi)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (24 mg, 0,054 mmol) foi adicionado diisopropiletilamina (10,6 mg, 0,081 mmol) seguido de cloroformato de benzilo (13,8 mg, 0,081 mmol). Depois de 72 horas, a mistura de reacção foi temperada com bicarbonato de sódio a 2,5N; a camada orgânica foi removida; e a camada aquosa foi extraída com diclorometano. As camadas orgânicas combinadas, lavadas com salmoura, secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e concentradas para dar um óleo que foi purificado por HPLC de fase reversa (5% acetonitrilo em água com 0,1% TFA gradiente até 100% acetonitrilo em coluna C18) para dar 6 mg do composto em título. MS.



Exemplo 30

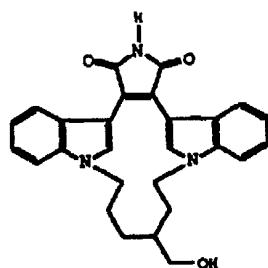
(±)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(benziloximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Seguindo o mesmo processo como descrito nos exemplos anteriores, 3,4-bis-(3'-indolil)]-1-metil-pirrole-2,5-diona (400 mg, 1,17 mmol) em 8 mL DMF foi tratado com hidreto de sódio (60 porcento em óleo, 117 mg, 2,93 mmol) seguido de tratamento com (±)-3-benziloxi metileno-1,6-dibromohexano em 7 mL de DMF. Depois do aquecimento a 50°C durante a noite, o produto bruto depois de trabalhado foi purificado por cromatografia flash em gel de sílica eluindo com CH₂Cl₂-hexanos, 1:1 – 2:1 (eluição-gradiente) para dar (±)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(benziloxi metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-metil-pirrole-2,5-diona puro (149 mg 23 porcento) como um sólido violeta.

Uma mistura contendo (±)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(benziloxi metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-metil-pirrole-2,5-diona (141 mg, 0,259 mmol), etanol 15 mL e KOH a 5N (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 3 horas ao mesmo tempo que a análise TLC mostrou o material de partida a ser consumido. Depois da acidificação e extração com CH₂Cl₂, o produto bruto (101 mg) mostrou duas manchas na análise TLC (CH₂Cl₂) correspondendo ao material de partida e anidrido desejado (±)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(benziloxi metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-2,5-diona. A análise RMN indicou rudemente uma mistura 4:1 de anidrido e material de partida respectivamente. Este material foi utilizado directamente na fase seguinte sem purificação adicional.

(±)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(Benziloximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-2,5-diona (98 mg, 0,180 mmol) em 1 mL DMF foi tratado com

uma mistura dc 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (0,41 mL, 1,80 mmol) e ClI₃OII (0,036 mL, 0,90 mmol) a 25°C durante a noite. A mistura foi processada (EtOAc) e cromatografia flash em gel de sílica eluindo com CH₂Cl₂, CH₂Cl₂-EtOAc (10:1 (eluição gradiente) para dar 30 mg de (\pm)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(benziloxi)-metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona purificado. M. Pt. 171°-173°C. MS.



Exemplo 31

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroxi)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Uma mistura contendo bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (3,41 g, 10,0 mmol) e 3-terc-butildifenilsiloximetileno-1,6-dibromo-hexano (5,64 g, 11,0 mmol) em 50 mL de DMF e foi adicionado com uma seringa bomba durante 30 horas uma solução bem agitada de carbonato de césio (11,2 g, 34,3 mmol) em DMF (350 mL) a 55°C sob N₂. Depois da adição estar completa, a mistura de reacção foi aquecida a esta temperatura 16 horas adicionais. A mistura arrefecida foi deitada em 1,2 L de água contendo 20 mL de HCl a 3N e foi extraída com três porções de 300 mL de CH₂Cl₂. Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água e salmoura e depois foram secos (MgSO₄) e concentrados. O resíduo foi passado através de um coluna 3'' X 3'' de gel de sílica eluindo com CHCl₃. O produto bruto obtido deste modo foi

purificado por cromatografia flash em gel de sílica (CHCl₃) para se conseguir 2,87 g (41%) de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-terc-butildifenilsiloximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona como um sólido púrpura, M pt. 220 -224° C HRMS calculado para C₄₄H₄₅N₃SiO [M +1] : 692,3307. encontrado: 692,3299.

Uma mistura contendo 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-tercbutildifenilsiloximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (1,55 g, 2,22 mmol), KOH a 4N (100 mL), THF (10 mL) e 95% EtOH (200 mL) foi aquecido a 90°C durante 16 horas. Depois da remoção da maior parte de EtOH no evaporador rotativo, a mistura foi acidificada para pH 1 com HCl a 6N e extraída com CH₂Cl₂ (3 x 75 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água e salmoura e foram secos sobre Na₂SO₄. Depois da remoção do solvente *in vacuo*, o resíduo foi dissolvido num mínimo de 5% metanol em CHCl₃ e foi carregado numa coluna 3''X3'' de gel de sílica. A eluição com CHCl₃ seguida de metanol a 10% em CHCl₃ deu duas fracções; a evaporação da segunda fracção forneceu 676 mg (69%) de anidrido-álcool como um sólido púrpura o qual foi homogeneizado por TLC (R_f = 0,5, 10% metanol em CHCl₃). Este material foi utilizado directamente na fase seguinte sem purificação adicional.

A uma solução do anidrido anterior (510 mg, 1,15 mmol) em DMF (11 mL) foi adicionada uma solução pré-misturada contendo 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (5,14 mL, 23 mmol) e CH₃OH (0,45 mL, 11,5 mmol). A mistura resultante foi aquecida a 50°C durante 24 horas sob N₂. A mistura de reacção arrefecida foi deitada em 100 mL de água. O produto precipitado foi lavado com água e seco durante a noite para dar 409 mg de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona como um sólido púrpura -avermelhado. Descobriu-se que este material era 93% puro por análise HPLC (fase-reversível) e foi contaminado com um composto não-identificado de

R_f semelhante.

HRMS calculado para $C_{27}H_{25}N_3O_3$: 439,1896. Encontrado: 439,1911.

Exemplo 31 r

(R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Seguindo o mesmo processo descrito anteriormente para a preparação do Exemplo 31, (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona foi preparado com 25% rendimento total a partir do dibrometo, (R)-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-dibromohexano por alquilação de bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona, hidrólise, e formação 1-H-pirrole-2,5-diona. M. Pt. > 300°C.

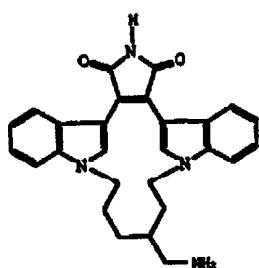
1H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) 1,05-2,25 (m, 6H), 4,04-4,45 (m, 6H), (m, 8H), 7,08-7,88 (m, 10H).

Exemplo 31 s

(S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Seguindo o mesmo processo descrito anteriormente para a preparação do Exemplo 31, (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona foi preparado (4,5 g) com 39% rendimento total a partir do dibrometo, (S)-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-1,6-dibromohexano por dialquilação de bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona, hidrólise, e formação 1-H-pirrol-2,5-diona. MS.

1H RMN (D₆, DMSO) δ 1,05-1,15 (2H), 1,23-1,24 (1H), 1,50-1,52 (1H), 1,71 (1H), 1,94 (1H), 2,07-2,12 (1H), 4,05-4,4 (m, 6H), 7,09-7,21 (m, 4H), 7,35 (d, J=15Hz, 2H), 7,49 (d, J=9Hz, 2H), 7,8 (d, J=9Hz, 2H), 10,39 (s, 1H).



Exemplo 32 e 33

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-aminometileno)-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Exemplo 32 como o sal TFA

Exemplo 33 como o sal HCl

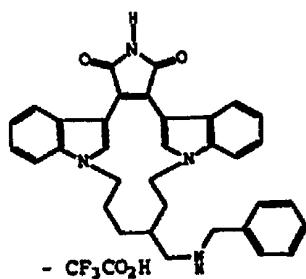
A uma solução agitada de álcool anidrido 2,3-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona (0,18 g, 0,41 mmol) em diclorometano anidro (10 mL), sob azoto foi adicionada trietilamina (0,10 g, 1,06 mmol), e cloreto de metanossulfonilo (0,11 g, 0,98 mmol). A solução resultante foi agitada 30 minutos à temperatura ambiente. O solvente foi removido *in vacuo*. O resíduo foi dissolvido em 10 mL de dimetilformamida anidro, seguida da adição de azeto de sódio (0,26 g, 4,1 mmol). A mistura de reacção foi aquecida durante 1,5 horas a 50°C sob azoto. A mistura de reacção arrefecida foi dividida entre HCl a 0,2N e acetato de etilo. O extracto orgânico combinado foi seco sobre sulfato de magnésio, e evaporado para fornecer 185 mg do azeto, a qual foi utilizado directamente na reacção seguinte. O azeto em bruto foi dissolvido em dimetilformamida (3 mL), sob azoto, e 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (1,25 g, 7,75 mmol) e metanol (0,12 g, 3,87 mmol) foram adicionados. A reacção foi aquecida a 50°C. Depois de 12 horas, a reacção foi arrefecida, diluída com acetato de etilo, lavada com água, ácido clorídrico a 2N.

As lavagens aquosas voltaram a ser extraídas com acetato de etilo (3 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de magnésio, filtradas, e evaporadas para fornecer o azeto-imida, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-azidometileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (175 mg) como um sólido púrpura. O produto foi cromatografado numa coluna Rainin Dynamex R -60 C₁₈ (21,4 x 250 mm) utilizando um gradiente linear a partir de 80% A (0,1% TFA e 5% acetonitrilo em água) até 100% B (acetonitrilo puro) durante 60 minutos a 15 mL/min. para se obter 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-azidometileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona purificado em 57% rendimento total. MS. RMN.

A uma solução de azeto de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-azidometileno)-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (0,1 g 0,21 mmol), em acetato de etilo (15 mL) e etanol (5 mL) foi adicionado catalisador Lindlar (0,1 g). A mistura de reacção foi agitada sob hidrogénio (1 ATM) à temperatura ambiente. Depois de 12 horas, o catalisador foi removido por filtração e o filtrado foi concentrado in vacuo. A purificação por HPLC preparativa de fase reversa num Rainin Dynamax R- 60 C18 (21,4 x 250 mm) utilizando um gradiente linear 80% A (0,1% TFA e 5% acetonitrilo em água) até 100 % B (acetonitrilo puro) durante 60 minutos a 15 mL/min., contando que a amina primária como o sal TFA, sal de ácido trifluoroacético 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-aminometileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona, como um sólido (80 mg) em 63% rendimento. MS.

¹H RMN (d₆ acetona) δ 0,77-0,78 (m, 1H), 1,0-1,1 (m, 1H), 1,27-1,34 (m, 1H), 1,43 (m, 1H), 1,52-1,56 (m, 4H), 1,60-1,1,68 (m, 1H), 1,90-1,94 (m, 1H), 3,17-3,21 (m, 1H), 3,35-3,38 (m, 1H), 3,64-3,67 (m, 1H), 3,75-3,82 (m, 2H), 6,61-6,72 (m, 4H), 6,824 (d, J=16Hz, 2H), 6,936 (t, J=8,31 Hz, 2H), 7,397 (t, J=7,83 Hz, 2H), 9,3 (s, 1H).

^{13}C RMN (d_6 acetona) δ 26,0, 28,0, 32,1, 35,4, 40,8, 41,0, 41,1, 45,1, 45,8, 50,9, 105,2, 110,8, 111,0, 121,24, 121,29, 122,7, 122,9, 123,0, 128,4, 128,6, 131,5, 132,0, 134,0, 134,1, 136,8, 137,1, 172,6, 172,7, 192,5.



Exemplo 34

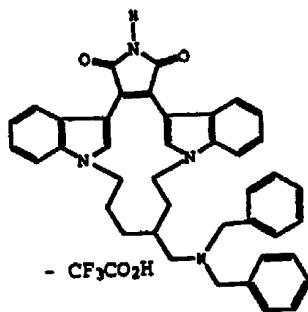
Sal trifluoroacetato de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N-benzilamino)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

A uma solução agitada da amina primária, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-aminometileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (40 mg, 0,05 mmol), em THF anidro (2 mL) sob azoto foi adicionado benzaldeído (9,39 mg, 0,08 mmol). Depois de 30 minutos, borohidreto triacetoxi de sódio (18,75 mg, 0,08 mmol) foi adicionado. Depois da agitação durante 1 hora, a mistura de reacção foi diluída com água e extraída com acetato de etilo (3 x 25 mL). Os extractos orgânicos combinados foram secos sobre sulfato de magnésio, filtrados e concentrados *in vacuo*. A purificação por HPLC de fase reversa numa coluna Rainin Dynamax R- 60 C18 (21,4 x 250 mm) utilizando um gradiente linear a partir de 80% A (0,1% TFA e 5% acetonitrilo em água) até 100% B (acetonitrilo puro) durante 60 minutos a 15 mL/min., contando que duas fracções diferentes de composto mono benzilo, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N-benzilamino)metileno)hexano)-

bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (16 mg) em 66% rendimento, e o
composto dibenzilamino, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N'-
dibenzilamino)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona, (7 mg)
em 20% rendimento. MS.

¹H RMN (d₆ acetona) δ 1,1-1,3 (m, 1H), 1,5-1,6 (m, 1H), 1,71-1,77 (m, 1H),
1,93-2,10 (m, 3H), 2,5 (m, 1H), 3,1-3,2 (m, 1H), 3,37-3,41 (m, 1H), 4,13 (t, J=5,1
Hz, 2H), 4,28 (t, J=5,1Hz, 2H), 4,36 (d, J=3,6Hz, 2H), 7,13-7,24 (m, 4H), 7,33
(d, J=25Hz, 2H), 7,39-7,51 (m, 7H), 7,89-7,96 (m, 2H), 9,76 (s, 1H).

¹³C RMN (d₆acetona) δ 25,6, 27,3, 32,1, 32,9, 44,7, 45,4, 50,1, 52,2, 105,0,
105,2, 110,8, 111,1, 121,1, 121,2, 121,3, 122,8, 122,9, 123,1, 128,5, 129,8, 130,3,
131,2, 131,3, 132,0, 132,4, 133,7, 134,0, 136,8, 137,0, 172,5, 172,6.



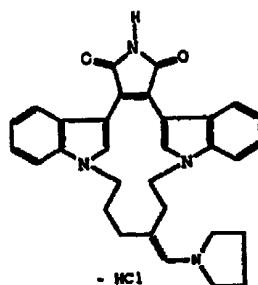
Exemplo 35

Sal trifluoroacetato de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N'- dibenzilamino)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N'-dibenzilamino)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona foi preparado de maneira idêntica ao Exemplo 34. MS.

Very soluble in water

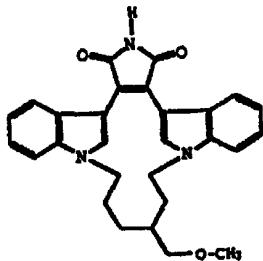
¹H RMN (d₆ acetona) δ 0,2-0,3 (m, 1H), 0,6-0,9 (m, 4H), 1,2-1,3 (m, 1H), 1,50 (d, J=5,4 Hz, 2H), 2,27 (m, 1H), 3,3-3,8 (m, 8H), 6,6-6,9 (m, 18H), 7,35 (dd, J=7,5Hz, J=24,9Hz, 2H), 9,1 (s, 1H).



Exemplo 36 r

Sal hidrocloreto (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N-pirrolidino)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

A uma mistura agitada de mesilato, (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(metanossulfoniloxi)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona, (202 mg) e pirrolidina (1,5 mL) em THF (15 mL) foi aquecida a 50°C até TLC indicar o material de partida ser consumido (16 horas). EtOAc (30 mL) foi adicionado. A fase orgânica foi lavada com porções de 10 mL de NaHCO₃ a 5%, água e salmoura. A concentração conseguiu resíduo vermelho escuro o qual foi sujeito a HPLC preparativo (fase reversa Waters, 0,1% TFA e gradiente de 5% CH₃CN em água- 100% CH₃CN) para dar (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-N-pirrolidinometileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona puro como o seu sal TFA. A conversão em sal HCl da mesma maneira deu sal hidrocloreto de (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-N-pirrolidinometileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (42 mg) como um sólido vermelho claro. M. Pt. 220°C (dec.). HRMS calculado para C₃₁H₃₃N₄O₂ [M+1]: 493,2604. Encontrado: 493,2605.



Exemplo 37

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-metoximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Uma solução de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-terc-butildifenilsiloximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (1,25 g, 1,81 mmol) em THF (20 mL) foi tratada com uma solução de fluoreto de tetra-n-butilamónio em THF (1M, 1,0 mL, 2,0 mmol). A mistura foi agitada durante 1 hora a 25°C. A mistura de reacção foi temperada com HCl a 1N (5 mL) e diluída com EtOAc (75 mL). Depois da lavagem com água e salmoura, a camada orgânica foi seca ($MgSO_4$) e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia flash em gel de sílica eluindo com 3-5% metanol em THF/hexanos (1:1) para se conseguir álcool, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona, 509 mg (62%) como um sólido púrpura. Este material foi utilizado directamente na fase seguinte. A uma solução agitada contendo o álcool anterior (185 mg, 0,63 mmol) e 47% ácido tetrafluorobórico aquoso (170 mg, 0,95 mmol) em CH_2Cl_2 (6 mL) a 0°C foi adicionado gota a gota uma solução de trimetilsilildiazometano (Aldrich, hexanos a 2,0M, 0,47 mL, 0,95 mmol) durante 5 minutos. A mistura resultante foi agitada a 0°C durante 2 horas e depois a 25°C durante 4 horas. Análise TLC da mistura de reacção indicou uma grande quantidade de material de partida que não reagiu. A mistura foi arrefecida e uma quantidade adicional equivalente de ácido

tetrafluorobórico trimetilsilildiazometano foi adicionado. A mistura foi agitada durante 2 horas a 0°C e depois 6 horas a 25°C e foi diluída com CH₂Cl₂ (20 mL) e foi lavada com HCl a 2N (10 mL) e água (10 mL). A camada orgânica foi seca (MgSO₄), concentrada. O resíduo foi carregado numa coluna 3" x 3" gel de sílica e eluiu com CH₂Cl₂ para dar éter metílico, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3"-metoximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona, 114 mg, (39%) como um sólido púrpura -avermelhado, M. Pt. 234-236°C. RMN. HRMS calculado para C₂₉H₂₉N₃O₃: 467,2208. Encontrado: 467,2210.

Uma mistura de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3"-metoximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (110 mg, 0,243 mmol), e KOH a 5N (8 mL) em 15 mL de EtOH contendo 1 mL de THF foi aquecido a 90°C durante 24 horas. Depois da remoção da maioria do etanol sob pressão reduzida, a mistura foi acidificada para pH 1 com HCl a 6N e extraída com CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com NaHCO₃ aquoso diluído e água e foi seco sobre MgSO₄ anidro. Depois da remoção dos solventes *in vacuo*, o produto bruto foi carregado numa coluna 2" x 2" de gel de sílica e eluiu com CH₂Cl₂ para dar anidrido o qual foi utilizado direcatamente na reacção seguinte.

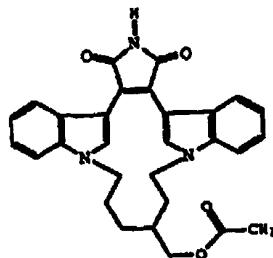
A uma solução do anidrido anterior (76 mg, 0,17 mmol) em DMF (1,5 mL) foi adicionada uma solução de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (0,75 mL, 3,34 mmol) e CH₃OH (0,07 mL, 1,67 mmol) que tinha sidro pré-misturada durante 5 minutos. A mistura de reacção foi agitada 1 hora a 25°C depois aquecida a 50°C durante 20 horas depois do que análise TLC mostrou que a reacção estava completa. A mistura de reacção arrefecida foi processada (EtOAc) como descrito anteriormente. O produto bruto foi purificado por cromatografia flash em gel de sílica (CH₂Cl₂ - 4% EtOAc em CH₂Cl₂, eluição gradiente) para se conseguir 42 mg (55%) de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3"-metoximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona como um sólido vermelho escuro. A recristalização a partir

de acetona-água deu 28 mg de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-metoximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona analiticamente puro como um sólido violeta avermelhado. M. Pt. 272-274°C.

Análise calculada para $C_{28}H_{27}N_3O_3$ (0,1 H₂O):

C, 73,86; H, 6,02; N, 9,23.

Encontrado: C, 73,51; H, 5,92; N, 8,99.



Exemplo 38

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(acetoxi)metíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Anidrido acético (0,064 mL, 0,69 mmol) foi adicionado a uma mistura agitada de anidrido, 2,3-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona (1,49 mg, 0,34 mmol), 4-dimetilaminopiridina (27 mg, 0,22 mmol), piridina (0,75 mL) e THF (1,5 mL). A mistura de reacção foi agitada a 25°C sob N₂ durante 16 horas. A mistura foi diluída com EtOAc (20 mL) e lavada com HCl a 2N (2 x 10 mL) e água (2 x 10 mL) e foi seca sobre MgSO₄ anidro. Depois da evaporação dos solventes sob pressão reduzida o produto bruto foi purificado por cromatografia numa coluna curta de gel de sílica eluindo com CH₂Cl₂ para dar o anidrido O-acetato, 2,3-[(N,N'-1,1'-(3''-

Very Satis. Recovery

(acetoximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona, 111 mg, (68%)
como um sólido púrpura, M. Pt. 252 –254°C.

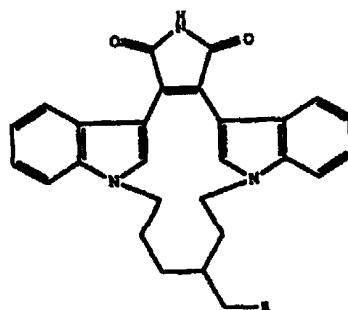
A uma solução agitada de anidrido O-acetato, 2,3-[(N,N'-1,1'-(3''-
(acetoximetíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-1,4-diona, (103 mg, 0,22
mmol) em DMF (2 mL) foi adicionada uma solução contendo 1,1,1,3,3,3-
hexametildisilazano (0,48 mL, 2,2 mmol) em CH₃OH (0,043 mL, 1,1 mmol) a
qual tinha sido pré-misturada durante 5 minutos. A mistura de reacção foi
trabalhada (EtOAc) como descrito previamente e o produto bruto foi purificado
por cromatografia flash em gel de sílica (eluição gradiente: CH₂Cl₂ - 5% EtOAc
em CH₂Cl₂) para dar a O-acetilo meleimida, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-
(acetoxi)metíleno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona 74 mg (72%)
como um sólido vermelho escuro o qual foi homogeneizado por TLC (CH₂Cl₂).
A recristalização a partir de acetona-água forneceu o composto em título como
um sólido vermelho. M. Pt. 250-252°C.

Análise calculada para C₂₉H₂₇N₃O₄ (0,1 H₂O):

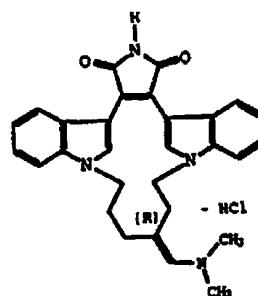
C, 72,06; H, 5,67; N, 8,69.

Encontrado: C, 71,72; H, 5,67; N, 8,29.

Os compstos seguintes foram preparados de maneira idêntica aos
Exemplos descritos e adicionalmente ilustram os compostos do invento. Nos
exemplos seguintes, a estrutura foi confirmada por RMN, MS e/ou análise
elementar.



Exemplo	R
39	-NHC(O)OCH ₂ (C ₆ H ₅)
40	-N(CH ₃) ₂ . HCl



Exemplo 40 r

Sal hidrocloreto de (R)-3,4-[N,N'-1,1'-(3''-(N,N-dimetilamino)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Anidridometanossulfônico (94 mg, 0,54 mmol) foi adicionado durante 10 minutos a uma solução agitada de álcool quiral, (R)-3,4-[N,N'-1,1'-(3''-(hidroxi)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (200 mg, 0,45 mmol), e piridina (0,11 mL, 1,35 mmol) em CH₂Cl₂ (5 mL) a 0°C. A mistura de reacção foi agitada a 25°C durante 4 horas. CH₂Cl₂ (20 mL) foi adicionada, e a mistura foi lavada com porções de 10 mL de 3% HCl, água e salmoura e foi seca

Very soluble in water

sobre $MgSO_4$ anidro. A remoção do solvente *in vacuo* deixou o mesilato bruto (205 g) o qual foi homogeneizado por TLC (1% metanol em $CHCl_3$). Este material foi levado directamente para a fase seguinte.

A uma solução do mesilato anterior (205 mg) em 10 mL de THF foi adicionado dimetilamina a 40% aquosa (2 mL) e a mistura de reacção foi aquecida a 50°C durante 36 horas. Depois da remoção do THF sob pressão reduzida, CH_2Cl_2 (20 mL) foi adicionado o resíduo. A mistura foi lavada com $NaHCO_3$ a 5% aquoso, água e salmoura e foi seca sobre $MgSO_4$ anidro. A concentração conseguiu (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N-dimetilamina)metileno)-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona em bruto (158 mg) como um sólido vermelho que foi purificado por HPLC preparativo (fase reversa Waters, 01 % TFA e 5% CH_3CN em água – 100% CH_3CN gradiente) para dar o sal amina-TFA o qual foi dissolvido em CH_2Cl_2 e convertido na base livre com KOH aquoso diluído. Depois da secagem da fase orgânica sobre $MgSO_4$ (15 minutos), o solvente foi evaporado e a amina livre (60 mg) foi dissolvida em 1:1 metanol/THF (5 mL), arrefecida para 0°C sob N_2 e lentamente acidificada para pH 4-5 (papel pH de humedecimento externo) com HCl a 1N anidro em éter. O sal precipitado foi filtrado e lavado com éter seco sob uma cobertura N_2 depois foi seco numa dessecção a vácuo sobre $CaSO_4$ durante a noite. O sal HCl-dimetilamina, sal hidrocloreto de (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N-dimetilamina)-metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (43 mg) foi obtido como um sólido vermelho claro, M. Pt. 230°C (dec.). MS.

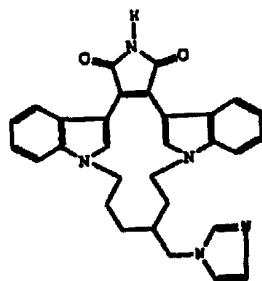
1H RMN (300 MHz acetona- d_6) 0,9-3,5 (m, 7H), 3,20-3,42 (m, 8H), 4,05-4,18 (m, 4H), 7,02-7,80 (m, 10H), 10,94 (s, 1H).

Exemplo 40 s

Sal hidrocloreto de (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N-dimetilamina)-metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Seguindo o mesmo processo descrito anteriormente para a preparação do Exemplo 40r, sal hidrocloreto de (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N-dimetilamina)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona foi preparado (90 mg) com 27% rendimento total a partir do álcool, (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona pela formação do mesilato e deslocamento com dimetilamina. MS.

● ^1H RMN (d_6 DMSO) δ 0,92 (s largo, 1H), 1,35 (s largo, 1H), 1,60 (s largo, 2H), 1,85 (s largo, 1H), 2,37-2,42 (m, 2H), 2,91-3,05 (m, 2H), 4,13 (s largo, 2H), 4,23 (s largo, 2H), 7,11-7,23 (m, 4H), 7,34 (d, $J=20\text{Hz}$, 2H), 7,50 (dd, $J=8,1\text{Hz}$, $J=12,6\text{Hz}$, 2H), 7,79 (d, $J=8\text{Hz}$, 2H), 9,92 (s, largo, 1H), 10,98 (s, 1H).



● **Exemplo 41**

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N-imidazole)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona

Cloreto de metanossulfônico (0,025 mL, 0,32 mmol) foi adicionado gota a gota a uma solução agitada contendo 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (100 mg, 0,23 mmol) e trietilamina (0,05 mL, 0,36 mmol) em CHCl_3 seco a 25°C sob N_2 . Depois da

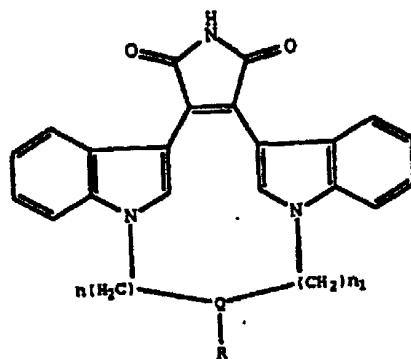
agitação durante 20 minutos, a mistura de reacção foi diluída com CHCl_3 (15 mL), lavada com água, salmoura, seca, filtrada e concentrada. O resíduo vermelho foi purificado por cromatografia numa coluna curta de gel de sílica com CHCl_3 seguida de 10% EtOAc em CHCl_3 para dar 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-metanossulfoniloximetileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona, 53 mg, como um sólido vermelho, o qual foi homogeneizado por TLC 5% (EtOAc em CH_2Cl_2).

A uma solução agitada de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(metanossulfonil-oxi)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona (49 mg, 0,095 mmol) em DMF (0,75 mL) sob N_2 foi adicionada gota a gota uma solução de sal de sódio de imidazole em DMF (preparado pela adição de 60% NaH (8,7 mg, 0,22 mmol) a uma solução de imidazole (16 mg, 0,24 mmol) em DMF (0,5 mL). A mistura de reacção foi agitada 15 minutos a 25°C depois foi aquecida a 50°C durante 30 minutos. A mistura de reacção foi diluída com 25 mL de CH_2Cl_2 contendo 3% metanol. A mistura foi lavada com porções de 10 mL de água e salmoura e foi seca sobre Na_2SO_4 anidro. Depois da evaporação dos solventes sob pressão reduzida, o produto bruto foi carregado numa coluna 3'' x 3'' de gel de sílica eluindo com CH_2Cl_2 seguida de metanol a 5% em CH_2Cl_2 contendo trietilamina a 1% para se conseguir 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N-imidazol)metileno)-hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona, 21,5 mg (46%) como um sólido vermelho. Este material foi sujeito a HPLC de fase reversa (eluição gradiente, 5% CH_3CN numa água contendo 0,1% TFA – CH_3CN) para fornecer 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N-imidazol)metileno)hexano)-bis-(3,3'-indolil)]-1H-pirrole-2,5-diona analiticamente puro (12,4 mg) como um sólido vermelho, M. Pt. 261-266°C. RMN. HRMS calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2$ [M+1]: 420,2244. Encontrado: 490,2242.

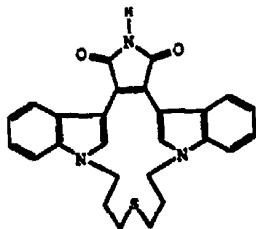
Os compostos seguintes foram preparados de maneira análoga à dos

Very Stable Compound

Exemplos aqui descritos e adicionalmente ilustram os compostos do invento. Nos exemplos seguintes, a estrutura do composto foi confirmada por RMN, MS, e/ou análise elementar.



Exemplo	N	N1	O	R
42	3	3	CH	H
43	2	2	CH	H
44	3	4	CH	H
45	3	3	CH	NH ₂
46	3	3	CH	NHCOCH ₃
47	3	3	CH	NHCH ₂ C ₆ H ₅
48	3	3	C	(-OCH ₂ CH ₂ O-)
49	3	3	C	=O



Exemplo 50

3,4-[1-(3-acetoxipropyl)-3-indolil]-1H-pirrole-2,5-diona

A uma solução CH_2Cl_2 anidro agitada a 0°C (1,0 L) de N-(3-acetoxipropil)-indole (12 g, 0,47 moles) foi adicionado cloreto de oxalilo (43,04 mL, 0,494 moles, 1,05 eq) gota a gota. A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente com agitação durante três horas. Os voláteis foram removidos *in vacuo* para render um sólido magenta, o qual foi redissolvido em CH_2Cl_2 seco (1,0 l) sob N_2 . Com agitação vigorosa, foi adicionado ácido N-terc-butoxicarbonil-indole-3-acético (129,25 g, 0,47 moles), seguido rapidamente de trietilamina (130,6 mL, 0,94 moles, 2 eq.). Depois de 16 horas, a reacção foi concentrada e purificada por coluna de cromatografia flash eluindo com 3:1 hexano/acetato de etilo. A maior fracção colorida foi concentrada para dar o anidrido (101 g, 40% rendimento) 2-[1-(3-acetoxipropil)-3-indolil]-furan-1,4-diona como um sólido vermelho cristalino. MS.

Ao anidrido protegido por BOC (7,4 g, 14 mmol) foi adicionado ácido trifluoroacético (27 mL, 350 mmol) contendo etanotiol (1 mL, 14 mmol) com agitação. Depois de uma hora, a mistura de reacção foi dividida entre CH_2Cl_2 e NaHCO_3 saturado. A camada orgânica foi lavada com salmoura, seca sobre Na_2SO_4 , e filtrada. O filtrado foi concentrado para dar o anidrido desbloqueado em bruto como um semi-sólido vermelho. O resíduo foi aplicado numa almofada curta de sílica, lavado com hexano e depois CH_2Cl_2 . A banda

colorida foi eluída a partir de sílica com acetato de etilo e foi seca *in vacuo* para dar o anidrido desbloqueado purificado, 2-[1-(acetoxipropil)-3-indolil]-furan-1,4-diona (5,7 g, 95% rendimento) como um sólido vermelho. MS.

A uma solução agitada DMF anidro (125 mL) do anidrido desbloqueado (3,0 g, 7 mmol) foi adicionado NaH (420 mg, 10,5 mmol, 60% em óleo mineral) à temperatura ambiente. Uma mudança de cor desde o laranja brilhante até violeta foi imediatamente observada. Depois de 30 minutos, 3 equivalentes de acetato de 3-bromopropilo foi adicionado rapidamente. A reacção foi aquecida até 75°C, e voltou gradualmente a uma cor de laranja. Depois de 6 horas, foi removido o DMF *in vacuo*. O resíduo foi aplicado numa coluna de cromatografia flash eluindo com 3:2 hexano/acetato de etilo. A maior banda vermelha foi recolhida, e o solvente foi removido para dar o anidrido alquilado, 2,3-bis[1-(3-acetoxipropil)-3-indolil]-furan-1,4-diona (1,32 g, 36%) como um sólido vermelho. MS.

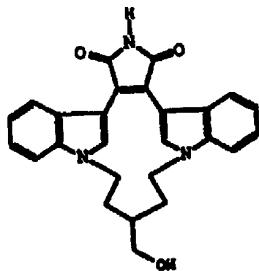
2,3-bis[1-(3-acetoxipropil)-3-indolil]-furan-1,4-diona (1,32 g, 2,52 mmol) foi suspenso em etanol absoluto (125 mL) com agitação e foi tratado com KOH a 5N (125 mL). Depois da agitação durante 16 horas, a mistura de reacção foi concentrada em 126 mL. O resíduo foi acidificado (HCl a 5N) lentamente, até se precipitar um sólido vermelho. O precipitante foi filtrado e seco num forno a vácuo a 60°C, produzindo o anidrido álcool 1,1 g (99%) como um pó vermelho.

O anidrido álcool, (1,1 g, 2,47 mmol) foi dissolvido em DMF anidro (30 mL) sob atmosfera N₂ com agitação. Uma solução pré-misturada de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (5,22 mL, 24,7 mmol, 10 eq) e metanol (0,50 mL, 12,4 mmol, 5 eq) foi adicionada. A reacção foi deixada agitar durante 16 horas à temperatura ambiente. O DMF foi removido *in vacuo*. A este resíduo foi adicionado acetona (100 mL) e excesso CsF (ca. 500 mg). Depois da agitação

durante 4 horas, a reacção foi concentrada. O resíduo foi dividido entre acetato de etilo e água. A camada orgânica foi lavada com HCl a 1N (5 x), salmoura, (2 X), seca sobre Na_2SO_4 e filtrada. O filtrado foi concentrado para dar bisindolilmaleimida 3,4-bis[1-(3-hidroxipropil)-3-indolil]-1H-pirrole-2,5-diona 1,0 g (91% rendimento) como um pó vermelho. Rendimento total foi de 90% durante duas fases. MS.

3,4-bis[1-(3-hidroxipropil)-3-indolil]-1H-pirrole-2,5-diona (1,0 g, 2,25 mmol) foi dissolvido em CH_2Cl_2 anidro (250 mL) à temperatura ambiente sob N_2 . CBr_4 (1,09 g, 6,3 mmol, 2,9 eq) e trifenilfosfina (2,83 g, 10,8 mmol, 4,8 eq) foram adicionados em conjunto ao recipiente de reacção. A mistura foi deixada agitar durante 16 horas. A mistura de reacção em bruto foi concentrada e purificada por coluna cromatográfica flash em gel de sílica, eluindo com 7:3 hexano/acetato de etilo. O produto desejado eluiu como uma banda vermelha maior. A remoção dos solventes desta fracção deu o composto dibromo, 3,4-bis[1-(3-bromopropil)-3-indolil]-1H-pirrole-2,5-diona 876 mg (68% rendimento) como um pó vermelho.

O composto dibromo (47,8 mg, 0,084 mmol) foi dissolvido em acetona à temperatura ambiente com agitação. Um excesso de nonahidrato sulfureto de sódio (229 mg, 0,95 mmol, 11,3 eq) foi adicionado. A mistura heterogénea foi agitada durante a noite. A acetona foi então removida *in vacuo*. O resíduo foi dividido entre água e CH_2Cl_2 . A camada orgânica foi lavada com salmoura, seca sobre sulfato de sódio e concentrada para dar 35,5 mg (94% rendimento) do produto em título como um sólido vermelho-laranja. MS.



Exemplo 51

3,4-[*(N,N'*-1,1'-*(3''-(hidroxi)metileno)pentan*)-*bis*-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

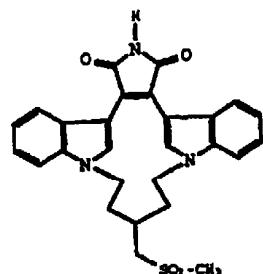
Uma solução DMF seca (35 mL) de 1,5-diido-3-(terc-butildifenilsiloximetileno)-pentano (7,3 g, 12 mmol) e bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirole-2,5-diona (4,21 g, 12 mmol) foi adicionada por meio de uma seringa pirole-2,5-diona (4,21 g, 12 mmol) foi adicionada por meio de uma seringa bomba durante 48 horas a uma suspensão de Cs_2CO_3 (16,06 g, 49,3 mmol) em DMF seco (1 L) com agitação vigorosa a 55°C sob N_2 . Depois de 2 horas adicionais, a mistura de reacção foi concentrada *in vacuo*, o resíduo foi dissolvido em CH_2Cl_2 , lavado com HCl a 1N, salmoura, seco, e concentrado *in vacuo* para dar um óleo violeta. O óleo é passado através de um tampão de sílica eluindo com 4:1 hexanos/acetato de etilo. O eluente foi reduzido para render o macrociclo, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(tercbutildifenilsiloximetileno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirole-2,5-diona, 4,5 g (55% rendimento) como um sólido magenta.

A uma suspensão etanol (300 mL) de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3"-tercbutildifenilsiloximetileno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-1-(metil)-pirrole-2,5-diona (4,2 g, 6,2 mmol) foi adicionado KOH a 5N (300 mL). A reacção foi refluxada (86°C) durante 48 horas com agitação, arrefecida até à temperatura ambiente, e o etanol foi removido *in vacuo*. O concentrado foi acidificado para pH 1 com HCl a 5N (325 mL), extraído com acetato de ctilo, lavado com

salmoura (2 X), seco, e concentrado para dar o anidrido, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetíleno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-2,5-diona, 2,6 g (100% rendimento) como um resíduo.

A uma solução DMF seca (500 mL) do anidrido, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetíleno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-furan-2,5-diona (2,6 g, 6,2 mmol), foi adicionada uma solução de metanol (1,25 mL, 31 mmol) e 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (13,1 mL, 62 mmol). Depois do aquecimento (55°C) 36 horas a reacção foi concentrada in vacuo, diluída com acetato de etilo, lavada com HCl a 1N. A lavagem ácida continha alguns sólidos que voltaram a ser extraídos com clorofórmio. A camada orgânica combinada foi seca, e concentrada num resíduo violeta. O resíduo foi aplicado num tampão curta de sílica e eluiu com 2-10% MeCN/CH₂Cl₂. A fracção contendo o produto principal é concentrada *in vacuo* para render o álcool em título 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-hidroximetíleno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (650 mg (25%)) como um sólido magenta. MS.

¹H RMN: (DMSO-d₆) δ 0,7 (m, 1H), 1,48 (m, 2H), 1,82 (m, 2H), 3,19 (dd, 2H), 4,16 (m, 4H), 4,4 (t, 1H), 7,05 (t, 2H), 7,16 (t, 2H), 7,17 (s, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,65 (d, 2H), 10,96 (s, 1H).

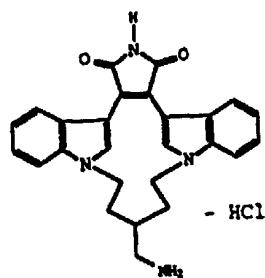


Exemplo 52

3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(metanossulfoniloxi)metileno)pentan-1'',5''-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

A uma solução CH_2Cl_2 (80 mL) de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(hidroximetileno)pentan-1'',5''-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (334120) (650 mg, 1,5 mmol) foi adicionado anidrido metanossulfónico (400 mg, 2,29 mmol) seguido de excesso de piridina (370 mL, 4,58 mmol). Depois de 16 horas à temperatura ambiente, a mistura de reacção foi aplicada directamente a um tampão curto de gel de sílica e eluiu com 0-7% MeCN/ CH_2Cl_2 . A fracção colorida foi concentrada *in vacuo* para dar o mesilato, 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(metanossulfoniloxi)metileno)pentan-1'',5''-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona 501 mg (67% rendimento) de um sólido violeta. MS.

^1H RMN: (DMSO- d_6) δ 0,89 (m, 1H), 1,61 (m, 2H), 1,82 (m, 2H), 2,99 (s, 3H), 4,02 (d, 2H), 4,22 (m, 4H), 7,06 (t, 2H), 7,17 (t, 2H), 7,17 (s, 2H), 7,54 (d, 2H), 7,63 (d, 2H), 10,98 (s, 1H).

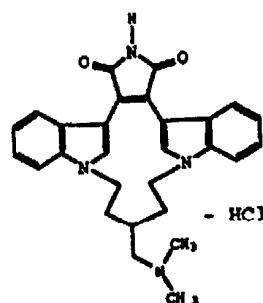


Exemplo 53

Sal hidrocloreto de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(aminometileno)pentan-1'',5''-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

Num recipiente de reacção de tubo selado contendo uma solução THF (20 mL) de mesilato de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(metanossulfoniloxi)-metileno)pentan-1'',5''-il)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (250 mg, 0,5 mmol) foi adicionado NH₄OH (33% aq, 10 mL), o tubo de reacção foi selado, e aquecido (60°C). Depois de 48 horas, a mistura de reacção foi arrefecida e eluiu através de um tampão de gel de sílica com acetato de etilo seguido de acetona. A fracção de acetona foi reduzida *in vacuo* para dar um sólido avermelhado. Uma porção deste resíduo é purificado utilizando HPLC filtração de gel de fase reversa (85% MeCN/água, 0,01% TFA). As fracções puras são retiradas e concentradas num sólido vermelho. O sólido é então dividido entre acetato de etilo/ NaOH. A camada orgânica foi concentrada para dar a base livre como um resíduo. O resíduo foi dissolvido em metanol (2 mL) e tratado com HCl (2 mL, 0,01 M em éter) durante 1 hora. A fracção foi concentrada *in vacuo* para render o composto em título 28,5 mg (13%) de um sólido magenta o qual é >95% puro por análise HPLC. MS.

¹H RMN: (DMSO-d₆) δ 1,17 (m, 1H), 1,5-1,63 (m, 2H), 1,8-1,95 (m, 2H), 2,73 (t, 2H), 2,73 (m, 2H), 4,18 (m, 4H), 7,12 (t, 2H), 7,15 (s, 2H), 7,23 (t, 2H), 7,56 (d, 2H), 7,8 (br, 3H), 11,01 (s, 1H).



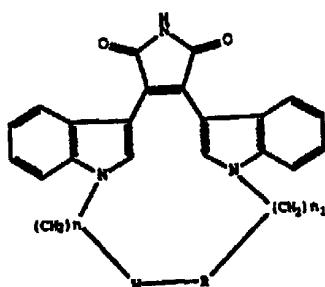
Exemplo 54

Hidrocloreto de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(N,N-(dimetilamino)metileno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona

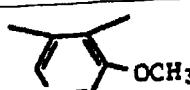
O composto em título foi preparado como sal hidrocloreto utilizando dimetilamina (40% aq, 5 mL) para deslocar o mesilato de 3,4-[(N,N'-1,1'-(3''-(metanossulfoniloxi)metileno)pentanil)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (110 mg, 0,2 mmol) e subsequentemente transformar o sal hidrocloreto para produzir o composto em título (28 mg, 26% rendimento). MS.

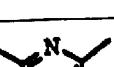
^1H RMN : (DMSO-d₆) δ 1,17 (m, 1H), 1,5-1,63 (m, 2H), 1,8-1,95 (m, 2H), 2,73 (m, 2H), 4,18 (m, 4H), 7,12 (t, 2H), 7,15 (s, 2H), 7,23 (t, 2H), 7,56 (d, 2H), 7,75 (d, 2H), 7,8 (br, 3H), 11,01 (s, 1H).

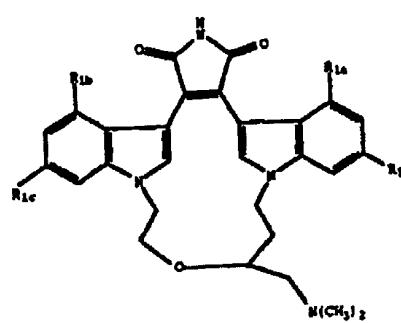
Os compostos seguintes são preparados de maneira idêntica e ilustram adicionalmente os compostos do invento:



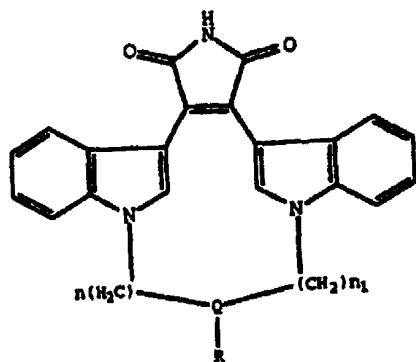
Exemplo	N	N1	W	R
55	3	2	O	=CHCH ₂ NHCH ₂ C ₆ H ₅
56	3	2	O	=CHCH ₂ OCONH(C ₆ H ₅)
57	3	2	O	=CHCH ₂ NHCOCH ₃

58	3	2	O	=CHCH ₂ NHSO ₂ C ₆ H ₅
59	3	2	O	=CHCH ₂ CH ₂ OH
60	3	2	O	=CHCH ₂ CH ₂ NH ₂
61	2	2	O	=CHCH ₂ OCON(C ₆ H ₅)
62	2	2	O	=CHCH ₂ CH ₂ OH
63	2	2	O	=CHCH ₂ CH ₂ NH ₂
64	2	2	CH	=CHCH ₂ NHCH ₃
65	2	2	CH	=CHCH ₂ NHSO ₂ C ₆ H ₅
66	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ OH
67	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ NHCH ₂ C ₆ H ₅
68	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ NH ₂
69	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ OCONH(C ₆ H ₅)
70	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ NHSO ₂ CH ₃
71	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂
72	2	2	CH	=CHCH ₂ CH ₂ NHCH ₃
73	2	2	CH	=CHCH ₂ OCH ₂ CH ₂ NH ₂
74	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ NH ₂
75	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ NHCH ₃
76	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ NHCH ₂ C ₆ H ₅
77	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ OCONH(C ₆ H ₅)
78	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ NHCOH ₃
79	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ NHSO ₂ C ₆ H ₅
80	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ CH ₂ OH
81	2	2	-OCH ₂ -	=CHCH ₂ CH ₂ NH ₂
82	2	3		-CH-

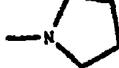
83	2	3		-CH-
84	2	3		-CH-
85	2	3		-CH-
86	2	3		-CH-
87	2	3		-CH-



Exemplo	R ₁	R _{1a}	R _{1b}	R _{1c}
88	H	CH ₃	H	H
89	OCH ₃	H	H	H
90	H	CH ₃	Cl	H
91	H	NO ₂	H	H
92	CF ₂	H	H	H
93	OH	H	CH ₃	H
94	N(CH ₃) ₂	H	H	H



Exemplo	n	N1	Q	R
95	3	3	S	=O
96	3	3	S	(=O) ₂
97	3	3	O	---
98	3	3	CH	-OH
99	3	3	CH	OCONHC ₆ H ₅
100	3	3	N	H
101	3	3	N	CH ₃
102	3	3	CH	NHSO ₂ C ₆ H ₅
103	3	3	CH	NHCH ₃
104	3	3	CH	NHCH ₂ C ₆ H ₅

105	3	3	CH	N(CH ₃) ₂
106	3	3	CH	
107	3	3	CH	CH ₂ CN
108	3	3	CH	CH ₂ NH ₂
109	3	3	CH	CH ₂ NHCOCH ₃
110	3	3	CH	CH ₂ N(CH ₃) ₂
111	3	3	CH	CH ₂ NHSO ₂ C ₆ H ₅
112	3	3	CH	CH ₂ NHCH ₂ C ₆ H ₅
113	2	2	C	=O

Como previamente notado, os compostos do presente invento são inibidores proteína cinase C potentes. Os compostos são selectivos para a proteína cinase C sobre outras cinases.

A capacidade dos compostos do presente invento para inibirem selectivamente a proteína cinase C foi determinada num ensaio de proteína cinase dependente de Cálcio Calmodulina, ensaio de proteína cinase II caseína, e ensaio subunitário catalítico de proteína cinase dependente de cAMP e ensaio de proteína-tirosina cinase.

Ensaio de proteína cinase dependente cálcio calmodulina (CaM)

O ensaio de proteína cinase dependente de cálcio calmodulina é descrito em Journal of Neuroscience, 3: 3838-831 (1983). Os componentes do ensaio têm um volume total de 250 µL: 55 mM HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina-etanossulfônico), pH 7,5, 2,75 mM ditiotreitol, 2,2 mM EGTA

(ácido etilenobis(oxietilenonitrilo)tetraacético, utilizado no tampão branco), 1,1 mM cloreto de cálcio (Sigma, St. Louis, Missouri) (utilizado no tampão de controlo), 10 mM cloreto de magnésio (Sigma, St. Louis, Missouri), 200 µg/mL histona tipo HL (Worthington), 10 µL DMSO ou DMSO/inibidor e 30 µM (gamma 32P) ATP (DuPont). A reacção é iniciada pela adição de proteína cinase dependente de cálcio calmodulina (isolado do homogenato de cérebro de ratazana), incubado à temperatura ambiente durante 10 minutos e parado pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético arrefecido em gelo (Amresco) seguido de 100 µL de 1 mg/mL albumina de soro bovino (Sigma, St. Louis, Missouri). O precipitado é recolhido pela filtração no vácuo em filtros de fibra de vidro e quantificado pela contagem num contador de cintilação beta.

Componentes de tampão:

	Tampão de controlo	Tampão branco
200 mM HEPES pH 7,5	3125 µL	625 µL
50 mM DTT	625 µL	125µL
Histona	1250µL	250µL
100 mM cálcio	125 µL	----
100 mM EGTA	----	50µL
Água DI	2375 µL	450 µL

Componentes de ensaio:

165 µL Tampão

25µL calmodulina (250 µL/mL)

Anal. John University

10 μ L DMSO ou DMSO/inibidor

25 μ LL enzima

25 μ L AT 32P.

Ensaio Proteína Cinase II Caseina (CK-II)

O ensaio Proteína Cinase II Caseina é descrito em Neurochem. Res.

13: 829-836 (1988). Os componentes do ensaio têm um volume total de 250 μ L: 20 mM Tris-HCl, pH 7,5, 5 mM fluoreto de sódio, 50 mg/mL Caseina (Sigma, St. Louis, Missouri), 10 mM cloreto de magnésio (Sigma, St. Louis, Missouri), 10 μ L DMSO ou DMSO/inibidor e 30 μ m (gamma – 32P) ATP (DuPont). O início da reacção é executado pela adição de proteína cinase II caseina (isolada do homogenato de cérebro de ratazana), incubado à temperatura ambiente durante 10 minutos e parado pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético arrefecido com gelo (Amresco) seguido de 100 μ L de 1 mg/mL de albumina de soro bovino (Sigma, St. Louis, Missouri). O precipitado é recolhido por filtração no vácuo em filtros de fibra de vidro e quantificados pela contagem num contador de cintilação beta.

Componentes de ensaio por ordem de adição

175 μ L Tampão

10 μ L ou DMSO ou DMSO/inibidor

25 μ L de AT32P em 300 μ M cloreto de magnésio

40 μ L de enzima (não diluído)

Tampão preparado como se segue:

(volume final = 3,5 mL: quantidade de 20 ensaios)

500 μ L de cada:

20mM Tris-HCl pH 7,5
50 mM fluoreto de sódio
50 mg/mL Caseina
+ 2 mL DI água

Volume Total 3,5 mL

Ensaio subunitário Catalítico Proteína Cinase Dependente de cAMP (PKA)

Os componentes de ensaio têm um volume total de 250 μ L: 20 mM HEPES (Sigma, St. Louis, Missouri) tampão pH 7,5, 200 μ g/mL histona tipo HL (Worthington), 10 mM cloreto de magnésio (Sigma, St. Louis, Missouri), 10 μ L DMSO ou DMS inibidor e 30 μ M (gamma- 32P) ATP (DuPont). A reacção é iniciada pela adição de subunidade catalítica cinase dependente de cAMP de coração de bovino (Sigma, St. Louis, Missouri), incubado a 30°C durante 10 minutos e parado pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético arrefecido com gelo (Amresco) seguido de 100 μ L de 1 mg/mL de albumina de soro bovino 1(Sigma). O precipitado é recolhido por filtração no vácuo em filtros de fibra de vidro empregando um TOMTECTM e quantificado pela contagem num contador de cintilação beta. Este ensaio é feito da mesma maneira do ensaio de enzima (PKC) proteína cinase C excepto em que não é empregue fosfolipidos ou diacilglicerol no ensaio e o substrato histona é específico para a enzima subunitária catalítica dependente de cAMP.

Ensaio Proteína Tirosina Cinase (src)

Os componentes de ensaio são os seguintes:

10 μ L Raytide
10 μ L Cinase
4 μ L DMSO ou DMSO/inibidor
6 μ L 200 mM HEPES pH 7,5
10 μ L AT 32P

Este ensaio é descrito por Onogene Science, Inc. Cat. PKO2 e PKO3 (1990).

Surpreendentemente, os compostos do presente invento são também inibidores selectivos de isozima, isto é, os compostos inibem selectivamente isozimas beta-1 e beta-2 proteína cinase C. Esta isozima foi determinada selectivamente no Ensaio Enzima PKC.

Ensaio de Enzima PKC

Enzimas PKC = alfa, beta I, beta II, gamma, delta, epsilon, eta e zeta.

Componentes de ensaio num volume total de 250 μ L são como se

segue:

Veículos que consistem em 120 μ g/mL fosfatidilserina (Avanti Polar Lipids) e diacilglicerol suficiente (Avanti Polar Lipids) para activar a enzima para actividade máxima em 20 mM tampão HEPES (Sigma, St. Louis, Missouri), pH 7,5, 940 μ M cloreto de cálcio (Sigma, St. Louis, Missouri), só para o ensaio de enzima alfa, beta-1, beta-2 e gamma, 1mM EGTA para todas as enzimas, 10 mM cloreto de magnésio (Sigma, St. Louis, Missouri) e 30 μ M

(gamma-32P) APT (DuPont). Para todas as enzimas quer histona tipo HL (Worthington) ou proteína básica mielina é utilizada como substrato. O ensaio começa pela adição de enzima cinase C a 30°C durante 10 minutos e é parada pela adição de 0,5 mL de ácido tricloroacético (Amresco) seguido de 100 μ L de 1 mg/mL de albumina de soro de bovino (Sigma, St. Louis, Missouri). O precipitado é recolhido por filtração no vácuo em filtros de fibra de vidro empregando um sistema de filtração TOMTEC™ e é quantificado pela contagem num contador de cintilação beta.

O Quadro 1 demonstra a selectividade de compostos representativos nos ensaios anteriores.

Quadro 1

Exemplo	PKC- α	PKC- β 1	PKC- β -2	PKA	CaM	CK-II	Src
1	1	0,05	0,04	Na	Na	>100	Na
2	4	0,4	0,2	>100	>100	>100	>100
3	0,3	0,03	0,02	>100	3	>100	>100
4	0,3	0,02	0,008	NA	3	>100	37
4s	1,3	0,048	0,033	>100	2,5	>100	63
4r	0,30	0,005	0,021	>100	0,69	>100	33
5	0,28	0,012	0,005	>100	0,4	>100	21
5s	0,36	0,0047	0,0059	>100	8	>100	>100
5r	0,4	0,01	0,01	>100	5	>100	63
6	4,2	0,043	0,035	NA	NA	NA	NA
7	>5,0	0,15	0,18	NA	NA	NA	NA
8	2,5	0,037	0,032	NA	NA	NA	NA

9	3,0	0,35	0,16	>100	26	>100	58
11	5	0,3	0,1	>100	20	>100	>100
12	19	0,6	0,5	>100	93	>100	NA
13	>5,0	1,9	0,94	NA	NA	NA	NA
15	>5,0	2,9	0,83	NA	NA	NA	NA
16	>5,0	3,2	2,3	NA	NA	NA	NA
17s	0,24	<0,005	<0,005	0,16	2,2	>100	NA
18s	6,4	0,38	0,30	>100	4,4	>100	>100
18r	3,4	0,083	0,087	>100	8,8	>100	NA
19r	0,48	0,032	0,030	>100	2,2	>100	>100
20r	0,89	0,04	0,03	>100	7,3	>100	74
20s	3	0,1	0,05	>100	6,7	>100	16
21r	68	0,18	0,05	>100	56	>100	>100
21s	>5,0	0,17	0,044	NA	NA	NA	NA
23s	1,8	0,30	0,24	NA	NA	NA	NA
24s	3,5	0,49	0,38	NA	NA	NA	NA
25r	94	0,043	0,12	>100	22	>100	NA
27	2,2	0,049	0,026	NA	NA	NA	NA
28	1	0,07	0,08	NA	2	>100	>100
29	>100	0,7	0,8	NA	NA	NA	NA
30	>100	1	2	>100	>10	>10	>100
31	0,3	0,02	0,03	>100	0,47	>100	>100
31r	0,24	0,019	0,008	NA	NA	NA	NA
32	0,1	0,01	0,008	>100	0,9	>100	72
33	0,4	0,05	0,04	NA	0,6	>100	61
34	1	0,1	0,1	NA	4	>100	>100
35	9	3	2	NA	82	>100	>100
36r	0,45	0,005	0,014	>100	7,1	>100	61

Wang, Johnson, Chou, et al.

37	0,7	0,05	0,04	>100	5	>100	>100	
38	4	0,2	0,1	>100	9	>100	>100	
39	31	0,4	0,3	>100	>100	>100	>100	
40	0,6	0,05	0,03	>100	5	>100	4,4	
40s	0,4	0,03	0,02	>100	41	>100	NA	
40r	0,30	0,01	0,01	>100	8,0	>100	71	
41	0,3	0,03	0,03	NA	3	>100	91	
42	>100	0,5	0,6	>100	>100	>100	>100	
43	0,4	0,04	0,03	NA	0,6	>100	>100	
44	>100	2	2	NA	NA	NA	NA	
45	3	0,1	0,1	>100	39	>100	>125	
46	3	0,04	0,04	>100	63	>100	>100	
47	2	0,07	0,06	>100	70	>100	>125	
48	>100	0,5	0,3	>100	>100	>100	>100	
49	10	0,6	0,4	>100	>100	>100	>100	
51	49	0,5	0,5	NA	NA	NA	NA	
54	0,16	0,005	0,004	NA	NA	NA	NA	
55	>5,0	0,41	0,38	NA	NA	NA	NA	

NA- dados não disponíveis

Os compostos deste invento inibem a proteína cinase C com um valor IC_{50} abaixo de $100 \mu\text{m}$. Adicionalmente, os compostos do invento inibem seletivamente as isozimas proteína cinase C beta-1 e beta-2 e têm um valor IC_{50} no que respeita a estas isozimas abaixo de $10 \mu\text{m}$.

Como um inibidor de proteína cinase C, os compostos são úteis no tratamento de doenças nas quais a proteína cinase C demonstrou um papel na

Patologia. A doenças reconhecidas na técnica incluem: diabetes melitus e suas complicações, isquémia, inflamação, perturbações do sistema nervoso central, doenças cardiovasculares, doença de Alzheimer, doença dermatológica e cancro.

Inibidores de proteína cinase C têm demonstrado bloquear respostas inflamatórias tais como rebentamento oxidativo de neurófilos, regulação descendente CD3 em T-linfócitos, e edema da pata induzido por forbol. Twoomy, B. Et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 171: 1087-1092 (1990); Mulqueen, M.J. et al. Agents Actions 37: 85-89 (1992). Portanto, como inibidores de PKC, os presentes compostos são úteis no tratamento de inflamação.

A actividade proteína cinase C tem um papel principal no funcionamento do sistema nervoso central. Huang, K.P. Trends Neurosci. 12: 425-432 (1989). Adicionalmente, os inibidores proteína cinase C têm mostrado evitar o dano verificado na isquémia focal e central de traumatismo craniano e edema cerebral. Hara, H. Et al. J. Cereb. Blood Flow Metab. 10: 646-653 (1990); Shibata, S. et al. Brain Res. 594: 290-294 (1992). Recentemente, concluiu-se que a proteína cinase C está implicada na doença de Alzheimer. Shimohama, S. Et al, Neurology 43: 1407-1413 (1993). Portanto, os compostos do presente invento são úteis no tratamento da doença de Alzheimer e isquémia de traumatismo craniano.

Actividade de proteína cinase C tem sido há muito associada a células de crescimento, promoção de tumores e cancro. Rotenberg, S.A. and Weinstein, I.B. Biochem. Mol. Aspects Sel. Cancer 1: 25-73 (1991). Ahmad et al., Molecular Pharmacology: 43 858-862 (1993). Sabe-se que os inibidores de proteína cinase C são efectivos na prevenção do crescimento de tumor em animais. Meyer, T. Et al., Int. J. Cancer 43: 851-856 (1989); Akinagaka, S. et al. Cancer Res. 51: 4888-4892 (1991). Os compostos do presente invento também

actuam como agentes reversíveis de multidroga (MDR) tornando-os compostos efectivos quando administrados em conjunto com outros agentes quimioterapêuticos.

A actividade proteína cinase C também tem um papel importante na doença cardiovascular. Foi demonstrado que a actividade proteína cinase C aumentada na vasculatura causa aumento de vasoconstricção e hipertensão. Um conhecido inibidor proteína cinase C evitou este aumento. Bilder, G.E. et al. J. Pharmacol. Exp. Ther. **252**: 526-530 (1990). Porque os inibidores proteína cinase C demonstram inibição de rebentamento oxidativo de neurófilos, inibidores proteína cinase C também são úteis no tratamento de isquémia cardiovascular melhorando a função cardíaca que segue a isquémia. Muid, R.E. et al, FEBS Lett. **293**: 169-172 (1990); Sonoki, H. et al. Kokyu-To Junkan **37**: 669-674 (1989). O papel da proteína cinase C na função das plaquetas também tem sido investigado e mostrou elevados níveis de proteína cinase C sendo relacionados com o aumento de resposta a agonistas. Bastyr III, E.J. and Lu, J. Diabetes **42**: (Suppl. 1) 97^A (1993). PKC tem sido implicado no caminho bioquímico no factor de modulação da actividade das plaquetas de permeabilidade microvascular. Kobayashi et al., Amer. Phys. Soc. H1214-H1220 (1994). Potentes inibidores proteína cinase C demonstraram afectar a agregação induzida por agonista nas plaquetas. Toullec, D. Et al., J. Biol. Chem. **266**: 15771-15781 (1991). Inibidores proteína cinase C também bloqueiam a proliferação de células de músculo liso induzido por agonistas. Matsumoto, H. And Sasaki, Y. Biochem. Biophys. Res. Commun., **158**: 105-109 (1989). Portanto, os compostos presentes são úteis no tratamento de doença cardiovascular, arterosclerose e restenose.

Actividade anormal da proteína cinase C também foi ligada a perturbações dermatológicas tais como psoríase. Horn, F. Et al., J. Invest. Dermatol.

tol. 88: 220-222 (1987); Raynaud, F. and Evain-Brion, D. Br. J. Dermatol. 124: 542-546 (1991). A psoriase é caracterizada pela proliferação anormal de queratinócitos. Inibidores da proteína cinase C conhecidos têm demonstrado inibir a proliferação queratinócito de uma maneira que igualam a sua potência aos inibidores PKC. Hegemann, L. Et al., Arch Dermatol. Res. 283: 456-460 (1991); Bollag, W.B. et al. J. Invest. Dermatol. 100: 240-246 (1993). Portanto, os compostos como inibidores de PKC são úteis no tratamento de psoriase.

● Proteína cinase C tem sido ligada a vários aspectos diferentes de diabetes. Actividade excessiva de proteína cinase C tem sido ligada a deficiências que sinalizam a insulina e portanto à resistência à insulina vista nos diabetes Tipo II. Karasik, A. Et al. J. Biol. Chem. 265: 10226-10231 (1990); Chen, K.S. et al. Trans. Assoc. Am. Physicians 104: 206-212 (1991); Chin, J.E. et al., J. Biol. Chem., 268: 6338-6347 (1993). Adicionalmente, estudos têm demonstrado um marcado aumento na actividade da proteína cinase C nos tecidos conhecida por ser susceptível a complicações diabéticas quando exposta a doenças hiperglicémicas. Lee, T.-S. et al., J. Clin. Invest. 83: 90-94 (1989); Lee, T.-S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 5141-5145 (1989); Craven, P.A. and DeRupertis, F. R. J. Clin. Invest. 83: 1667-1675 (1989); Wolf, B.A. et al., J. Clin. Invest. 87: 31-38 (1991); Tesfamariam, B. Et al. J. Clin. Invest. 87: 1643-1648 (1991).

● Os compostos do invento também são selectivos de isozima. Os compostos inibem de preferência a isozima beta-1 e beta-2 proteína cinase C, isto é alfa, gamma, delta, epsilon, zeta, e eta. Em geral, os compostos demonstram um mínimo de um diferencial de dez vezes na dosagem requerida para inibir isozima beta-1 ou beta-2 PKC e a dosagem requerida para igual inibição de isozima proteína cinase C alfa como medida no ensaio PKC. Portanto, compostos do presente invento inibem isozimas beta-1 e beta-2 de proteína cinase C a muito

menores concentrações com inibição mínima das outras isozimas PKC. Esta selectividade à isozima é demonstrada no Quadro 2 para um composto representativo.

Quadro 2

Isozimas ED50 (μ M)

Composto Ex.	α	$\beta 1$	$\beta 2$	γ	δ	ϵ	ζ	η
5	.28	0,019	0,005	.23	.31	1,0	38	0,035

Por causa desta selectividade, os compostos são particularmente úteis no tratamento destes estados de doenças nas quais a isozima beta-1 ou beta-2 de proteína cinase C estão associadas. Por exemplo, os elevados níveis de glicose no sangue encontrados nos diabetes conduz a uma elevação específica de isozima da isozima beta-2 nos tecidos vasculares. Inoguchi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 11059-11065 (1992). Uma elevação ligada a diabetes da isozima beta nas plaquetas humanas tem sido co-relacionada com a sua resposta alterada a agonistas. Bastyr III, E.J. and Lu, J. Diabetes 42: (Suppl 1) 97^A (1993). O receptor vitamina D humana tem demonstrado ser selectivamente fosforilado pela proteína cinase C beta. Esta fosforilação tem estado ligada a alterações no funcionamento do receptor. Hsieh et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 9315-9319 (1991); Hsieh et al., J. Biol. Chem. 268: 15118-15126 (1993). Adicionalmente, recente trabalho mostrou que a isozima beta-2 é responsável pela proliferação de células eritroleucemia enquanto a isozima alfa está envolvida na diferenciação de magacariócitos nestas mesmas células. Murray et al., J. Biol. Chem. 268: 15847-15853 (1993).

Os compostos de fórmula I são formulados de preferência antes da administração. Portanto, ainda outra incorporação do presente invento é uma

formulação farmacêutica que compreende um composto de Fórmula I e um ou mais veículos, diluentes ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

As presentes formulações farmacêuticas são preparadas por processos conhecidos utilizando ingredientes bem conhecidos e prontamente disponíveis. Ao fazer as composições do presente invento, o ingrediente activo deverá ser habitualmente misturado com um veículo, ou diluído com um veículo, ou incluído dentro de um veículo o qual pode estar na forma de uma cápsula, saqueta, papel ou outro contentor. Quando o veículo serve como um diluente, pode ser material sólido, semi-sólido ou líquido o qual actua como veículo, excipiente ou meio para o ingrediente activo. Deste modo, as composições podem estar na forma de comprimidos, pílulas, pós, lozangulos, saquetas, comprimidos elixires, suspensões, emulsões, soluções, xaropes, aerosóis (como um meio sólido ou um meio líquido), cápsulas de gelatina mole ou dura, supositórios, soluções injectáveis estéreis e pós empacotados estéreis.

Alguns exemplos de veículos, excipientes, e diluentes adequados incluem lactose, dextrose, sucrose, sorbitol, manitol, amidos, goma acácia, fosfato de cálcio, alginatos, tragacante, gelatina, sílicato de cálcio, celulose microcristalina, polivinilpirrolidona, celulose, xarope de água, metil celulose, hidroxibenzoatos de metilo e propilo, talco, estearato de magnésio e óleo mineral. As formulações podem adicionalmente incluir agentes lubrificantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes e de suspensão, agentes conservantes, agentes adoçantes ou agentes de sabor. As composições do invento podem ser formuladas de maneira a fornecer libertação rápida, sustentada ou retardada do ingrediente activo depois da administração ao doente. As composições são formuladas de preferência numa forma de dosagem única, contendo cada dosagem desde cerca de 1 até cerca de 500 mg, mais habitualmente cerca de 5 até cerca de 300 mg, do ingrediente activo. Porém, será compreendido que a

dosagem terapêutica administrada será determinada pelo médico à luz das circunstâncias relevantes incluindo as doenças a serem tratadas, a escolha do composto a ser administrado e a escolha da via de administração, e portanto os níveis de dosagem anteriores não pretendem de qualquer maneira limitar o âmbito do invento. O termo "forma de dosagem única" refere-se a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para sujeitos humanos e outros mamíferos, contendo cada unidade uma quantidade pré-determinada de material activo calculado para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com um veículo farmaceuticamente adequado.

Adicionalmente às formulações anteriores, os compostos do presente invento podem ser administrados topicalmente. Formulações tópicas são ungamentos, cremes, e geles.

Ungamentos são geralmente preparados utilizando ou (1) uma base oleaginosa, isto é, consistindo em óleos fixos ou hidrocarbonos, tais como petróleo ou óleo mineral, ou (2) uma base absorvente, isto é, consistindo numa substância ou substâncias que podem absorver água, por exemplo, lanolina anidra. Habitualmente, seguindo a formação da base, quer oleaginosa quer absorvente, o ingrediente activo (composto) é adicionado numa quantidade que atinge a concentração desejada.

Cremes são emulsões óleo/água. Consistem numa fase óleo (fase interna), que compreende óleos tipicamente fixos, hidrocarbonetos, e semelhantes, tais como ceras, petróleo, óleo mineral, e semelhantes, e uma fase aquosa (fase contínua) que compreende água e quaisquer substâncias solúveis na água, tais como sais adicionados. As duas fases são estabilizadas pela utilização de um agente emulsionante, por exemplo, um agente activo de superfície, tal como lauril sulfato de sódio; colóides hidrofilicos, tais como argilas coloidais de

acácia, veegum, e semelhantes. Depois da formação da emulsão, o ingrediente activo (composto) é habitualmente adicionado a uma quantidade para conseguir a concentração desejada.

Os geles compreendem uma base de selecção a partir de base oleaginosa, ou uma base suspensão de emulsão. À base é adicionado um agente gelificante o qual forma uma matriz na base, aumentando a sua viscosidade. Exemplos de agentes gelificantes são hidroxipropilo celulose, polímeros de ácido acrílico, e semelhantes. Habitualmente, o ingrediente activo (compostos) é adicionado à formulação na concentração desejada num ponto precedente à adição do agente gelificante.

A quantidade do composto incorporado na formulação tópica não é crítica; a concentração só deveria ser numa gama suficiente para permitir a pronta aplicação da formulação a uma área de tecido afectado numa quantidade que deveria distribuir a quantidade desejada do composto.

A quantidade habitual de uma formulação tópica a ser aplicada num tecido afectado dependerá do tamanho de tecido afectado e da concentração do composto na formulação. Geralmente, a formulação será aplicada no tecido afectado numa quantidade atingindo desde cerca de 1 até cerca de 500 μg de composto por cm^2 de um tecido afectado. De preferência, a quantidade aplicada estará numa gama de desde cerca de 30 até cerca de 300 μg por cm^2 , mais preferencialmente, desde cerca de 50 até cerca de 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, e mais preferencialmente, desde cerca de 60 até 100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

Os exemplos de formulação que se seguem só são ilustrativos e não pretendem de qualquer maneira limitar o âmbito do invento.

Formulação 1

Cápsulas de gelatina dura são preparadas utilizando os seguintes ingredientes:

	Quantidade (mg/cápsula)
Ingrediente activo	250
Amido, seco	200
Estereato de magnésio	10
Total	460 mg

Os ingredientes anteriores são misturados e vão encher cápsulas de gelatina dura em quantidades de 460 mg.

Formulação 2

Um comprimido é preparado utilizando os seguintes ingredientes:

	Quantidade (mg/cápsula)
Agente activo	250
Celulose, microcristalina	400
Dióxido silicone, micronizado	10
Ácido esteárico	5
Total	665 mg

Os componentes são misturados e prensados para formar comprimidos pesando cada um 665 mg.

Very Satis. (Satisfied)

Formulação 3

Uma solução aerosol é preparada contendo os seguintes componentes:

	Quantidade (mg/cápsula)
Agente activo	0,25
Etanol	29,75
Propelante 22 (clorodifluorometano)	70,00
Total	100,00

O composto activo é misturado com etanol. A mistura é adicionada a uma porção de Propelante 22, arrefecida para -30°C e transferida para um dispositivo enchedor. A quantidade requerida é então introduzida num contentor de aço inoxidável e diluída com o restante propelante. As unidades válvula são adaptadas ao contentor.

Formulação 4

Comprimidos contendo cada um 60 mg do ingrediente activo são feitos como se segue:

	Qauntidade (mg/cápsula)
Agente activo	60mg
Amido	45 mg
Celulose microcristalina	35 mg
Polivinilpirrolidona (como solução)	4 mg

União Farma-Química

10% em água)	
Amido carboximetilo de sódio	4,5 mg
Estereato de magnésio	0,5 mg
Talco	1 mg
Total	150 mg

O ingrediente activo, amido e celulose são passados através de uma peneira malha US Nº 5 e misturada vigorosamente. A solução de polivinilpirrolidona é misturada com os pós resultantes os quais são então passados através de uma peneira malha US Nº 14. Os grânulos assim produzidos são secos a 50°C e passados através de uma peneira malha US Nº 18. O amido carboximetilo, estereato de amgnésio e talco, previamente passados através de uma peneira malha US Nº 60, são então adicionados aos grânulos que, depois de misturados, são prensados numa máquina de fazer comprimidos para produzir comprimidos com peso de 50 mg cada.

Formulação 5

Cápsulas contendo cada uma 80 mg do medicamento são feitas como se segue:

	Quantidade (mg/cápsula)
Agente activo	80 mg
Amido	59 mg
Celulose microcristalina	59 mg
Estereato de magnésio	2 mg
Total	200 mg

Wuy Salva. Ubatuba

O ingrediente activo, celulose, amido e estereato de magnésio são misturados, passados através de uma peneira malha US Nº 45, e vão encher cápsulas de gelatina dura em quantidades de 200 mg.

Formulação 6

Supositórios contendo cada um 225 mg do ingrediente activo podem ser feitos como se segue:

	Quantidade (mg/cápsula)
Agente activo	225 mg
Glicerídos de ácido gordo saturado	2,000 mg
Total	2,225 mg

O ingrediente activo é passado através de uma peneira malha U.S. Nº 60 e suspenso em glicerídos de ácido gordo saturado previamente misturados utilizando o mínimo de calor necessário. A mistura é então deitada num molde de supositório de capacidade nominal de 2 g e deixada arrefecer.

Formulação 7

Suspensões contendo cada uma 50 mg do medicamento por dose de 5 ml são feitas como se segue:

	Quantidade (mg/cápsula)
Agente activo	50 mg
Carboximetil Celulose de sódio	50 mg
Xarope	1,25 mL

Solução ácido benzóico	0,10 mL
Sabor	q.b.
Cor	q.b.
Água purificada para total	5 mL

O medicamento é passado através de uma peneira malha U.S. Nº 45 e misturado com carboximetil celulose de sódio e xarope para formar uma pasta macia. A solução ácido benzóico, sabor e cor são diluídos com alguma da água e adicionada, com agitação. Água suficiente é então adicionada para produzir o volume requerido.

Formulação 8

Uma formulação intravenosa pode ser preparada como se segue:

	Qauntidade (mg/cápsula)
Agente activo	250 mg
Salina isotónica	1000 mg

A solução dos ingredientes anteriores é administrada intravenosamente numa proporção de 1 mL por minuto a um sujeito que precise de tratamento.

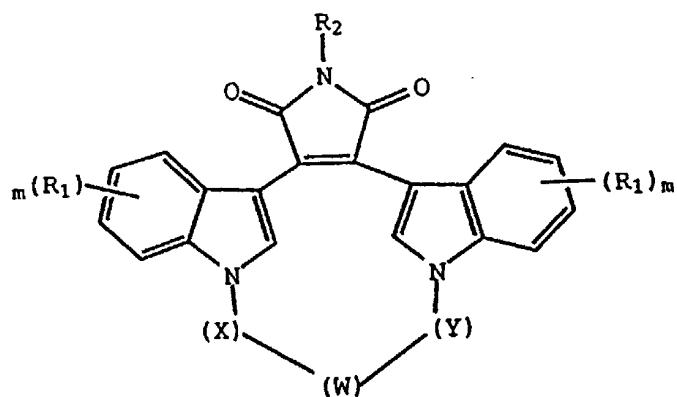
Lisboa, 16 de Novembro de 2001

Luis Silva Carvalho

LUIS SILVA CARVALHO
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula



em que:

W é $-O-$, $-S-$, $-SO_2-$, $-CO-$, alquíleno C_2-C_6 , alquíleno substituído, alquenileno C_2-C_6 , -arilo-, -arilo(CH_2)_mO-, -heterociclo-, -heterociclo-(CH_2)_mO-, -bicíclico condensado-, bicíclico condensado-(CH_2)_mO-, -NR₃, -NOR₃⁻, -CONH-, ou $-NHCO-$;

X e Y são independentemente alquíleno C_1-C_4 , alquíleno substituído, ou em conjunto X, Y, e W combinam-se para formar $-(CH_2)_n-AA-$; R₁ é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C_1-C_4 , hidroxi, alcoxi C_1-C_4 , haloalquilo, nitro, NR₄R₅ ou $-NHCO(alquilo\ C_1-C_4)$;

R₂ é hidrogénio, ClH₃CO-, NII₂, ou hidroxi;

R₃ é hidrogénio, arilo(CH_2)_m, alquilo C_1-C_4 , -COO(alquilo C_1-C_4), -CONR₄R₅, -(C=NH)NH₂, -SO(alquilo C_1-C_4), -SO₂(NR₄R₅), ou $-SO_2(alquilo\ C_1-C_4)$;

R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C_1-C_4 , fenilo,

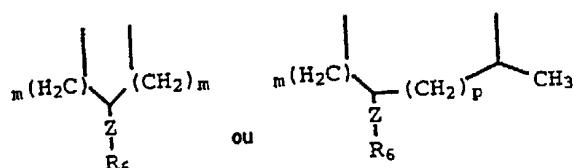
benzilo, ou em combinação com azoto ao qual eles estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros;

AA é um resíduo aminoácido;

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

n é independentemente 2, 3, 4, ou 5.

o termo alquíleno substituído representa



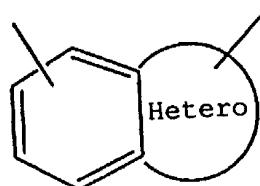
em que Z é $-(CH_2)_p-$ ou $-(CH_2)_p-O-(CH_2)_p$; alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, arilo(CH₂)_m, ariloxi (CH₂)_m, hidroxi, carboxi, -COO(alquilo C₁-C₄), -COO(arilo(CH₂)_m), -CO(alquilo C₁-C₄), -NR₄R₅, -N(R₄R₅)(OR₅), -NH-COO(arilo(CH₂)_m), -NHCO(alquilo C₁-C₄), -CONH(arilo(CH₂)_m), -CONH(alquilo C₁-C₄), -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCOO(alquilo), -NHCOO(benzilo), -OCONH arilo(CH₂)_m, -NHSO₂ arilo(CH₂)_m, -CN, -SH, -S(alquilo C₁-C₄), -S(arilo), -SO₂(NR₄R₅), -SO₂(alquilo C₁-C₄), -SO(alquilo C₁-C₄), glicosilo, ou heterociclo; R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, fenilo, anel benzilo, ou combinados com azoto ao qual eles estão ligados para formar um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado; p é independentemente 0, 1 ou 2; e m é independentemente 0, 1, 2 ou 3; de preferência Z é $-CH_2-$; e R₆ é alquilo C₁-C₄, arilo, ou -NR₄R₅; e

alquilo C₁-C₄ representa um grupo ciclo alquilo de cadeia linear ou ramificada tendo desde um até quatro átomos de carbono; arilo representa um fenilo ou naftilo substituído ou insubstituído,

em que o substituído é substituído por um ou dois grupos independentemente seleccionados a partir de hidroxi, carboxi, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, haloalquilo, nitro, -NR₄R₅, -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCO(benzilo), -NHCO(fenilo), SH, S(alquilo C₁-C₄), -OCO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), -SO₂(alquilo C₁-C₄), SO₂(fenilo), ou halo;

heterociclo representa um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado, substituído ou insubstituído, tendo o referido anel desde um até quatro heteroátomos que são idênticos ou diferentes e que são seleccionados a partir do grupo que consiste em enxofre, oxigénio, e azoto; heterociclo substituído é substituído por um ou dois grupos independentemente seleccionados a partir de alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, hidroxi, acetilo, carboxi, haloalquilo, nitro, -NR₄R₅, -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCO(benzilo), -NHCO(fenilo), SH, S(alquilo C₁-C₄), OCO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), -SO(alquilo C₁-C₄), SO₂(fenilo), ou halo;

bicíclico condensado representa um sistema de anel bicíclico condensado de fórmula:

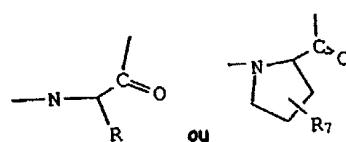


em que Hetero representa um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado, substituído ou insubstituído, tendo o referido anel desde um até três heteroátomos que são idênticos ou diferentes e que são seleccionados a partir do grupo que consiste em enxofre, oxigénio, e azoto; bicíclico condensado substituído é substituído por um ou dois grupos independentemente seleccionados a partir de alquilo C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 , hidroxi, carboxi, haloalquilo, nitro, -

Very Sulfur (benzene)

NR₄R₅, -NHCO(alquilo C₁-C₄), -NHCO(benzílo), -NHCO(fenilo),
SH, S(alquilo C₁-C₄), -OCO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), -SO₂(alquilo C₁-C₄), -SO₂(fenilo), ou halo; sendo exemplos de um bicíclico condensado indole, imidazo(1,2-a)piridina, benzotriazole, benzimidazole, benzotriazole, benzoxazole, benzotiazole, quinolina, isoquinolina, ftalazina, quinazolina, quinazolinona, quinoxalina, e aminoisoquinolina;

o termo "resíduo aminoácido" refere-se a porção de fórmula



em que R representa a cadeia de lado variável de um aminoácido e R₇ é hidrogenio ou hidróxi; ou um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitável.

2. Composto de acordo com a Reivindicação 1 em que:

W é -O-, -S-, -SO-, -SO₂-, -CO-, alquíleno C₂-C₆, alquíleno substituído, alqueníleno C₂-C₆, -arilo-, -heterociclo-, -bicíclico condensado-, -NR₃, -NOR₃-, -CONH-, ou -NHCO-;

X e Y são independentemente alquíleno C₁-C₄, alquíleno substituído, ou em conjunto X, Y, e W combinam-se para formar -(CH₂)_nAA-;

R₁ é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C₁-C₄, hidroxi, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo, nitro, -NH(alquilo C₁-C₄), -N(alquilo C₁-C₄)₂, ou -NHCO(alquilo C₁-C₄);

R₂ é hidrogénio, CH₃CO-, NH₂, ou hidroxi;

R₃ é hidrogénio, arilo(CH₂)_m, alquilo C₁-C₄, -COO(alquilo C₁-C₄),

- 5 - Amy Ellen Clowery

-CONR₄R₅, -(C=NH)NH₂, -SO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), ou -SO₂(alquilo C₁-C₄);

R_4 e R_5 são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual eles estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros;

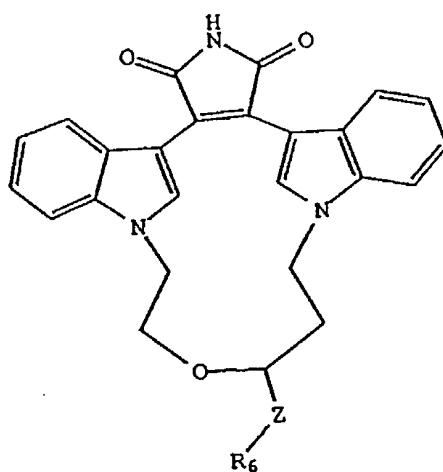
AA é um resíduo aminoácido;

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

e

n é independentemente 1, 2, 3, 4, ou 5.

3. Composto de acordo com a Reivindicação 2, o qual tem a



em que:

Z é $-(CH_2)_pO$ ou $(CH_2)_p-O-(CH_2)_p-$;

R_6 é hidroxi, -SH, alquilo C₁-C₄, arilo(CH₂)_m, -NH(arilo), -NHSO₂(alquilo)

C_1-C_4), $-NHSO_2\text{arilo}(\text{CH}_2)_m$, ou $-NR_4R_5$;

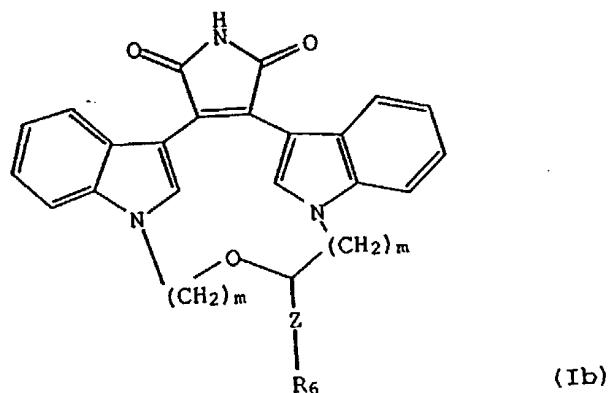
R_4 é hidrogénio ou alquilo C₁-C₄;

R_5 é hidrogénio, alquilo C₁-C₄, benzilo, ou combina com R_4 e o azoto ao qual eles estão ligados para formar um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado;

p é 0, 1, ou 2; e

m é independentemente 0, 1, 2 ou 3;

4. Composto de acordo com a Reivindicação 2, o qual tem a fórmula



em que

Z é $-(CH_2)_p-$;

R_6 é $-NR_4R_5$;

R_4 e R_5 são independentemente H ou alquilo C₁-C₄;

p é 0, 1, ou 2; e

m é independentemente 2 ou 3;

5. Composto seleccionado a partir do grupo que consiste em (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2'etoxi)-3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)butano)-bis-(3,3'-

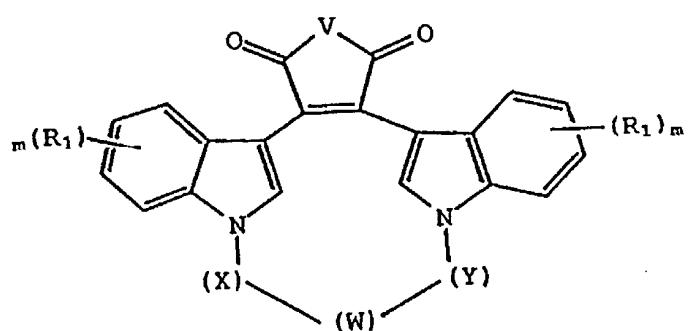
indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, uma sua mistura, ou um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitável.

6. (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(N,N-dimetilamino)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, ou um seu sal ou solvato farmaceuticamente aceitável.

7. Composto seleccionado a partir do grupo que consiste em (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(N-pirrolidina)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(N-pirrolidina)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, uma sua mistura, ou um seu sal ou solvento farmaceuticamente aceitável.

8. Composto seleccionado a partir do grupo que consiste em (S)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(N-fenilsulfonamido)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, (R)-3,4-[(N,N'-1,1'-(2''-etoxi)-3''''(O)-4''''-(N-fenilsulfonamido)butano)-bis-(3,3'-indolil)]-1(H)-pirrole-2,5-diona, uma sua mistura, ou um seu sal ou solvente farmaceuticamente aceitável.

9. Composto de fórmula:



em que:

V é -O- ou N-CH₃;

W é -O-, -S-, -SO-, -SO₂-, -CO-, alquíleno (C₂-C₆), alquíleno substituído, alqueníleno C₂-C₆, -arilo-, -arilo(CH₂)_mO-, -heterociclo-, -heterociclo-(CH₂)_mO-, -bicíclico condensado-, -bicíclico-(CH₂)_mO-, -NR₃-, -NOR₃-, -CONH-, ou -NHCO-;

X e Y são independentemente alquíleno C₁-C₄, alquíleno substituído, ou em conjunto X, Y e W combinam para formar -(CH₂)_nAA-;

R₁ é independentemente hidrogénio, halo, alquilo C₁-C₄, hidroxi, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo, nitro, NR₄R₅, ou -NHCO(alquilo C₁-C₄);

R₃ é hidrogénio, arilo (CH₂)_m, alquilo C₁-C₄, -COO(alquilo C₁-C₄), -CONR₄R₅, -(C=NH)NH₂, -SO(alquilo C₁-C₄), -SO₂(NR₄R₅), ou -SO₂(alquilo C₁-C₄);

R₄ e R₅ são independentemente hidrogénio, alquilo C₁-C₄, fenilo, benzilo, ou em combinação com azoto ao qual estão ligados para formar um anel saturado ou insaturado de 5 ou 6 membros:

AA é um resíduo aminoácido;

m é independentemente 0, 1, 2, ou 3;

e

n é independentemente 2, 3, 4, ou 5.

10. Composto de acordo com qualquer das Reivindicações 1 até 8 para utilização farmacêutica.

11. Composto de acordo com qualquer das Reivindicações 1 até 8 para utilização no tratamento de complicações diabéticas.

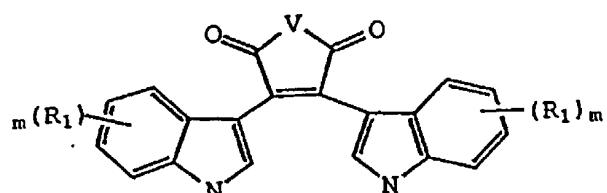
12. Composto de acordo com qualquer das Reivindicações 1 a 8 para utilização como agente anti-canceroso.

Willy Böker Germany

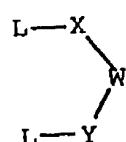
13. Formulações farmacêuticas compreendendo como ingrediente activo um composto de acordo com qualquer as Reivindicações 1 a 8, associado a um ou mais dos seus excipientes, veículos, ou diluentes farmaceuticamente aceitáveis.

14. Processo para a preparação de um composto de acordo com a Reivindicação 9 o qual compreende:

a combinação de uma mistura de um composto numa concentração de cerca de 1,5 molar até cerca de 0,001 molar de fórmula:

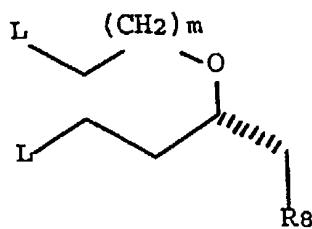


e um agente de alquilação numa concentração de cerca de 1,5 molar até cerca de 0,001 molar de fórmula:



em que L é um grupo dissociável;
com cerca de 0,5 até 10 equivalentes de Cs_2CO_3 numa proporção de cerca de 0,1 mL/hora até cerca de 2,0 mL/hora num solvente aprótico polar.

15. Processo de acordo com a Reivindicação 14, em que o agente de alquilação é de fórmula

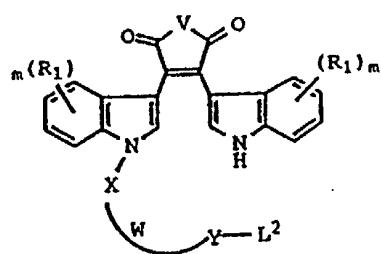


(XXX)

em que R_8 é N_3 , grupo de protecção NH, grupo de protecção de amina, ou grupo de protecção hidroxi; m é independentemente 0, 1, 2, ou 3; e L é um bom grupo dissociável.

16. Processo de preparação de um composto de acordo com a Reivindicação 9, que compreende

a combinação de um composto numa concentração de cerca de 3 molar até cerca de 0,001 molar de fórmula:

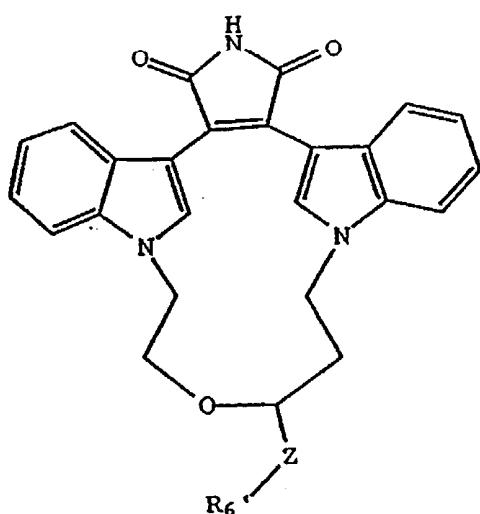


em que L^2 é independentemente um grupo dissociável; com cerca de 0,5 até cerca de 10 equivalentes de Cs_2CO_3 numa proporção de cerca de 0,1 mL/hora até cerca de 2,0 mL/hora num solvente aprótico polar.

17. Processo de preparação de um composto de acordo com qualquer

das Reivindicações 3 até 8, o qual compreende

(a) desprotecção de um composto de fórmula:



em que Z é $-(CH_2)_p-$; R_6 é um hidroxi protegido ou amina protegida; e p é independentemente 0, 1 ou 2; e

(b) substituindo opcionalmente o hidroxi ou amina para preparar um composto de acordo com qualquer das Reivindicações 3 até 6 em que R_6 é hidroxi, $-SH$, alquilo C_1-C_4 , arilo(CH_2) $_m$, $-NH(arilo)$, $-NHSO_2(alquilo\ C_1-C_4)$, $-NHSO_2(arilo\ (CH_2)_m)$, ou $-NR_4R_5$; R_4 é hidrogénio ou alquilo C_1-C_4 ; R_5 é hidrogénio, alquilo C_1-C_4 , benzilo, ou em combinação com R_4 o azoto ao qual eles estão ligados para formar um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado.

Lisboa, 16 de Novembro de 2001

Alvy Evar Murray
LUIS SILVA CARVALHO
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA