



(11) *Número de Publicação:* PT 805685 E

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
A61K038/00 A C07K007/56 B

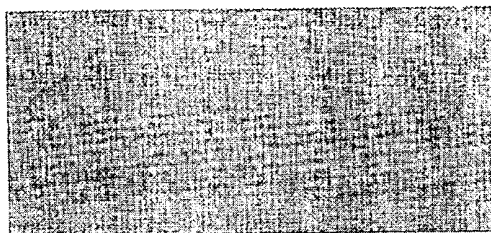
(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) <i>Data de depósito:</i> 1996.01.22	(73) <i>Titular(es):</i> MERCK & CO., INC. 126 EAST LINCOLN AVENUE RAHWAY, NEW JERSEY 07065 US
(30) <i>Prioridade:</i> 1995.01.26 US 378687	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1997.11.12	(72) <i>Inventor(es):</i> FRANCES A. BOUFFARD US
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2001.09.26	(74) <i>Mandatário(s):</i> ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS RUA VITOR CORDON, N° 14 - 3° 1200 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* NOVOS CICLO-HEXAPEPTÍDEOS ANTI-FÚNGICOS

(57) *Resumo:*

NOVOS CICLO-HEXAPEPTÍDEOS ANTI-FÚNGICOS



DESCRIÇÃO

"NOVOS CICLO-HEXAPEPTÍDEOS ANTI-FÚNGICOS"

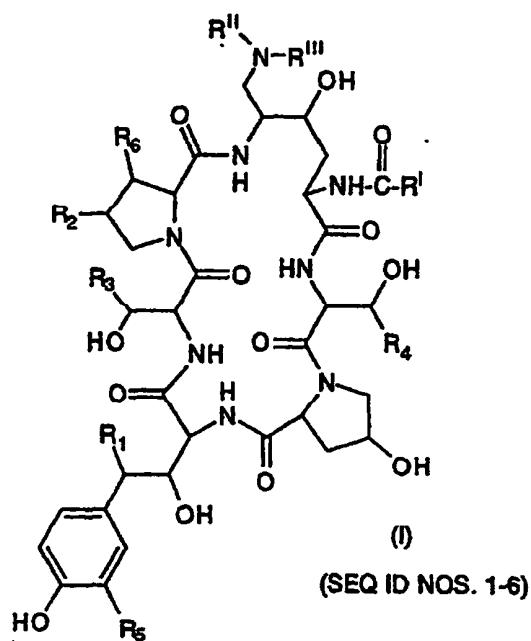
BASES DA INVENÇÃO

A presente invenção é dirigida a novos compostos de ciclo-hexapeptídeo que são úteis como agentes anti-fúngicos e anti-*Pneumocystis*.

Existe actualmente uma necessidade de agentes anti-fúngicos e anti-*Pneumocystis* devido a um aumento no número de isolados que são resistentes a agentes convencionais. Além disso, os agentes convencionais apresentam níveis um tanto elevados de toxicidade que limitam a sua utilidade. Por último, a incidência de pneumonia por *Pneumocystis carinii* está a aumentar, particularmente devido à elevada incidência de pacientes imuno-comprometidos susceptíveis a infecção, tais como aqueles que sofrem de SIDA.

RESUMO DA INVENÇÃO

Os compostos da presente invenção, Composto I (Nos. ID Seq. 1-6), são caracterizados por terem um carbono ligado ao anel do ciclo-hexapeptídeo no carbono-5 do componente 4-hidroxiornitina (aqui seguidamente "C-5-orn") e podem ser representados pela fórmula:



em que

R_1 é H ou OH;

R_2 é H, CH_3 ou OH;

R_3 é H, CH_3 , CH_2CONH_2 , CH_2CN , $CH_2CH_2NR^I R^{III}$, $CH_2CH_2N(R^{IV})_3^+ X^-$ ou $CH_2CH_2NH(C=NH)R^{VII}$;

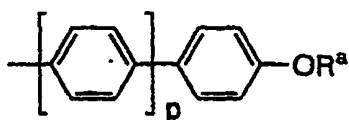
R_4 é H ou CH_3 ;

R_5 é H, OH ou OSO_3H ;

R_6 é H ou OH;

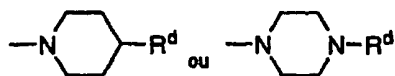
R^I é alquilo C_9-C_{21} ,

alcenilo C₉-C₂₁,
alcoxifenilo C₁-C₁₀,
alcoxinaftilo C₁-C₁₀, ou



em que

R^a é alquilo C₁-C₁₀; ou (CH₂)_qNR^bR^c onde R^b e R^c são independentemente H, alquilo C₁-C₁₀ ou R^b e R^c juntamente com o átomo de azoto são



em que

R^d é alquilo C₁-C₁₆, ciclo-hexilmetilo, fenilo ou benzilo;

p é 1 ou 2; e

q é 2, 3 ou 4;

R^{II} é H, alquilo C₁-C₄, (CH₂)₂₋₄OH, C=NH(R^{VII}), (CH₂)₂₋₄NR^VR^{VI}, (CH₂)₂₋₄N(R^{IV})₃⁺X⁻, (CH₂)₂₋₄NH(C=NH)R^{VII}, (CH₂)₁₋₄CH(NR^VR^{VI})-(CH₂)₁₋₄NR^VR^{VI}, (CH₂)₂₋₄NR^V(CH₂)₂₋₄NR^VR^{VI}, CO(CH₂)₁₋₄NR^VR^{VI}, COCH(NR^VR^{VI})(CH₂)₁₋₄NR^VR^{VI};

R^{III} é H, alquilo C₁-C₄, (CH₂)₂₋₄NR^VR^{VI}, (CH₂)₂₋₄N(R^{IV})₃⁺X⁻, (CH₂)₂₋₄NH(C=NH)R^{VII}, (CH₂)₁₋₄CH(NR^VR^{VI})(CH₂)₁₋₄NR^VR^{VI}, (CH₂)₂₋₄N-R^V(CH₂)₂₋₄NR^VR^{VI}; ou

R^{II} e R^{III} considerados juntos são

$-(\text{CH}_2)_4-$, $-(\text{CH}_2)_5-$, $-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$, ou $-(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2-$;

R^{IV} é alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

R^{V} é H ou alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

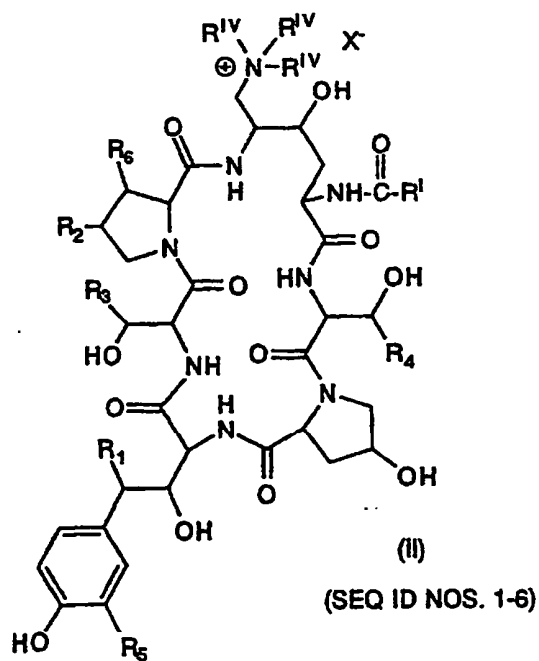
R^{VI} é H ou alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

R^{VII} é H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ ou NH_2 ;

X é Cl, Br ou I; ou

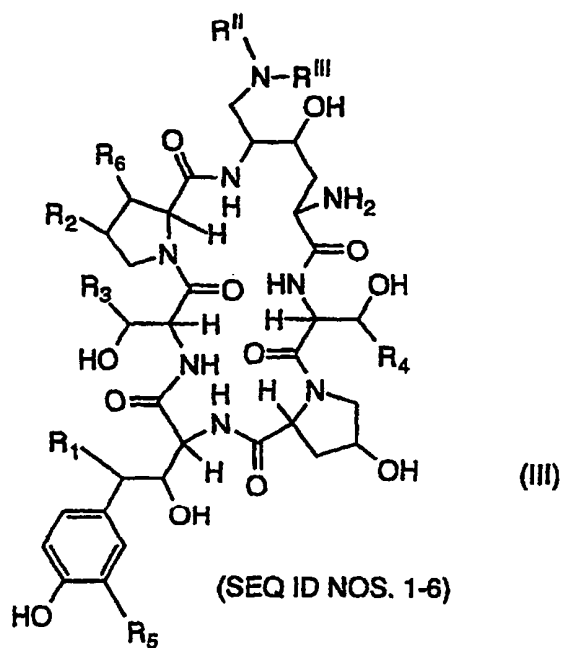
um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Adicionalmente, são divulgados sais de amônio quaternários com a fórmula



onde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R^I , R^{IV} e X são conforme anteriormente definido.

São também divulgados compostos com a fórmula



em que

R_1 é H ou OH;

R_2 é H, CH_3 ou OH;

R_3 é H, CH_3 , CH_2CONH_2 , CH_2CN , $CH_2CH_2NR^{II}R^{III}$, $CH_2CH_2N(R^{IV})_3^+X^-$ ou $CH_2CH_2NH(C=NH)R^{VII}$;

R_4 é H ou CH_3 ;

R_5 é H, OH ou OSO_3H ;

R_6 é H ou OH;

R^{II} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}OH$, $C=NH(R^{VII})$, $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N-(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $CO(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $COCH(NR^VR^VI)-(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$;

R^{III} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$; ou

R^{II} e R^{III} considerados juntos são

$-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$, ou $-(CH_2)_2NH(CH_2)_2-$;

R^{IV} é alquilo C_1-C_4 ;

R^V é H ou alquilo C_1-C_4 ;

R^{VI} é H ou alquilo C_1-C_4 ;

R^{VII} é H, alquilo C_1-C_4 ou NH_2 ;

X é Cl, Br ou I; ou

um sal farmaceuticamente aceitável dos mesmos, que são úteis para a preparação dos Compostos I e II da invenção.

Concretizações preferidas da invenção são aquelas do Composto I

em que

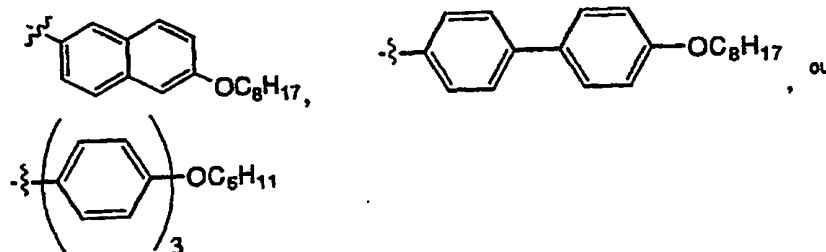
R_1 e R_6 são OH

R_2 e R_5 são H

R_3 é $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$

R_4 é CH_3

R^I é 9,11-dimetiltridecilo,



R^{II} é H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, COCH_2NH_2 , $\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ou $\text{COCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{NH}_2$, e

R^{III} é H.

Os compostos desta invenção podem ser formulados em composições farmacêuticas que são compreendidas pelos compostos de fórmula I ou II em combinação com um transportador farmaceuticamente aceitável.

Os compostos desta invenção são úteis no tratamento de infecções fúngicas, tais como aquelas causadas por *Candida* e *Aspergillus*, e para o tratamento e prevenção de infecções causadas por *Pneumocystis carinii*. Estas infecções são encontradas frequentemente em pacientes imunodeficientes tais como aqueles que sofrem de SIDA.

Ao longo de toda a especificação e reivindicações apensas, uma dada fórmula química ou nome deverá abranger todos os isómeros ópticos e estereoisómeros bem como misturas racémicas onde existam tais isómeros e misturas.

O termo alquilo refere-se a grupos hidrocarbonetos de cadeia linear, ramificada ou cíclica, como por exemplo metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexilmetilo e semelhantes.

O termo cicloalquilo refere-se a uma espécie de alquilo contendo desde 3 até 15 átomos de carbono sem alternância ou ressonância de ligações duplas entre átomos de carbono.

O termo alcenilo refere-se a grupos tais como, por exemplo, vinilo, 1-propen-2-ilo, 1-buten-4-ilo, 2-buten-4-ilo, 1-penten-5-ilo e semelhantes.

O termo alcoxi refere-se a grupos oxialquilo de cadeia linear ou ramificada tais como, por exemplo, metoxi, etoxi, butoxi, heptoxi, dodeciloxi e semelhantes.

Os compostos da presente invenção são geralmente obtidos como misturas de formas estereoisoméricas nas quais predomina normalmente uma forma. As condições podem ser ajustadas através de meios que estão dentro da prática normal do perito na técnica de forma a se obter predominantemente o isómero desejado. Os compostos com forma estereoisomérica preferida aqui designada como a forma "normal" são aqueles nos quais o grupo na posição "C-5-orn" está abaixo do plano na dita posição. A designação "epi" tem sido

empregue para aqueles compostos nos quais o grupo na posição "C-5-orn" está acima do plano.

Sais farmaceuticamente aceitáveis adequados como sais de adição de ácido são aqueles de ácidos tais como clorídrico, bromídrico, fosfórico, sulfúrico, maleico, cítrico, acético, tartárico, succínico, oxálico, málico, glutâmico e semelhantes, e incluem outros ácidos relacionados com os sais farmaceuticamente aceitáveis indicados em *Journal of Pharmaceutical Science*, 66:2 (1977).

Quando o substituinte acilo na posição-2 no azoto da 4-hidroxiornitina contém uma cadeia aromática, ele difere dos produtos naturais e dos compostos conhecidos. A cadeia aromática divulgada contém um a três grupos fenilo adicionalmente expandida por substituintes na posição *para*.

Na tabela seguinte podem ser vistos núcleos representativos para os derivados da presente invenção (Compostos I & II) e a ID de sequência para estes compostos. Uma vez que os núcleos peptídeos seriam os mesmos independentemente dos substituintes R_1 , R_2 , R_5 , R_6 , R^I , R^{II} ou R^{III} , e uma vez que o número de identificação da sequência é atribuído para as variações nucleares, as aminos e sais têm as mesmas ID's de sequências.

Composto			
Carba	R_3	R_4	NO. ID SEQ
I-1	H	CH_3	1
I-2	CH_3	CH_3	2
I-3	Todos os Outros	CH_3	3
I-4	H	H	4
I-5	CH_3	H	5
I-6	Todos os Outros	H	6

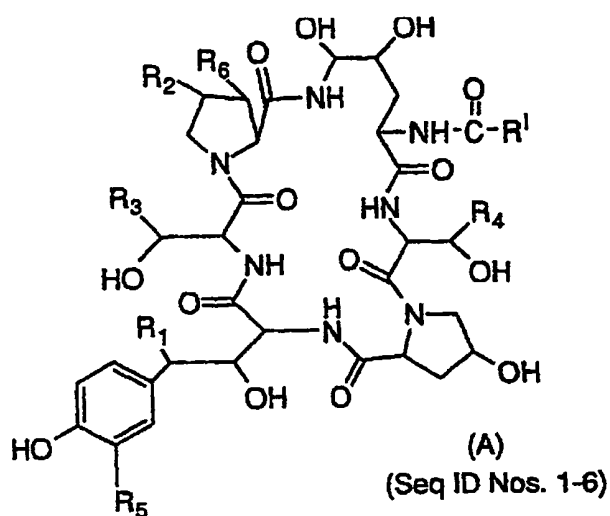
Os compostos da presente invenção são solúveis em água, álcoois inferiores e solventes polares apróticos tais como N,N-dimetilformamida (DMF), sulfóxido de dimetilo (DMSO) e piridina. Eles são insolúveis em solventes tais como éter dietílico e acetonitrilo.

Os compostos da presente invenção são úteis como um antibiótico, especialmente como um agente anti-fúngico ou como um agente anti-protozoário. Como agentes anti-fúngicos eles são úteis para o controle de fungos filamentosos e leveduras. Eles são especialmente adaptáveis para serem empregues no tratamento de infecções micóticas em mamíferos, especialmente aquelas provocadas por espécies *Candida* tais como *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. pseudo-tropicalis*, espécies *Cryptococcus* tais como *C. neoformans* e espécies *Aspergillus* tais como *A. fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger*. Eles são também úteis para o tratamento e/ou prevenção de pneumonia por *Pneumocystis carinii* para a qual os pacientes imuno-comprometidos são especialmente susceptíveis conforme posteriormente descrito.

O aspecto estrutural que distingue os compostos da presente invenção dos ciclo-hexapeptídeos previamente divulgados é o carbono ligado ao anel ciclo-hexapeptídeo no carbono-5 do resíduo de 4-hidroxiornitina.

As mais importantes equinocandinas e pneumocandinas que ocorrem naturalmente têm uma ligação C-O lábil na posição C-5 orn. Outras pneumocandinas, conforme revelado na Patente dos E.U. No. 5.378.804 concedida a 3 de Janeiro de 1995, têm uma ligação C-N lábil no C-5 orn. Os compostos aqui divulgados têm uma ligação C-C no C-5 orn, transmitindo estabilidade aos compostos enquanto ainda retêm potente actividade anti-fúngica e anti-*Pneumocystis*.

Os compostos da presente invenção podem ser preparados a partir de ciclo-hexapeptídeos com a fórmula



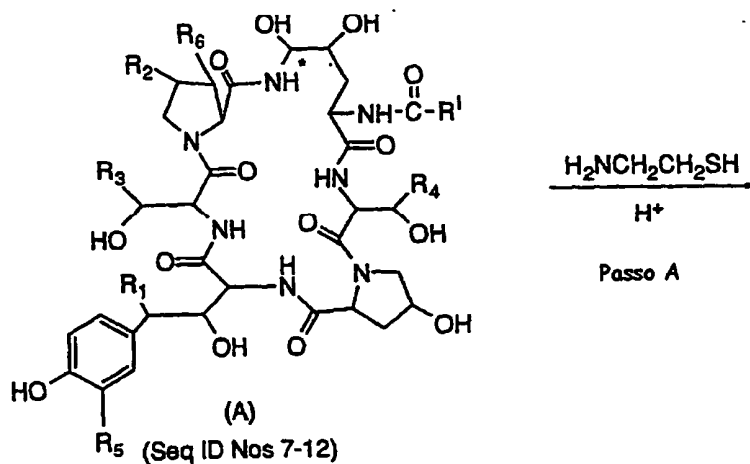
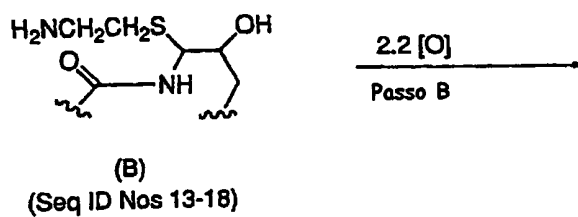
através de uma série de reacções nas quais o átomo de oxigénio em "C-5-orn" (que pode também ser referida como a posição hemiaminal) é no final substituído por carbono. Os materiais de partida podem ser produtos naturais ou produtos naturais modificados conforme subsequentemente descrito.

As IDs de sequência dos materiais de partida estão indicadas na seguinte tabela:

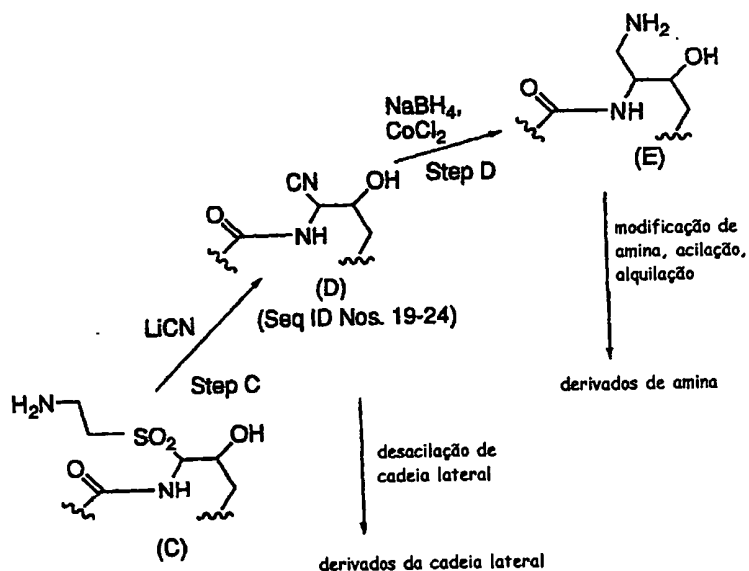
Composto	R ₃	R ₄	NO. ID SEQ do
			Material de Partida
A-1	H	CH ₃	7
A-2	CH ₃	CH ₃	8
A-3	Todos os Outros	CH ₃	9
A-4	H	H	10
A-5	CH ₃	H	11
A-6	Todos os Outros	H	12

Um composto onde R₁ é OH, R₂ é H, R₃ é CH₂CONH₂, R₄ é CH₃, R₅ é H e R₆ é OH e R^I é dimetiltridecilo tem sido identificado na literatura como pneumocandina B₀; um composto semelhante onde R₂ é CH₃, tem sido identificado como pneumocandina A₀ e um terceiro composto onde R₂ é OH e R₆ é H tem sido identificado como pneumocandina C₀ (*J. Antibiotics* 45:1855-60, Dez.1992). Um composto semelhante onde R₂ e R₆ são OH e R^I é dimetiltridecilo tem sido identificado como pneumocandina D₀ (*J. Antibiotics* 47:755-764, Julho 1994).

Quando no composto de partida, R₃ é H, CH₃ ou CH₂CONH₂, eles podem ser directamente empregues. Quando R³ é CH₂CN, CH₂CH₂NR^{II}R^{III}, CH₂CH₂N(R^{IV})₃⁺X⁻ ou CH₂CH₂NH(C=NH)R^{VII}, as amidas devem ser primeiramente convertidas em CH₂CN ou CH₂CH₂NH₂ e em seguida modificadas.



*A posição é a "C-5-orn" ou a posição hemiaminal.



No Passo A faz-se reagir o material de partida, Composto A, um alquitol ou ariltiol e ácido num solvente aprótico sob condições anídricas

durante tempo suficiente para que a reacção ocorra com formação de Composto B (Nos. ID Seq 13-18), indicados na tabela seguinte. Tem-se verificado que aminoetanotiol é especialmente útil para este passo.

Composto	R ₃	R ₄	NO. ID SEQ de
			Intermediário de Enxofre
B-1	H	CH ₃	13
B-2	CH ₃	CH ₃	14
B-3	Todos os Outros	CH ₃	15
B-4	H	H	16
B-5	CH ₃	H	17
B-6	Todos os Outros	H	18

Para o Passo A, ácidos adequados incluem um ácido orgânico forte e ácidos minerais. Exemplos de ácidos orgânicos fortes são ácido canforsulfónico, ácido p-toluenossulfónico, ácido trifluoroacético e ácido metanossulfónico. Ácidos minerais incluem ácido clorídrico e ácido bromídrico. É preferido o ácido canforsulfónico.

Solventes adequados incluem DMF, DMSO, 1-metil-2-pirrolidino-na e triamida fosfórica de hexametil (HMPA). É preferido DMF ou DMSO.

A reacção é geralmente levada a cabo à temperatura ambiente até 60°C durante cerca de 3 horas até cerca de 10 dias.

Ao se realizar a reacção, o composto ciclo-hexapeptídeo, o composto tiol e o ácido são agitados juntos num solvente adequado até a reacção ser substancialmente completa. A mistura reaccional é em seguida diluída com água e submetida a cromatografia instantânea (*flash*) em resinas de fase invertida

utilizando-se acetonitrilo/água a 10 até 40% (contendo 0,1% de ácido trifluoroacético) como eluente. O ácido trifluoroacético pode aqui ser posteriormente designado por "TFA". As fracções contendo o produto desejado podem ser concentradas e liofilizadas e o material liofilizado purificado por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) preparativa.

Colunas apropriadas para HPLC são colunas comercialmente disponíveis vendidas sob marcas registadas ou nomes comerciais tais como "ZORBAX" (DuPont), "DeltaPak" (Waters), "LICHROPREP" RP18 (E. Merck). As colunas específicas são identificadas nos exemplos.

No Passo B obtém-se o Composto C (Nos. ID Seq 13-18), uma sulfona, por oxidação do Composto B. Agentes de oxidação adequados ou oxidantes incluem "OXONE" ($\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ 2:1:1, da Aldrich Chemicals), ácido metacloroperoxibenzóico e ácido peroxiacético. A ID de sequência do Composto C é a mesma que a do Composto B uma vez que o átomo ligado ao carbono hemiaminal é ainda enxofre. Assim, as IDs de sequências das sulfonas são como se segue:

Composto	R ₃	R ₄	NO. ID SEQ da Sulfona
C-1	H	CH ₃	13
C-2	CH ₃	CH ₃	14
C-3	Todos os Outros	CH ₃	15
C-4	H	H	16
C-5	CH ₃	H	17
C-6	Todos os Outros	H	18

A oxidação do tioéter (Composto B) na sulfona (Composto C) é

levada a cabo com cerca de duas quantidades molares do oxidante. Quando é empregue uma quantidade molar de oxidante, o produto é um sulfóxido que pode então ser convertido na sulfona. Os sulfóxidos podem ser empregues como um intermediário na formação do nitrilo mas a sulfona é preferida. Emprega-se um ligeiro excesso sobre a quantidade de dois molares do agente de oxidação.

A reacção é levada a cabo num meio aquoso, preferencialmente uma mistura de acetonitrilo e água. São preferidas quantidades aproximadamente iguais, embora possam ser empregues numa gama de 1:9 até 9:1.

Ao se realizar a reacção, o oxidante é adicionado a uma solução de Composto B (Nos. ID Seq 13-18) em acetonitrilo/água 1:1 e a mistura é deixada em repouso à temperatura ambiente durante tempo suficiente para se completar a reacção para se obter o Composto C, geralmente desde cerca de 30 minutos até uma hora.

Após conclusão da reacção, o composto é recuperado da mistura reaccional por diluição com água e submetendo-se a cromatografia. Neste passo de purificação é adequada cromatografia em coluna instantânea (*flash*) (C18) de fase invertida. O agente de eluição preferido é acetonitrilo/água a 30-45 por cento (0,1% de TFA) em gradientes de 5 por cento por passo. As fracções apropriadas são liofilizadas para se recuperar o intermediário de sulfona desejado, o Composto C (Nos. ID Seq 13-18). O intermediário tem tendência a ser lábil, pelo que o isolamento deve ser realizado tão rapidamente quanto possível. Alternativamente, a mistura reaccional pode ser liofilizada e a sulfona bruta utilizada tal e qual no passo subsequente.

O Composto C pode ser convertido num composto contendo um carbono directamente ligado ao "C-5-orn". Conforme se pode verificar no

diagrama, reacção do Composto C com um cianeto de metal alcalino produz um nitrilo nessa posição (Composto D). O nitrilo pode subsequentemente reagir com boro-hidreto de sódio e cloreto de cobalto para proporcionar o substituinte aminoalquilo que pode ser convertido numa amina substituída conforme subsequentemente descrito. O Composto D é um importante intermediário para a maior parte dos compostos da presente invenção. Os Nos. de ID de Sequência para o Composto D, o nitrilo, estão listados na tabela seguinte:

Composto	R ₃	R ₄	NO. ID SEQ
			Nitrilo
D-1	H	CH ₃	19
D-2	CH ₃	CH ₃	20
D-3	Todos os Outros	CH ₃	21
D-4	H	H	22
D-5	CH ₃	H	23
D-6	Todos os Outros	H	24

O nitrilo pode ser obtido por adição de cianeto de metal alcalino, enquanto se agita à temperatura ambiente, a uma solução da sulfona num solvente aprótico durante tempo suficiente para se completar a reacção com a formação do cianeto conforme determinado por análise de HPLC. A mistura reaccional pode em seguida ser diluída com água e depois submetida a cromatografia para se separar o nitrilo desejado (Composto D) da mistura reaccional. Cromatografia em coluna instantânea (C18) de fase invertida, utilizando-se acetonitrilo/água 20-60% (0,1% TFA) em gradientes de 10% por passo, é adequada para este procedimento.

O nitrilo (Composto D) pode então ser reduzido num composto com um grupo amino livre (Composto E).

A redução pode ser realizada empregando-se redução química ou catalítica. Quando se emprega a redução química, têm-se mostrado úteis hidretos ou combinações de hidretos.

Tem-se verificado ser particularmente útil boro-hidreto de sódio com cloreto de cobalto em solvente alcoólico. Quando é utilizada esta combinação de reagentes, são utilizados desde cerca de 5 até 50 equivalentes molares de boro-hidreto de sódio e desde 2 até 20 equivalentes molares de cloreto de cobalto para cada quantidade molar do nitrilo.

Podem também ser utilizados outros agentes redutores tais como níquel de Raney, cianoboro-hidreto de sódio, hidreto de alumínio, diborano, hidreto de diisobutil alumínio e semelhantes. Estes agentes redutores são frequentemente utilizados em combinação com um ácido de Lewis tal como cloreto de cobalto ou cloreto de alumínio como na presente combinação de boro-hidreto de sódio e cloreto de cobalto.

A hidrogenação catalítica pode também ser realizada através de uma variedade de catalisadores incluindo paládio em carvão, óxido de platina ou ródio em alumina. A redução catalítica de baixa pressão com Pd/C como catalisador é especialmente preferida.

Solventes típicos dependentes do reagente incluem álcoois, especialmente metanol e etanol; dimetilformamida, piridina, tetra-hidrofurano ou outros éteres.

Compostos contendo uma amina derivada selectivamente na posição C5-orn na presença de uma amina em R₃ (i.e. R₃ = CH₂CH₂NH₂) podem ser preparados introduzindo-se inicialmente se a amina C5-orn quando R₃ =

CH_2CONH_2 . A amina C5-orn pode em seguida ser substituída para proporcionar compostos onde R^{II} e R^{III} não são H. Finalmente, a amida primária em R_3 pode ser convertida numa amina seguindo-se procedimentos estabelecidos. Alternativamente, a amina de R_3 pode ser protegida como um derivado de CBZ antes da redução do nitrilo C5-orn numa amina.

A amina assim obtida pode ser convertida numa amina acilada através de meios convencionais utilizando-se um aminoácido protegido com CBZ para se obter, após desprotecção, o Composto I onde R^{II} é $\text{COCH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_{1-4}\text{NH}_2$ e R^{III} é H.

O Composto I no qual R^{II} e/ou R^{III} são alquilo pode ser preparado utilizando-se qualquer procedimento conhecido adequado para a preparação de aminas secundárias ou terciárias. Quando o grupo alquilo desejado no azoto é metilo, o carbono pode ser introduzido por formilação, seguindo-se redução do grupo hidroximetilo com cianoboro-hidreto de sódio ou outro agente redutor. Alternativamente, a alquilação pode ser levada a cabo fazendo-se reagir um haleto de alquilo apropriadamente substituído com a amina num solvente aprótico na presença de uma base.

Para se prepararem compostos nos quais a amina R_3 (i.e. $\text{R}_3 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$) é derivada selectivamente na presença de uma amina em C5-orn, a amina R_3 pode ser substituída antes da redução do nitrilo em C5-orn.

A invenção abrange também sais de amónio quaternários de fórmula (II). Estes podem ser preparados por tratamento de uma amina com um haleto de alquilo e base num solvente prótico ou aprótico. Um procedimento típico seria adicionar excesso de iodeto de metilo a uma solução da amina e bicarbonato de sódio em DMF à temperatura ambiente. O produto pode ser isolado por diluição com H_2O seguida por HPLC com coluna C18.

A invenção abrange também sais de adição de ácido. O composto no curso normal do isolamento é obtido como um sal de adição de ácido. Geralmente, como um sal de ácido trifluoroacético ou de ácido acético. O sal assim obtido pode ser dissolvido em água e passado através de uma coluna de permuta aniônica carregando o anião desejado. O eluato contendo o sal desejado pode ser concentrado para se recuperar o sal como um produto sólido.

Os compostos da presente invenção são solúveis em água nas suas formas quaternárias protonadas ou permanentemente carregadas. Isto é uma vantagem sobre as equinocandinas neutras, não carregadas, que não são solúveis em água.

Os compostos da presente invenção são activos contra muitos fungos e particularmente contra espécies *Candida*. As propriedades anti-fúngicas podem ser ilustradas com a determinação da concentração fungicida mínima (MFC) contra certos organismos *Candida* num ensaio de diluição *microbroth* realizado num meio de Levedura à Base de Azoto (DIFCO) com 1% de dextrose (YNBD).

Num ensaio representativo, os compostos foram solubilizados em 100% de sulfóxido de dimetilo (DMSO) numa concentração inicial de 5 mg/ml. Uma vez dissolvida, a droga foi levada para uma concentração de 512 µg/ml por diluição em água de tal forma que a concentração final de DMSO seja cerca de 10 por cento. A solução foi em seguida distribuída por via de uma pipeta multi-canal para a primeira coluna de uma placa de 96 poços (cada poço contendo 0,075 ml de YNBD), resultando numa concentração de droga de 256 µg/ml. Os compostos na primeira coluna foram diluídos 2 vezes ao longo das linhas originando concentrações finais de droga variando desde 256 µg/ml até 0,12 µg/ml.

Ajustaram-se culturas de organismos *broth* de quatro horas para serem testadas utilizando-se um espectrofotómetro a 600 nm de tal forma que igualassem um Padrão 0,5 McFarland. Esta suspensão foi diluída numa razão de 1:100 em YNBD para originar uma concentração celular de $1-5 \times 10^4$ unidades formadoras de colónias (CFU/ml). Inocularam-se partes alíquotas da suspensão (0,075 ml) em cada poço da placa de microtitulação resultando num inóculo de células final de $5-25 \times 10^3$ CFU/ml e concentrações de droga finais variando desde 128 µg/ml até 0,06 µg/ml. Cada ensaio incluiu uma linha para poços de controlo isentos de droga e uma linha para poços de controlo isentos de células.

Após 24 horas de incubação, as placas de microtitulação foram agitadas suavemente num agitador para se re-suspenderem as células. Utilizou-se o inoculador MIC-2000 para se transferir uma amostra de 1,5 microlitros de cada poço da placa de microtitulação de 96 poços para uma placa de inóculo de reservatório único contendo agar de dextrose Sabouraud (SDA). As placas de SDA inoculadas foram incubadas durante 24 horas a 35°C e em seguida leu-se a concentração mínima de fungicida (MFC). A MFC é definida como a menor concentração de droga que não apresenta crescimento ou menos do que 4 colónias por mancha. O Composto I-A onde $R_1=OH$, $R_2=H$, $R_3=CH_2CH_2NH_2$, $R_4=CH_3$, $R_5=H$, $R_6=OH$, $R^I=dimetiltridecilo$, $R^{II}=H$ e $R^{III}=H$ como o sal de biscloridrato tinha as seguintes MFCs (µg/ml):

<i>Candida albicans</i> (MY1055)	<0,06
<i>Candida tropicalis</i> (MY1012)	<0,06
<i>Candida glabrata</i> (MY1381)	0,25

A eficiência *in vivo* dos compostos contra fungos pode ser vista no seguinte ensaio.

Suspendeu-se uma cultura de *Candida albicans* MY 1055 crescida durante a noite em SDA numa solução salina estéril e determinou-se a concentração celular por contagem de hemocítmetro e ajustou-se a suspensão celular para $3,75 \times 10^5$ células/ml. Em seguida administraram-se I.V. 0,2 mililitros desta suspensão na veia da cauda de ratos de forma a que o inóculo final fosse de $7,5 \times 10^4$ células/rato.

O ensaio foi então realizado por administração intraperitoneal (I.P.) de soluções aquosas de Composto I-A a várias concentrações, duas vezes por dia (b.i.d.) durante quatro dias consecutivos em ratos DBA/2 fêmeas de 18 a 20 gramas que tinham sido previamente infectadas com *Candida albicans* (MY 1055) da forma acima descrita. Administrou-se I.P. água destilada aos ratos infectados com *C. albicans* como controlos. Após sete dias, os ratos foram sacrificados através de dióxido de carbono gasoso e os pares de rins removidos assepticamente e colocados em sacos de polietileno esterilizados contendo 5 mililitros de solução salina estéril. Os rins foram homogeneizados nos sacos, diluídos em série em salina estéril e espalharam-se partes alíquotas na superfície de placas de SDA. As placas foram incubadas a 35°C durante 48 horas e as colónias de levedura enumeradas para determinação das unidades formadoras de colónias (CFU) por grama de rins. O Composto I-A deu uma redução superior a 90% de CFUs de *Candida* recuperáveis a 0,02 mg/kg i.p. duas vezes por dia durante quatro dias consecutivos.

Os compostos da presente invenção são também activos contra espécies *Aspergillus*. A eficiência *in vivo* dos compostos contra *Aspergillus* pode ser vista no seguinte ensaio.

Lavaram-se conídias de *Aspergillus fumigatus* MF 5668 da superfície de várias (3-4) culturas em plano inclinado de SDA de 3-5 dias com solução salina estéril mais 0,01% de Tween 20. A suspensão conidial foi

quantificada por contagem de hemocítmetro e ajustada à concentração apropriada em salina estéril.

Infectaram-se I.V. ratos DBA/2 fêmeas com $1,40 \times 10^6$ conídias/rato. Quinze minutos após o desafio, administraram-se intraperitonealmente (I.P.) soluções aquosas de Composto I-A a várias concentrações, duas vezes por dia (b.i.d.) durante um total de cinco dias. A dose requerida de Composto I-A para se aumentar a taxa de sobrevivência de 28 dias em pelo menos 50% relativamente a controlos não tratados foi de 0,02 mg/kg.

Uma reacção secundária prejudicial e potencialmente fatal de um número de drogas incluindo certos compostos de equinocandina antibioticamente activos é a lise dos glóbulos vermelhos. Isto não se observa em compostos com os presentes núcleos o que é outra vantagem dos compostos desta invenção.

Os compostos da presente invenção podem também ser úteis para inibirem ou aliviarem infecções por *Pneumocystis carinii* em pacientes imunocomprometidos. A eficácia dos compostos da presente invenção para fins terapêuticos ou anti-infecção pode ser demonstrada em estudos em ratazanas imunossuprimidas.

Imunossuprimiram-se ratazanas Sprague-Dawley (pesando aproximadamente 250 gramas) com dexametasona na água de beber (2,0 mg/L) e mantiveram-se com uma dieta baixa em proteínas durante sete semanas para se induzir o desenvolvimento de pneumonia por *Pneumocystis* a partir de uma infecção latente. Antes do tratamento com droga, sacrificaram-se duas ratazanas para se confirmar a presença de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (PCP). Injectaram-se subcutaneamente (sc) cinco ratazanas (pesando aproximadamente 150 gramas) duas vezes por dia durante quatro dias com Composto I-A em 0,25

ml de veículo (água destilada). Efectuou-se também um controlo de veículo. Todos os animais continuaram a receber dexametasona na água de beber e uma dieta baixa em proteínas durante o período de tratamento. No término do tratamento, os animais foram todos sacrificados, os pulmões foram removidos e processados e a extensão da doença determinada por análise microscópica de lâminas manchadas. A prevenção ou redução de quistos foi vista em lâminas dos pulmões de ratos tratados quando comparados com o número de quistos nos pulmões de controlos não tratados ou controlos de solvente. Os resultados deste ensaio mostraram que o Composto I-A reduziu os quistos *P. carinii* em 5 ratazanas em pelo menos 90 por cento quando doseado a 0,02 mg/kg com todas as ratazanas sobreviventes.

As propriedades de relevo são mais eficazmente utilizadas quando os compostos são formulados em novas composições farmacêuticas com um transportador farmacêuticamente aceitável de acordo com as técnicas de composição farmacêuticas convencionais.

As novas composições contêm pelo menos uma quantidade terapêutica anti-fúngica ou anti-*pneumocystis* do composto activo. Geralmente, a composição contém pelo menos 1% em peso de Composto I ou II. Composições concentradas adequadas para diluições antes de serem utilizadas podem conter 90% ou mais em peso. As composições incluem composições adequadas para administração oral, tópica, parentérica (incluindo intraperitoneal, subcutânea, intramuscular e intravenosa), nasal e por supositório, ou para insuflação. As composições podem ser previamente empacotadas através de mistura íntima do Composto I ou II com os componentes adequados para o meio desejado.

Composições formuladas para administração oral podem ser composições líquidas ou sólidas. Para preparação líquida, o agente terapêutico pode ser formulado com transportadores líquidos tais como água, glicóis, óleos,

álcoois e semelhantes, e para preparações sólidas tais como cápsulas e comprimidos, com transportadores sólidos tais como amidos, açúcares, etilcelulose, carbonato de cálcio e sódio, fosfato de cálcio, caulino, talco, lactose, geralmente com um lubrificante tal como estearato de cálcio, juntamente com ligantes, agentes de desintegração e semelhantes. Devido à sua facilidade de administração, os comprimidos e as cápsulas representam a forma de dosagem oral mais vantajosa. É especialmente vantajoso formularem-se as composições em formas de dosagem unitárias devido à facilidade de administração e uniformidade da dosagem. Composições em formas de dosagem unitárias constituem um aspecto da presente invenção.

As composições podem ser formuladas para injeção e podem tomar formas como suspensões, soluções ou emulsões em veículos oleosos ou aquosos tais como 0,85 por cento de cloreto de sódio ou 5 por cento de dextrose em água e podem conter agentes de formulação tais como agentes de suspensão, de estabilização e/ou de dispersão. Podem-se adicionar agentes tamponantes bem como aditivos tais como salina ou glicose para se tornarem as soluções isotônicas. O composto pode também ser solubilizado em álcool/propileno glicol ou polietileno glicol para administração intravenosa por gotejamento. Estas composições podem também ser apresentadas em formas de dosagem unitárias em ampolas ou em recipientes de dose múltipla, de preferência com adição de conservante. Alternativamente, os ingredientes activos podem estar na forma de pó para reconstituição com um veículo adequado antes da administração.

O termo "forma de dosagem unitária" da forma como é utilizado na especificação e reivindicações refere-se a unidades fisicamente discretas, cada unidade contendo uma quantidade pré-determinada de ingrediente activo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o transportador farmacêutico. Exemplos de tais formas de dosagem unitárias são

comprimidos, cápsulas, pílulas, pacotes de pó, hóstias, unidades medidas em ampolas ou em recipientes de dose múltipla e semelhantes. Uma dosagem unitária da presente invenção conterà geralmente desde 100 até 200 miligramas de um dos compostos.

Quando o composto é para uso anti-fúngico, pode ser empregue qualquer método de administração. Para tratamento de infecções micóticas, é geralmente empregue administração oral ou intravenosa.

Quando o composto é para ser empregue para controlo de infecções por *Pneumocystis*, é desejável tratar directamente o pulmão e os brônquios. Por esta razão são preferidos os métodos por inalação. Para administração por inalação, os compostos da presente invenção são convenientemente distribuídos na forma de uma apresentação de vaporizador de aerossol a partir de embalagens pressurizadas ou nebulizadores. O sistema de distribuição preferido para inalação é um aerossol de inalação de dose medida (MDI), que pode ser formulada como uma suspensão ou solução de Composto I ou II em propelentes adequados, tais como fluorocarbonos ou hidrocarbonetos. Propelentes preferidos são aqueles que não prejudicam a camada de ozono.

Embora os compostos da presente invenção possam ser empregues como comprimidos, cápsulas, composições tópicas, pós de insuflação, supositórios e semelhantes, a solubilidade dos compostos da presente invenção em água e meio aquoso torna-os adaptáveis para uso em formulações injectáveis e também em composições líquidas apropriadas para vaporizadores de aerossol.

Os seguintes exemplos ilustram a invenção mas não são para serem interpretados como limitativos. Todas as temperaturas estão em graus centígrados (°C) salvo indicação em contrário.

(SEQ ID No. 21)

Parte A: Preparação de Intermediário Tioéter

[illegible]

(SEQ ID No. 9)

(22,9 g, 21,1 mmol) e cloridrato de 2-aminoetanotiol (47,9 g, 422 mmol) em 100 ml de N,N-dimetilformamida anidra a 60°C. Após um período de 4h, a mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e diluída com 400 ml de H₂O. Filtração da solução resultante foi seguida por injeção com bomba do filtrado num cartucho radial Waters Delta Pak C18-100Å (47 mm × 30 cm) a um caudal de 50 ml/min. Eluição com CH₃CN/H₂O a 25-30% (com 0,1% de CF₃COOH) num passo com um gradiente de 5% deu, após liofilização das fracções apropriadas, 6,5 g do *nor*-tioéter e 6,8 g do *epi*-tioéter como sais de bistrifluoroacetato. Verificou-se, por HPLC analítica (Zorbax RX-C18, CH₃CN/H₂O a 40% (0,1% CF₃COOH), uv a 210 nm), que os tioéteres eram suficientemente puros (>80%) para conversão em sulfona conforme abaixo descrito. Nova cromatografia dos isómeros individuais seguida por permuta iónica numa coluna Bio-Rad AG2-X8 (Cl⁻) eluindo-se com H₂O proporcionou, após liofilização, biscloridratos puros como sólidos amorfos. *Nor*-tioéter: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,17 (d, J=6,2 Hz, 3H), 2,9 (m, 2H), 3,06 (t, J=7,2 Hz, 2H), 3,20 (t, J=6,7 Hz, 2H), 4,91 (d, J=5,8 Hz, 2H), 4,99 (d, J=3,4 Hz), 5,27 (d, J=2,1 Hz, 1H), 6,74 (d, J=8,6 Hz, 2H), 7,11 (d, J=8,6 Hz, 2H); FAB-MS (Li) m/z 1117 (MH+Li)⁺. *Epi*-tioéter: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 2,23 (m, 3H), 2,41 (dd, J=7,4 e 13,1 Hz, 1H), 2,92 (m, 2H), 3,11 (m, 2H), 3,06-3,29 (m, 4H), 4,01 (m, 1H), 4,10 (d, J=4,6 Hz, 1H), 4,64 (dd, J=7,2 e 10,9 Hz, 1H), 4,69 (br s, 1H), 4,95 (d, J=3,9 Hz, 1H), 6,76 (d, J=8,6 Hz, 2H), 7,14 (d, J=8,6 Hz, 2H); FAB-MS (Li) m/z 1117 (MH+Li)⁺.

Parte B: Preparação de Sulfona

A uma solução agitada do *epi*-tioéter da Parte A (6,5 g, ~70% puro) em 55 ml de acetonitrilo/água 1:1 a 25°C adicionou-se OXONE® (3,1 g). Após um período de 15 min, análise por HPLC com coluna C18 mostrou conversão

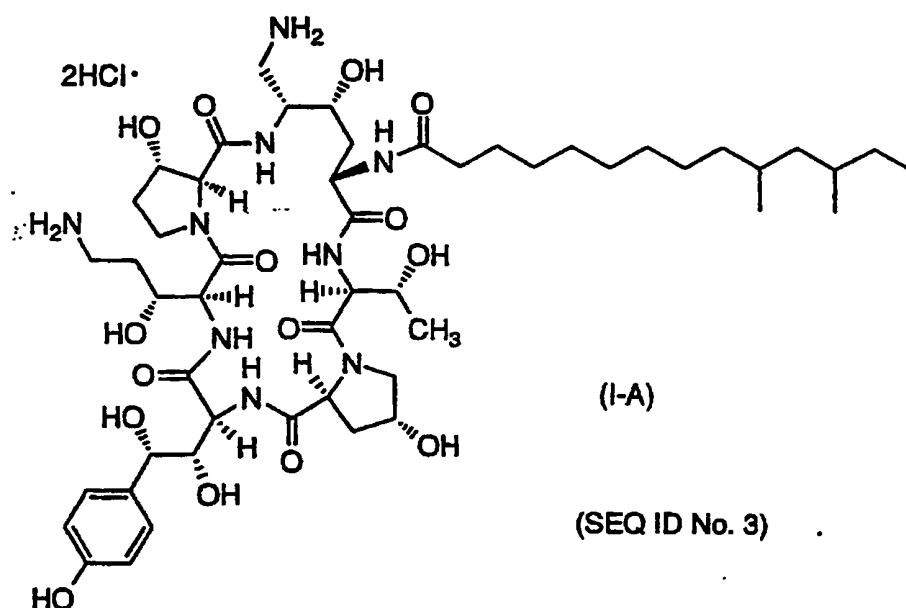
completa num produto mais polar. A mistura reaccional foi liofilizada para proporcionar a sulfona bruta que foi utilizada no passo subsequente sem purificação.

Parte C: Preparação de Nitrilo

Agitou-se, a 25°C e durante um período de 15 minutos, uma solução do bistrifluoroacetato de *epi*-sulfona da Parte B (2,3 g, 73% puro, 1,23 mmol corrigidas para a pureza) em 123 ml de cianeto de lítio 0,5 M em N,N-dimetilformamida. Análise por HPLC [RP-C18, CH₃CN/H₂O a 45% (0,1% CF₃COOH)] da mistura reaccional indicou conversão completa em dois produtos menos polares. A mistura reaccional foi diluída com água (400 ml) e a mistura heterogénea resultante foi introduzida numa coluna instantânea de fase invertida (C18, 30 g) empacotada em CH₃CN/H₂O a 20%. Eluição com H₂O (200 ml) foi seguida por CH₃CN/H₂O a 20-70% (0,1% CF₃COOH) em gradientes de 10% por passo, coligindo-se 100 ml em cada passo. O bolo insolúvel restante no topo da coluna foi removido e dissolvido em CH₃CN/H₂O a 70% (com 0,1% de CF₃COOH). Esta solução foi combinada com as fracções contendo produto e liofilizada para dar 1,5 g de nitrilos brutos. HPLC de fase invertida deste material [C18, CH₃CN/H₂O a 30-45% (0,1% CF₃COOH) em gradientes de 5% por passo] deu, após liofilização das fracções apropriadas, 220 mg (21%) do *nor*-nitrilo e 270 mg (36%) do *epi*-nitrilo como sais de trifluoroacetato. *Nor*-nitrilo: ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 1,16 (d, J=6,2 Hz, 3H), 1,60 (m, 2H), 1,81 (m, 1H), 2,44 (dd, J=7,0 e 13,0 Hz, 1H), 3,06 (m, 2H), 3,83 (m, 3H), 3,95 (dd, J=3,2 e 11,2 Hz, 1H), 4,03 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 4,54 (dd, J=7,1 e 11,7 Hz, 1H), 4,60 (dd, J=3,4 e 6,2 Hz, 1H), 4,80 (d, J=2,3 Hz, 1H), 4,97 (d, J=3,2 Hz, 1H), 6,75 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,11 (d, J=8,5 Hz, 2H); ESI-MS (M+H)⁺ = 1060,7. *Epi*-nitrilo: ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 1,23 (d, J=6,0 Hz), 2,05 (m, 1H), 2,42 (dd, J=6,6 e 13,5 Hz, 1H), 3,10 (t, J=7,4 Hz, 2H), 3,76 (m, 3H), 3,94 (dd, J=3,2 e 11,2 Hz, 1H),

4,00 (d, J=5,5 Hz, 1H), 4,11 (m, 1H), 4,62 (dd, J=3,9 e 11,4 Hz, 1H), 4,81 (d, J=6,9 Hz, 1H), 4,88 (d, J=2,8 Hz, 1H), 6,75 (d, J=8,5 Hz, 2H), 7,11 (d, J=8,5 Hz, 2H); ESI-MS (M+H)⁺ = 1060,7.

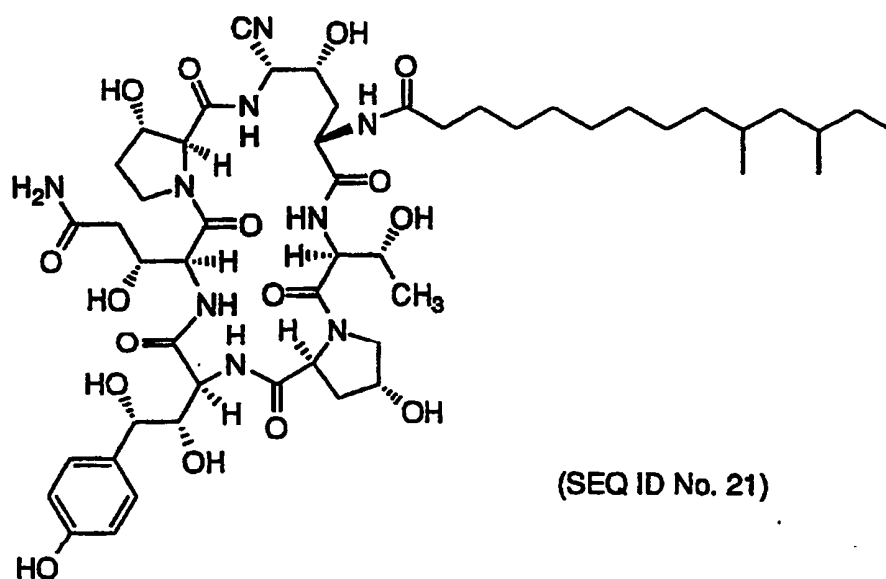
EXEMPLO 2



Adicionou-se boro-hidreto de sódio (91,2 mg, 2,41 mmol) em porções a uma solução de CoCl₂·6H₂O (115 mg, 0,482 mmol) e do *nor*-nitrilo (Exemplo 1, 283 mg, 0,241 mmol) em MeOH (9 ml). A reacção exotérmica que se seguiu produziu um precipitado ao mesmo tempo que se produziam quantidades copiosas de hidrogénio. Análise por HPLC (Zorbax RX-C18, 4,6 mm × 25 cm; CH₃CN/H₂O a 45% (0,1% CF₃COOH) a 1,5 ml/min; detecção uv a 210 e 277 nm) após 10 minutos indicou conversão de 70% num produto mais polar (t_R=3,0 min). Adicionou-se CF₃COOH 2N (7,8 ml) à mistura reaccional e continuou-se a agitação por um período de 30 minutos, resultando na dissolução do precipitado. A mistura foi diluída com H₂O (40 ml) e em seguida filtrada

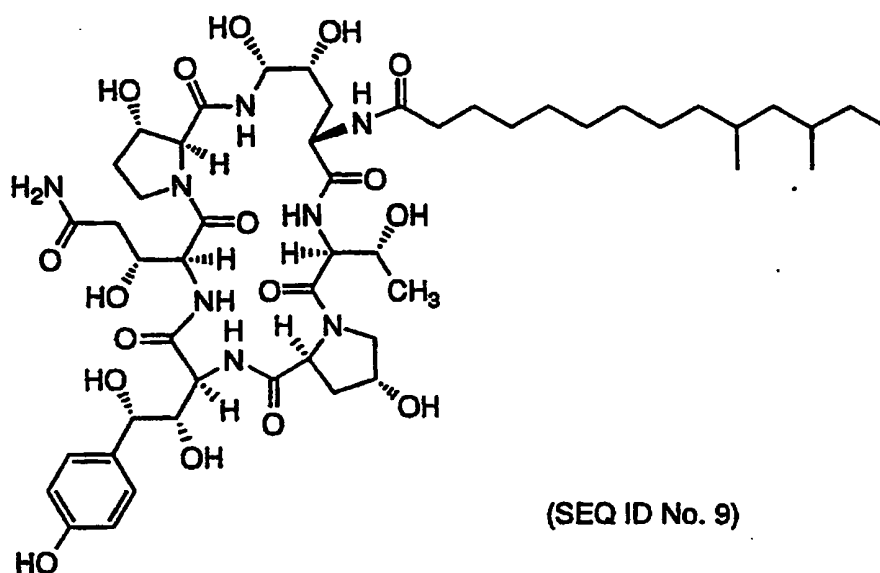
através de um leito empacotado de terra diatomácea. O filtrado foi injectado através de bomba numa coluna de HPLC Zorbax RX-C18 (21,2 mm × 25 cm) em CH₃CN/H₂O a 30% (0,1% CF₃COOH). Eluição com CH₃CN/H₂O a 30-45% (0,1% CF₃COOH) em gradientes de 5% por passo a um caudal de 10 ml/min, seguida por liofilização das fracções apropriadas, deu 93 mg da bisamina como trifluoroacetato. Dissolveu-se o bistrifluoroacetato em H₂O (10 ml) e carregou-se a solução numa coluna polyprep Bio-Rad AG2-X8 (Cl⁻) (2 ml de leito de resina). Eluição por acção da gravidade com água (3 × 10 ml) seguida por liofilização do eluato deu 80 mg do composto acima indicado. Rendimento (corrigido) = 34%. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 1,18 (d, J=6,2 Hz, 3H), 1,80 (m, 1H), 1,92 - 2,12 (m, 4H), 2,18 - 2,36 (m, 4H), 2,43 (dd, J=6,5 e 12,9 Hz, 1H), 3,07 (m, 2H), 3,16 (dd, J = 5,4 e 13,2 Hz, 1H), 3,23 (dd, J = 3,9 e 13,2 Hz, 1H), 3,80 (m, 3H), 3,99 (dd, J=3,1 e 11,1 Hz, 1H), 4,02 - 4,10 (m, 2H), 4,15 (m, 1H), 4,19 (dd, J = 1,5 e 8,1 Hz, 1H), 4,51 - 4,65 (m, 4H), 4,97 (d, J=3,2 Hz, 1H), 6,75 (d, J=8,6 Hz, 2H), 7,11 (d, J=8,6 Hz, 2H); ESI-MS m/z 1064,6 (M+H)⁺, 532,9 (M+H)⁺⁺.

EXEMPLO 3



Parte A: Preparação de Intermediário Tioéter

Adicionou-se ácido (1S)-(+)-10-canforssulfônico (2,39 g, 10,3 ml)
a uma solução de



(11,0 g, 10,3 mmol) e cloridrato de 2-aminoetanotiol (53 g, 467 mmol) em 200 ml de N,N-dimetilformamida anidra a 25°C. Após um período de 72 h, a mistura reaccional foi diluída com H₂O (400 ml) e carregada numa coluna instantânea de fase invertida (C18, 110 g) empacotada em CH₃CN/H₂O a 10%. Eluição com CH₃CN/H₂O a 10-60% em gradientes de 10% por passo seguida por liofilização das fracções contendo produto (CH₃CN/H₂O a 40-50%) deu 8,7 g de tioéteres impuros. HPLC preparativa desta mistura (cartucho radial Waters Delta Pak C18-100Å, 47 mm × 30 cm) eluindo-se com CH₃CN/H₂O a 20-40% (contendo 0,1% de CF₃COOH) a 50 ml/min em gradientes de 10% por passo deu, após liofilização das fracções apropriadas, 2,0 g do *nor*-tioéter (rendimento = 16%,

pureza por HPLC > 95%) e 5,2 g do *epi*-tioéter (rendimento = 40%, pureza por HPLC de cerca de 85%) como sais de trifluoroacetato. *Nor*-tioéter: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,14 (d, $J=6,2$ Hz, 3H), 2,83 (m, 2H), 5,44 (d, $J=1,8$ Hz, 1H); FAB-MS (Li) m/z 1131 ($\text{M}+\text{H}+\text{Li}$) $^+$. *Epi*-tioéter: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,34 (d, $J=6,3$ Hz, 3H), 2,89 (m, 2H), 4,72 (d, $J=4,9$ Hz, 1H); FAB-MS (Li) m/z 1131 ($\text{M}+\text{H}+\text{Li}$) $^+$.

Parte B: Preparação de Sulfona

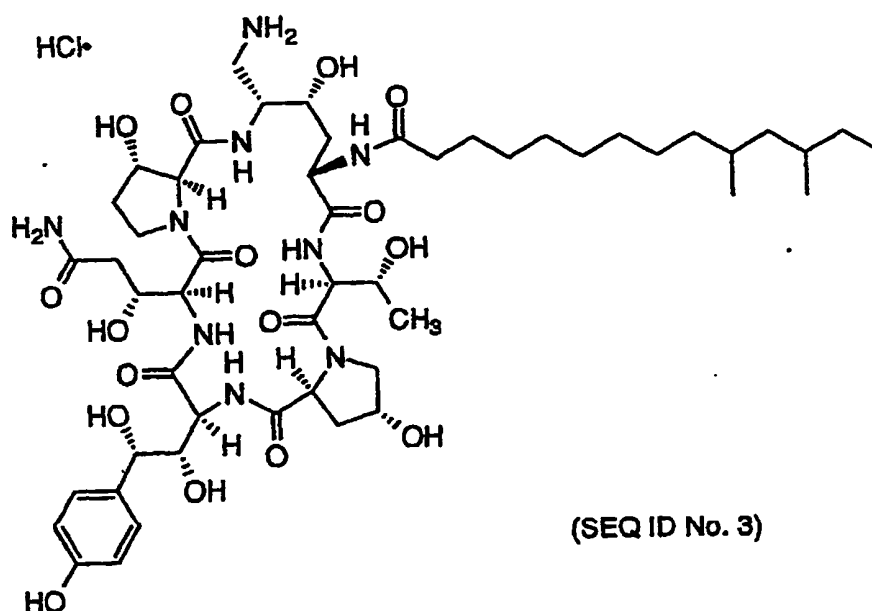
De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 1, Parte B, a *epi*-sulfona foi preparada a partir do *epi*-tioéter.

Parte C: Preparação de Nitrilo

Agitou-se, a 25°C e durante um período de 10 minutos, uma solução da *epi*-sulfona (1,0 g) em 79 ml de cianeto de lítio 0,5 M em N,N-dimetilformamida. Análise por HPLC [RP-C18, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ a 50% (0,1% CF_3COOH)] da mistura reaccional indicou conversão completa em dois produtos menos polares. A mistura reaccional foi diluída com água (240 ml) e a solução resultante foi introduzida numa coluna instantânea de fase invertida (C18, 20 g) empacotada em $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ a 10%. Eluição com $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ a 20-70% em gradientes de 10% por passo coligindo-se 100 ml em cada passo, seguida por liofilização das fracções contendo produto, deu 610 mg de nitrilos brutos. HPLC de fase invertida desta mistura (C18, $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ a 45-55% em gradientes de 5% por passo) deu, após liofilização das fracções apropriadas, 87 mg (rendimento = 10%, pureza por HPLC a 210 nm = 97%) do *nor*-nitrilo e 190 mg (rendimento = 22%, pureza por HPLC a 210 nm = 99%) do *epi*-nitrilo como

sólidos amorfos brancos. *Nor*-nitrilo: ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 1,14 (d, $J=6,2$ Hz, 3H), 1,59 (m, 2H) 1,93 - 2,08 (m, 3H), 2,15 - 2,27 (m, 5H), 2,43 (m, 1H), 2,47 (dd, $J=9,5$ e 15,4 Hz, 1H), 2,74 (dd, $J=3,8$ e 15,4 Hz, 1H), 3,78 (m, 2H), 3,97 (m, 2H), 4,18 (m, 1H), 4,39 (dd, $J=4,4$ e 12,8 Hz, 1H), 4,55 (m, 3H), 4,98 (m, 2H), 5,07 (d, $J=4,1$ Hz, 1H), 6,74 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,12 (d, $J=8,5$ Hz, 2H); ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 1074,5$. *Epi*-nitrilo: ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 1,59 (m, 2H), 1,76 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 2,07 (m, 2H), 2,22 (m, 3H), 2,39 (dd, $J=7,4$ e 13,2 Hz, 1H), 2,45 (dd, $J=8,0$ e 15,1 Hz, 1H), 2,57 (dd, $J=5,4$ e 15,1 Hz, 1H), 4,02 (m, 1H), 4,07 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 4,31 (dd, $J=1,9$ e 7,9 Hz, 1H), 4,36 (m, 4H), 4,55 (m, 3H), 4,63 (dd, $J=7,4$ e 10,6 Hz), 5,04 (d, $J=3,4$ Hz), 6,76 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 7,14 (d, $J=8,5$ Hz, 2H); ESI-MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 1074,4$.

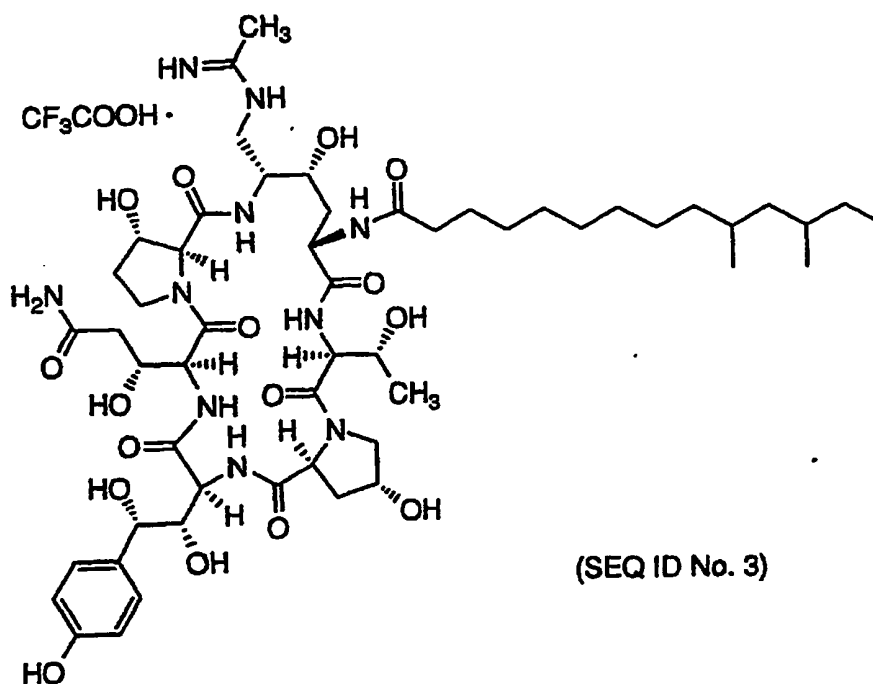
EXEMPLO 4



De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 2, o *nor*-nitrilo do Exemplo 3 foi reduzido na amina acima ilustrada. Rendimento = 44% (sal de

CF₃COOH). ¹H NMR do sal de cloridrato (500 MHz, CD₃OD) δ 1,16 (d, J=6,2 Hz, 3H), 1,9 - 2,1 (m, 3H), 2,23 (m, 4H), 2,42 (dd, J=6,6 e 12,6 Hz, 1H), 2,48 (dd, J=9,4 e 15,4 Hz, 1H), 2,75 (dd, J=3,7 e 15,4 Hz, 1H), 3,15 (d, J=5,7 Hz, 2H), 3,80 (m, 2H), 3,96 (m, 2H), 4,06 (m, 1H), 4,17 (m, 1H), 4,23 (dd, J=1,4 e 7,8 Hz, 1H), 4,57 (m, 4H), 5,00 (d, J=3,4 Hz, 1H), 5,06 (d, J=5,0 Hz, 1H), 6,74 (d, J=8,6 Hz, 2H), 7,12 (d, J=8,6 Hz, 2H); ESI-MS m/z 1078,7 (M+H)⁺, 531,1 (M-H₂O+H)⁺⁺.

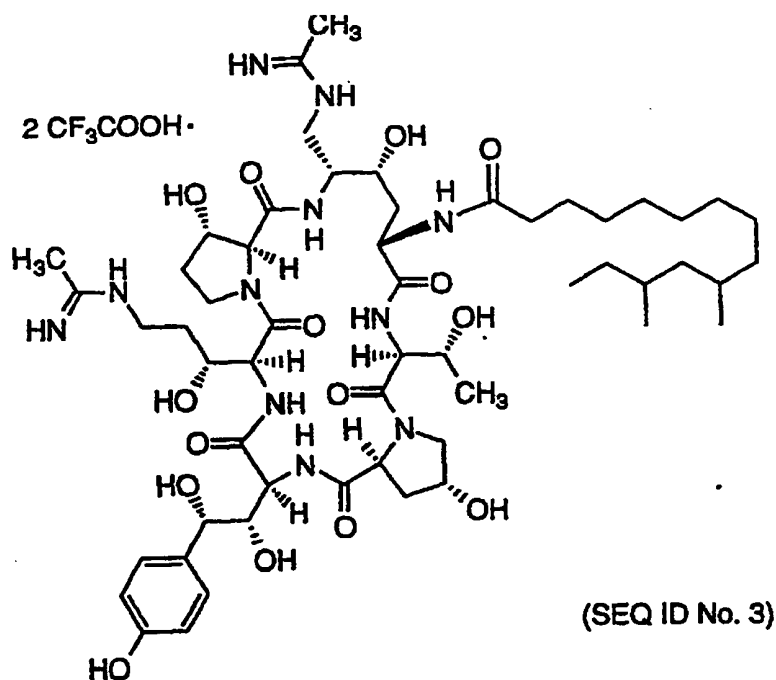
EXEMPLO 5



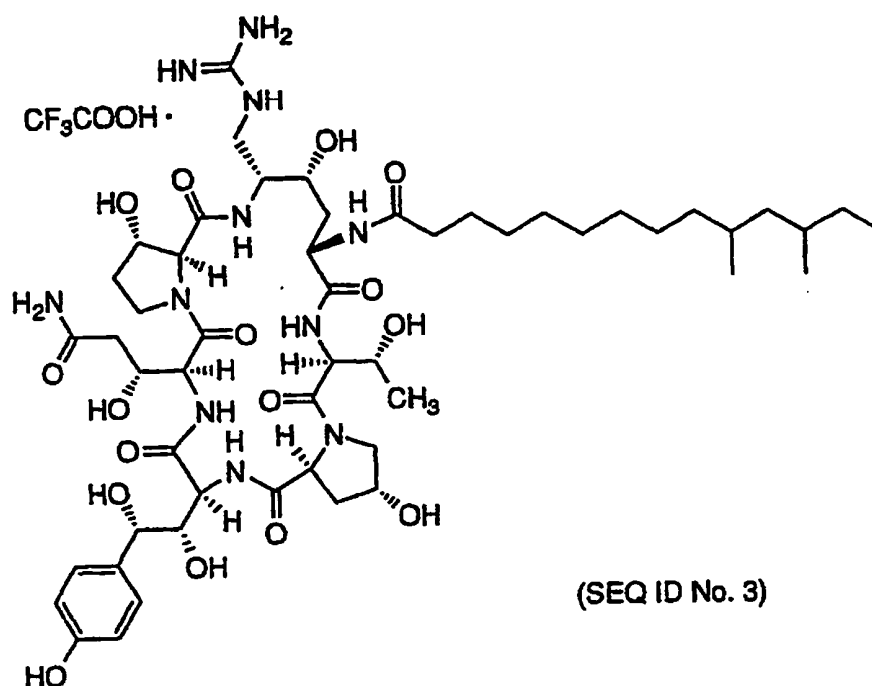
A uma solução agitada do trifluoroacetato de amina do Exemplo 4 (153 mg, 0,128 mmol) e hidróxido de sódio 1N (130 µl, 0,130 mmol) em água (5 ml) e N,N-dimetilformamida (5 ml), adiciona-se cloridrato de etilacetimidato (160 mg, 1,29 mmol). Após um período de 18 h a pH 8,5, adiciona-se ácido

trifluoroacético até pH 7. Cromatografia em coluna instantânea de fase invertida (C18) da mistura reaccional neutralizada, eluindo-se com acetonitrilo/água, é seguida por liofilização das fracções contendo produto. HPLC de fase invertida preparativa (C18) deste material, eluindo-se com acetonitrilo/água (contendo 0,1% de CF_3COOH), é seguida por liofilização das fracções contendo produto para dar a acetamidina como sal de trifluoroacetato: $\text{C}_{55}\text{H}_{87}\text{F}_3\text{N}_{10}\text{O}_{18}$, peso molecular da fórmula = 1233,36.

EXEMPLO 6



De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 5, a bisamina do Exemplo 2 é convertida na bisacetamidina acima ilustrada: $\text{C}_{59}\text{H}_{93}\text{F}_6\text{N}_{11}\text{O}_{19}$, peso molecular da fórmula = 1374,45.

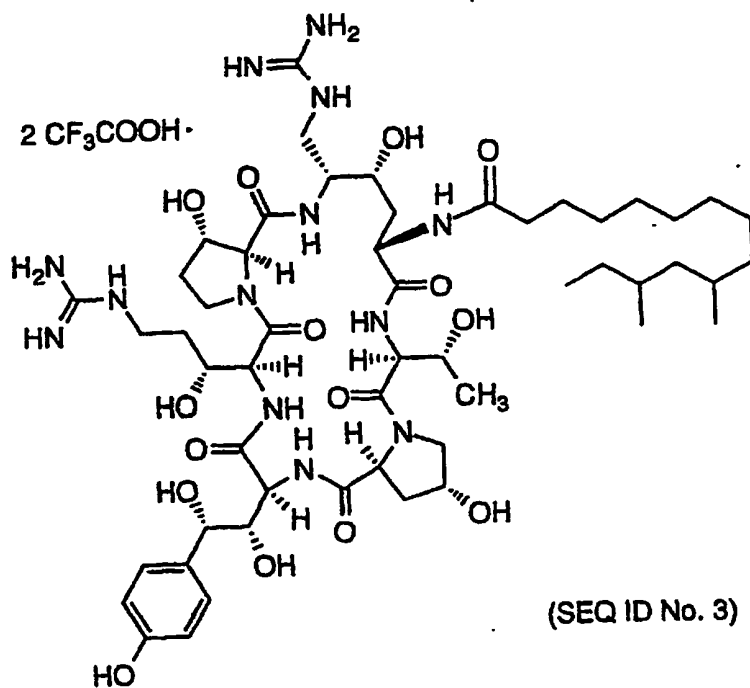
EXEMPLO 7

(SEQ ID No. 3)

A uma solução agitada do trifluoroacetato de amina do Exemplo 4 (163 mg, 0,137 mmol) e bicarbonato de sódio 1M (150 μ l, 0,150 mmol) em metanol absoluto (5 ml) adiciona-se ácido aminoiminometanossulfônico (30 mg, 0,242 mmol). Após um período de 1,5 h, o solvente é removido em vácuo. HPLC de fase invertida preparativa (C18) do resíduo, eluindo-se com acetonitrilo/água (0,1% de ácido trifluoroacético), é seguida por liofilização das fracções contendo produto para dar o trifluoroacetato de guanidina: $C_{54}H_{86}F_3N_{11}O_{18}$, peso molecular da fórmula = 1234,35.

Alberto C. Alves

EXEMPLO 8



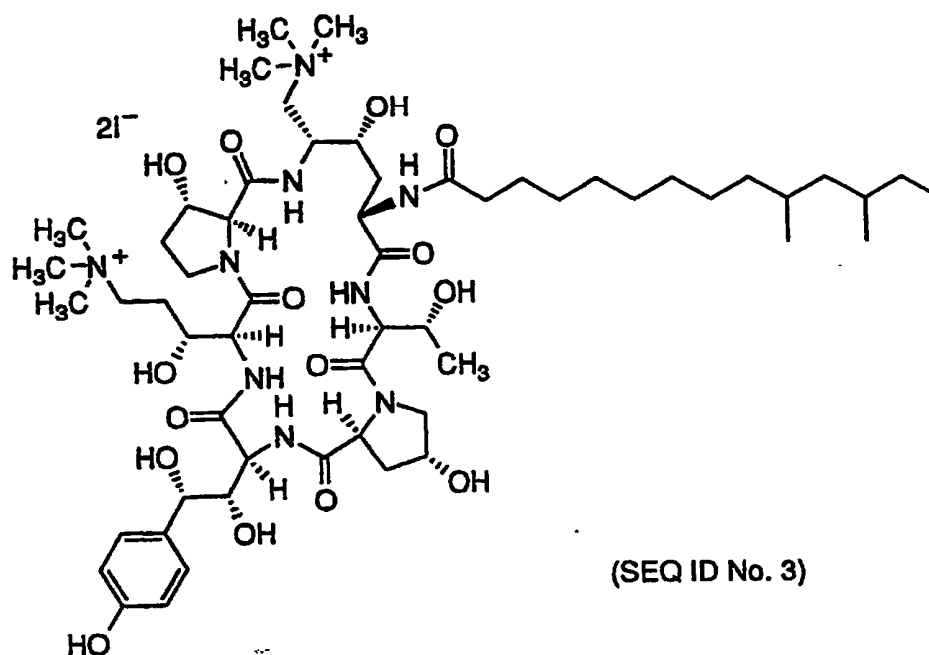
De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 7, a bisamina do Exemplo 2 é convertida na bisguanidina acima ilustrada: $C_{57}H_{91}F_6N_{13}O_{19}$, peso molecular da fórmula = 1376,43.

(SEQ ID No. 3)

(SEQ ID No. 3)

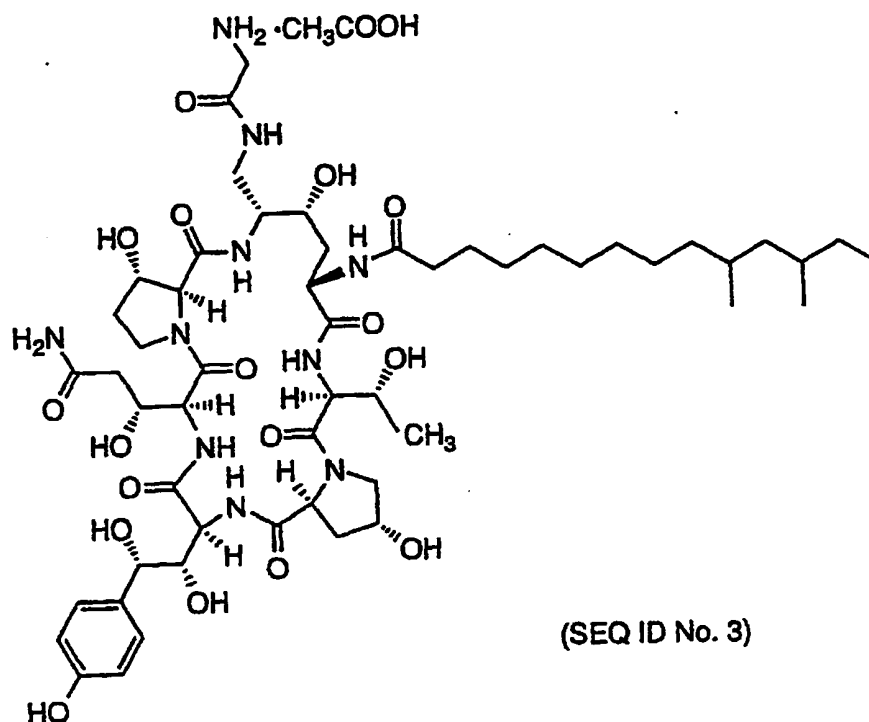
A uma solução agitada do trifluoroacetato de amina do Exemplo 4 (149 mg, 0,125 mmol) em N,N-dimetilformamida (10 ml) e bicarbonato de sódio 1M (2 ml, 2 mmol) adiciona-se iodometano (2 ml, 32,1 mmol). A mistura reaccional é agitada durante um período de 18 h. A mistura é diluída com água (2X) e cromatografada. Cromatografia em coluna instantânea de fase invertida (C18), eluindo-se com acetonitrilo/água, é seguida por liofilização das fracções contendo produto para proporcionar o iodeto de trimetilamónio: C₅₄H₉₀IN₉O₁₆, peso molecular da fórmula = 1248,27.

EXEMPLO 10



De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 9, a bisamina do Exemplo 2 é convertida no iodeto de bistrimetilamônio acima ilustrado: $C_{57}H_{99}I_2N_9O_{15}$, peso molecular da fórmula = 1404,28.

EXEMPLO 11

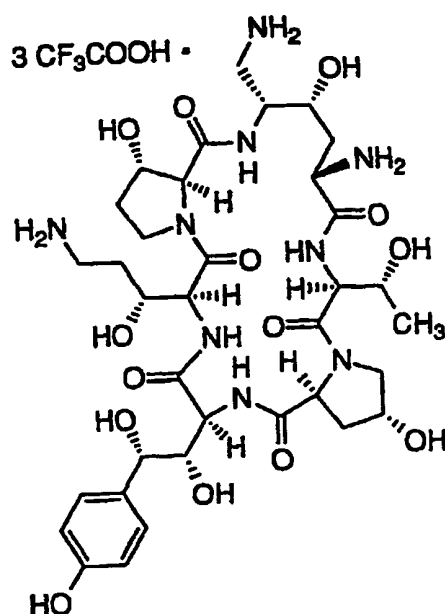


Parte A: Preparação de CBZ-Gliamida

O trifluoroacetato de amina do Exemplo 4 (215 mg, 0,180 mmol) é dissolvido em N,N-dimetilformamida (2 ml). A esta solução adiciona-se bicarbonato de sódio 1M (200 µl, 0,200 mmol) e N-benziloxicarbonilglicinato de pentafluorofenilo (106 mg, 0,270 mmol). Após 1 h, a mistura reaccional é diluída com água (2X). Isolamento por cromatografia em coluna instantânea de fase invertida (C18) eluindo-se com acetonitrilo/água dá, após liofilização das fracções contendo produto, a N-CBZ gliamida: $C_{61}H_{92}N_{10}O_{19}$, peso molecular da fórmula = 1269,47.

Parte B: Desprotecção

Uma solução da N-CBZ gliamida da Parte A em ácido acético glacial é hidrogenada sob pressão de balão na presença de C com 10% de Pd durante um período de 1,5 horas. A mistura reaccional é filtrada para se remover o catalisador e o filtrado é liofilizado para dar a gliamida como sal de acetato: $C_{55}H_{90}N_{10}O_{19}$, peso molecular da fórmula = 1195,39.

EXEMPLO 12

(SEQ ID No. 3)

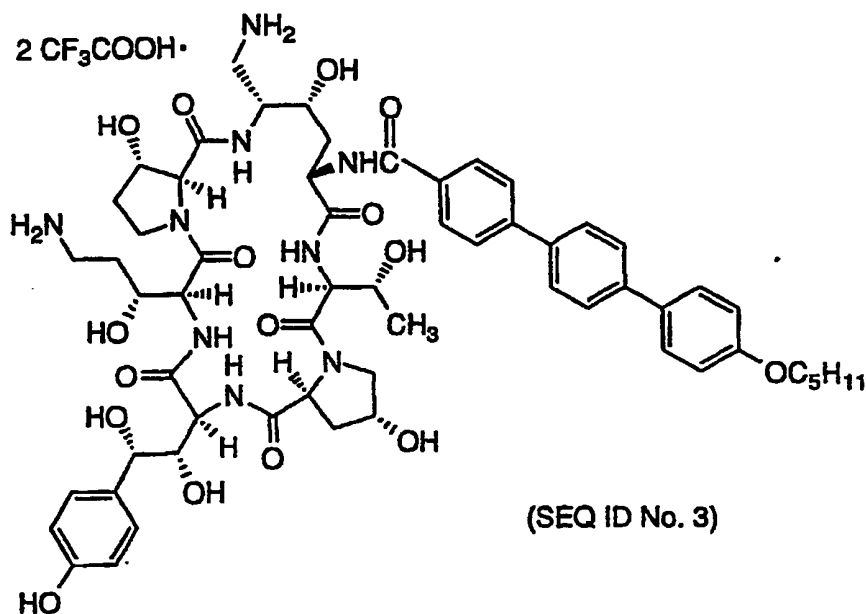
Parte A: Preparação da Enzima de Desacilação

Utilizou-se *P. acidovorans* ATCC 53942, mantida em planos inclinados de meio Luria-Bertani de ágar-ágar para se produzir a enzima de desacilação.

Preparou-se uma cultura de propagação por inoculação de uma porção de 50 ml de meio Luria-Bertani num balão de vidro de 250 ml com um lote da bactéria e incubou-se a cultura durante cerca de 24 horas a 27°C com vibração constante. As células para a desacilação foram crescidas por inoculação de 15 litros de meio Luria-Bertani num fermentador agitado com 30 ml da cultura de propagação, com incubação com agitação a 400 rpm e arejamento a 7,5 litros/min a 28°C durante 20 a 24 horas. As células foram lavadas com tampão de fosfato de potássio 50 mM, pH 7,5 e novamente suspensas em cerca de 4 litros do mesmo tampão. A suspensão foi equilibrada até 37°C para se obter a enzima de desacilação.

Parte B: Desacilação

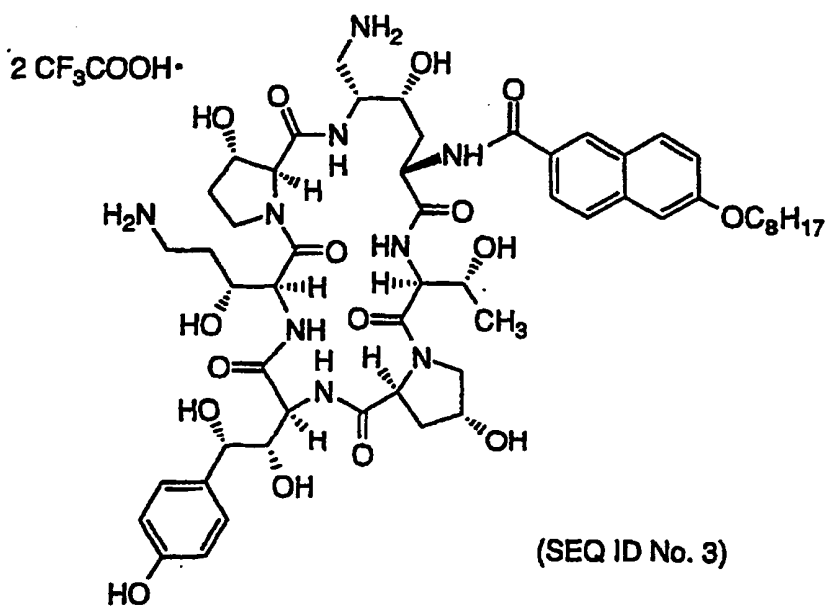
A bisamina do Exemplo 2 (3,5 g) é dissolvida em 900 ml de água destilada e adicionada lentamente, durante um período de 1 hora, a 2 litros da suspensão das células *P. acidovorans* da Parte A. A mistura resultante é mantida a 37°C enquanto se agita a cerca de 300 rpm sem arejamento. Após 24 horas, as células *P. acidovorans* são retiradas da mistura de desacilação por centrifugação e o núcleo é isolado do sobrenadante por cromatografia líquida de pressão elevada em coluna C18. Eluição com CH₃CN/H₂O a 0-2% contendo 0,1% de CF₃COOH em gradientes de 0,5% por passo é seguida por liofilização das fracções contendo núcleo para dar o produto desacilado acima ilustrado como sal de tris(trifluoroacetato): C₄₁H₅₈F₉N₉O₂₀, peso molecular da fórmula = 1167,95.

EXEMPLO 13**Parte A: Protecção Selectiva e Reacilação do Núcleo**

A uma solução agitada do núcleo (102 mg, 0,087 mmol) do Exemplo 12 e 4-nitrofenilcarbonato de benzilo (47,4 mg, 0,173 mmol) em N,N-dimetilformamida anidra (3,5 ml) é adicionada trietilamina (48,4 µl, 0,347 mmol). A mistura reaccional é agitada durante um período de 1 hora. Adiciona-se 4-(n-pentoxifenil)-4'-pentafluorofenoxycarbonilbifenilo (46 mg, 0,087 mmol), preparado conforme descrito em Preparação de Materiais de Partida, continuando-se a agitação durante um período de 60 horas. A mistura reaccional é diluída com água (3,5 ml) e o produto é isolado por extracção em fase sólida C18, eluindo-se inicialmente com CH₃CN/H₂O e em seguida com CH₃OH. Concentração das fracções de CH₃OH contendo produto, conforme determinado por HPLC analítica, origina o intermediário bis-CBZ pentoxiterfenilo bruto: C₇₅H₈₉N₉O₂₀, peso molecular da fórmula =1436,59.

Parte B: Desprotecção

Uma solução do intermediário bis-CBZ terfenilo bruto da Parte A em metanol (10 ml) e ácido acético glacial (4 ml) é hidrogenada sob pressão de balão na presença de C com 10% de Pd durante um período de 1,75 horas. A mistura reaccional é filtrada através de um leito de terra diatomácea para se remover o catalisador, enxaguando-se com MeOH. O filtrado é concentrado em vácuo. HPLC preparativa em coluna C18 do resíduo, carregado na fase móvel contendo CH₃OH suficiente para o solubilizar por completo, eluindo-se com CH₃CN/H₂O, contendo 0,1% de CF₃COOH, é seguida por liofilização das fracções contendo produto conforme determinado por HPLC analítica para dar o composto pentoxiterfenilo acima ilustrado como sal de bistrifluoroacetato: C₆₃H₇₉F₆N₉O₂₀, peso molecular da fórmula =1396,37.

EXEMPLO 14

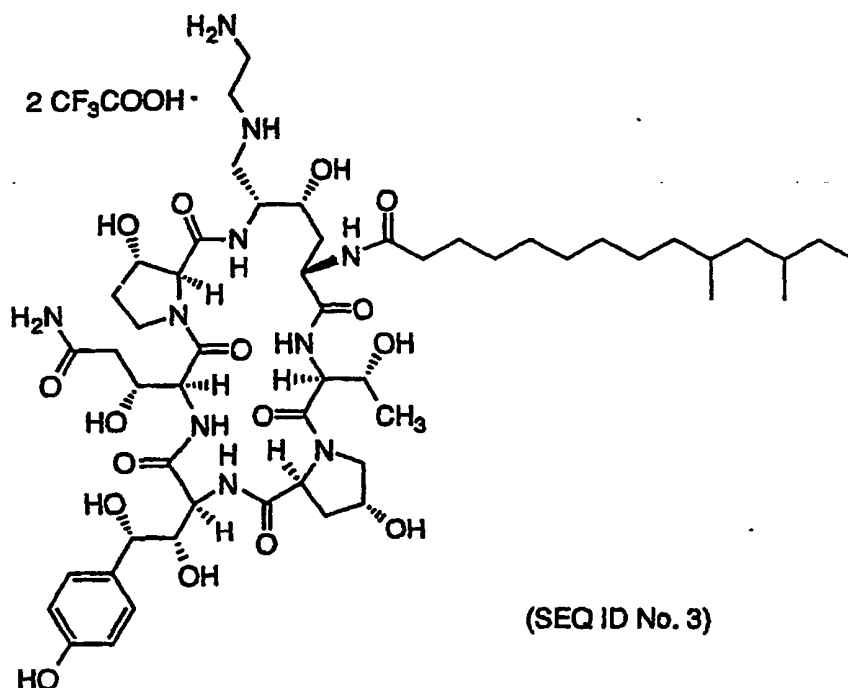
Parte A: Protecção Selectiva e Reacilação do Núcleo

A uma solução agitada do núcleo (102 mg, 0,087 mmol) do Exemplo 12 e 4-nitrofenilcarbonato de benzilo (47,4 mg, 0,173 mmol) em N,N-dimetilformamida anidra (3,5 ml) é adicionada trietilamina (48,4 µl, 0,347 mmol). A mistura reaccional é agitada durante um período de 1 hora. Adiciona-se 6-octiloxi-2-naftoato de pentafluorofenilo (39 mg, 0,087 mmol), preparado conforme descrito em Preparação de Materiais de Partida, continuando-se a agitação durante um período de 60 horas. A mistura reaccional é diluída com água (3,5 ml) e o produto é isolado por extracção em fase sólida C18, eluindo-se inicialmente com CH₃CN/H₂O e em seguida com CH₃OH. Concentração das fracções de CH₃OH contendo produto, conforme determinado por HPLC analítica, origina o intermediário bis-CBZ octiloxinaftoílo bruto: C₇₀H₈₉N₉O₂₀, peso molecular da fórmula =1376,54.

Parte B: Desprotecção

Uma solução do intermediário bis-CBZ octiloxinaftoílo bruto da Parte A em metanol e ácido acético glacial (2,5:1) é hidrogenada sob pressão de balão na presença de C com 10% de Pd durante um período de 1,75 horas. A mistura reaccional é filtrada através de um leito de terra diatomácea para se remover o catalisador, enxaguando-se com MeOH. O filtrado é concentrado em vácuo. HPLC preparativa em coluna C18 do resíduo, carregado na fase móvel contendo CH₃OH suficiente para o solubilizar por completo, eluindo-se com CH₃CN/H₂O contendo 0,1% de CF₃COOH é seguida por liofilização das fracções contendo produto, conforme determinado por HPLC analítica, para dar o composto octiloxinaftoílo acima ilustrado como sal de bistrifluoroacetato: C₅₈H₇₉F₆N₉O₂₀, peso molecular da fórmula =1336,32.

EXEMPLO 15



Parte A: Alquilação

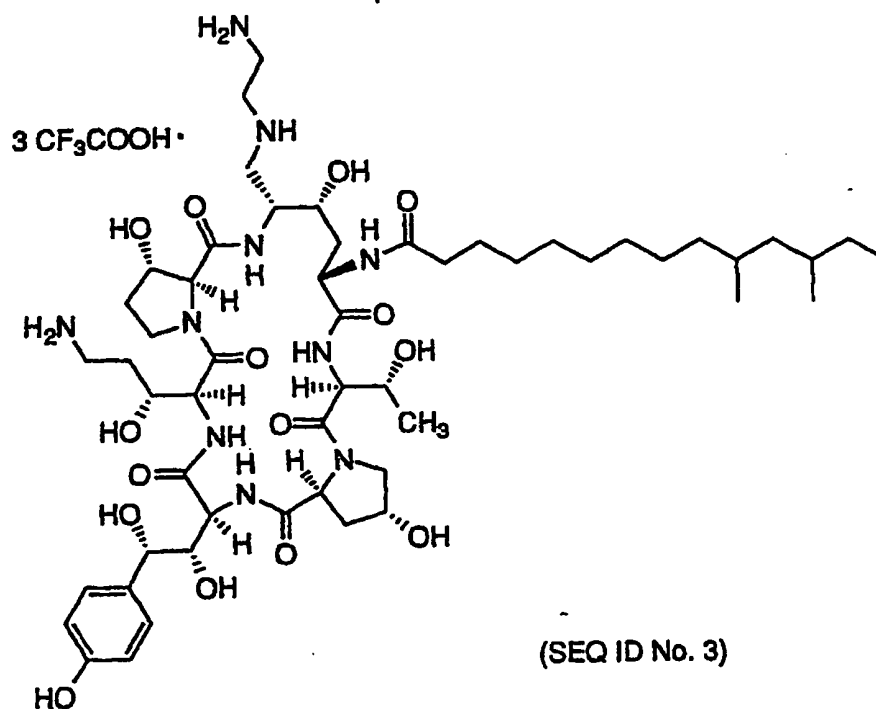
A uma solução vigorosamente agitada do trifluoroacetato de amina do Exemplo 4 (149 mg, 0,125 mmol) e N,N-diisopropiletilamina (16,2 mg, 0,125 mmol) em N,N-dimetilformamida (10 ml) é adicionada gota a gota uma solução de brometo de 2-(benziloxicarbonil)-aminoetilo (32,3 mg, 0,125 mmol) em N,N-dimetilformamida (5 ml). A mistura reaccional é agitada até que análise por HPLC em coluna C18 com CH₃CN/H₂O indique consumo completo do material de partida. A mistura é diluída com água e cromatografada. Cromatografia em coluna instantânea de fase invertida (C18), eluindo-se com CH₃CN/H₂O (0,1% CF₃COOH), é seguida por liofilização das fracções contendo produto para

proporcionar o intermediário (benziloxycarbonil)-aminoetilo: $C_{61}H_{94}N_{10}O_{18}$, peso molecular da fórmula = 1255,49.

Parte B: Desproteção

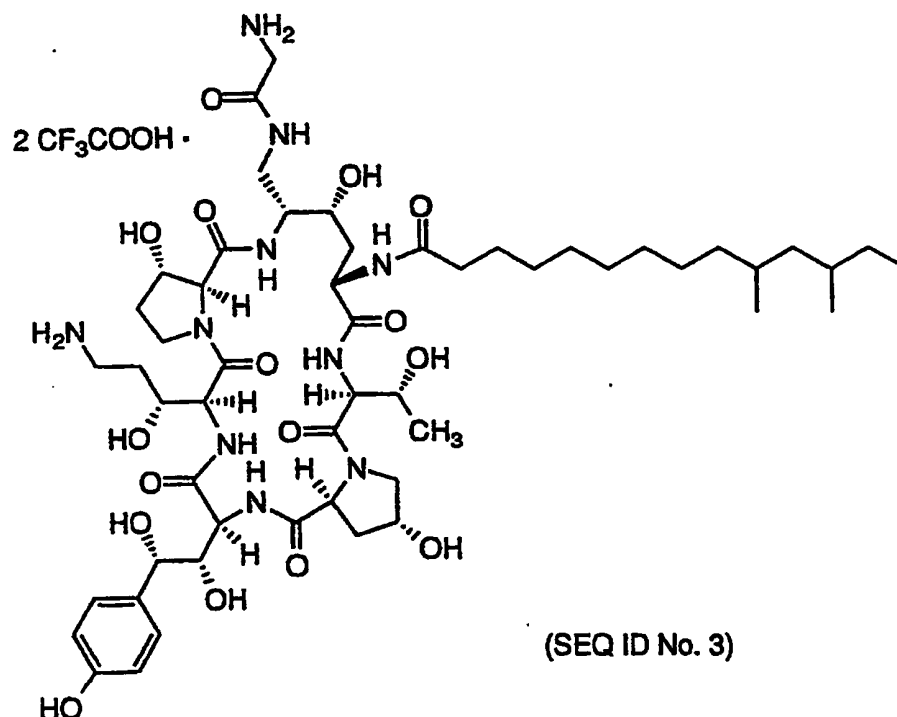
Uma solução do intermediário protegido com CBZ da Parte A em ácido acético glacial é hidrogenada sob pressão de balão na presença de C com 10% de Pd durante um período de 1,5 horas. A mistura reaccional é filtrada para se remover o catalisador e o filtrado é liofilizado. HPLC preparativa em coluna C18 do liofilizado, eluindo-se com CH_3CN/H_2O (0,1% CF_3COOH), proporciona a bisamina acima ilustrada como sal de ditrifluoroacetato: $C_{57}H_{90}F_6N_{10}O_{20}$, peso molecular da fórmula = 1349,40.

EXEMPLO 16



Uma suspensão do ditrifluoroacetato de bisamina do Exemplo 15 (169 mg, 0,125 mmol) em tetra-hidrofurano anidro (10 ml) é arrefecida até 0-4°C. Adiciona-se lentamente $\text{BH}_3 \cdot \text{S}(\text{CH}_3)_2$ puro (107 mg, 1,41 mmol). A mistura reaccional resultante é agitada a cerca de 0°C durante um período de 4 h. A mistura é lentamente temperada com HCl 2N (352 μl) e diluída com água. HPLC preparativa em coluna C18 desta solução, eluindo-se com $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,1% CF_3COOH), seguida por liofilização das fracções contendo produto proporciona a trisamina acima ilustrada como sal de trit trifluoroacetato: $\text{C}_{59}\text{H}_{93}\text{F}_9\text{N}_{10}\text{O}_{21}$, peso molecular da fórmula = 1449,44.

EXEMPLO 17



Parte A: Preparação de Amina Protegida com CBZ

A uma solução agitada do trifluoroacetato de amina de partida do

Exemplo 1 (92 mg, 0,087 mmol) e 4-nitrofenil carbonato de benzilo (26,1 mg, 0,095 mmol) em N,N-dimetilformamida anidra (3,5 ml) é adicionada trietilamina (24,3 µl, 0,174 mmol). A mistura reaccional é agitada até que análise por HPLC em coluna C18 indique consumo completo do material de partida. A mistura reaccional é diluída com água (3,5 ml) e o produto isolado por extracção em fase sólida C18 eluindo-se inicialmente com CH₃CN/H₂O e em seguida com CH₃OH. Concentração das fracções de CH₃OH contendo produto, conforme determinado por HPLC analítica, origina o intermediário CBZ bruto: C₅₉H₈₇N₉O₁₇, peso molecular da fórmula = 1194,4.

Parte B: Redução de Nitrilo

De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 2, o nitrilo da Parte A é reduzido e o produto amina é isolado como sal de trifluoroacetato: C₆₁H₉₂F₃N₉O₁₉, peso molecular da fórmula = 1312,46.

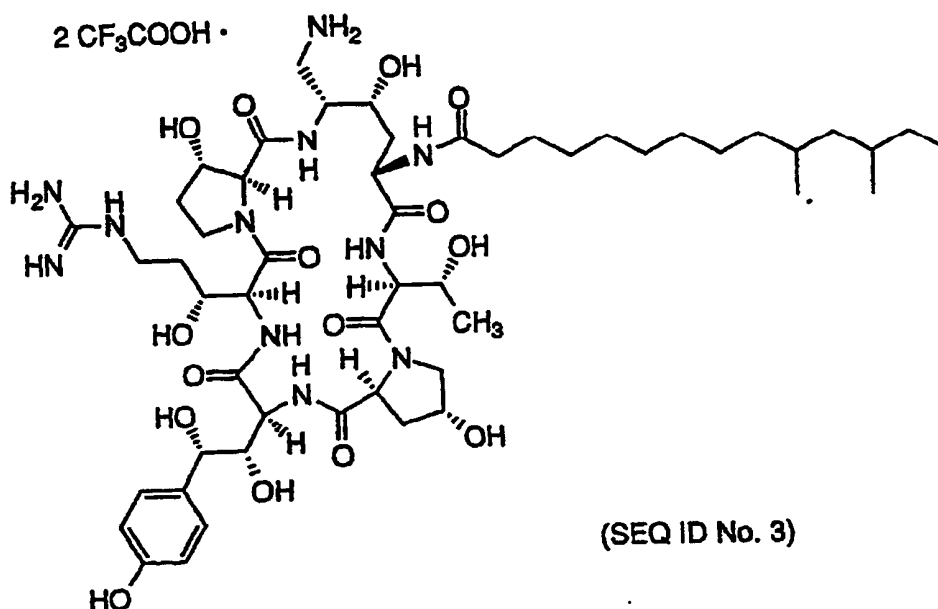
Parte C: Preparação da Gliamida Protegida com CBZ

De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 11, Parte A, a amina da Parte B acima é convertida num derivado de gliamida protegida com CBZ: C₆₉H₁₀₀N₁₀O₂₀, peso molecular da fórmula = 1389,62.

Parte D: Desprotecção

De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 11, Parte B, desprotecção do intermediário da Parte C proporciona o derivado de gliamida acima ilustrado como sal de diacetato. Purificação por HPLC preparativa em coluna C18, eluindo-se com CH₃CN/H₂O (0,1% CF₃COOH), proporciona o sal de ditrifluoroacetato: C₅₇H₉₀F₆N₁₀O₂₀, peso molecular da fórmula = 1349,4.

EXEMPLO 18



Parte A: Preparação de Guanidina

A uma solução agitada do trifluoroacetato de amina de partida do Exemplo 1 (145 mg, 0,137 mmol) e bicarbonato de sódio 1M (150 µl, 0,150 mmol) em metanol absoluto (5 ml) é adicionado ácido aminoiminometanosulfônico (30 mg, 0,242 mmol). Após um período de 1,5 h, o solvente é removido em vácuo. HPLC de fase invertida preparativa (C18) do resíduo, eluindo-se com acetonitrilo/água (0,1% de ácido trifluoroacético), é seguida por liofilização das fracções contendo produto para dar o sal de trifluoroacetato de guanidina: C₅₄H₈₄F₃N₁₁O₁₇, peso molecular da fórmula = 1216,33.

Parte B: Redução de Nitrilo

De um modo semelhante ao descrito no Exemplo 2, o nitrilo da Parte A é reduzido e o produto acima ilustrado é isolado como sal de bistrifluoroacetato: C₅₆H₈₉F₆N₁₁O₁₉, peso molecular da fórmula = 1334,39.

Os seguintes exemplos não limitativos ilustram composições representativas contendo os compostos da invenção.

EXEMPLO DE COMPOSIÇÃO A

1000 comprimidos, cada um contendo 500 mg do composto do Exemplo A, são preparados partir da seguinte formulação:

<u>Composto</u>	<u>Gramas</u>
Composto do Exemplo 4	500
Amido	750
Fosfato de cálcio dibásico, hidratado	5000
Estearato de Cálcio	2,5

Os ingredientes em pó muito fino são bem misturados e granulados com 10 por cento de pasta de amido. A granulação é seca e comprimida para se obterem comprimidos.

EXEMPLO B

1000 cápsulas de gelatina rijas, cada uma contendo 500 mg do composto, são preparadas a partir da seguinte formulação:

<u>Composto</u>	<u>Gramas</u>
Composto do Exemplo 4	500
Amido	250
Lactose	750
Talco	250
Estearato de Cálcio	10

Uma mistura uniforme dos ingredientes é preparada por combinação e utilizada para se encherem cápsulas de gelatina rijas de duas peças.

EXEMPLO C

Uma composição de aerossol pode ser preparada com a seguinte formulação:

	<u>Por Lata</u>
Composto do Exemplo 4	24 mg
Lecitina NF Líquida Concentrada	1,2 mg
Triclorofluorometano, NF	4,026 g
Diclorodifluorometano, NF	12,15 g

EXEMPLO D

250 mililitros de uma solução injectável podem ser preparados através de procedimentos convencionais com a seguinte formulação:

Dextrose	12,5 g
Água	250 ml
Composto do Exemplo 4	400 mg

Os ingredientes são combinados e depois disso esterilizados para uso.

PREPARAÇÃO DOS MATERIAIS DE PARTIDA:

Os compostos onde R^1 é dimetiltridecilo e R_1 é OH, R_2 é H, R_3 é

CH_2CONH_2 , R_4 é CH_3 e R_6 é OH podem ser produzidos por cultivo de *Zalerion arboricola* ATCC 20868 num meio nutritivo contendo manitol como fonte primária de carbono conforme descrito na Patente dos E.U. No. 5.021.341, publicada a 4 de Junho de 1991.

Os compostos nos quais R_3 é H e R^1 é 11-metiltridecilo podem ser produzidos por cultivo de *Aspergillus sydowi* em meio nutritivo conforme descrito em *J. Antibiotics* XL (No. 3) p.28 (1987).

Os compostos nos quais R_3 é CH_3 e R^1 é linoleílo podem ser produzidos por cultivo de *Aspergillus nidulans* NRRL 11440 em meio nutritivo conforme descrito na Patente dos E.U. No. 4.288.549, publicada a 8 de Setembro de 1981.

Os compostos nos quais R_3 é CH_2CN podem ser produzidos por reacção de um composto que tenha um grupo carboxamida na posição correspondente com excesso de cloreto cianúrico num solvente aprótico. Nesta reacção podem ser empregues peneiros moleculares. Após conclusão da reacção, os peneiros, se empregues, são removidos, e o filtrado concentrado para se obter o composto nitrilo conforme mais integralmente descrito na Patente dos E.U. No. 5.348.940, publicada a 20 de Setembro de 1994.

Os compostos nos quais R_3 é $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ podem ser produzidos por redução química ou catalítica do nitrilo. É convenientemente realizada empregando-se um grande excesso molar de boro-hidreto de sódio com cloreto de cobalto conforme mais integralmente descrito no pedido de patente pendente Ser. No. 936.558, realizado a 3 de Setembro de 1992

Os compostos nos quais R_3 é $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ podem também ser directamente preparados a partir da carboxamida empregando-se um grande excesso molar de diborano.

Os compostos nos quais R_5 é OH ou OSO_3H são descritos nos Pedidos de Patente Europeia 0 431 350 e 0 462 531 pela Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

Os materiais de partida nos quais R^I é um grupo diferente daquele do produto natural podem ser obtidos por desacilação do grupo lipofílico do produto natural submetendo-se o produto natural num meio nutritivo a uma enzima de desacilação até que ocorra uma desacilação substancial, tendo a dita enzima sido primeiramente obtida por cultivo de um microorganismo da família *Pseudomonadaceae* ou *Actinoplanaceae*, conforme descrito em Experientia 34, 1670 (1978) ou na Patente dos E.U. No. 4.293.482, recuperando-se o ciclopeptídeo desacilado, e depois disso acilando-se o ciclopeptídeo desacilado por mistura com um éster apropriado activo $R^I\text{COX}$ para se obter o Composto A com o grupo acilo desejado.

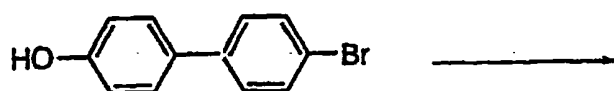
Os ésteres activos $R^I\text{COX}$ podem ser preparados através de métodos conhecidos dos químicos peritos conforme ilustrado nos seguintes exemplos. Embora qualquer éster activo seja apropriado, os compostos são ilustrados com ésteres de pentafluorofenilo.

Preparação de Cadeias Laterais de Alcoxi Terfenilo

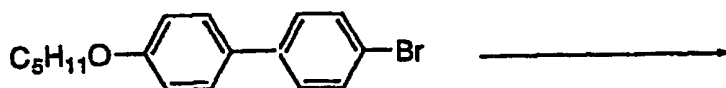
Os ésteres do ácido terfenilcarboxílico podem ser preparados

através da seguinte sequência de reacções, ilustradas com um exemplo específico da forma que se segue:

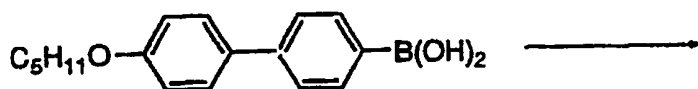
A. Preparação de ácido terfenilcarboxílico substituído com pentiloxi



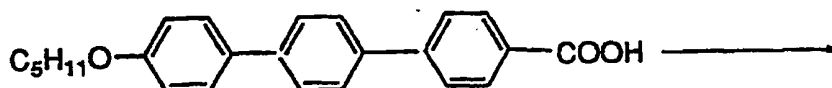
(a)



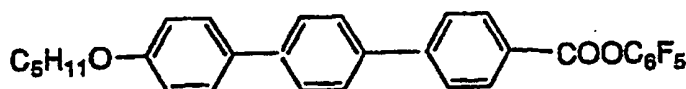
(b)



(c)



(d)



(e)

Parte A: 4-(4-n-Pentiloxifenil) bromobenzeno

A uma solução agitada de 25,5 g de 4-(4-bromofenil)fenol (Composto (a)) em 400 mL de dimetilsulfóxido adicionaram-se 40,9 mL de NaOH 2,5 N, seguidos por 12,7 mL de brometo de n-pentilo, e aqueceu-se a

mistura resultante a 70°C durante 18 horas para se obter na mistura o composto (b). A mistura foi repartida entre 1000 mL de acetato de etilo e 500 mL de água e a partir da fase orgânica, após lavagem com água e salmoura e secagem, obtiveram-se 30,9 gramas de Composto (b) como um sólido branco.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 0,93 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,41 (m, 4H), 1,79 (m, 2H), 3,97 (t, J=6,6 Hz, 2H), 6,94 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,39 (d, J=8,6 Hz, 2H), 7,45 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,51 (d, J=8,6 Hz, 2H).

Parte B: Ácido 4-(4-n-Pentiloxifenil)fenilborónico

A uma suspensão agitada de 1,0 grama de Composto (b) em 20 mL de tetra-hidrofurano anidro a -78°C sob uma atmosfera de azoto adicionou-se 1,32 mL de n-butil lítio 2,5 M em hexanos. Após 15 minutos, adicionaram-se 0,760 mL de borato de tri-isopropilo, continuando-se a agitação a -78°C durante 15 minutos e em seguida a 25°C durante 40 minutos. A mistura foi acidificada e repartida entre éter e água para se obter o composto (c) de ácido borónico na mistura reaccional. O composto foi recuperado por lavagem com água e salmoura e secagem para se obterem 750 mg de ácido 4-(4-n-pentiloxifenil)fenilborónico como sólido branco com o seguinte ^1H NMR.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 0,89 (t, J=7,2 Hz, 3H), 1,38 (m, 4H), 1,72 (m, 2H), 3,99 (t, J=6,5 Hz, 2H), 6,99 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,57 (d, J=8,2 Hz, 2H), 7,60 (d, J=8,8 Hz, 2H), 7,83 (d, J=8,2 Hz, 2H).

Parte C: 4''-(n-Pentiloxi)-[1,1':4',1''-terfenil]-4-carboxilato de pentafluorofenilo

A uma mistura agitada de 1,0 grama do ácido borónico e 0,0874

mL de ácido 4-iodobenzóico, em 11 mL de etanol e 30 mL de tolueno, adicionaram-se 5,3 mL de uma solução aquosa de carbonato de sódio 2 M seguindo-se 204 mg de tetrakis(trifenilfosfina)paládio e a mistura reaccional foi aquecida sob refluxo (100°C) durante 18 horas. Depois disso, a mistura foi arrefecida, acidificada e repartida entre acetato de etilo e água. A fase orgânica foi lavada com água e salmoura e seca, em seguida foi filtrada através de um leito de celite para se obter, após remoção de solvente e purificação com cromatografia instantânea em gel de sílica, ácido 4''-(n-pentiloxi)-[1,1':4',1''-terfenil]-4-carboxílico.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 0,89 (t, 3H), 1,37 (m, 4H), 1,72 (m, 2H), 3,98 (t, 2H), 7,01 (d, 2H).

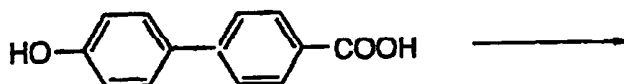
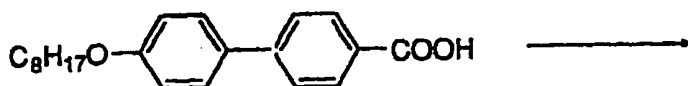
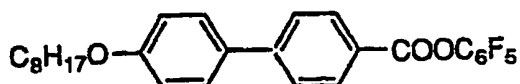
A uma mistura de ácido 4''-(n-pentiloxi)-[1,1':4',1''-terfenil]-4-carboxílico (10,5 mmol) e diciclo-hexilcarbodiimida (10,5 mmol) em acetato de etilo a 0°C adiciona-se pentafluorofenol (11,5 mmol). A mistura é agitada a 25°C durante um período de 18 h, produzindo-se um precipitado. A mistura é filtrada. O filtrado é lavado com água e salmoura e seco com sulfato de magnésio. O solvente é removido em vácuo para se obter 4''-(n-pentiloxi)-[1,1':4',1''-terfenil]-4-carboxilato de pentafluorofenilo, $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{F}_5\text{O}_3$, Peso Molecular = 526,5.

Preparação de Cadeias Laterais de Alcoxi Bifenilo

Os ésteres do ácido bifenilcarboxílico podem ser obtidos através da seguinte sequência de reacções, ilustrada da forma que se segue:

A.

Preparação de ácido Octiloxibifenilcarboxílico



O ácido é preparado conforme descrito na EP 462531 pela Fujisawa Pharmaceutical Co., Ltd.

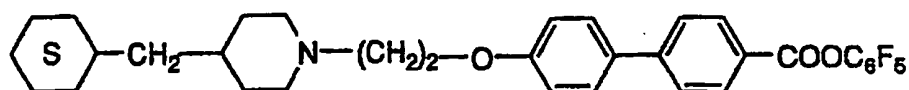
B.

Preparação de Éster pentafluorofenílico

Adiciona-se pentafluorofenol (11,5 mmol) a 0°C a uma mistura de 10,5 mmol de ácido 4'-n-octiloxi[1,1'-bifenil]-4-ilcarboxílico e 10,5 mmol de diciclo-hexilcarbodiimida em acetato de etilo. A mistura é agitada a 25°C durante um período de 18 horas depois do qual se forma um precipitado. A mistura reaccional é filtrada, o filtrado lavado com água e salmoura e seco, o solvente removido em vácuo para se obter 4'-n-octiloxi[1,1'-bifenil]-4-ilcarboxilato de pentafluorofenilo, $C_{27}H_{25}F_5O_3$, Peso Molecular 492,5.

Preparação de Cadeias Laterais de Aminoetiloxi Bifenilo

Preparação de Éster Pentafluorofenílico do ácido 4'-(2-[4-Ciclo-hexilmetilpiperidin-1-il]etoxi)-[1,1'-bifenil]-4-ilcarboxílico,



Parte A: Preparação de 4-Ciclo-hexilmetilpiridina

Dissolve-se 4-benzilpiperidina em ácido acético glacial contendo PtO_2 (aproximadamente 50 por cento em peso). Utiliza-se um hidrogenador Paar e o vaso reaccional é cheio com H_2 e pressurizado até 3 atm. A mistura é agitada durante tempo suficiente para se dar a redução do anel aromático para o produto completamente saturado o que é determinada pelo consumo de 3 equivalentes molares de H_2 . O sólido preto é filtrado e o ácido acético removido por evaporação sob pressão reduzida para se obter o produto como um sal de acetato.

Parte B: Preparação de 1-(2-Hidroxietil)-4-ciclo-hexilmetil-piperidina

O produto da Parte A (1,0 equivalente) é dissolvido em diclorometano contendo uma quantidade equimolar de diisopropiletil amina. Adiciona-se óxido de etileno (10 eq.) e a mistura é agitada até o material de partida ser consumido. O produto desejado é obtido por remoção do solvente em vácuo seguida de purificação por cromatografia em coluna.

Parte C: Preparação de ácido 4'-(2-[4-ciclo-hexilmetilpiperidina-1-il]eto-xi)-[1,1'-bifenil]-4-ilcarboxílico

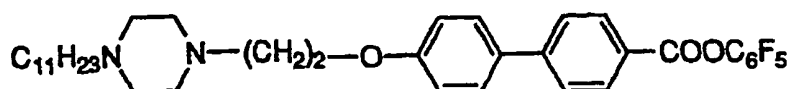
Dissolve-se éster metílico do ácido 4'-hidroxi-[1,1'-bifenil]-4-

ilcarboxílico (1,0 eq.) em diclorometano e trifenilfosfina (1,3 eq.) e adiciona-se o composto de hidroxietilo (1,0 eq.) da Parte B. Em seguida, adiciona-se azodicarboxilato de etilo (1,3 eq.) e a mistura é agitada até o material de partida ser consumido. A mistura é diluída com diclorometano e lavada com água. A camada orgânica é seca com MgSO_4 e filtrada. O solvente é removido em vácuo e o resíduo é dissolvido em etanol. É adicionado um excesso de hidróxido de sódio 3N e a mistura é agitada durante várias horas. A reacção é neutralizada com HCl 2N e é extraída com acetato de etilo. A camada de acetato de etilo é seca com MgSO_4 , filtrada e o solvente vaporizado sob pressão reduzida. O produto desejado é obtido numa forma substancialmente pura através de cromatografia em coluna.

Parte D: Preparação do Éster Pentafluorofenílico

Dissolve-se o ácido carboxílico (1,0 eq.) e diciclo-hexilcarbodi-imida (1,0 eq.) em acetato de etilo e arrefece-se a solução para 0°C . Adiciona-se pentafluorofenol (1,05 eq.), em seguida remove-se o banho de gelo e agita-se a reacção à temperatura ambiente durante 18-24 h. Adiciona-se um volume igual de éter, filtra-se a mistura e remove-se o solvente em vácuo. O produto (Peso Molecular = 587, 64) pode ser obtido numa forma suficientemente pura para ser utilizado para acilação do núcleo.

Preparação de Éster Pentafluorofenílico do ácido 4'-(2-[4-Undecilpiperizin-1-il]-etoxi)[1,1'-bifenil]-4-ilcarboxílico



Parte A: **Preparação de 4-Undecilpiperazina**

Dissolve-se excesso de piperazina (5 eq.) e de 1-bromoundecano (1,0 eq.) em diclorometano e deixa-se reagir durante a noite. A mistura é extraída com bicarbonato de sódio aquoso e a camada orgânica seca com sulfato de sódio. A mistura é filtrada, o solvente removido em vácuo e o resíduo purificado por cromatografia em coluna.

Parte B: **Preparação de 1-(2-Hidroxietil)-4-undecilpiperazina**

Dissolve-se a piperazina substituída anterior (1,0 eq.) em n-propanol e adiciona-se bromoetanol (1,0 eq.) juntamente com diisopropiletil amina (1,1 eq.). Após várias horas, o solvente é removido em vácuo e o resíduo dissolvido em diclorometano. A camada orgânica é lavada com água e em seguida com bicarbonato de sódio. A camada orgânica é seca com MgSO_4 e filtrada. A remoção do solvente em vácuo é seguida de purificação por cromatografia em coluna.

Parte C: **Preparação do Ácido Carboxílico**

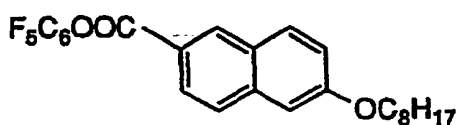
O procedimento é essencialmente o mesmo que o descrito na Parte C acima com a exceção de que a hidroxietil piperazina de acima é substituída pela hidroxietil piperidina.

Parte D: **Preparação do Éster Pentafluorofenílico**

O procedimento é idêntico ao da Parte D acima com a exceção de

que se utiliza ácido bifênil carboxílico substituído com piperazinilo. O produto (Peso Molecular = 646,75) pode ser obtido numa forma suficientemente pura para ser utilizado "como tal" em acilação do núcleo.

Preparação de 6-Octiloxi-2-naftoato de Pentafluorofenilo



A uma suspensão de ácido 6-octiloxi-2-naftóico (3,15 g, 10,5 mmol) e díciclo-hexilcarbodiimida em acetato de etilo (25 ml) a 0°C, adicionou-se pentafluorofenol (2,12 g, 11,5 mmol). A mistura foi agitada a 25°C durante um período de 18 h. O precipitado foi removido por filtração. O filtrado foi lavado com água (2 × 150 ml) e salmoura e seco com sulfato de magnésio. Remoção do acetato de etilo em vácuo deu 5,4 g de 6-octiloxi-2-naftoato de pentafluorofenilo como um sólido: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 0,88 (t, 3, $J = 6,9$ Hz), 4,10 (t, 2, $J = 6,6$ Hz), 7,16 (d, 1), 7,21 (d, 1), 7,80 (d, 1), 7,87 (d, 1), 8,08 (dd, 1), 8,69 (d, 1).

Alberto C. Alves

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

(1) INFORMAÇÃO GERAL:

- (i) REQUERENTE: BOUFFARD, FRANCES A
- (ii) TÍTULO DA INVENÇÃO: NOVOS CICLO-HEXAPEPTÍDEOS ANTI-FÚNGICOS
- (iii) NÚMERO DE SEQUÊNCIAS: 24
- (iv) MORADA PARA CORRESPONDÊNCIA:
 - (A) DESTINATÁRIO: ELLIOTT KORSSEN
 - (B) RUA: 126 E. LINCOLN AVE., P.O. BOX 2000
 - (C) CIDADE: RAHWAY
 - (D) ESTADO: NJ
 - (E) PAÍS: USA
 - (F) CÓDIGO POSTAL: 07065
- (v) FORMA LEGÍVEL EM COMPUTADOR
 - (A) TIPO DE MEIO: Disquete
 - (B) COMPUTADOR: Compatível com PC IBM
 - (C) SISTEMA OPERATIVO: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) PROGRAMAS INFORMÁTICOS: PatentIn Release #1.0, Versão #1.25
- (vi) DADOS DO CORRENTE PEDIDO DE PATENTE:
 - (A) NÚMERO DO PEDIDO: US
 - (B) DATA DO PEDIDO: 26-JAN-1995
 - (C) CLASSIFICAÇÃO:
- (viii) INFORMAÇÃO DO REPRESENTANTE/AGENTE
 - (A) NOME: KORSSEN, ELLIOT
 - (B) NÚMERO DE REGISTO: 32.705
 - (C) NÚMERO DE REFERÊNCIA/DOSSIER: 19354
- (ix) INFORMAÇÃO DE TELECOMUNICAÇÃO:
 - (A) TELEFONE: 908-594-5493
 - (B) FAX: 908-594-4005

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:1:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
 - (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
 - (B) TIPO: aminoácido
 - (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
 - (D) TOPOLOGIA: circular
- (ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo
- (iii) HIPOTÉTICA: NÃO
- (iv) ANTI-SENTIDO: NÃO

Alberto Carlos

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:1:

Xaa Thr Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:2:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:2:

Xaa Thr Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:3:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:3:

Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:4:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:4:

Xaa Ser Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:5:

Alberto Carlos

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:5:

Xaa Ser Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:6:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:6:

Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:7:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:7:

Xaa Thr Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:8:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

Alberto C. Mendes

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:8:

Xaa Thr Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:9:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:9:

Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:10:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:10:

Xaa Ser Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:11:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:11:

Xaa Ser Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:12:

Alberto Carlos

- (1) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:12:

Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

- (2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:13:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:13:

Xaa Thr Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

- (2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:14:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:14:

Xaa Thr Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

- (2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:15:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:15:

Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:16:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:16:

Xaa Ser Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:17:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:17:

Xaa Ser Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:18:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:18:

Xaa Ser Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:19:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

Alberto Carlos

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:19:

Xaa Thr Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:20:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:20:

Xaa Thr Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:21:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:21:

Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:22:

(i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:

- (A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
- (B) TIPO: aminoácido
- (C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
- (D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:22:

Xaa Ser Xaa Xaa Ser Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:23:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:23:

Xaa Ser Xaa Xaa Thr Xaa
1 5

(2) INFORMAÇÃO PARA NO ID SEQ:24:

- (i) CARACTERÍSTICAS DA SEQUÊNCIA:
(A) COMPRIMENTO: 6 aminoácidos
(B) TIPO: aminoácido
(C) TIPO DE CADEIA: desconhecido
(D) TOPOLOGIA: circular

(ii) TIPO DE MOLÉCULA: peptídeo

(xi) DESCRIÇÃO DA SEQUÊNCIA: NO ID SEQ:24:

Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

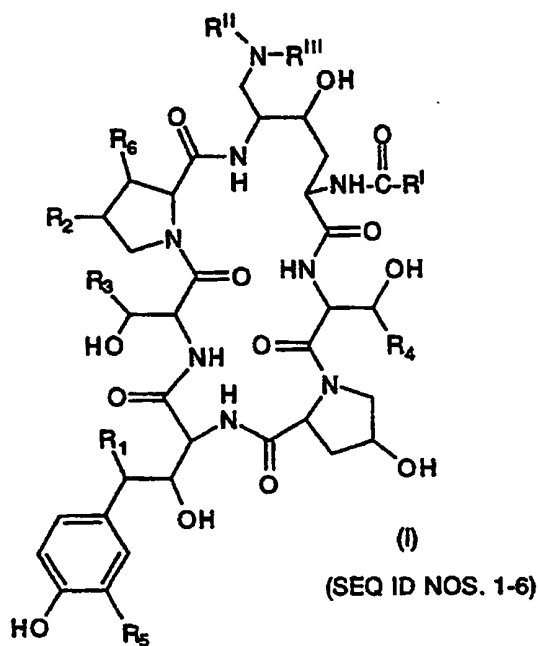
Lisboa, 5 de Dezembro de 2001

Alberto Canelas

ALBERTO CANELAS
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. Um composto com a fórmula



em que

R_1 é H ou OH;

R_2 é H, CH_3 ou OH;

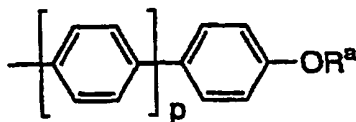
R_3 é H, CH_3 , CH_2CONH_2 , CH_2CN , $CH_2CH_2NR^{II}R^{III}$, $CH_2CH_2N(R^{IV})_3^+X^-$ ou $CH_2CH_2NH(C=NH)R^{VII}$;

R_4 é H ou CH_3 ;

R_5 é H, OH ou OSO_3H ;

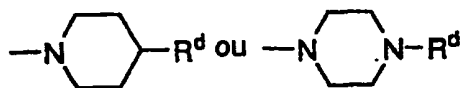
R_6 é H ou OH;

R^I é alquilo C_9-C_{21} ,
alcenilo C_9-C_{21} ,
alcoxifenilo C_1-C_{10} ,
alcoxinaftilo C_1-C_{10} , ou



em que

R^a é alquilo C_1-C_{10} ; ou $(CH_2)_qNR^bR^c$ onde R^b e R^c são independentemente H, alquilo C_1-C_{10} ou R^b e R^c juntamente com o átomo de azoto são



em que

R^d é alquilo C_1-C_{16} , ciclo-hexilmetilo, fenilo ou benzilo;

p é 1 ou 2; e

q é 2, 3 ou 4;

R^{II} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}OH$, $C=NH(R^{VII})$, $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)-$, $(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $CO(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $COCH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$;

R^{III} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH-$, $(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, ou

R^{II} e R^{III} considerados juntos são

$-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$, ou $-(CH_2)_2NH(CH_2)_2-$;

R^{IV} é alquilo C_1-C_4 ;

R^V é H ou alquilo C_1-C_4 ;

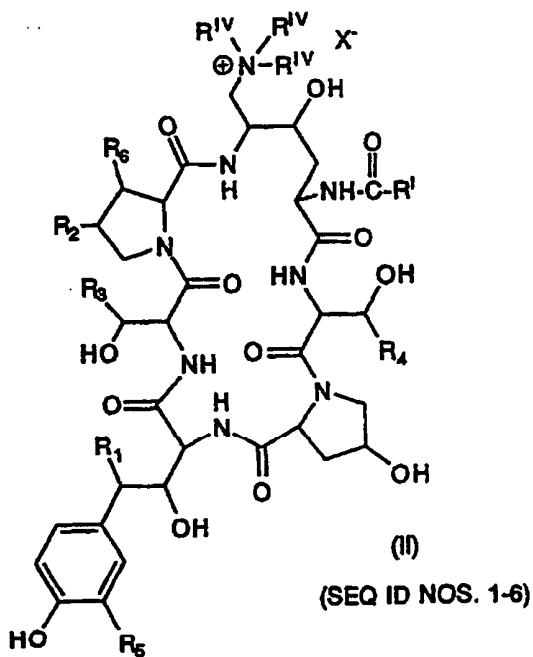
R^{VI} é H ou alquilo C_1-C_4 ;

R^{VII} é H, alquilo C_1-C_4 ou NH_2 ;

X é Cl, Br ou I; ou

um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

2. Um composto com a fórmula



em que

R_1 é H ou OH;

R_2 é H, CH_3 ou OH;

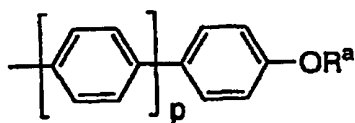
R_3 é H, CH_3 , CH_2CONH_2 , CH_2CN , $CH_2CH_2NR^{III}$, $CH_2CH_2N(R^{IV})_3^+X^-$ ou $CH_2CH_2NH(C=NH)R^{VII}$;

R_4 é H ou CH_3 ;

R_5 é H, OH ou OSO_3H ;

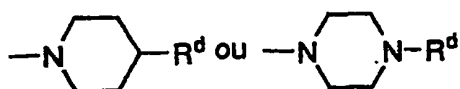
R_6 é H ou OH;

R^I é alquilo C_9-C_{21} ,
alcenilo C_9-C_{21} ,
alcoxifenilo C_1-C_{10} ,
alcoxinaftilo C_1-C_{10} , ou



em que

R^a é alquilo C_1-C_{10} ; ou $(CH_2)_qNR^bR^c$ onde R^b e R^c são independentemente H, alquilo C_1-C_{10} ou R^b e R^c juntamente com o átomo de azoto são



em que

R^d é alquilo C_1-C_{16} , ciclo-hexilmetilo, fenilo ou benzilo;

p é 1 ou 2;

q é 2, 3 ou 4;

R^{IV} é alquilo C_1-C_4 ; e

X é Cl, Br ou I.

3. O composto conforme definido na Reivindicação 1, em que

R_1 é OH;

R_2 é H;

R_3 é $CH_2CH_2NH_2$, $CH_2CH_2N(CH_3)_3^+T^-$ ou $CH_2CH_2NH(C=NH)NH_2$;

R_4 é CH_3 ;

R_5 é H;

R_6 é OH;

R^I é 9,11-dimetiltridecilo;

R^{II} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}OH$, $C=NH(R^{VII})$, $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)-$, $(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $CO(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $COCH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$; e

R^{III} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH-$, $(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$.

4. O composto conforme definido na reivindicação 2, em que

R_1 é OH;

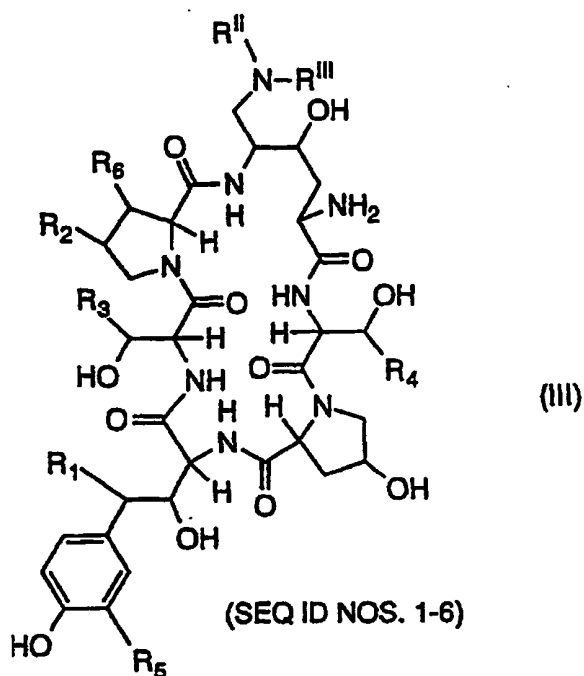
R_2 é H;

R_3 é $CH_2CH_2NH_2$, $CH_2CH_2N(CH_3)_3^+T^-$ ou $CH_2CH_2NH(C=NH)NH_2$;

R_4 é CH_3 ;

R_5 é H;
 R_6 é OH;
 R^I é 9,11-dimetiltridecilo;
 R^{IV} é CH_3 , e
 X é I.

5. Um composto com a fórmula



em que

R_1 é H ou OH;

R_2 é H, CH_3 ou OH;

R_3 é H, CH_3 , CH_2CONH_2 , CH_2CN , $CH_2CH_2NR^{II}R^{III}$, $CH_2CH_2N(R^{IV})_3^+X^-$ ou
 $CH_2CH_2NH(C=NH)R^{VII}$;

R_4 é H ou CH_3 ;

R_5 é H, OH ou OSO_3H ;

R_6 é H ou OH;

R^{II} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}OH$, $C=NH(R^{VII})$, $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$,
 $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)-$
 $(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $CO(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$,
 $COCH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$;

R^{III} é H, alquilo C_1-C_4 , $(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}N(R^{IV})_3^+X^-$, $(CH_2)_{2-4}NH-$
 $(C=NH)R^{VII}$, $(CH_2)_{1-4}CH(NR^VR^VI)(CH_2)_{1-4}NR^VR^VI$, $(CH_2)_{2-4}NR^V(CH_2)_{2-4}NR^VR^VI$; ou

R^{II} e R^{III} considerados juntos são
 $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$ ou $-(CH_2)_2NH(CH_2)_2-$;

R^{IV} é alquilo C_1-C_4 ;

R^V é H ou alquilo C_1-C_4 ;

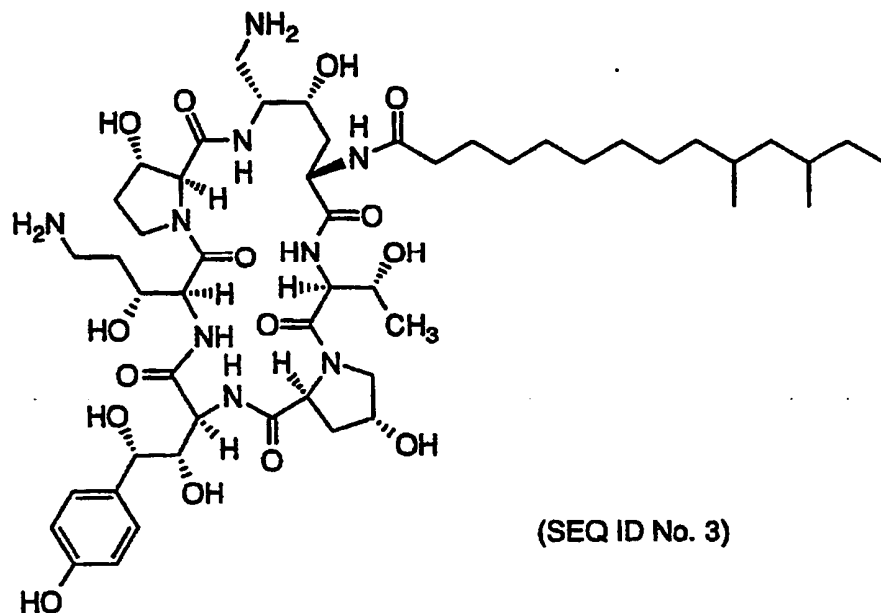
R^{VI} é H ou alquilo C_1-C_4 ;

R^{VII} é H, alquilo C_1-C_4 ou NH_2 ;

X é Cl, Br ou I; ou

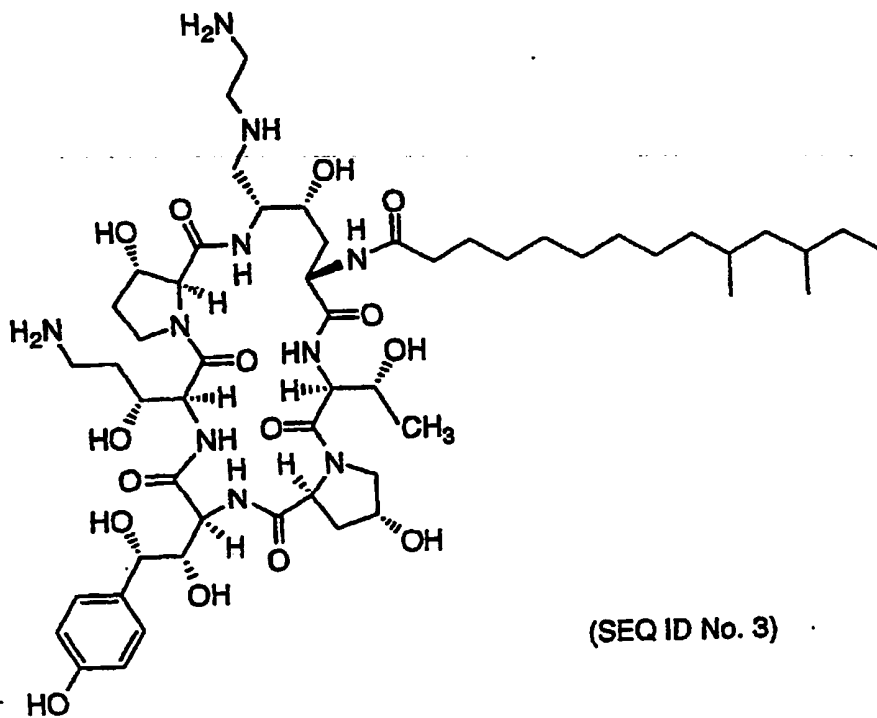
um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

6. O composto conforme definido na Reivindicação 1 com a fórmula



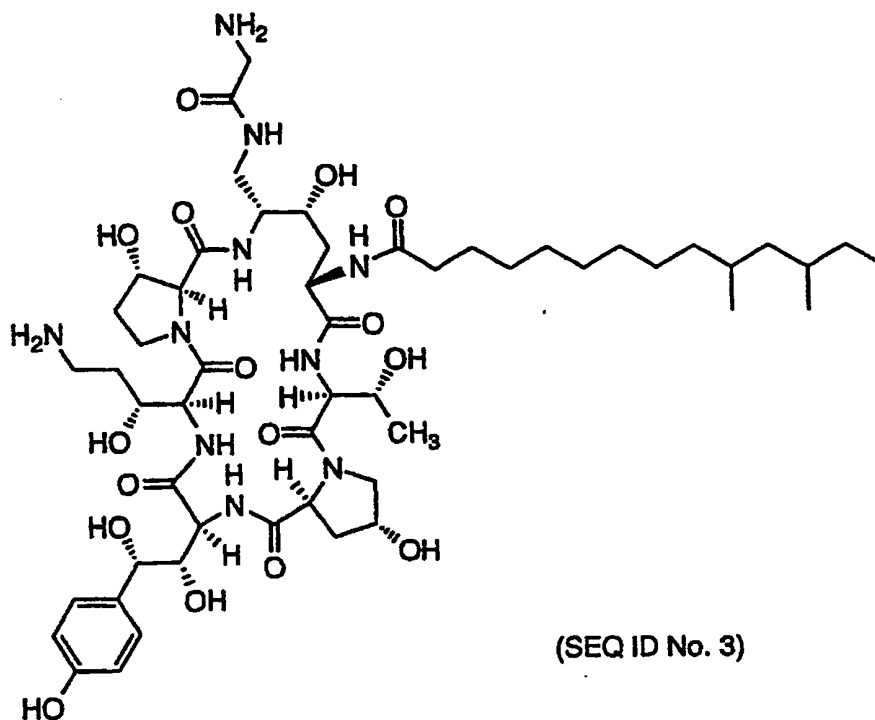
ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

7. O composto conforme definido na Reivindicação 1 com a fórmula



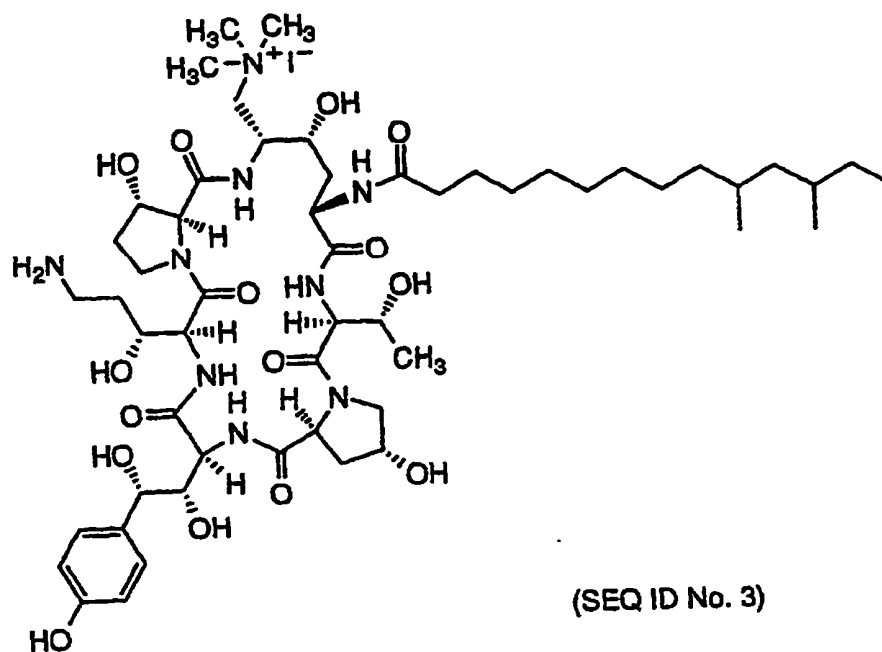
ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

8. O composto conforme definido na Reivindicação 1 com a fórmula

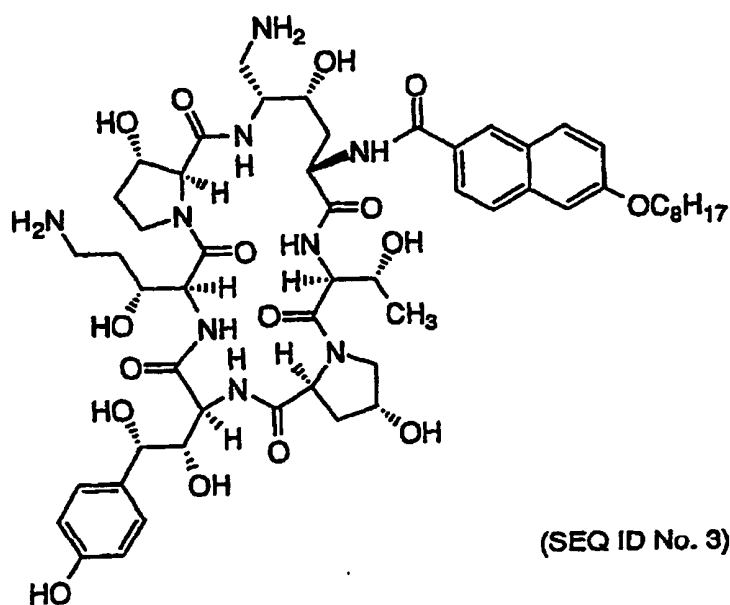


ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

9. O composto conforme definido na Reivindicação 2 com a fórmula

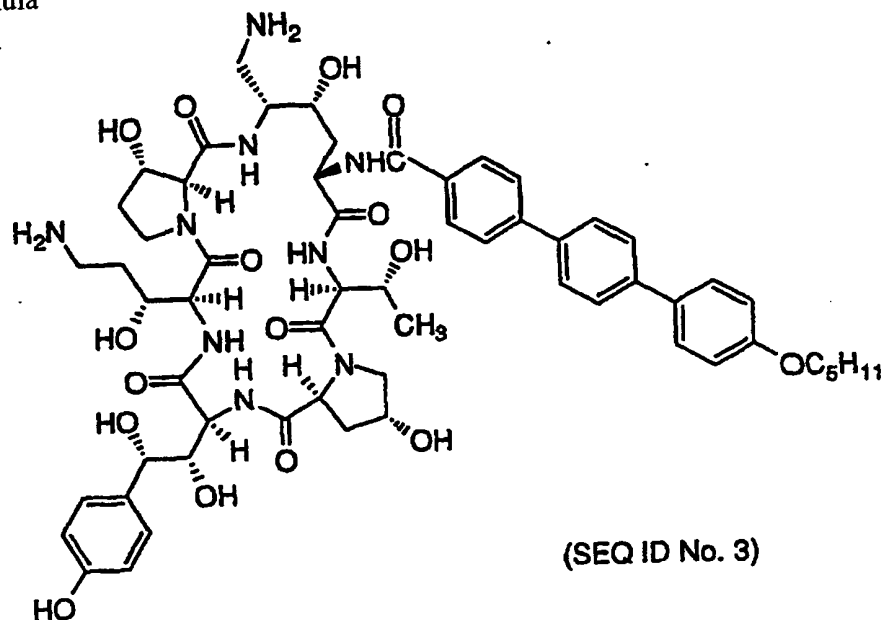


10. O composto conforme definido na Reivindicação 1 com a fórmula



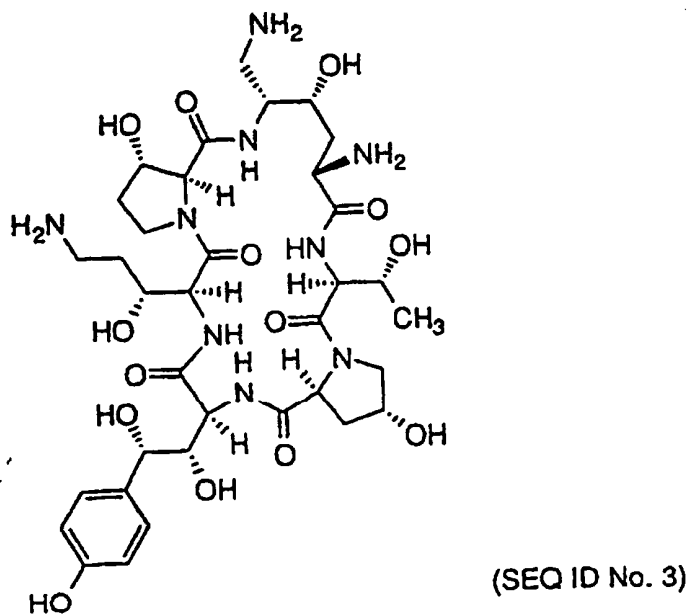
ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo.

11. O composto conforme definido na Reivindicação 1 com a fórmula



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

12. O composto conforme definido na Reivindicação 5 com a fórmula



13. Uma composição anti-fúngica compreendendo uma quantidade eficaz de um composto conforme definido na Reivindicação 1 e um transportador farmacêuticamente aceitável para esse fim.

14. Uma composição de acordo com a Reivindicação 13 numa forma de dosagem unitária na qual o composto da Reivindicação 1 está presente numa quantidade de 10 mg a 200 miligramas.

15. O uso de um composto conforme definido na Reivindicação 1 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de infeções fúngicas.

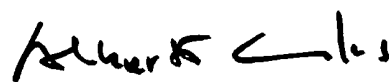
16. O uso de um composto conforme definido na Reivindicação 1 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de infeções fúngicas provocadas por *Candida sp.*

17. O uso de um composto conforme definido na Reivindicação 1 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de infeções fúngicas provocadas por *Aspergillus sp.*

18. O uso de um composto conforme definido na Reivindicação 1 para o fabrico de um medicamento para o tratamento de uma infeção *Pneumocystis carinii*.

19. O uso de um composto conforme definido na Reivindicação 1 para o fabrico de um medicamento para a prevenção de uma infeção *Pneumocystis carinii*.

Lisboa, 5 de Dezembro de 2001



ALBERTO CANELAS
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14,
1200 LISBOA