

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

(22) Data de pedido: **2006.06.21**

(30) Prioridade(s):

(43) Data de publicação do pedido: **2009.04.15**

(45) Data e BPI da concessão: **2014.06.11**
165/2014

(73) Titular(es):

PIRAMAL ENTERPRISES LIMITED
PIRAMAL TOWER GANPATRAO KADAM MARG
LOWER PAREL MUMBAI 400 013 IN

(72) Inventor(es):

MANOJ SHUKLA IN
PRAMOD KUMAR JADHAV IN
MAGGIE RATHOS IN
KALPANA JOSHI IN
MEENAKSHI SIVAKUMAR IN

(74) Mandatário:

ÁLVARO ALBANO DUARTE CATANA
AVENIDA MARQUÊS DE TOMAR, Nº 44, 6º 1069-229 LISBOA
PT

(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE FLAVONA ENANTIOMERICAMENTE PUROS PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS PROLIFERATIVOS E PROCESSOS PARA A SUA PREPARAÇÃO**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO REFERE-SE A UM ENANTIÓMERO (+)-TRANS ENANTIOMERICAMENTE PURO DE UM COMPOSTO REPRESENTADO PELA FÓRMULA (I): EM QUE R1, R2, R3 R4 E R9 SÃO COMO DEFINIDO NA MEMÓRIA DESCRITIVA; SEUS INTERMEDIÁRIOS ENANTIOMERICAMENTE PUROS, A PROCESSOS PARA A PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS ENANTIOMERICAMENTE PUROS E SEUS INTERMEDIÁRIOS, E A UMA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA QUE COMPREENDE O COMPOSTO ENANTIOMERICAMENTE PURO. O COMPOSTO DE FÓRMULA (I) É ÚTIL PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS OU DISTÚRBIOS MEDIADOS PELO INIBIÇÃO DA QUINASE DEPENDENTE DE CICLINA, TAL COMO O CANCRO.

DESCRÇÃO

"DERIVADOS DE FLAVONA ENANTIOMERICAMENTE PUROS PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS PROLIFERATIVOS E PROCESSOS PARA A SUA PREPARAÇÃO"

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se ao enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro de pirrolidinas substituídas com flavonas representado pela fórmula (I), a intermediários enantiomericamente puros do mesmo, a processos para a sua respectiva preparação, à sua utilização como componentes activos em fármacos, particularmente para o tratamento de distúrbios proliferativos compreendendo os mesmos.

Antecedentes da Invenção

Reguladores do ciclo celular têm ganho grande importância em doenças proliferativas. As quinases dependentes de ciclina (CDKs) constituem uma família de enzimas que ficam activas em fases específicas do ciclo celular.

Uma grande variedade de doenças são caracterizadas pela proliferação celular descontrolada que resulta de alguma falha nas vias reguladoras no ciclo celular [por exemplo, a sobre-expressão de ciclinas ou deleções de genes que codificam as CKIs (proteínas inibidoras da CDK)]. A sobre-expressão da ciclina D1 leva à desregulação da actividade quinase da CDK4-D1 e desse modo contribui para a proliferação celular descontrolada. Conhecendo-se o papel das CDKs na regulação do ciclo celular e com a constatação de que aproximadamente 90% de todas as neoplasias estão associadas à hiperactivação das CDKs que leva à inactivação da via de Rb, as CDKs são alvos atraentes para o desenvolvimento de fármacos anti-tumorais.

O proeminente papel dos complexos CDK/ciclina D1 quinase, na indução da proliferação celular e sua desregulação em tumores, faz com que sejam alvos ideais para o

desenvolvimento de agentes anti-proliferativos altamente específicos.

Flavopiridol e seus análogos são bastante conhecidos como inibidores eficazes da CDK e oferecem uma abordagem potencial para a terapia anti-proliferativa.

O pedido de patente US 2004/0106581 publicado e co-pendente do requerente descreve novos compostos úteis na inibição das CDKs e que tem uma boa selectividade e citotoxicidade contra várias linhagens celulares proliferativas. Este pedido de patente é aqui incorporado por referência na sua totalidade. Os novos compostos divulgados no pedido de patente acima referido, têm dois centros quirais e, portanto, podem existir como quatro enantiómeros, isto é, (+)-*trans*, (-)-*trans*, (+)-*cis* e (-)-*cis*.

É bem conhecido na técnica que os enantiómeros de um determinado composto químico, apesar de compartilhar composição química idêntica, pode ter acções muito diferentes quando colocados em sistemas biológicos. É muitas vezes o caso de um enantiómero proporcionar os efeitos benéficos enquanto que o enantiómero oposto pode ser prejudicial ou inerte. Desse modo, as vantagens associadas à administração da mistura racémica podem ser mantidas através da utilização de um enantiómero simples do composto, sem efeitos secundários adversos associados.

Os estudos estabelecem especificamente que a actividade inibidora de CDK e a actividade anti-proliferativa é devido ao enantiómero (+)-*trans* de pirrolidinas substituídas com flavonas representado pela fórmula (I) e não pelo enantiómero *trans*-(-).

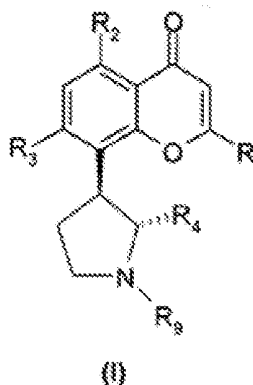
Seria desejável que o enantiómero (+)-*trans* de pirrolidinas substituídas com flavonas, os compostos de fórmula (I), estivesse disponível numa forma substancialmente livre do seu enantiómero (-)-*trans* para

proporcionar um método seguro e o eficaz para o tratamento de doenças ou distúrbios mediados pela inibição de quinases dependentes de ciclina (CDKs) e também para o tratamento de doenças associadas à proliferação celular excessiva, tal como o cancro.

Tendo em vista esta constatação, os presentes inventores desenvolveram um novo processo para a preparação de um enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro de pirrolidinas substituídas com flavonas representados pela fórmula (I).

Sumário da Invenção

A presente invenção refere-se a um composto enantiomericamente puro representado pela fórmula (I) a seguir ou um seu sal farmacêuticamente aceitável;



em que as definições de R_1 , R_2 , R_3 , R_4 e R_5 são dadas mais adiante na descrição detalhada.

Esta invenção também se refere a um processo para a preparação do composto enantiomericamente puro de fórmula (I), ou um seu sal farmacêuticamente aceitável. O processo produz o enantiómero (+)-*trans* com alta pureza química e enantiomérica e com alto rendimento.

Esta invenção também se refere a intermediários utilizados no processo para a preparação do composto enantiomericamente puro de fórmula (I).

Esta invenção refere-se ainda a um processo para a resolução de um composto de fórmula (VIA) e seus derivados, composto este que é um intermediário essencial para a preparação do composto enantiomericamente puro de fórmula (I).

Esta invenção ainda se refere a uma composição farmacêutica para o tratamento de uma doença ou um distúrbio num mamífero, mediado pela inibição de CDKs, que compreende uma quantidade terapêuticamente eficaz do composto enantiomericamente puro de fórmula (I) ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, como ingrediente activo, e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Esta invenção refere-se ainda a uma composição farmacêutica para o tratamento de uma doença ou um distúrbio num mamífero, associado com a proliferação celular excessiva, que compreende uma quantidade terapêuticamente eficaz do composto enantiomericamente puro de fórmula (I) ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, como ingrediente activo, e um veículo farmacêuticamente aceitável.

Esta invenção refere-se ainda a um método para o tratamento de uma doença ou um distúrbio mediado pela inibição de CDK num mamífero em necessidade do mesmo, que compreende a administração ao referido mamífero de uma quantidade eficaz do enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro de um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

Esta invenção refere-se ainda a um método para o tratamento de uma doença ou um distúrbio num mamífero, associado com a proliferação celular excessiva, que compreende uma quantidade terapêuticamente eficaz do composto enantiomericamente puro de fórmula (I) ou um seu

sal farmacologicamente aceitável, como ingrediente activo, e um veículo farmacologicamente aceitável.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS:

Figura 1: HPLC quiral (coluna Chiralcel OD-H (250 x 4,6 mm)) de (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol obtido, tal como descrito no Exemplo 5.

Figura 2: HPLC quiral (coluna Chiralcel OD-H (250 x 4,6 mm)) de (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol obtido tal como descrito no Exemplo 98 (método da técnica anterior).

Figura 3: HPLC quiral (coluna Chiralcel OD-H (250 x 4,6 mm)) de cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, obtido como descrito no Exemplo 10.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Os compostos de fórmula (I) da presente invenção são úteis na inibição de CDKs, em particular de complexos CDK4/ciclinaD1 e encontram utilizada em terapias anti-proliferativas para doenças que se caracterizam por crescimento celular excessivo, tais como cancros, anormalidades cardiovasculares, inflamação e artrite, desordens nefrológicas, parasitologia, psoríase, mal de Alzheimer, distúrbios imunológicas que envolvem a proliferação indesejada de leucócitos, restenose e outros distúrbios proliferativos dos músculos lisos, infecções virais e infecções micóticas.

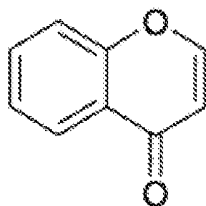
A presente invenção dirige-se especificamente a um composto enantiomericamente puro de fórmula (I) e um seu sal farmacologicamente aceitável. Como se mencionou anteriormente, os compostos divulgados no pedido de patente US N° 2004/0106581 publicado e co-pendente tem dois centros quirais e, portanto, podem existir como

quatro enantiómeros, ou seja, (+)-*trans*, (-)-*trans*, (+)-*cis* e (-)-*cis*. Mais particularmente, a presente invenção refere-se a um enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro de pirrolidinas substituídas com flavonas representado nesta invenção pela fórmula (I).

A eficácia do composto racémico divulgado na publicação do pedido de Patente US N° 2004/0106581 publicado e seus enantiómeros separados foi estudada extensivamente pelos presentes inventores. Observou-se que apenas o enantiómero (+)-*trans* é activo. A presente invenção tornou possível fornecer um enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro representado nesta invenção pela fórmula (I), permitindo dessa forma uma possível redução da dose necessária do fármaco e os seus efeitos secundários.

Estão apresentadas adiante definições de vários termos utilizados para descrever os compostos da presente invenção. Estas definições são aplicáveis aos termos tal como são utilizados ao longo de toda a memória descritiva (a menos que sejam de alguma forma limitados em casos específicos), seja individualmente ou como parte de um grupo maior. Estes termos não devem ser interpretados no sentido literal. Não são definições gerais e só são relevantes para este pedido.

O termos "flavona" ou "cromona" ou seus análogos significam compostos que podem ser representados pela seguinte estrutura básica:



Tal como aqui utilizado, o termo "alquilo" refere-se ao radical de grupos alifáticos saturados, incluindo grupos

alquilo de cadeia linear e grupos alquilo de cadeia ramificada. Além disso, a menos que indicado de outra forma, o termo "alquilo" inclui grupos alquilo não substituídos, bem como grupos alquilo que são substituídos por um ou mais substituintes diferentes.

Exemplos de resíduos alquilo contendo entre 1 e 20 átomos de carbono são os seguintes: metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tetradecilo, hexadecilo, octadecilo e eicosilo, os n-isómeros de todos estes resíduos, isopropilo, isobutilo, 1-metilbutilo, isopentilo, neopentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, iso-hexilo, 2,3,4-trimetil-hexilo, isodecilo, sec-butilo, ou terc-butil .

Os termos "alcoxi", tal como aqui utilizado refere-se a um grupo alquilo, como definido acima, que tem um radical oxigénio a ele ligado. Os grupos alcóxido representativos incluem metoxi, etoxi, propoxi, t-butoxi e semelhantes.

Os termos "alcenilo" referem-se a grupos alifáticos insaturados análogos em comprimento e possível substituição aos alquilos anteriormente descritos, mas que contêm pelo menos uma ligação dupla, por exemplo, 1, 2 ou 3 ligações duplas, desde que as ligações duplas não estejam localizadas dentro um grupo alquilo cíclico, de maneira a resultar num sistema aromático. Exemplos de grupos alcenilo incluem vinilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-butenilo, 2-metil-1-propenilo ou 3-metil-2-butenilo.

Além disso, a menos que indicado de outra forma, os termos "alcenilo" incluem grupos alcenilo não substituídos e substituídos.

O termo "arilo" como aqui utilizado refere-se a grupos hidrocarboneto monocíclicos ou policíclicos que têm até 14 átomos de carbono no anel, em que pelo menos um anel

carbocíclico está presente, que tem um sistema de electrões pi conjugado. Exemplos de resíduos (C₆-C₁₄)-arilo são fenilo, naftilo, bifenilo, fluorenilo ou antraceno. Exemplos de resíduos (C₆-C₁₀)-arilo são fenilo ou naftilo. A menos que seja indicado em contrário, e independentemente de quaisquer substituintes específicos ligados a grupos arilo que são indicados na definição dos compostos da fórmula (I), os resíduos arilo, por exemplo fenilo, naftilo ou fluorenilo, podem, em geral, ser não substituídos ou substituídos por um ou mais, por exemplo 1, 2, 3, 4 ou 5, substituintes idênticos ou diferentes. A menos que seja indicado em contrário, os substituintes que podem estar presentes em grupos arilo substituídos são: halogénio, alquilo, alcenilo, alcinilo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, hidroxilo, ariloxi, amino, ciano, nitro, tiol, imina, amida ou carbonilo (tal como carboxilo, formato, carbamida, um éster, cetona ou aldeído), sulfidrilo, éter silílico, tiocarbonilo (tal como tioéster, tioacetato ou tioformato), sulfonilo, éster de aminoácido, ou um heterociclo que é saturado, parcialmente insaturado ou aromático. Os resíduos arilo podem ser ligados através de qualquer posição desejada, e nos resíduos arilo substituídos, os substituintes podem estar localizados em qualquer posição desejada.

O termo "heterociclo" refere-se a um anel parcialmente insaturado ou aromático saturado contendo cinco ou seis átomos no anel dos quais 1, 2 ou 3 são heteroátomos iguais ou diferentes seleccionados de: azoto, oxigénio e enxofre, e em que o heterociclo é não substituído ou substituído por 1, 2, ou 3 substituintes iguais ou diferentes seleccionados de: halogénio, nitro, ciano, SR₇, C₁-C₄-alquilo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, C₁-C₄-alcoxi, hidroxilo, carboxilo, C₁-C₄-alcoxicarbonilo, C₁-

C_4 alcileno-hidroxilo, $CONH_2$, $CONR_5R_6$, $SO_2NR_5R_6$, cicloalquilo, NR_5R_6 .

O termo "heteroátomo", tal como aqui utilizado, significa um átomo de qualquer elemento que não seja carbono ou hidrogénio. Os heteroátomos preferidos são azoto, oxigénio, enxofre e fósforo.

Halogénio é flúor, cloro, bromo ou iodo, de preferência flúor, cloro ou bromo.

Deve entender-se que "substituição" ou "substituído com" inclui a condição implícita de que esta substituição está de acordo com a valência permitida do átomo substituído e do substituinte, assim como representa um composto estável, que não sofre transformação com facilidade, tais como por rearranjo, ciclização, eliminação, etc.

Deve ser entendido que se supõe que qualquer heteroátomo com valências não satisfeitas possuam o átomo de hidrogénio para satisfazer as valências.

O termo "racémico" ou "racemato", e outros termos semelhantes referem-se a proporções geralmente equimolares de um enantiómero (+) e um enantiómero (-) de um composto numa composição.

O termo "*enantiomericamente puro*" refere-se a um composto ou compostos que são, ou estão presentes num excesso enantiomérico superior a 95%. De preferência, o excesso enantiomérico é superior a 97%. Mais preferencialmente, o excesso enantiomérico é superior a 99%.

O termo "excesso enantiomérico" refere-se a uma diferença entre a quantidade de um enantiómero e a quantidade do outro enantiómero que está presente na mistura de produtos. Desse modo, por exemplo, um excesso enantiomérico de 96% refere-se a uma mistura de produtos com 98% de um enantiómero e 2% do outro enantiómero.

O termo "substancialmente livre" significa que a quantidade de enantiómero (+)-*trans* predomina na composição em relação ao enantiómero (-)-*trans* do composto de fórmula (I). Mais especificamente, isto significa que a quantidade do enantiómero (+)-*trans* em relação ao enantiómero (-)-*trans* em peso é pelo menos cerca de 95%, mais preferencialmente superior a 97%.

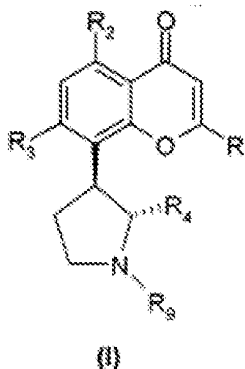
Tal como aqui utilizado, o termo "pró-fármacos" refere-se a formas do composto que são transformadas *in vivo* no composto de origem de acordo com a invenção, por exemplo, por hidrólise no sangue. Desse modo, pró-fármacos são compostos contendo grupos que são removidos por biotransformação antes de exibirem a sua acção farmacológica. Tais grupos incluem porções que são facilmente clivados *in vivo* a partir do composto que as contém, composto este que após a clivagem permanece ou torna-se farmacologicamente activo. Tais grupos cliváveis metabolicamente constituem uma classe bem conhecida dos especialistas na técnica.

O termo "sais farmacologicamente aceitáveis", tal como aqui utilizado, a menos que indicado em contrário, inclui sais de grupos básicos ou ácidos do composto da invenção, grupos estes que são capazes de formar sais. No caso dos compostos de acordo com a fórmula (I) conterem um ou mais grupos ácidos ou básicos, a invenção também compreende os seus sais farmacologicamente ou toxicologicamente aceitáveis correspondentes. Os compostos de fórmula (I) que contêm um ou mais grupos básicos, isto é, grupos que podem ser protonados podem ser utilizados de acordo com a invenção na forma dos seus sais de adição com ácidos inorgânicos ou orgânicos atóxicos. Exemplos de ácidos inorgânicos adequados incluem: ácido bórico, ácido perclórico, ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido

sulfúrico, ácido sulfâmico, ácido fosfórico, ácido nítrico e outros ácidos inorgânicos conhecidos do especialista na técnica. Exemplos de ácidos orgânicos adequados incluem: ácido acético, ácido propiónico, ácido succínico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido pamóico, ácido maléico, ácido hidroximaleico, ácido fenilacético, ácido glutâmico, ácido benzóico, ácido salicílico, ácido sulfanílico, ácido 2-acetoxibenzóico, ácido fumárico, ácido toluenossulfónico, ácido metanossulfónico, ácido etanodissulfónico, ácido oxálico, ácido isetiônico, ácido cetoglutárico, ácido benzenossulfónico, ácido glicerofosfórico e outros ácidos orgânicos conhecidos do especialista na técnica. Os compostos de fórmula (I) que contêm grupos ácidos podem ser utilizados de acordo com a invenção, por exemplo, como sais de metais alcalinos, como sais de lítio (Li), sódio (Na), e potássio (K). Os sais farmacologicamente aceitáveis da presente invenção podem ser sintetizados a partir do composto em questão que contém uma porção básica ou ácida por meio de métodos químicos convencionais. Em geral, os sais são preparados por contacto da base ou ácido livre com quantidades estequiométricas ou com um excesso do ácido inorgânico ou orgânico formador de sal ou base desejado num solvente ou dispersante adequado ou por troca aniônica ou troca catiônica com outros sais. Os solventes adequados são, por exemplo, acetato de etilo, éter, álcoois, acetona, THF, dioxano ou misturas destes solventes.

Sempre que a estereoquímica é representada nas estruturas, a mesma representa uma configuração relativa e não uma configuração absoluta.

A presente invenção refere-se a um composto enantiomericamente puro representado pela seguinte fórmula (I) ou um seu sal farmacologicamente aceitável;



em que,

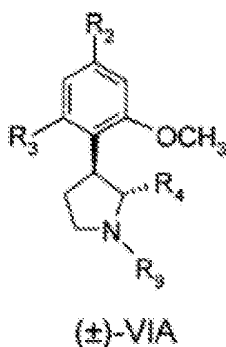
R_1 é fenilo, que é substituído com 2 substituintes diferentes: cloro e trifluorometilo;

R_2 e R_3 são cada um independentemente seleccionado de: hidroxilo e OR_8 ; em que R_8 é C_1 - C_{10} -alquilo não substituído;

R_4 é C_1 - C_4 alcileno-hidroxi; e

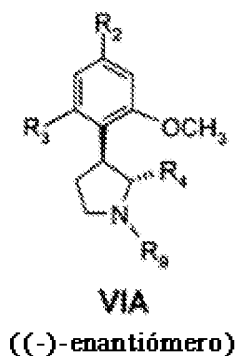
R_9 é C_1 - C_4 -alquilo; em que o termo "enantiomericamente puro" refere-se a um composto que está presente num excesso enantiomérico superior a 95%.

De acordo com outra forma de realização da presente invenção, é proporcionado um processo para a preparação de um composto de fórmula (I) enantiomericamente puro. Uma abordagem conhecida na técnica proporciona um enantiómero simples, separando uma mistura racémica do composto no final da sequência da reacção. A presente abordagem consiste em separar enantiómeros várias etapas antes na sequência e, dessa forma, proporcionar um processo eficiente. Os presentes inventores identificaram um composto racémico representado pela fórmula geral (VIA) abaixo como sendo ideal para a separação.



em que R_2 , R_3 , R_4 e R_5 são como definidos, ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

O processo de resolução compreende reagir um composto racémico representado pela fórmula ((±)-VIA) com um auxiliar quiral na presença de um único solvente para se obter a mistura correspondente de sais diastereoméricos dos enantiómeros (+)- e (-)- de um composto de fórmula (VIA), separar os respectivos sais diastereoméricos e tratar o sal diastereomérico do enantiómero (-)- com uma base para se obter a base livre do enantiómero (-)- desejado do composto representado pela seguinte fórmula.



No processo de resolução de acordo com a presente invenção, o auxiliar quiral é seleccionado de: ácido (-)-dibenzoil tartárico ((-)-DBTA), ácido (+)-dibutil-tartárico, ácido (-)-dibutil tartárico, ácido (+)-cetopínico, ácido (-)-cetopínico, ácido (+)-10-canforsulfónico, ácido (-)-10-canforsulfónico, (+)-ácido canfórico e ácido (-)canfórico.

O auxiliar quiral mais preferido é o ácido (-)-dibenzoil tartárico ((-)-DBTA).

O solvente único utilizado na etapa de resolução pode ser seleccionado de: metanol, isopropanol, éter diisopropílico, acetato de etilo e clorofórmio. O solvente mais preferido é o metanol.

A base pode ser seleccionada de: bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e carbonato de potássio. A base mais preferida é o carbonato de sódio.

Mais particularmente, é fornecido um processo para a resolução de um composto racémico de fórmula (VIA), em que R₂ e R₃ são metoxi, R₃ é metilo e R₄ é hidroximetilo, o composto sendo quimicamente conhecido como (±)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]metanol (aqui designado como Composto A).

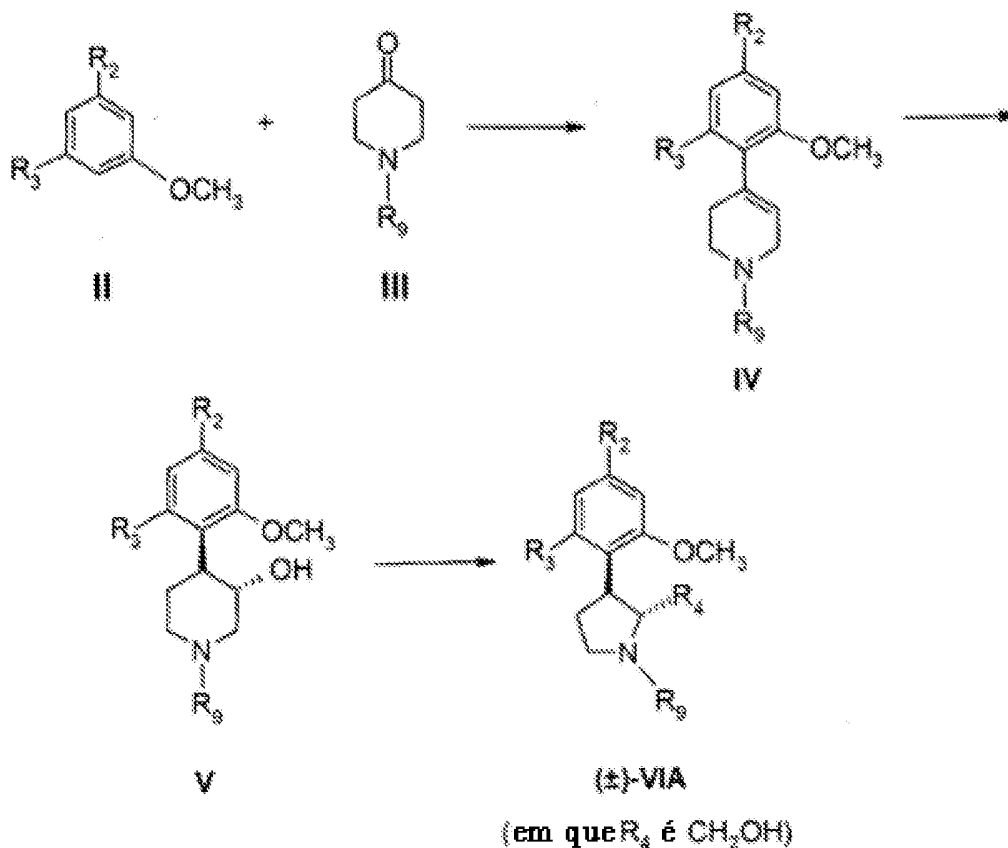
Um processo para a resolução do composto A é descrito no Pedido de Patente US 2004/010658 publicado e co-pendente do requerente. Este processo envolve várias etapas de cristalização e recristalização. O composto resolvido (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]-metanol (aqui designado por composto B) foi obtido com um rendimento de 22-30% e a rotação óptica relatada foi -17,7 ° (c = 1,1, metanol).

Um processo que envolve a resolução do composto intermediário da fórmula (VIA), especificamente o composto A, compreende reagir o composto A com (-)-DBTA (ácido (-)-dibenzoil tartárico) como um quiral auxiliar metanol, para se obter os sais de tartarato de dibenzoílo cristalizados de (+)- e (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]-metanol, separar os respectivos sais diastereoméricos e converter o sal de tartarato de (-)-dibenzoílo do composto B na sua base livre por tratamento com carbonato de sódio.

A pureza enantiomérica do composto B obtido por este processo foi avaliada e comparada com a obtida usando o processo de resolução relatado no acima referido pedido de patente US N° 2004/0106581 publicado utilizando HPLC quiral. Estabeleceu-se que o composto B obtido de acordo com o processo acima é um isómero simples com um e.e. de 100%, ao passo que o composto B foi obtido em 88,3% de e.e. quando preparado de acordo com o processo divulgado no Pedido de Patente US N° 2004/0106581.

Assim sendo, não só os enantiómeros individuais obtidos pelo processo apresentado têm uma maior pureza enantiomérica em comparação com os enantiómeros simples obtidos pelo processo de acordo com o Pedido de Patente US N° 2004/0106581, mas o processo utilizado actualmente é mais simples e económico do que o processo anterior, uma vez que envolve uma reacção de etapa única para se obter o sal diastereomérico, isto é, o sal de tartarato de dibenzoílo. O presente processo envolve cristalização simples. A utilização do auxiliar quiral (-)-DBTA tem a vantagem adicional de ser relativamente mais barato do que o (+)-DBTA, que é utilizado no processo relatado no Pedido de Patente EUA n. 2004/0106581 publicado, reduzindo dessa forma o custo global de produção.

O composto racémico de fórmula (VIA), um intermediário essencial na preparação do composto de fórmula (I), pode ser preparado da maneira apresentada no seguinte Esquema 1.



ESQUEMA 1

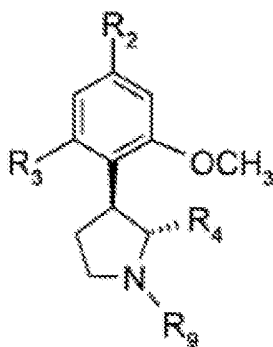
As etapas de preparação até o composto de fórmula (V) a partir do composto de fórmula (II) são descritas no documento US-A-4 900 727, que é aqui incorporado por referência. Na conversão do composto de fórmula (V) no composto de fórmula (VIA) no esquema acima, a função hidroxilo no anel piperidina pode ser convertida num grupo de partida tal como tosilo, mesilo, triflato ou halogeneto, por tratamento com um reagente apropriado, tal como cloreto de p-toluenossulfonilo, cloreto de metanossulfonilo, anidrido triflico ou pentacloro de fósforo na presença de nucleófilos de oxigénio, tais como trietilamina, piridina, carbonato de potássio ou carbonato de sódio, seguido pela contracção do anel na presença de nucleófilos de oxigénio, tais como acetato de sódio ou

acetato de potássio num solvente alcoólico, tal como isopropanol, etanol ou propanol. A contracção do anel envolvida nesta etapa pode ser efectuada antes da formação da flavona, conforme ilustrado no esquema acima, ou pode ser feita após a construção da flavona com as substituições desejadas.

O método da presente invenção envolve a utilização de um enantiómero (-)*trans* enantiomericamente puro de um composto de fórmula (VIA) como definido acima, em que a pureza enantiomérica é como definido para a preparação de um composto enantiomericamente puro de fórmula (I) como definido. Pela utilização de um intermediário que tem um elevado grau de pureza enantiomérica como composto de partida no processo, o enantiómero (+)-*trans* resultante de pirrolidinas substituídas com flavona representado pela fórmula (I) produzido pelo processo tem uma pureza enantiomérica correspondentemente elevada.

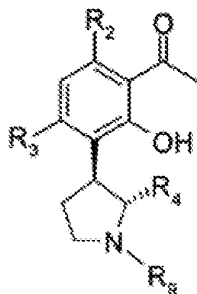
De acordo com a presente invenção, é proporcionado um processo para a preparação de um enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro de um composto de fórmula (I), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, a partir do enantiómero (-)-*trans* enantiomericamente puro resolvido do composto intermediário da fórmula (VIA), processo esse que compreende:

(a) tratar o enantiómero (-)-*trans* enantiomericamente puro de um composto representado pela fórmula (VIA),



VIA

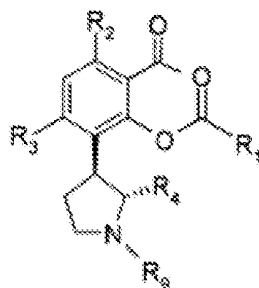
em que R_2 e R_3 são metoxi, R_9 é metilo e R_4 é hidroximetilo; com anidrido acético na presença de um catalisador do tipo ácido de Lewis seleccionado de: dietil eterato de trifluoreto de boro, cloreto de zinco, cloreto de alumínio e cloreto de titânio; para se obter o composto de fórmula (VIIA) acetilado resolvido,



VIIA

em que R_2 , R_3 e R_9 são como definidos acima e R_4 é $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

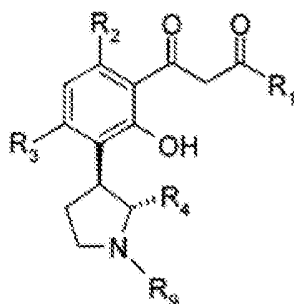
(b) reagir o composto acetilado resolvido de fórmula (VIIA) da etapa (a) com um ácido de fórmula R_1COOH , ou um cloreto de ácido de fórmula R_1COCl ou um anidrido de ácido de fórmula $(\text{R}_1\text{CO})_2\text{O}$ ou um éster de fórmula R_1COOCH_3 , em que R_1 é como definido na reivindicação 1, na presença de uma base e um solvente para se obter um composto de fórmula (VIII A);



VIII A

em que R_1 , R_2 , R_3 e R_9 são como aqui definido anteriormente e R_4 é $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

(c) tratar o composto resolvido de fórmula (VIIIA) com uma base seleccionada de: hexametildissilasila de lítio, hexametildissilasila de sódio, hexametildissilasila de potássio, hidreto de sódio e hidreto de potássio; para se obter o composto de β -dicetona resolvido correspondente de fórmula (IXA);

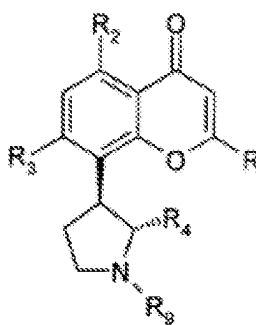


IXA

em que R₁, R₂, R₃ e R₉ são como aqui definidos acima e R₄ é CH₂OC(O)CH₃;

(d) tratar o composto de β -dicetona resolvido de fórmula (IXA) com um ácido tal como ácido clorídrico para se obter o composto ciclizado correspondente de fórmula (XA),

XA,



XA

em que R₁, R₂, R₃ e R₉ são como aqui definidos acima, R₄ é CH₂OH;

(e) tratar o composto de fórmula (XA) resolvido com um agente desalquilante seleccionado de cloridrato de piridina, tribrometo de boro, eterato de trifluoreto de

boro e tricloreto de alumínio para realizar a desalquilação a uma temperatura que varia de 120-180 °C para se obter o composto de fórmula (I) enantiomericamente puro; em que R₁ é fenilo, que é substituído com 2 substituintes diferentes; cloro e trifluorometilo; R₂ e R₃ são hidroxilo, R₄ é CH₂OH e R₉ é metilo.

O catalisador do tipo ácido de Lewis utilizado na etapa (a) acima pode ser seleccionado de: BF₃.Et₂O, cloreto de zinco, cloreto de alumínio e cloreto de titânio.

A base utilizada na etapa (b) do processo pode ser seleccionada de trietilamina, piridina e uma combinação de DCC-DMAP.

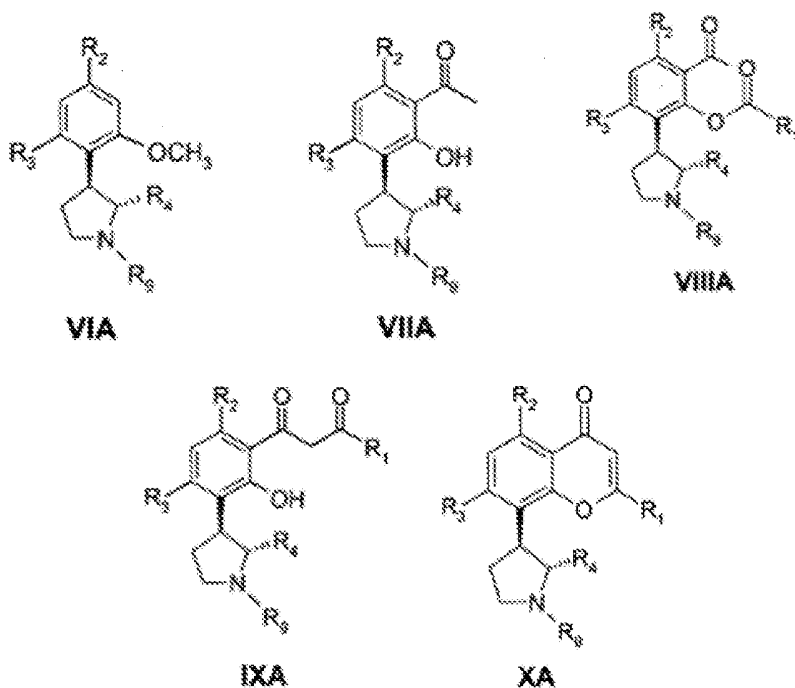
Será evidente para os especialistas na técnica, o rearranjo do composto de fórmula (VIII A) para dar o composto de β-dicetona correspondente de fórmula (IX A) é conhecido como um rearranjo de Baker-Venkataraman (*J. Chem. Soc.*, 1381 (1933) e *Curr. Sci.*, 4, 214 (1933)).

A base utilizada na etapa (c) do processo pode ser seleccionada de: hexametildisilazida de lítio, hexametildissilazida de sódio, hexametildissilazida de potássio, hidreto de sódio e hidreto de potássio. A base mais preferida é o hexametildissilazida de lítio.

O agente desalquilante utilizado na etapa (e) do processo para a desalquilação do composto de fórmula (IX A) pode ser seleccionado de: cloridrato de piridina, tribrometo de boro, eterato de trifluoreto de boro e tricloreto de alumínio. O agente desalquilante mais preferido é o cloridrato de piridina.

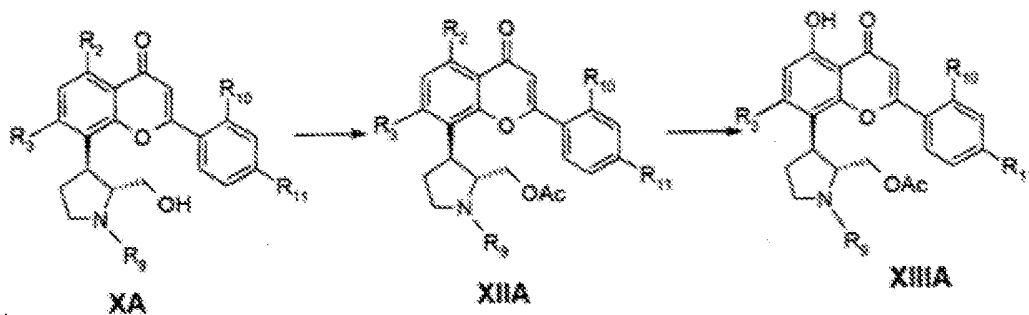
A presente invenção envolve a utilização de todos os intermediários resolvidos que são críticos para a síntese do enantiómero (+)-*trans* enantiomericamente puro de um composto de fórmula geral (I).

Mais particularmente, os intermediários enantiomericamente puros que são incluídos no processo de preparação dos compostos enantiomericamente puros de fórmula (I) da presente invenção são os compostos de (VIA), (VIIA), (VIII-A), (IXA) e (XA):



Nos compostos de fórmula (VIA), (VIIA), (VIII-A), (IXA) e (XA), os substituintes R_1 , R_2 , R_3 , R_4 e R_9 são como aqui definidos acima.

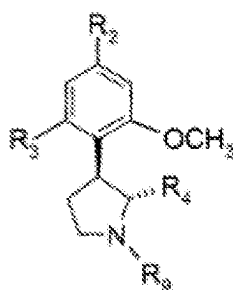
Numa forma de realização específica da presente invenção, a desmetilação selectiva do composto de fórmula (XA) [em que R_1 , R_2 , R_3 e R_9 são como definido acima; e R_4 é CH_2OH] é realizada como representado no Esquema 2 a seguir.



ESQUEMA 2

Tal como ilustrado no Esquema 2 acima, o grupo hidroxí no composto de fórmula (XA) é protegido com um grupo protector adequado, tal como um grupo acetilo, por tratamento do referido composto de fórmula (XA), com um reagente apropriado tal como cloreto de acetilo ou anidrido acético na presença de uma base seleccionada de: hidreto de sódio, hidreto de potássio, piridina, trietilamina e dimetilaminopiridina (DMAP) para se obter o composto de fórmula XIII A.

Outro aspecto da presente invenção é proporcionar um processo de acordo com a invenção em que o composto de fórmula (VIA);



VIA

em que R_2 e R_3 são metoxi, R_1 é metilo e R_4 é hidroximetilo; é preparado fazendo reagir um racemato do composto de fórmula (VIA) com um auxiliar quiral; ácido (-)-dibenzoil tartárico ((-)-DBTA) na presença de metanol para se obter uma mistura de sais diastereoméricos dos enantiómeros (+)-

e (-)- do composto de fórmula (VIA), separando os respectivos sais diastereoméricos e tratando o sal distereomérico do enantiómero (-)-*trans* com carbonato de sódio.

De acordo com a presente invenção, os compostos da fórmula geral (I) são inibidores de CDKs, em particular dos complexos de CDK/ciclina e são úteis em terapias anti-proliferativas para doenças caracterizadas por crescimento celular excessivo, tais como cancros, anomalias cardiovasculares, distúrbios nefrológicos, psoríase, parasitologia, mal de Alzheimer, inflamação e artrite, distúrbios imunológicos que envolvem a proliferação indesejada de leucócitos, restenose e outros distúrbios proliferativos dos músculos lisos, infecções virais e infecções micóticas.

A presente invenção refere-se assim aos compostos enantiomericamente puros de fórmula (I), e/ou os seus sais farmacologicamente aceitáveis para utilização como produtos farmacêuticos (ou medicamentos), à utilização dos compostos enantiomericamente puros da fórmula (I) e/ou os seus sais fisiologicamente toleráveis para a produção de produtos farmacêuticos para a inibição da proliferação celular ou para a terapia ou profilaxia das doenças acima mencionadas, por exemplo para a produção de produtos farmacêuticos para a terapia e profilaxia do cancro, inflamação e artrite, psoríase, doenças ósseas, infecções micóticas ou virais, distúrbios cardiovasculares, mal de Alzheimer, etc. A presente invenção refere-se ainda a composições farmacêuticas que contêm uma quantidade eficaz de pelo menos um composto enantiomericamente puro de fórmula (I) e/ou os seus sais fisiologicamente toleráveis além de um veículo farmacologicamente aceitável habitual, opcionalmente, com outros agentes anti-proliferativos

activos, e a um processo para a produção de uma composição farmacêutica, que compreende empregar pelo menos um composto enantiomericamente puro de fórmula (I) numa forma de administração adequada utilizando um veículo farmacêuticamente adequado e fisiologicamente tolerável e, se apropriado, outros compostos activos e/ou aditivos adequados. Estas composições podem ser preparadas aplicando-se técnicas conhecidas na literatura, tais como aquelas ensinadas em "*Remington Pharmaceutical Sciences*", publicado por Mack Publishing Co. ou "*Pharmaceutical Dosage Form e Drug Delivery Systems*" (Sixth Edition), publicado por Williams & Wilkins, (1995), cada uma das quais é aqui incorporada por referência.

A presente invenção também se refere a um método para a preparação de um medicamento para o tratamento ou prevenção de distúrbios associados à proliferação celular excessiva, caracterizado pelo facto de, pelo menos, um composto enantiomericamente puro da fórmula geral (I) ser usado como substância farmacêuticamente activa.

As composições farmacêuticas normalmente contêm cerca de 1 a 99%, de preferência cerca de 5 a 70%, mais preferencialmente de cerca de 10 a cerca de 30% em peso, dos compostos enantiomericamente puros de fórmula (I) e/ou os seus sais fisiologicamente toleráveis. A quantidade de ingrediente activo do composto enantiomericamente puro de fórmula (I) e/ou os seus sais fisiologicamente toleráveis nas composições farmacêuticas é normalmente de cerca de 5 a 500 mg. A dose dos compostos enantiomericamente puros desta invenção, a ser administrada, pode abranger um amplo intervalo. A dose a ser administrada diariamente deve ser seleccionada para se adequar ao efeito desejado. Cerca de 20 a 1.000 mg são de preferência administrados diariamente por doente. Se necessário, doses diárias mais altas ou

mais baixas podem também ser administradas. Os níveis de dosagem reais dos ingredientes activos nas composições farmacêuticas desta invenção podem ser variados de modo a obter uma quantidade do ingrediente activo que seja eficaz para alcançar a resposta terapêutica desejada para um doente em particular, uma composição e modo de administração, sem que seja tóxico para o paciente.

O nível de dosagem seleccionado dependerá de uma variedade de factores, incluindo a actividade do composto particular da presente invenção empregue, ou do éster, sal, ou amida do mesmo, a via de administração, o tempo de administração, a taxa de excreção do composto particular a ser empregue, a duração do tratamento, outras fármacos, compostos e/ou materiais utilizados em combinação com os compostos particulares empregues, a idade, sexo, peso, estado de saúde geral e histórico médico anterior do doente a ser tratado, e factores semelhantes bem conhecidos na literatura médica.

Os fármacos podem ser administrados por via oral, incluindo por via sublingual, por exemplo na forma de pílulas, comprimidos, comprimidos revestidos, cápsulas, grânulos, pós, xaropes ou elixires. A administração, no entanto, pode também ser levada a cabo: por via rectal ou vaginal, por exemplo na forma de supositórios; por via parentérica, por exemplo por via intravenosa, por via intramuscular ou subcutânea, incluindo através da utilização de técnicas de perfusão, na forma de soluções ou suspensões estéreis injectáveis; por via tópica, por exemplo na forma de cremes, pomadas, loções, espumas, géis, emulsões, soluções, tinturas, magmas ou sistemas transdérmicos; ou por outras vias, por exemplo por via oftálmica, ótica, nasal, ou noutras formas, por exemplo, aerossóis, inalantes ou sprays nasais.

As composições farmacêuticas de acordo com a invenção são preparadas de um modo conhecido *per se* e familiar para um especialista na técnica. Veículos inertes farmacêuticamente aceitáveis inorgânicos e/ou orgânicos e/ou aditivos podem ser usados para além do(s) composto(s) de fórmula (I) e/ou seus sais fisiologicamente toleráveis. Para a produção de pílulas, comprimidos, comprimidos revestidos e cápsulas de gelatina dura é possível utilizar, por exemplo, lactose, amido de milho ou os seus derivados, goma arábica, magnésia ou glicose, etc. Os veículos para as cápsulas de gelatina mole e supositórios são, por exemplo, gorduras, ceras, óleos naturais ou endurecidos, etc. Os veículos apropriados para a produção de soluções, por exemplo soluções injectáveis, ou de emulsões ou xaropes são, por exemplo, água, solução fisiológica de cloreto de sódio ou álcoois, por exemplo, etanol, propanol ou glicerol, soluções de açúcar, tais como soluções de glicose ou soluções de manitol, ou uma mistura dos vários solventes que foram mencionados. Os aditivos que podem ser utilizados são, por exemplo, agentes de enchimento, antioxidantes, dispersantes, emulsionantes, anti-espumantes, correctores de sabor, conservantes, solubilizantes ou corantes.

Os veículos e os aditivos farmacêuticamente aceitáveis comumente utilizados que podem ser utilizados como apropriado para formular a composição para a sua via de administração pretendida são bem conhecidos na técnica e incluem os veículos e aditivos descritos na publicação do pedido de patente US Nº 2004/0106581 do requerente.

As composições farmacêuticas podem também conter dois ou mais compostos enantiomericamente puros de fórmula (I) e/ou os seus sais fisiologicamente toleráveis. Além disso, para além de pelo menos um composto enantiomericamente

puro de fórmula (I) e/ou os seus sais fisiologicamente toleráveis, as composições farmacêuticas podem também conter um ou mais outros ingredientes terapeuticamente ou profilaticamente activos. Desse modo, os compostos da presente invenção podem ser utilizados como fármacos no tratamento de distúrbios proliferativos, seja isolados ou como parte de terapias combinadas. Por exemplo, os compostos enantiomericamente puros da presente invenção podem ser utilizados em combinação com agentes anti-cancro, agentes citostáticos, e agentes citotóxicos. Se formulados como uma dose fixa, os produtos da combinação utilizam os compostos da presente invenção dentro do intervalo de dosagem descrito acima e o outro agente farmacêuticamente activo dentro do seu intervalo de dosagem aprovado. Por exemplo, constatou-se que o inibidor de CDK olomucina age sinergicamente com agentes citotóxicos conhecidos na indução de apoptose (*J. Cell Sci.*, 1995, 108, 2897). Os compostos enantiomericamente puros de fórmula geral (I) podem ser utilizados sequencialmente com fármacos conhecidos, tais como como agentes anti-cancro ou citotóxicos quando uma formulação combinada não é apropriada.

Os agentes anti-proliferativos opcionais que podem ser adicionados à composição incluem, mas não estão limitados aos compostos listados nos regimes de fármacos de quimioterapia do cancro na 13^a Edição do Merck Index, (2000), que é aqui incorporada por referência, tais como asparaginase, bleomicina, carboplatina, carmustina, clorambucil, cisplatina, colaspase, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, etoposido, fluorouracilo, hexametilmelamina, hidroxiureia, ifosfamida, leucovorina, lomustina, mecloretamina, 6-mercaptopurina, mesna,

metotrexato, mitomicina C, mitoxantrona, prednisolona, prednisona, procarbazona, estreptozocina, tamoxifeno, tioguanina, vinblastina, vincristina, vindesina.

Outros agentes anti-proliferativos adequados para utilização com a composição da invenção incluem, mas não estão limitados àqueles compostos reconhecidos como sendo utilizados no tratamento de doenças neoplásicas, em *The Pharmacological Basis of Therapeutics* de Goodman e Gilman (Ninth Edition), editor Molinoff *et al.*, publicado por McGraw-Hill, páginas 1225-1287, (1996), que é aqui incorporado por referência, tais como aminoglutetimida, L-asparaginase, azatioprina, 5-azacitidina cladribina, busulfan, dietilestilbestrol, 2',2'-difluorodesoxicitidina, docetaxel, eritro-hidroxinoniladenina, etinil estradiol, 5-fluorodesoxiuridina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, fosfato de fludarabina, fluoximesterona, flutamida, caproato de hidroxiprogesterona, idarubicina, interferão, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalano, mitotano, paclitaxel, pentostatina, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), plicamicina, semustina, teniposido, propionato de testosterona, tiotepa, trimetilmelamina, uridina, vinorelbina.

Os agentes inibidores de quinase dependente de ciclina (CDK) opcionais que podem ser adicionados à composição incluem, mas não estão limitados a alsterpaulona, butirolactona I, inibidor de CDK2, Péptido I Inibidor de CDK2/Ciclina, Péptido II Inibidor de CDK2/Ciclina, 2-(2-hidroxietilamino)-6-(3-cloroanilino)-9-isopropilpurina, indirubin-3'-monoxima, quenpaulona, olomucina, iso-olomucina, N⁹-isopropil-olomucina, purvalanol A, roscovitina, roscovitina isómero (S) e WHI-P180 [4-(3'-

hidroxifenil)amino-6,7-dimetoxiquinazolina] (do Calbiochem Transduction Signal Catalog & Technical Resource 2001).

Entende-se que as modificações que não afectam substancialmente a actividade das várias formas de realização desta invenção são incluídas na invenção aqui divulgada. Por conseguinte, os exemplos seguintes destinam-se a ilustrar e não a limitar a presente invenção.

Exemplos

As seguintes abreviaturas são aqui utilizadas:

BF₃: dietil eterato de trifluoreto de boro

Conc.: Concentrado

THF: Tetra-hidrofurano

EtOAc: Acetato de etilo

MeOH: Metanol

IPA: Isopropanol

DBTA: Ácido dibenzoil tartárico

DMF: N,N-dimetil formamida

DCC: N,N-diciclo-hexilcarbodiimida

DMAP: (N,N-dimetilamino)piridina

HCl: Ácido clorídrico

NaBH₄: Boro-hidreto de sódio

NaOH: Hidróxido de sódio

Na₂CO₃: Carbonato de sódio

Exemplo 1 (Preparação de Intermediário):

1-Metil-4-(2,4,6-trimetoxifenil)-1,2,3,6-tetra-hidropiridina
1-metil-4-piperidona (340 g, 3,0 mol) foi adicionada lentamente, a uma solução de 1,3,5-trimetoxibenzeno (500 g, 2,97 mol) em ácido acético glacial (600 mL), mantendo a temperatura da mistura de reacção a uma temperatura abaixo de 40 °C. HCl concentrado (450 mL) foi adicionado ao longo de 20 min. A temperatura foi elevada para 85-90 °C e a mistura de reacção foi agitada durante 3,5 h. A mesma foi deixada arrefecer para 40 °C, vertida sobre gelo moído (4

kg) e agitada durante 20 min. O precipitado de 1,3,5-trimetoxibenzeno não reagido foi filtrado. O filtrado foi basificado, a uma temperatura abaixo de 10 °C, até o pH 11-12 utilizando uma solução aquosa de NaOH a 50%. O sólido esbranquiçado obtido foi filtrado, lavado com água e seco para se obter o composto, 1-metil-4-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-1,2,3,6-tetra-hidropiridina.

Rendimento: 580 g (74%);

p.f.: 112-114 °C;

IV (KBr): 3045, 2900, 2837, 1600, 1585 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6,15 (s, 2H), 5,55 (s, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,75 (s, 6H), 3,10 (d, 2H), 2,55 (t, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,35 (m, 2H);

MS (EI): m/z 263 (M^+).

Exemplo 2 (Preparação de Intermediário):

(±)-trans-1-Metil-4-(2,4,6-trimetoxifenil)-piperidina-3-ol
Dietil eterato de trifluoreto de boro (300 mL, 2,36 mol) foi adicionado lentamente, com agitação, em atmosfera de azoto, a 0 °C, a uma solução do composto do exemplo (1) (300 g, 1,14 mol) e NaBH_4 (75 g, 1,97 mol) em THF seco (2,25 L). A temperatura da mistura de reacção foi lentamente aumentada até 55 °C e agitada durante 1,5 h. Em seguida foi arrefecida para 30 °C. Água gelada (100 mL) foi adicionada lentamente, seguido por acidificação com HCl concentrado (375 mL). A mistura de reacção foi agitada durante 1 h. a 50-55 °C. Em seguida foi arrefecida para 30 °C e basificada utilizando uma solução aquosa de NaOH a 50% até o pH 11-12. Peróxido de hidrogénio (30%, 225 mL) foi adicionado ao longo de 0,5 h. A mistura de reacção foi agitada a 55-60 °C durante 1,5 h. Em seguida foi arrefecida para 30 °C e água suficiente foi adicionada para dissolver os sais precipitados. A camada orgânica foi separada e a porção aquosa foi extraída com acetato de

etilo (2 x 1 L). Os extractos orgânicos foram secos (Na_2SO_4 anidro) e concentrados. O óleo castanho viscoso bruto obtido foi tratado com HCl 4 N (1,2 L) e extraído com acetato de etilo (2 x 500 mL). A porção aquosa foi arrefecida, basificada com solução aquosa de hidróxido de sódio a 50% e extraída utilizando acetato de etilo (2 x 1 L). O extracto orgânico foi seco (Na_2SO_4 anidro) e concentrado para dar o composto, (\pm)-*trans*-1-metil-4-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-piperidin-3-ol

Rendimento 210 g (65,6%);

p.f.: 96-97 °C;

IV (KBr): 3582, 3374, 3017 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 6,15 (s, 2H), 4,40 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,74 (s, 6H), 3,20 (dd, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,00 (m, 1H), 1,90 (t, 1H), 1,52 (m, 1H);

MS (Cl): m/z 282 (M+1).

Exemplo 3 (Preparação de Intermediário):

Éster 1-metil-3-(2,4,6(trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il metílico do ácido (\pm)-*trans*-acético

Cloreto de metanossulfonilo (30,27 mL, 44,8 g, 0,4 mol) foi adicionado gota a gota a uma solução arrefecida e em agitação do composto do exemplo (2) (100 g, 0,35 mol) e trietilamina (71,88 g, 0,7 mol) em THF seco (1,0 L). A mistura de reacção foi ainda agitada durante 45 min. a 0 °C. O precipitado de HCl de trietilamina foi filtrado e lavado com THF seco (2 x 100 mL). O filtrado foi adicionado gota a gota a uma suspensão em refluxo de acetato de sódio (115 g, 1,40 mol) em 2-propanol (1,0 L). A mistura de reacção foi levada a refluxo durante mais 15 min., diluída com EtOAc (1,0 L) e os seus sais foram filtrados. A mistura de sais foi lavada com EtOAc (2 x 100 mL). O filtrado combinado foi concentrado para dar uma

goma. Água (50 mL) foi adicionada à goma, com agitação, para se obter um sólido que foi filtrado e seco para produzir o composto éster 1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-metil-fenil)-pirrolidin-2-il metílico do ácido(±)-trans-acético.

Rendimento: 90 g (81%);

p.f.: 74-77 °C;

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,13 (s, 2H), 4,00 (m, 2H), 3,81 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,76 (s, 6H), 3,20 (m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,00 (m, 2H), 1,99 (s, 3H).

Exemplo 4 (Preparação de Intermediário):

(±)-trans-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

Uma solução aquosa de NaOH a 10% (596 mL) foi adicionada a uma solução do composto do exemplo (3) (241 g, 0,75 mol) em metanol (596 mL). A mistura de reacção foi agitada a 50 °C durante 45 min. A mesma foi concentrada até dar uma goma e, em seguida, foi vertida em água gelada (2 L). O sólido resultante foi filtrado para se obter o composto, (±)-trans-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxi-fenil)-pirrolidin-2-il]-metanol.

Rendimento: 198 g (94%);

p.f.: 82-85 °C

IV (KBr): 3421, 3009, 1607 cm⁻¹;

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,15 (s, 2H), 3,92 (m, 1H), 3,80 (s, 9H), 3,60 (dd, 1H), 3,45 (d, 1H), 3,20 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,00 (M, 1H), 1,92 (m, 1H);

MS (ES⁺): m/z 282 (M+1).

Exemplo 5 (Preparação de Intermediário):

(-)-trans-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

(-)-DBTA (321,7 g, 897,7 mmol) foi adicionado ao composto de exemplo (4) (250 g, 889,6 mmol), seguido pela adição de metanol (1,715 mL). A mistura foi levada a refluxo durante 10 min., agitada lentamente à temperatura ambiente durante 3 h., o sal cristalizado foi filtrado e seco.

Rendimento: 185 g (30%);

p.f.: 102-105 °C;

$[\alpha]_D^{25} = -82,66^\circ$ (C = 0,7, metanol).

O sal foi agitado com solução aquosa a 10% de Na₂CO₃ (765 mL) e EtOAc (200 x 3 mL) para se obter a base livre na camada de EtOAc. A camada de EtOAc foi concentrada para se obter o composto, (-)-*trans*-[1-metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol.

Rendimento: 80 g (98,3%);

$[\alpha]_D^{25} = -20,0^\circ$ (c = 0,7, metanol);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,13 (s, 2H), 3,90 (m, 1H), 3,79 (s, 9H), 3,57 (dd, 1H), 3,38 (d, 1H), 3,13 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,47 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,00 (M, 1H), 1,93 (m, 1H).

Este composto foi submetido à HPLC quiral. A HPLC quiral foi realizada utilizando uma coluna Chiralcel OD-H (250 x 4,6 mm) e um sistema de solvente hexano:etanol (92:08) com TFA (0,4%). Os resultados foram registados a 264 nm com taxa de fluxo de solvente de 1 mL/min. Como representado na figura 1, a HPLC quiral mostrou 100% de e.e do composto, (-)-*trans*-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol.

Exemplo 6 (Preparação de Intermediário):

Éster 3-(3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-1-metil-pirrolidin-2-il metílico do ácido (-)-*trans*-acético
BF₃-eterato (25,2 g, 178 mmol) foi adicionado, gota a gota, com agitação, a 0 °C, em atmosfera de N₂, a uma solução do

composto do exemplo (5) (10 g, 35,58 mmol) em anidrido acético (19,48 mL, 176 mmol).

A mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A mesma foi vertida sobre gelo picado (1 kg), basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃ e extraída usando EtOAc (3 x 200 mL). O extracto orgânico foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seco (Na₂SO₄ anidro) e concentrado para se obter o composto, éster 3-(3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-1-metilpirrolidin-2-il metílico do ácido (-)-*trans*-acético.

Rendimento: 10 g (83%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 14,20 (s, 1H), 5,96 (s, 1H), 4,10 (d, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,89 (s, 3H), 3,85 (m, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,74 (m, 1H), 2,66 (s, 3H), 2,52 (s, 3H), 2,21 (m, 2H), 2,10 (s, 3H).

Exemplo 7 (Preparação de Intermediário):

(-)-*trans*-1-[2-Hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona

A uma solução do composto do exemplo (6) (10 g, 28,4 mmol) em metanol (25 mL) foi adicionada, com agitação, à temperatura ambiente, uma solução aquosa de NaOH a 10% (25 mL). A temperatura da mistura de reacção foi elevada para 50 °C durante 45 min. A mesma foi arrefecida até à temperatura ambiente, acidificada com HCl concentrado e concentrada para remover o metanol. A mesma foi basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃. O composto, (-)-*trans*-1-[2-hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-pirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona foi filtrado, lavado com água e seco.

Rendimento: 7,14 g (82%);

IV (KBr): 3400, 3121, 3001, 1629, 1590 cm⁻¹;

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 5,96 (s, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,59 (dd, 1H), 3,37 (d, 1H), 3,13

(m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,59 (m, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,00 (m, 2H);

MS (ES⁺): m/z 310 (M+1).

Exemplo 8 (Exemplo Comparativo)

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

Hidreto de sódio (50%, 0,54 g, 11,25 mmol) foi adicionado em porções a uma solução do composto do exemplo (7) (0,7 g., 2,2 mmol) em DMF seco (15 mL) a 0 °C, em atmosfera de azoto e com agitação. Depois de 10 minutos, 2-clorobenzoato de metilo (1,15 g, 6,75 mmol) foi adicionado. A mistura de reacção foi agitada a 25 °C durante 2 h. Metanol foi adicionado cuidadosamente a uma temperatura abaixo de 20 °C. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g), acidificada com 1:1 de HCl (pH 2) e extraída com EtOAc (2 x 100 mL). A camada aquosa foi basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃ (pH 10) e extraída com CHCl₃ (3 x 200 mL). A camada orgânica foi seca (Na₂SO₄ anidro) e concentrada. Ao resíduo foi adicionado HCl concentrado (25 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g) e tornada básica com uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃. A mistura foi extraída com CHCl₃ (3 x 200 mL). O extracto orgânico foi lavado com água, seco (Na₂SO₄ anidro) e concentrado para se obter o composto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,67 g (64%);

p.f.: 91-93 °C;

$[\alpha]_D^{25} = + 5,8^\circ$ (c = 0,7, metanol);

IV (KBr): 3431, 1648, 1598, 1571 cm⁻¹;

suspensão foi aquecida para se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida e o sólido foi filtrado para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,21 g (97%);

p.f.: 188-192 °C;

$[\alpha]_D^{25} = +21,3^\circ$ (c = 0,2, metanol);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,80 (d, 1H), 7,60 (m, 3H), 6,53 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,23 (m, 1H), 3,89 (m, 2H), 3,63 (m, 1H), 3,59 (dd, 1H), 3,38 (m, 1H), 2,90 (s, 3H), 2,45 (m, 1H), 2,35 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 402 (M+1) (base livre).

Este composto foi submetido à HPLC quiral. A HPLC quiral foi realizada utilizando uma coluna Chiralcel OD-H (250 x 4,6 mm) e sistema solvente hexano:etanol (92:08) com TFA (0,4%). Os resultados são registados a 264 nm com taxa de fluxo de solvente de 1 mL/min. Como representado na Figura 3, a HPLC quiral mostrou 100% de e.e do composto, cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Exemplo 11 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-5-fluorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

Hidreto de sódio (50%, 0,776 g, 16 mmol) foi adicionado em porções a uma solução do composto do exemplo (7) (1,0 g, 3,2 mmol) em DMF seco (25 mL) a 0 °C, em atmosfera de azoto e com agitação. Após 10 min., 2-cloro-5-fluorobenzoato de metilo (1,22 g, 6,4 mmol) foi adicionado. A mistura de reacção foi agitada a 25 °C durante 2 h. Metanol foi adicionado cuidadosamente a uma temperatura abaixo de 20 °C. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g), acidificada com 1:1 de HCl (pH 2)

e extraída com EtOAc (2 x 100 mL). A camada aquosa foi basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃ (pH 10) e extraída com CHCl₃ (3 x 200 mL). A camada orgânica foi seca (Na₂SO₄ anidro) e concentrada. Ao resíduo, foi adicionado HCl concentrado (25 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g) e tornada básica com uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃. A mistura foi extraída com CHCl₃ (3 x 200 mL). O extracto orgânico foi lavado com água, seco (Na₂SO₄ anidro) e concentrado para se obter o composto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluoro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,9 g (63%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,57 (m, 1H), 7,46 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 3,63 (dd, 1H), 3,32 (d, 1H), 3,13 (m, 1H), 2,61 (m, 1H), 2,53 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,00 (m, 2H); MS (CI): m/z 448 (M+1).

Exemplo 12 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Cloridrato de piridina fundido (8,0 g, 69,5 mmol) foi adicionado ao composto do exemplo (11) (0,8 g, 1,78 mmol) e aquecido a 180 °C durante 1,5 h. A mistura de reacção foi arrefecida para 25 °C, diluída com MeOH (10 mL) e basificada usando Na₂CO₃ até o pH 10. A mistura foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada. O resíduo foi suspenso em água (10 mL), agitado durante 30 min, filtrado e seco para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,45 g (60%);

p.f.: 253-254 °C;

IV (KBr): 3450, 1665 cm^{-1} ;

RMN ^1H (DMSO d_6 , 300 MHz): δ 12,70 (s, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,54 (m, 1H), 6,55 (s, 1H), 6,14 (s, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,51 (m, 3H), 2,94 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,15 (m, 1H), 1,86 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 420 (M+1);

Análise: $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{ClFNO}_5$ C, 60,2 (60,08); H, 4,53 (4,56); N, 3,86 (3,34); Cl, 8,17 (8,44).

Exemplo 13 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (12) (0,1 g, 0,244 mmol) foi suspenso em IPA (5 mL) e HCl a 3,5% (25 mL) foi adicionado. A suspensão foi aquecida para se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida e filtrada sólido para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-5-fluorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,108 g (100%);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 18,05^\circ$ (c = 0,7, metanol);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,67 (m, 2H), 7,37 (m, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 3,69 (m, 1H), 3,60 (dd, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,52 (m, 1H), 2,29 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 420 (M-36,5).

Exemplo 14 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Bromo-5-fluorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto de exemplo (7) (6 g, 19,42 mmol) em DMF seco (60 mL) foi feito reagir com 2-bromo-5-fluorobenzoato de metilo (6,7 g, 28,75 mmol) na presença de NaH (50%, 3,88 g,

80,8 mmol) a 0 °C, em atmosfera de azoto. A mistura de reacção foi agitada a 25 °C durante 2 h. Metanol foi adicionado cuidadosamente a uma temperatura abaixo de 20 °C. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g), acidificada com 1:1 de HCl (pH 2) e extraída com EtOAc (2 x 100 mL). A camada aquosa foi basificada usando uma solução aquosa saturada de Na²CO³ (pH 10) e extraída com CHCl₃ (3 x 200 mL). A camada orgânica foi seca (Na₂SO₄ anidro) e concentrada. Ao resíduo HCl concentrado (25 mL) foi adicionado e agitou-se à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g) e tornada básica com uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃. A mistura foi extraída com CHCl₃ (3 x 200 mL). O extracto orgânico foi lavado com água, seco (Na₂SO₄ anidro) e concentrada para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 3,94 g (41,2%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,65 (m, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,10 (m, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 3,64 (dd, 1H), 3,35 (d, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,45 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 2,00 (m, 2H); MS (ES+): m/z 493 (+1).

Exemplo 15 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Bromo-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Cloridrato de piridina fundido (39 g, 339 mmol) foi adicionado ao composto do exemplo (14) (3,9 g, 7,92 mmol) e aquecido a 180 °C durante 1,5 h. A mistura de reacção foi arrefecida para 25 °C, diluída com MeOH (10 mL) e basificada usando Na₂CO₃ até o pH 10. A mistura foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada. O resíduo

foi suspenso em água (40 mL), agitado durante 30 min, filtrado e seco para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 1,4 g (38,14%);

p.f.: 145-147 °C;

IV (KBr): 3650, 1640 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CDCl_3 + TFA, 300 MHz): δ 12,40 (s, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,28 (m, 1H), 7,00 (m, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,68 (m, 2H), 3,50 (m, 2H), 3,15 (m, 1H), 2,80 (s, 3H), 2,30 (m, 1H), 2,08 (m, 1H); MS (ES+): m/z 465 (M+1).

Exemplo 16 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (15) (1,0 g) foi convertido no seu sal de cloridrato por suspensão em IPA (5 mL) e HCl a 3,5% (25 mL). A suspensão foi aquecida para se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida e o sólido foi filtrado para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 1,0 g (93%);

MS (ES+): m/z 465 (M+1) (base livre).

Exemplo 17 (Exemplo Comparativo):

Metano-sulfonato de (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (15) (1,97 g, 4,25 mmol) em metanol (5 mL) foi tratado com uma solução de ácido metanossulfônico em metanol (0,408 g, 4,25 mmol). A solução límpida obtida foi concentrada para se obter o

composto em epígrafe, metano-sulfonato de (+)-*trans*-2-(2-bromo-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 2,3 g (96,63%);

RMN ¹H (D₂O, 300 MHz): δ 7,58 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,11 (m, 1H), 6,30 (s, 1H), 6,02 (s, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,45 (m, 2H), 3,35 (m, 1H), 2,83 (s, 3H), 2,70 (s, 3H), 2,20 (m, 2H);

Análise: C₂₂H₂₃BrNFO₈S.H₂O, C, 46,08 (45,68); H, 4,61 (4,35); N, 2,63 (2,42), Br, 14,73 (13,81); S, 4,99 (5,54);

MS (ES+): m/z 465 (M+1), base livre.

Exemplo 18 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-Dicloro-5-fluorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (7) (0,8 g, 2,58 mmol) em DMF seco (10 mL) foi feito reagir com cloreto de 2,4-dicloro-5-flúor-benzoílo (0,887 g, 3,9 mmol) na presença de NaH (50%, 0,62 g, 12,9 mmol) a 0 °C, em atmosfera de azoto. A mistura de reacção foi agitada a 25 °C durante 2 h. Metanol foi adicionado cuidadosamente a uma temperatura abaixo de 20 °C. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (100 g), acidificada com 1:1 de HCl (pH 2) e extraída com EtOAc (2 x 50 mL). A camada aquosa foi basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃ (pH 10) e extraída com CHCl₃ (3 x 100 mL). A camada orgânica foi seca (Na₂SO₄ anidro) e concentrada. Ao resíduo, foi adicionado HCl concentrado (10 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (100 g) e tornada básica com uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃. A mistura foi extraída com CHCl₃ (3 x 100 mL). O extracto orgânico foi lavado com água, seco (Na₂SO₄ anidro) e concentrado para se obter o composto em epígrafe, (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-

fluoro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,54 g (43,4%);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): 7,75 (d, 1H), 7,57 (d, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,97 (s, 3H), 3,65 (dd, 1H), 3,36 (d, 1H), 3,20 (m, 1H), 2,65 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 2,10 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 482 (M+1).

Exemplo 19 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-Dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Cloridrato de piridina fundido (5,5 g, 47,6 mmol) foi adicionado ao composto do exemplo (18) (0,53 g, 1,1 mmol) e aquecido a 180 °C durante 1,5 h. A mistura de reação foi arrefecida para 25 °C, diluída com MeOH (10 mL) e basificada usando Na_2CO_3 até o pH 10. A mistura foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada. O resíduo foi suspenso em água (5 mL), agitado durante 30 min, filtrado e seco para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,29 g (58%);

IV (KBr): 3422, 1664, 1618, 1401 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CDCl_3 + $\text{DMSO } d_6$, 300 MHz): δ 7,50 (m, 2H), 6,42 (s, 1H), 6,19 (s, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,71 (m, 2H), 3,16 (m, 2H), 2,88 (m, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,36 (m, 1H), 1,92 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 454 (M+1).

Exemplo 20 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (19) (0,89 g, 1,96 mmol) foi convertido no seu sal de cloridrato por suspensão em IPA (5 mL) e HCl a 3,5% (25 mL). A suspensão foi aquecida para se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida e o sólido foi filtrado para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,91 g (92%);

RMN ¹H (CD₃ OD, 300 MHz): δ 7,86 (m, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 4,26 (q, 1H), 3,87 (m, 2H), 3,71 (m, 1H), 3,60 (dd, 1H), 3,56 (q, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,55 (M, 1H), 2,28 (m, 1H);

IV (KBr): 3386, 1657 cm⁻¹.

MS (ES+): m/z 454 (M-36,5);

Análise: C₂₁H₁₉Cl₃FNO₅, C, 51,08 (51,35); H, 4,26 (3,87); N, 3,13 (2,85), Cl, 21,99 (21,70).

Exemplo 21 (Exemplo Comparativo):

Metano sulfonato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Ácido metanossulfônico (0,012 g, 0,125 mmol) foi adicionado à suspensão do composto do exemplo (19) (0,05 g, 0,11 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 5 min. a 25 °C para se obter uma solução límpida. O solvente foi removido à pressão reduzida para se obter um resíduo. O resíduo foi lavado duas vezes com éter seco (2 x 5 mL) e seco em alto vácuo (0,1 mm), para se obter o composto, metano sulfonato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,054 g (90%);

Análise: C₂₂H₂₂Cl₂FNO₈S.2,5 H₂O C, 44,26 (44,34); H, 4,42 (4,53); N, 2,58 (2,35); Cl, 12,11 (11,92).

Exemplo 22 (Exemplo Comparativo):

Citrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Mono-hidrato de ácido cítrico (0,023 g, 0,11 mmol) foi adicionado à suspensão do composto do exemplo (19) (0,05 g, 0,11 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 10 min. 50-55 °C. A mistura de reacção foi concentrada e o sólido foi seco para se obter o composto, citrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Rendimento: 0,065 g (91,5%);

Análise: C₂₇H₂₆Cl₂FNO₁₂ C, 49,75 (50,17); H, 4,25 (4,05); N, 2,60 (2,17); Cl, 10,69 (10,97).

Exemplo 23 (Exemplo Comparativo):

Tartarato de (+)-*trans*-2-(2,4-Dicloro-5-fluorofenil) -5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Ácido tartárico (0,016 g, 0,11 mmol) foi adicionado à suspensão do composto do exemplo (19) (0,05 g, 0,11 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 10 min. 50-55 °C. A mistura de reacção foi concentrada e o sólido foi seco para se obter o composto tartarato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,06 g (90,19%);

Análise: C₂₅H₂₄Cl₂FNO₁₁.2,0 H₂O C, 47,43 (46,84); H, 4,13 (4,37); N, 2,40 (2,18); Cl, 10,77 (11,08).

Exemplo 24 (Exemplo Comparativo):

Maleato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Ácido maléico (0,0127 g, 0,11 mmol) foi adicionado à suspensão do composto do exemplo (19) (0,05 g, 0,11 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 5 min. a 50 °C para se obter uma solução límpida. A mistura de reacção foi concentrada e o sólido foi seco para se obter o composto maleato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluoro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,059 g (90,19%);

Análise: C₂₅H₂₂Cl₂FNO₉.1,5.H₂O C, 50,54 (50,23); H, 4,08 (4,18); N, 2,31 (2,34); Cl, 11,83 (11,88).

Exemplo 25 (Exemplo Comparativo):

Acetato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Ácido acético (0,0065 mL, 0,0068 g, 0,11 mmol) foi adicionado à suspensão do composto do exemplo (19) (0,05 g, 0,11 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 5 min. em 50-55 °C para se obter uma solução clara. A mistura de reacção foi concentrada e o sólido foi seco para se obter o composto em epígrafe.

Rendimento: 0,05 g (88,33%);

Análise: C₂₃H₂₂C₁₂FNO₉ C, 53,67 (53,71); H, 4,63 (4,31); N, 3,08 (2,72); Cl, 13,93 (13,79).

Exemplo 26 (Exemplo Comparativo):

Sulfato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma solução de H₂SO₄ (solução metanólica a 5%, 60 µL, 0,055 mmol) foi adicionada à suspensão do composto do exemplo (19) (0,025 g, 0,055 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 5 min a 50-55 °C. A mistura de reacção foi concentrada e o sólido foi seco para se obter o composto,

sulfato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-fenil-5-fluoro)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,025 g (82,24%);

MS (ES-): m/z 550 (M-1).

Exemplo 27 (Exemplo Comparativo):

Nitrato de (+)-*trans*-2-(2,4-Dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma solução de HNO₃ (solução metanólica a 5%, 70 µL, 0,055 mmol) foi adicionada à suspensão do composto do exemplo (19) (0,025 g, 0,055 mmol) em metanol (2 mL). Agitou-se durante 5 min. em 50-55 °C para se obter uma solução límpida. A mistura de reacção foi concentrada e o sólido foi seco para se obter o composto nitrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-5-fluorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,025 g (87,81%);

MS (ES-): m/z 515 (M-1).

Exemplo 28 (Preparação de Intermediário)

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenílico do ácido (+)-*trans*-2,4-dicloro-benzóico

Uma mistura do composto do exemplo (6) (3 g, 8,9 mmol), ácido 2,4-diclorobenzóico (1,79 g, 9,3 mmol), DCC (3,87 g, 18,7 mmol) e DMAP (1,148 g, 9,3 mmol) foi dissolvida em diclorometano (50 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção foi arrefecida para 0 °C. A dicitlo-hexilureia precipitada foi filtrada, a camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 1% metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para dar o composto, éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-

dimetoxi-fenílico do ácido (+)-*trans*-2,4-dicloro-benzóico, o qual foi utilizado na reacção subsequente sem caracterização.

Rendimento: 4,48 g (100%)

Exemplo 29 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (1,6 M em hexano, 10,67 mL, 17 mmol) em THF (25 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, foi adicionado hexametildissilazano (3,56 mL, 17 mmol), gota a gota, e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, foi adicionada uma solução do composto do exemplo (28) (4,48 g, 8,5 mmol) em THF (25 mL), gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% de bicarbonato de sódio até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2,4-diclorofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-imetoxifenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido castanho (4,6 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (50 mL) e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi basificada com NaHCO₃ sólido até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado

por cromatografia em coluna com 3% de metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-8-(2-hidroxi-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 3,2 g (81%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,74 (d, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,42 (dd, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 4,2 (m, 1H), 4,02 (s, 3H), 3,99 (s, 3H), 3,68 (dd, 1H), 3,39 (dd, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,63 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,07 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 464 (M+1).

Exemplo 30 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (29) (3,2 g, 7,35 mmol), cloridrato de piridina (3,2 g, 6,91 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia em coluna usando 0,01% de amoníaco e 3% de metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,98 g (30%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,5 (s, 1H), 7,54 (m, 2H), 7,40 (m, 1H), 6,40 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,89 (m, 2H), 3,28 (m, 2H), 2,84 (m, 1H), 2,65 (s, 3H), 2,45 (m, 1H), 1,95 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 436 (M+1).

Exemplo 31 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2,4-diclorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (30) (0,4 g, 0,9 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dicloro-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,4 g (92%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,80 (d, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,54 (dd, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 3,59 (m, 2H), 3,41 (m, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,52 (m, 1H), 2,29 (m, 1H);

MS (ES⁻): m/z 470 (M-1).

Exemplo 32 (Preparação de Intermediário):

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-4-bromo-2-clorobenzóico

Uma mistura do composto do exemplo (6) (1,95 g, 5,5 mmol), ácido 4-bromo-2-clorobenzóico (1,44 g, 6,1 mmol), DCC (2,29 g, 11 mmol) e DMAP (0,68 g, 5,5 mmol) foi dissolvida em diclorometano (50 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção foi arrefecida a 0 °C, a diciclo-hexilureia precipitada foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia em coluna com 1% metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para dar o composto, éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-4-bromo-2-clorobenzóico

Rendimento: 2,8 g (88,7%);

MS (ES⁺): m/z 569 (M+1).

Exemplo 33 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-Bromo-2-cloro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (solução a 15% em hexano, 4,23 mL, 10 mmol) em THF (25 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (2,1 mL, 10 mmol) foi adicionada, gota a gota, e agitada durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (32) (2,8 g, 5 mmol) em THF (25 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% de bicarbonato de sódio até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada sob pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(4-bromo-2-cloro-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido castanho (2,65 g). Este éster foi dissolvido em

HCl concentrado (20 mL) e agitou-se durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO₃ sólido até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para se obter o composto (+)-*trans*-2-(4-bromo-2-

cloro-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 1,4 g (59%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,69 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,55 (dd, 1H), 6,55 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 3,66 (dd, 1H), 3,38 (m, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,63 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,10 (m, 2H); MS (ES+): m/z 509 (M+1).

Exemplo 34 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-Bromo-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (33) (1,4 g, 2,75 mmol), cloridrato de piridina (1,4 g, 12 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,01% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(4-bromo-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,88 g (60,6%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,91 (m, 1H), 7,87 (m, 1H), 7,69 (m, 1H), 6,41 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,77 (dd, 1H), 3,66 (dd, 1H), 3,47 (m, 1H), 3,33 (m, 1H), 3,18 (m, 1 H), 2,76 (s, 3H), 2,24 (m, 2H); MS (ES+): m/z 481 (M+1).

Exemplo 35 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(4-bromo-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (34) (0,48 g, 1,0 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico evaporado para se obter o composto (+)-*trans*-2-(4-bromo-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,4 g (93%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,87 (m, 1H), 7,71 (m, 2H), 6,58 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 4,28 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 3,73 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,58 (m, 1H), 2,28 (m, 1H);

MS (ES⁻): m/z 515 (M-1).

Exemplo 36 (Preparação de Intermediário):

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrol-idin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-ciano-benzóico

Uma mistura do composto do exemplo (6) (3,84 g, 10 mmol), ácido 2-cloro-4-ciano-benzóico (2,48 g, 13 mmol), DCC (4,51 g, 21 mmol) e DMAP (1,34 g, 10 mmol) foi dissolvida em diclorometano (50 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção é arrefecida para 0 °C, a dicitlo-hexilureia precipitada foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia em coluna com 1% metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para dar o composto, éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrol-idin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-ciano-benzóico.

Rendimento: 3,5 g (62%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,19 (d, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,69 (d, 1H), 6,45 (s, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,93 (s, 6H), 3,48 (m, 2H), 3,11 (m, 1H), 2,72 (m, 1H), 2,48 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,10 (m, 1H), 1,92 (m, 2H), 1,74 (s, 3H); MS (ES⁺): m/z 515 (M+1).

Exemplo 37 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (solução 1,6 M em hexano, 17 mL, 27 mmol) em THF (50 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (5,7 mL, 27 mmol) foi adicionado, gota a gota, e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (36) (5,6 g, 10 mmol) em THF (50 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com bicarbonato de sódio a 10% até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 75 mL). A camada orgânica foi lavada com água (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2-cloro-4-ciano-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um óleo (6,1 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (60 mL) e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO₃ sólido até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-ciano-fenil)-

8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,75 g (15%);

IV (KBr): 3431, 2233, 1648, 1599 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8,20 (d, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,88 (d, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,99 (s, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,35 (m, 2H), 2,75 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,10 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 455 (M+1).

Exemplo 38 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (37) (20 mg, 0,046 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-ciano-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 20 mg (98%);

RMN ^1H (CD_3D , 300 MHz): δ 8,08 (m, 1H), 7,97 (m, 1H), 7,86 (m, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,32 (m, 1H), 4,10 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 3,84 (m, 2H), 3,75 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 3,41 (m, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,43 (m, 1H), 2,31 (m, 1H);

MS (ES-): m/z 489 (M-1)

Exemplo 39 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-cianofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (37) (0,25 g, 0,55 mmol), cloridrato de piridina (0,25 g, 2,2 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na_2CO_3 sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada e lavada

com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,01% amoníaco e 4,5% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-cianofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,11 g (49,5%);

IR (KBr): 3396, 2234, 1656, 1615 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 8,05 (s, 1H), 7,90 (m, 2H), 6,45 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,75 (dd, 2H), 3,49 (m, 2H), 3,21 (m, 1H), 2,76 (s, 3H), 2,23 (M, 2H);

MS (ES+): m/z 427 (M+1)

Exemplo 40 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-cianofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (39) (0,1 g, 0,23 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-cianofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,1 g (92,6%);

MS (ES-): m/z 461 (M-1).

Exemplo 41 (Preparação de Intermediário):

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-trifluorometilbenzóico

Uma mistura do composto do exemplo (6) (1,16 g, 3,2 mmol), ácido 2-cloro-4-trifluorometilbenzóico (0,88 g, 4 mmol), DCC (1,35 g, 6,5 mmol) e DMAP (0,4 g, 3,27 mmol) foi dissolvida em diclorometano (50 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção é arrefecida para 0 °C, a diciclo-hexilureia

precipitada foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia em coluna com 1% metanol em clorofórmio e 0,01% amoníaco como eluente para se obter o composto, éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-trifluorometilbenzóico.

Rendimento: 1,44 g (78,8%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,19 (d, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,69 (d, 1H), 6,45 (s, 1H), 4,14 (m, 1H), 3,93 (s, 6H), 3,52 (m, 1H), 3,17 (m, 1H), 2,63 (m, 1H), 2,48 (s, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,15 (m, 1H), 2,05 (m, 1H), 1,81 (s, 3H), 1,62 (m, 2H);

MS (ES⁺): m/z 558 (M+1)

Exemplo 42 (Exemplo de um Composto da Invenção):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometilfenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (solução a 15% em hexano, 2,2 mL, 5 mmol) em THF (10 mL), mantida a 0 °C, em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (1,08 mL, 5,1 mmol) foi adicionado gota a gota e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (41) (1,44 g, 2,5 mmol) em THF (10 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% bicarbonato de sódio até o pH de 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2-cloro-4-trifluorometil-fenil)-3-

oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um óleo (1,3 g, 90,2%). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (10 mL) e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO₃ sólido até o pH 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,56 g (48,2%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,95 (d, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,69 (d, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 3,71 (dd, 1H), 3,41 (d, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,10 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 497 (M+1)

Exemplo 43 (Exemplo de um Composto da Invenção):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-trifluorometil-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (42) (0,25 g, 0,5 mmol), cloridrato de piridina (0,25 g, 2,16 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (25 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada

com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 4,5% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,15 g (63,7%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,99 (m, 2H), 7,83 (d, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,41 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,54 (m, 1H), 2,28 (m, 1H);

MS (ES⁺): m/z 470 (M+1)

Exemplo 44 (Exemplo de um Composto da Invenção):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (43) (0,1 g, 0,2 mmol) suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para produzir o composto, cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,1 g (92,8%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,02 (d, 2H), 7,83 (d, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 4,23 (m, 1H), 3,73 (m, 2H), 3,68 (m, 1H), 3,51 (m, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,54 (m, 1H), 2,31 (m, 1H).

Exemplo 45 (Preparação de Intermediário)

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-nitro-benzóico

Ácido 2-cloro-4-nitro-benzóico (13 g, 64 mmol) e cloreto de tionilo (40 mL) foram aquecidos juntos a 85 °C, durante 3 horas. O excesso de cloreto de tionilo foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo foi seco a vácuo e dissolvido em THF (100 mL). Isto foi adicionado, gota a gota, a uma solução do composto do exemplo (6) (15 g, 42 mmol) e trietilamina (29,5 mL, 213 mmol) em THF (100 mL) mantida a de 15-20 °C. A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada durante 12 horas. No final de 12 horas, a mistura de reacção foi concentrada para remover o THF, acidificada com HCl diluído, basificada com solução de NaHCO₃ a 10% até o pH 10, extraída com EtOAc (3 x 100mL), lavada com água (50 mL), solução salina (50 mL) e a camada orgânica seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida para se obter o composto éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-nitro-benzóico, na forma de um óleo que foi utilizado como tal para a reacção posterior sem purificação.

Rendimento: 24,8 g (71,7%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,35 (s, 1H), 8,25 (m, 2H), 6,47 (s, 1H), 4,17 (m, 1H), 3,94 (s, 6H), 3,59 (m, 1H), 3,17 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,49 (s, 6H), 2,46 (m, 2H), 2,17 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,83 (s, 3H);

MS (ES+): m/z 535 (M+1).

Exemplo 46 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

Uma solução do composto do exemplo (45) (20 g, 37,5 mmol) em dioxano (150 mL) foi adicionada, gota a gota, a uma suspensão de hidreto de sódio (dispersão a 60%, 5,68 g, 142 mmol) em dioxano (50 mL) e a mistura de reacção foi

agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção foi extinta com a adição gota a gota de metanol e os solventes foram evaporados à pressão reduzida. O resíduo foi acidificado com HCl diluído, basificado com solução de NaHCO₃ a 10% até o pH 8-9 e extraído com EtOAc (3 x 250 mL). A camada orgânica foi lavada com água (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), seca sobre Na₂SO₄ anidro e concentrada à pressão reduzida para dar o éster 3-{3-[3-(2-cloro-4-nitrofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um óleo (18,2 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (50 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 3 horas. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO₃ sólido até o pH 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 250 mL) e lavada com água (50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo pálido.

Rendimento: 9,5 g (53,5%);

IV (KBr): 3447, 1648, 1600, 1570 cm⁻¹;

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,37 (d, 1H), 8,26 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 3,67 (m, 1H), 3,32 (m, 1H), 3,19 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,04 (m, 2H);

MS (ES⁺): m/z 475 (M+1)

Exemplo 47 (Exemplo Comparativo)

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (46) (0,05 g, 0,105 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o composto Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,05 g (53,7%);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 8,50 (d, 1H), 8,27 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 4,28 (m, 1H), 4,11 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 3,88 (m, 2H), 3,72 (m, 1H), 3,50 (m, 2H), 2,99 (s, 3H), 2,49 (m, 1H), 2,26 (m, 1H); MS (ES+): m/z 511 (M+1).

Exemplo 48 (Exemplo Comparativo):

Gluconato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (46) (6,4 g, 13,4 mmol) foi suspenso em metanol (300 mL) e tratado com ácido glucónico (2,63 g, 13,4 mmol) e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o composto gluconato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 8,5 g (93,9%);

p.f.: 137-140 °C;

IV (KBr): 3404, 1648, 1601, 1524 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 8,50 (d, 1H), 8,33 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,61 (s, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,15 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 3,72 (m, 11H), 2,95 (s, 3H), 2,4 (m, 1H), 2,30 (m, 1H);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +11,76° (c = 0,76, MeOH);

MS (ES+): m/z 475 (M+1), base livre.

Exemplo 49 (Exemplo comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (46) (4,2 g, 8,8 mmol), cloridrato de piridina (4,2 g, 36 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2 horas. A mistura de reacção foi arrefecida e diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto (+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 2,8 g (70,88%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,48 (d, 1H), 8,34 (dd, 1H), 8,02 (d, 1H), 6,48 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,74 (m, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,77 (s, 3H), 2,22 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 447 (M+1)

Exemplo 50 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (49) (2,8 g, 6,2 mmol) foi suspenso em metanol (10 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 2,7 g (92,5%);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 8,51 (d, 1H), 8,36 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 6,69 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,91 (m, 2H), 3,73 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 3,63 (M, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,55 (m, 1H), 2,32 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 483 (M+1);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $[13,0^\circ$ (C = 0,2, metanol).

Exemplo 51 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(4-Amino-2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (46) (1,0 g, 2,1 mmol), cloreto de estanho (1,9 g, 8,4 mmol) e EtOAc (5 mL) foram agitados juntos à temperatura ambiente durante 12 horas. No final de 12 horas, a mistura de reacção foi basificada com solução de NaOH a 10% até pH 10 e extraída com EtOAc (3 x 10 mL). As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com água (10 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro e concentradas à pressão reduzida para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, na forma de um sólido.

Rendimento: 0,74 g (79%);

MS (ES+): 445 (M+1).

Exemplo 52 (Exemplo Comparativo)

(+)-*trans*-2-(4-Amino-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

(Composto-1)

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-metilaminofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

(Composto-2)

Uma mistura do composto do exemplo (51) (0,7 g, 1,57 mmol), cloridrato de piridina (0,7 g, 6 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi arrefecida

e diluída com metanol (25 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir os compostos (+)-*trans*-2-(4-Amino-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (Composto-1) e (+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-metilaminofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (Composto-2) na forma de sólidos amarelos.

Composto 1: Rendimento: 0,25 g (38%); MS (ES+): 417 (M+1)

Composto-2: Rendimento: 0,13 g (19%); MS (ES+): 431 (M+1).

Exemplo 53 (Exemplo comparativo)

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(4-amino-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto (+)-*trans*-2-(4-Amino-2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (0,25 g, 0,6 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para produzir o composto cloridrato de (+)-*trans*-2-(fenil-4-amino-2-cloro)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,26 g (96%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,78 (d, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,13 (dd, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,36 (s, 1H), 4,30 (m, 1H), 3,91 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,60 (dd, 1H), 3,46 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,52 (m, 1H), 2,29 (m, 1H);

MS (ES+): 417 (M+1), base livre;

MS (ES-): 451 (M-1)

Exemplo 54 (Exemplo Comparativo)

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilaminofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilamino-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (0,13 g, 0,3 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-metilaminofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,13 g (96%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,67 (d, 1H), 6,86 (d, 1H), 6,80 (dd, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,58 (dd, 1H), 3,44 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,86 (s, 3H), 2,53 (m, 1H), 2,33 (m, 1H);

MS (ES+): 431 (M+1), base livre;

MS (ES-): 465 (M-1).

Exemplo 55 (Preparação de Intermediário)

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-pirrolidin-1-il-benzóico

Ácido 2-cloro-4-pirrolidin-1-il-benzóico (1,0 g, 4,4 mmol), cloreto de tionilo (0,35 mL, 4,8 mmol), N-metilpirrolidin-2-ona (0,1 mL) e diclorometano (20 mL) foram agitados juntos à temperatura ambiente durante 12 horas. A esta solução foi adicionado o composto do exemplo (6) (0,86 g, 2,4 mmol) e a mistura foi arrefecida para 0 a 5 °C. Após arrefecimento, trietilamina (1,7 mL, 12,7 mmol) foi adicionada e a mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 4 horas. A mistura foi diluída com clorofórmio (25 mL), lavada com NaHCO₃ a 10% (10 mL), água (10 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL) e a camada orgânica foi seca

sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida para produzir o composto éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-pirrolidin-1-il-benzóico na forma de um sólido, o qual foi utilizado como tal para a reacção posterior sem purificação.

Rendimento: 1,37 g (100%);

MS (ES⁺): 559 (M+1).

Exemplo 56 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (1,6 M em hexano, 3 mL, 4,8 mmol) em THF (10 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (1 mL, 4,75 mmol) foi adicionado gota a gota e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (55) (1,37 g, 2,45 mmol) em THF (5 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% de bicarbonato de sódio até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido castanho (0,97 g, 70,8. Este éster foi dissolvido em 5 mL de HCl concentrado e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de

reação foi basificada com Na_2CO_3 sólido até o pH 10. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL) e lavada com água (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-onana forma de um sólido castanho.

Rendimento: 0,4 g (46,5%);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,62 (d, 1H), 6,58 (m, 2H), 6,50 (m, 1H), 6,42 (s, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,68 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 3,32 (m, 5H), 2,88 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,05 (m, 6H);

MS (ES+): 499 (M+1).

Exemplo 57 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (56) (0,4 g, 0,8 mmol), cloridrato de piridina (0,4 g, 3,46 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reação foi diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na_2CO_3 sólido até o pH 10. A mistura de reação foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto, (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 23 mg (6,6%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,82 (s, 1H), 7,47 (d, 1H), 6,62 (d, 1H), 6,52 (dd, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 4,2 (m, 1H), 3,88 (m, 2H), 3,34 (m, 5H), 2,96 (m, 1H), 2,68 (s, 3H), 2,40 (m, 1H), 2,09 (m, 6H);

MS (ES+): 471 (M+1).

Exemplo 58 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (57) (23 mg, 0,049 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-pirrolidin-1-il-fenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 23 mg (92,8%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,66 (d, 1H), 6,69 (d, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,36 (s, 1H), 4,32 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 3,71 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 3,61 (m, 1H), 3,37 (m, 4H), 3,06 (s, 3H), 2,54 (m, 1H), 2,29 (m, 1H), 2,06 (m, 4H); MS (ES-): 505 (M-1).

Exemplo 59 (Preparação de Intermediário):

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-cloro-4-isopropilaminobenzóico

Ácido 2-cloro-4-isopropilaminobenzóico (1,0 g, 4,6 mmol), cloreto de tionilo (0,38 mL, 5,1 mmol), N-metilpirrolidin-2-ona (0,1 mL) e diclorometano (20 mL) foram agitados juntos à temperatura ambiente durante 12 horas. A esta solução, o composto do exemplo (6) (0,91 g, 2,5 mmol) foi adicionado e a mistura foi arrefecida para 0 a 5 °C. Após arrefecimento, trietilamina (1,7 mL, 12 mmol) foi

adicionada e a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 4 horas. A mistura de reacção foi filtrada para remover o cloridrato de trietilamina precipitado e a camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida para se obter o composto em epígrafe como um sólido, o qual foi utilizado como tal para a reacção posterior sem purificação.

Rendimento: 0,95 g (67%);

MS (ES+): 547 (M+1)

Exemplo 60 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Cloro-4-isopropilaminofenil)-8-(2-hidroxi-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (1,6 M em hexano, 2,22 mL, 3,56 mmol) em THF (10 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (0,74 mL, 3,56 mmol) foi adicionado gota a gota e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (59) (0,95 g, 1,78 mmol) em THF (5 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% bicarbonato de sódio até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2-cloro-4-isopropilamino-fenil)-3-oxo-propionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxi-fenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido castanho (0,95 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (5 mL) e agitou-se durante 3 horas para efectuar a ciclização.

Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO_3 sólido até o pH 8-9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL) e lavada com água (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-8-(2-hidroxi-metil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona, na forma de um sólido castanho, o qual foi utilizado sem purificação posterior.

Rendimento: 0,7 g (92,5%)

Exemplo 61 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (60) (0,7 g, 1,4 mmol), cloridrato de piridina (0,7 g, 6 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (25 mL) e basificada com Na_2CO_3 sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 20 mg (3%);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,38 (d, 1H), 6,63 (d, 1H), 6,51 (dd, 1H), 6,39 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 4,15 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,67 (m, 1H), 3,27 (m, 1H), 2,9 (m, 2H), 2,65 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 1,25 (d, 6H);

MS (ES+): 459 (M+1).

Exemplo 62 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (61) (20 mg, 0,043 mmol) suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para produzir o sal de cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-isopropilaminofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-metil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 20 mg (95%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,72 (d, 1H), 7,04 (d, 1H), 6,92 (dd, 1H), 6,58 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,35 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,8 (m, 1H), 3,75 (m, 2H), 3,65 (dd, 1H), 3,40 (m, 1H), 3,0 (s, 3H), 2,53 (m, 1H), 2,32 (m, 1H), 1,29 (d, 6H);

MS (ES⁻): 493 (M-1).

Exemplo 63 (Preparação de Intermediário)

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2,4-dibromobenzóico

Uma mistura do composto do exemplo (6) (0,84 g, 2,3 mmol), ácido 2,4-dibromobenzóico (0,8 g, 2,8 mmol), DCC (0,98 g, 4,7 mmol) e DMAP (0,3 g, 2,3 mmol) foi dissolvida em diclorometano (25 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção é arrefecida para 0 °C, a dicitlo-hexilureia precipitada foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia de coluna com 1% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para dar o composto éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2,4-dibromobenzóico.

Rendimento: 1,14 g (78%);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8,19 (s, 1H), 7,55 (m, 2H), 6,44 (s, 1H), 4,2 (m, 2H), 3,91 (s, 6H), 3,60 (m, 1H), 3,18 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,60 (s, 3H), 2,48 (s, 3H), 2,13 (m, 1H), 1,94 (m, 2H), 1,80 (s, 3H);

MS (ES+): 614 (M+1).

Exemplo 64 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-Dibromofenil)-8-(2-hidroxi-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (15% em hexano, 2,38 mL, 5,6 mmol) em THF (10 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (1,67 mL, 8 mmol) foi adicionado gota a gota e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (63) (1,14 g, 1,8 mmol) em THF (10 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com bicarbonato de sódio a 10% até um pH de 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na_2SO_4 anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2,4-dibromofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido castanho (1,2 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (10 mL) e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi basificada com NaHCO_3 sólido até o pH 10. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na_2SO_4 anidro, concentrada à

pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para produzir o composto (+)-*trans*-2-(2,4-Dibromofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,6 g (58%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,81 (s, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,51 (dd, 1H), 6,48 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,03 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 3,73 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 3,33 (m, 1H), 2,99 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,15 (m, 2H);

MS (ES⁺): 554 (M+1).

Exemplo 65 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2,4-dibromofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (64) (0,6 g, 1,08 mmol), cloridrato de piridina (0,6 g, 5,19 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e % metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto em epígrafe na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,2 g (22%);

MS (ES⁺): 526 (M+1).

Exemplo 66 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dibromofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (65) (25 mg, 0,047 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal cloridrato de (+)-*trans*-2-(2,4-dibromofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 25 mg (93,5%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,95 (m, 1H), 7,73 (m, 2H), 6,52 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,60 (m, 2H), 3,4 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 2,53 (M, 1H), 2,28 (m, 1H);

MS (ES⁻): 560 (M-1)⁺

Exemplo 67 (Preparação de Intermediário):

Éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-bromo-4-clorobenzóico

Uma mistura do composto do exemplo (6) (1,12 g, 3,2 mmol), ácido 2-bromo-4-clorobenzóico (0,9 g, 3,8 mmol), DCC (1,32 g, 6,4 mmol) e DMAP (0,4 g, 3,2 mmol) foi dissolvida em diclorometano (25 mL) e agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura de reacção foi arrefecida para 0 °C, a diciclo-hexilureia precipitada foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 1% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para produzir o composto em epígrafe, éster 2-(2-acetoximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (+)-*trans*-2-bromo-4-clorobenzóico.

Rendimento: 0,6 g (33%); MS(ES⁺): 569 (M+1).

Exemplo 68 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Bromo-4-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il) -5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (15% em hexano, 0,9 mL, 2 mmol) em THF (10 mL), mantida a 0 °C, em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (0,44 mL, 2 mmol) foi adicionado gota a gota e agitou-se durante 15 min. A esta mistura, uma solução do composto do exemplo (67) (0,6 g, 1 mmol) em THF (10 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% bicarbonato de sódio até o pH 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL) e seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(2-bromo-4-clorofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metil-pirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido castanho (1,2 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (10 mL) e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO₃ sólido até o pH 8 a 9.

A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 25 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para produzir o composto (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,3 g (53,6%);

MS (ES⁺): 509 (M+1).

Exemplo 69 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-Bromo-4-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-*metil*-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura do composto do exemplo (68) (0,3 g, 0,59 mmol), cloridrato de piridina (0,3 g, 2,6 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (25 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-*metil*-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona, na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,04 g (14%);

MS (ES+): 481 (M+1).

Exemplo 70 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-*metil*-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (69) (34 mg, 0,07 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-bromo-4-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi-*metil*-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona.

Rendimento: 34 mg (93%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,98 (m, 1H), 7,8 (m, 2H), 6,5 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,17 (m, 1 H), 3,88 (m, 2H), 3,59 (m, 2H), 3,43 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,49 (m, 1H), 2,28 (m, 1H);

MS (ES-): 515 (M-1).

Exemplo 71 (Exemplo Comparativo):

(±)-*trans*-8-(2-Hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona

A uma suspensão de hidreto de sódio a 50% em óleo mineral (1,39 g, 29,1 mmol) em N,N-dimetilformamida (60 mL), mantida em atmosfera de azoto e arrefecida a 0 °C, (±)-*trans*-1-[2-hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona (3 g; 9,7 mmol) foi adicionada em porções e agitada durante 15 minutos. Ao fim de 15 minutos, metilbenzoato de 2-metoxi (4,8 g, 29 mmol) foi adicionado gota a gota e a reacção foi agitada a 0 °C durante 1 hora. O excesso de hidreto de sódio foi destruído por adição cuidadosa de metanol. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, e basificada com 10% bicarbonato de sódio até o pH 9. A mistura de reacção foi concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo para se obter 1-[2-hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-3-(2-metoxifenil)-propano-1,3-diona na forma de um óleo (1,4 g). Esta β-dicetona foi dissolvida em HCl concentrado (50 mL) e agitado durante 3 horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi basificada com NaHCO₃ sólido até o pH 10. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para produzir o composto, (±)-*trans*-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona.

Rendimento: 1,4 g (34%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,97 (d, 1H), 7,44 (t, 1H), 7,09 (t, 1H), 7,01 (d, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,43 (s, 1H), 4,27 (m,

1H), 4,00 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,70 (dd, 1H), 3,42 (d, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,72 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,08 (M, 2H);

MS (ES+): 426 (M+1).

Exemplo 72 (Exemplo Comparativo):

(±)-*trans*-5,7-Di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)-cromen-4-ona
(Composto 1)

(±)-*trans*-5,7-Di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona
(Composto 2)

(±)-*trans*-5-Hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona (Composto 3)

Uma mistura do composto do exemplo (71) (70 mg, 0,165 mmol), cloridrato de piridina (700 mg, 6,09 mmol) foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2,5 horas. A mistura de reacção foi diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir os compostos, (±)-*trans*-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)-cromen-4-ona (Composto 1), (±)-*trans*-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona (Composto 2), (±)-*trans*-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-2-(2-metoxifenil)-cromen-4-ona (Composto 3).

(Composto 1): Rendimento: 17 mg (27%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,90 (dd, 1H), 7,36 (m, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,96 (m, 2H), 6,18 (s, 1H), 4,20 (m, 1H),

3,79 (dd, 1H), 3,65 (dd, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,45 (m, 2H), 2,81 (s, 3H), 2,34 (m, 2H);

MS (ES+): 384 (M+1).

(Composto 2): Rendimento: 20 mg (30%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,77 (s, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,44 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 6,88 (s, 1H), 6,27 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,80 (m, 1H), 3,30 (m, 2H), 2,84 (m, 1H), 2,67 (s, 3H), 2,50 (m, 1H), 2,12 (m, 1H);

MS (ES+): 398 (M+1).

(Composto-3): Rendimento: 12 mg (18%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 13,12 (s, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,48 (m, 1H), 7,11 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,99 (s, 1H), 6,42 (s, 1H), 4,21 (m, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,91 (s, 3H), 3,58 (m, 2H), 3,11 (m, 1H), 2,70 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,05 (m, 2H);

MS (ES+): 412 (M+1).

Exemplo 73 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (±)-*trans*-5,7-Di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)-cromen-4-ona

O composto 1 do exemplo 72 foi suspenso (15 mg, 0,039 mmol) em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal, cloridrato de (±)-*trans*-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-2-(2-hidroxifenil)-cromen-4-ona.

Rendimento: 14 mg (85%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,97 (dd, 1H), 7,38 (m, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,00 (m, 2H), 6,34 (s, 1H), 4,42 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 3,79 (m, 1H), 3,63 (dd, 1H), 3,49 (m, 1H), 3,01 (s, 3H), 2,58 (m, 1H), 2,36 (m, 1H);

MS (ES+): 420 (M+1)⁺

Exemplo 74 (Exemplo Comparativo):

Éster 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do (+)-ácido acético

O composto do exemplo (9) (2 g, 5 mmol) foi agitado em diclorometano seco (40 mL) com anidrido acético (2,50 mL, 26,4 mmol) e uma quantidade catalítica de dimetilaminopiridina a 25 °C. Após 1 hora uma solução de carbonato de sódio saturado (30 mL) foi adicionada à mistura de reacção e agitou-se durante 15 min. A camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi extraída com CHCl₃ (3 x 50 mL). A camada orgânica combinada foi concentrada e o produto obtido foi purificado usando uma coluna em gel de sílica e metanol a 3% em CHCl₃ + 1% de licor de NH₃ como eluente, para se obter o composto éster 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do (+)-ácido acético.

Rendimento: 1,3 g (60%);

IV (KBr): 3421, 3069, 2953, 1742, 1659 cm⁻¹;

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,60 (s, 1H), 7,54 (m, 2H), 7,45 (m, 2H), 6,44 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,42 (t, 1H), 3,32 (t, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,43 (m, 1H), 2,00 (m, 1H), 1,90 (s, 3H).

Exemplo 75 (Exemplo Comparativo):

Éster 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do (+)-ácido acético

O composto do exemplo (74) (0,2 g, 0,38 mmol) foi suspenso em IPA (5 mL) e HCl a 3,5% (25 mL) foi adicionado. A suspensão foi aquecida para se obter uma solução límpida. A solução foi arrefecida e o sólido foi filtrado para se obter o composto em epígrafe, éster 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do (+)-ácido acético

Rendimento: 1,00 g (93%); MS (ES+): m/z 444 (M+1), base livre.

Exemplo 76 (Exemplo Comparativo):

Éster 8-(acetoximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-il do ácido (+)-*trans*-2-acético

Uma solução do composto do exemplo (10) (10 g, 22 mmol) em piridina (100 mL) foi arrefecida a 0 °C. Cloreto de acetilo (5,7 mL, 80 mmol) foi adicionado gota a gota e a mistura de reacção foi aquecida até à temperatura ambiente seguido por aquecimento a refluxo durante 12 horas. A mistura foi concentrada à pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 5% metanol em clorofórmio como eluente para dar o composto em epígrafe, éster 8-(acetoximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-il do ácido (+)-*trans*-2-acético.

Rendimento: 5 g (45%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,54 (d, 1H), 7,44 (m, 3H), 6,53 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,17 (m, 2H), 3,48 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,44 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 1,92 (m, 1H), 2,0 (s, 3H);

MS (ES+): m/z 486 (M+1).

Exemplo 77 (Exemplo Comparativo):

Éster 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-ílico do ácido (+)-*trans*-benzóico

Uma solução do composto do exemplo (10) (0,5 g, 1,1 mmol) em piridina (3 mL) foi arrefecida a 0 °C. Cloreto de benzoílo (1 mL, 8,62 mmol) foi adicionado gota a gota e a mistura de reacção foi aquecida até à temperatura ambiente seguido por aquecimento a refluxo durante 12 horas. A mistura foi concentrada à pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 5% metanol

em clorofórmio como eluente para dar o composto, éster 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-cloro-fenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-ílico do ácido (+)-*trans*-benzóico.

Rendimento: 0,2 g (28%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,25 (m, 1H), 8,09 (m, 1H), 7,91 (m, 1H), 7,50 (m, 11H), 6,68 (s, 1H), 6,34 (s, 1H), 4,55 (m, 2H), 4,32 (dd, 1H), 3,69 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 2,72 (s, 3H), 2,58 (m, 1H), 2,12 (m, 1H); MS (ES+): m/z 610 (M+1).

Exemplo 78 (Exemplo Comparativo):

Éster cloridrato de 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-cloro-fenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-ilo do ácido (+)-*trans*-benzóico

O composto do exemplo (77) (0,2 g, 0,328 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal, éster cloridrato de 8-(2-benzoiloximetilpirrolidin-3-il)-2-(2-cloro-fenil)-5-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-7-ilo do ácido (+)-*trans*-benzóico.

Rendimento: 0,2 g (94,5%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 8,2 (m, 1H), 8,02 (m, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,49 (m, 1 1H), 6,85 (s, 1H), 6,29 (s, 1H), 4,69 (m, 1H), 4,5 (m, 3H), 3,89 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,74 (m, 1H), 2,48 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 610 (M+1), base livre.

Exemplo 79 (Exemplo Comparativo)

Éster 2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(1-metil-2-octanoiloximetilpirrolidin-3-il)-4-oxo-4H-cromen-7-ílico do ácido (+)-*trans*-octanóico

Uma solução do composto (10) (0,5 g, 1,2 mmol) em piridina (3 mL) foi arrefecida a 0 °C. Cloreto de octanoílo, preparado por refluxo do ácido octanóico (0,41 mL, 3,12

mmol) em cloreto de tionilo (1 mL) durante 30 minutos, seguido por evaporação até à secura, foi adicionado gota a gota e a mistura de reacção foi aquecida até à temperatura ambiente seguido por aquecimento a refluxo durante 12 horas. A mistura foi concentrada à pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 5% metanol em clorofórmio como eluente para dar o composto em epígrafe.

Rendimento: 0,2 g (30,5%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,60 (s, 1H), 7,55 (m, 4H), 6,44 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,32 (m, 1H), 2,76 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,45 (m, 1H), 2,34 (t, 2H), 2,17 (m, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,63 (m, 2H), 1,48 (m, 2H), 1,27 (m, 16H), 0,86 (m, 6H).

Exemplo 80 (Exemplo Comparativo):

Éster 3-[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-metoxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido (+)-*trans*-acético

A uma solução do composto do exemplo (8) (2,0 g, 4,65 mmol) e dimetilaminopiridina (10 mg) em diclorometano (20 mL), anidrido acético (0,48 mL, 5,07 mmol) foi adicionado gota a gota e a mistura de reacção foi agitada durante 15 mins. Ao fim de 15 minutos, a mistura de reacção foi diluída com clorofórmio (20 mL), a camada orgânica foi lavada com NaHCO₃ a 10%, água (10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e concentrada à pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (20 mL), seguido pela adição de dietil eterato de trifluoreto de boro (1,72 mL, 13,9 mmol) e sulfureto de dimetilo (1,1 mL, 14 mmol) e agitado à temperatura ambiente durante 1 hora. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo,

basificada com Na_2CO_3 a 10% e extraída com clorofórmio (2 x 50 mL). As camadas orgânicas foram combinadas, lavadas com água (10 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro e concentradas à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando éter de petróleo a 20% em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para dar o composto, éster 3-[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-metoxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido (+)-*trans*-acético.

Rendimento: 1,22 g (58%);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 12,88 (s, 1H), 7,50 (m, 4H), 6,47 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,04 (m, 2H), 3,95 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,13 (m, 1H), 2,74 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,13 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,72 (s, 3H);

MS (ES+): m/z 458 (M+1).

Exemplo 81 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona

Método A

O composto do Exemplo (80) (1,4 g, 3,0 mmol) foi dissolvido em metanol (6 mL), ao qual foi adicionada uma solução aquosa de NaOH a 2% (6 mL) e a mistura foi aquecida com agitação a 50-60 °C durante 1 hora. No final deste período, a mistura foi acidificada com HCl diluído seguido por basificação com uma solução de Na_2CO_3 a 10% até o pH 9. A mistura foi extraída com EtOAc (3 x 25 mL) e as camadas orgânicas foram lavadas com água (10 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL), secas sobre Na_2SO_4 anidro, concentradas à pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando isopropanol a 1% em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para dar o composto, (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-

8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 1,2 g (97%);

IV (KBr): 3446, 1656, 1608 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 12,90 (s, 1H), 7,74 (m, 1H), 7,48 (m, 3H), 6,57 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,63 (dd, 1H), 3,36 (d, 1H), 3,14 (m, 1H), 2,72 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,01 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 416 (M+1)⁺.

Método B

O composto do exemplo (8) (0,1 g, 0,23 mmol) foi tratado com HBr (5 mL, 47%) a 100 °C durante 3,5 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo, basificada com uma solução de Na_2CO_3 (10%, 40 mL), extraída com acetato de etilo e concentrada. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna e 5% metanol + 1% licor NH_3 em CHCl_3 como eluente, para se obter o composto em epígrafe.

Rendimento: 0,085 g (84%);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 12,90 (s, 1H), 7,74 (m, 1H), 7,48 (m, 3H), 6,57 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,63 (dd, 1H), 3,36 (d, 1H), 3,14 (m, 1H), 2,72 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,01 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 416 (M+1).

Exemplo 82 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona
O composto do exemplo (81) (50 mg, 0,11 mol) foi suspenso em metanol (2 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal, cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 53 mg (100%);

IV (KBr): 3297, 1663, 1608, 1581 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 8,12 (d, 1H), 7,91 (m, 3H), 6,96 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,34 (s, 3H), 4,17 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 2,75 (m, 1H), 2,62 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 416 (M-36,5);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +15,32° (c = 0,27, metanol).

Exemplo 83 (Exemplo Comparativo):

Gluconato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona
O composto do exemplo (81) (50 mg, 0,12 mmol) foi suspenso em metanol (1 mL) e água (1 mL) e foi agitado. A esta mistura, ácido glucónico (24 mg, 0,12 mmol) foi adicionado, agitado e a solução foi evaporada até a *secura* para se obter o sal, gluconato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-7-metoxi-cromen-4-ona

Rendimento: 74 mg (100%);

IV (KBr): 3445, 1654, 1609 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,80 (d, 1H), 7,59 (m, 3H), 6,64 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,27 (m, 1H), 4,07 (m, 2H), 4,02 (s, 3H), 3,76 (m, 7H), 2,92 (s, 3H), 2,33 (m, 2H);

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +18,17° (c = 0,73, metanol)

Exemplo 84 (Exemplo Comparativo):

Éster 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido (+)-*trans*-acético

A uma solução do composto do exemplo (10) (1 g, 2,28 mmol) e trietilamina (1,6 mL, 11,4 mmol) em cloreto de metileno (10 mL), anidrido acético (0,7 mL, 7,4 mmol) foi adicionado e agitado durante 30 min. à temperatura ambiente. A mistura de reacção foi extinta com uma solução de carbonato de sódio saturado (10 mL) e a mistura foi agitada durante 30 min. A camada orgânica foi separada,

lavada com carbonato de sódio aquoso (10 mL), água (10 mL), seca sobre sulfato de sódio anidro e evaporada à pressão reduzida para se obter o composto, éster 3-[2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-4-oxo-4H-cromen-8-il]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido (+)-*trans*-acético, o qual foi utilizado como tal sem posterior purificação.

Rendimento: 1,1 g (99%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 12,59 (s, 1H), 7,45 (m, 4H), 6,44 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 4,32 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,44 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,42 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 1,92 (s, 3H); MS (ES⁺): 444 (M+1).

Exemplo 85 (Exemplo Comparativo):

Éster 3-[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-(metoxi-2-metoxietoxi)-8-il-4-oxo-4H-cromen]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido (+)-*trans*-acético

O composto do exemplo (84) ((1,11 g, 2,50 mmol) foi dissolvido em DMF seco (15 mL) em atmosfera de azoto e arrefecido para 0 °C. Hidreto de sódio (50%, 0,14 g, 2,9 mmol) foi adicionado e a mistura foi agitada durante 30 min. Uma solução de cloreto de 2-metoxietoximetilo (0,33 mL, 2,9 mmol) em DMF seco foi adicionada gota a gota e a reacção foi mantida a 10 °C de um dia para o outro. A reacção foi vertida em água gelada (10 mL), acidificada com ácido acético até o pH 5, basificada com Na₂CO₃ aquoso (pH 9), e extraída com acetato de etilo (2 x 25 mL). A camada orgânica foi separada, lavada com água (15 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (15 mL), seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada à pressão reduzida até à secura para se obter o composto, éster 3-[2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-7-(metoxi-2-metoxietoxi)-8-il-

4-oxo-4H-cromen]-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido (+)-*trans*-acético

Rendimento: 1,1 g (92%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,78 (s, 1H), 7,56 (m, 4H), 6,68 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 5,39 (s, 2H), 4,20 (m, 2H), 4,05 (m, 1H), 3,83 (m, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,56 (m, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,81 (s, 3H), 1,62 (m, 2H); MS (ES+): 532 (M+1).

Exemplo 86 (Exemplo Comparativo):

(+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil)-1-metil-pirrolidin-3-il)-7-(2-metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona

O composto do exemplo (85) (1,1 g, 2,07 mmol) foi dissolvido em 15 mL de solução a 1% de hidróxido de sódio em 1:1 mistura de metanol-água e agitado à temperatura ambiente durante 1 hora. No final da 1 hora, a mistura de reacção foi diluída com água gelada, acidificada com ácido acético (pH 5), basificada com Na₂CO₃ aquoso (pH 9), e extraída com acetato de etilo (2 x 25 mL). A camada orgânica foi separada, lavada com água (15 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (15 mL), seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada à pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 1% isopropanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco, como eluente, para dar o composto em epígrafe, (+)-*trans*-2-(2-cloro-fenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroximetil)-1-metilpirrolidin-3-il)-7-(2-metoxi etoximetoxi)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,43 g (38,7%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 12,84 (s, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,50 (m, 3H), 6,62 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,41 (s, 2H), 4,30 (q, 1H), 3,85 (m, 3H), 3,59 (m, 4H), 3,37 (m, 1H),

3,35 (s, 3H), 2,96 (m, 1H), 2,72 (s, 3H), 2,39 (m, 1H), 2,24 (m, 1H);

MS (ES⁺): 490 (M+1).

Exemplo 87 (Exemplo Comparativo):

Gluconato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroxi-2-metoxietoximetoxi)-1-metilpirrolidin-3-il)-7-(2-metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona

A uma solução do composto do exemplo (86) (0,55 g, 1,12 mmol) em metanol (5 mL), foi adicionado ácido (+)-glucónico (0,22 g, 1,12 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 30 min. O solvente foi removido à pressão reduzida para se obter o sal, gluconato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5-hidroxi-8-(2-hidroxi-2-metoxietoximetoxi)-1-metilpirrolidin-3-il)-7-(2-metoxietoximetoxi)-cromen-4-ona.

Rendimento: 0,77 g (100%);

IV (KBr): 3385, 1656, 1606 cm⁻¹;

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,62 (d, 1H), 7,54 (m, 3H), 6,74 (s, 1H), 6,57 (s, 1H), 5,49 (s, 2H), 4,29 (m, 1H), 4,07 (s, 2H), 3,76 (m, 13 H), 3,34 (s, 3H), 2,90 (s, 3H), 2,38 (m, 2H);

MS (ES⁺): 490 (M+1)⁺, base livre;

[α]_D²⁵: +15,33° (c = 0,6, metanol).

Exemplo 88 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroxi-2-metoxietoximetoxi)-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado HCl etéreo e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal, cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroxi-2-metoxietoximetoxi)-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 50 mg (93%);

IV (KBr): 3421, 1647, 1599, 1471 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,95 (d, 1H), 7,56 (m, 3H), 6,76 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 4,36 (m, 1H), 3,95 (s, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,82 (m, 2H), 3,68 (m, 2H), 3,35 (m, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,36 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 430 (M+1), base livre;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: 3,76° (c = 0,28, metanol)

Exemplo 89 (Exemplo Comparativo):

Citrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroxiometil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura ácido cítrico (23 mg, 0,12 mmol) foi adicionado e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal em epígrafe, citrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroxiometil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

.

Rendimento: 73 mg (100%);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,79 (d, 1H), 7,57 (m, 3H), 6,77 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,10 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 3,98 (m, 2H), 3,69 (m, 2H), 3,31 (m, 1H), 3,01 (s, 3H), 2,76 (m, 4H), 2,29 (m, 2H).

Exemplo 90 (Exemplo Comparativo):

Tartarato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroxiometil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado ácido tartárico (17 mg, 0,113 mmol) e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal, tartarato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroxiometil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 7 mg (100%);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,76 (d, 1H), 7,57 (m, 3H), 6,75 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 4,22 (m, 1H), 4,08 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 3,49 (m, 3H), 3,31 (m, 2H), 3,05 (m, 1H), 2,78 (s, 3H), 2,26 (m, 2H); MS (ES+): m/z 430 (M), a base livre;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +5,35° (c = 0,21, metanol)

Exemplo 91 (Exemplo Comparativo):

Glutamato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado ácido glutâmico (17 mg, 0,115 mmol) e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal, glutamato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 67 mg (100%);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,79 (d, 1H), 7,57 (m, 3H), 6,77 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,41 (m, 4H), 4,10 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 3,98 (m, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,69 (m, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,38 (m, 2H).

Exemplo 92 (Exemplo Comparativo):

Maleato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado ácido maleico (14 mg, 0,116 mmol) e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal, maleato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 5 mg (78%);

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,78 (d, 1H), 7,62 (d, 1H), 7,56 (t, 1H), 7,49 (t, 1H), 6,76 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,25 (s, 2H), 4,35 (m, 1H), 4,09 (s, 3H), 4,01 (s, 3H), 3,83 (m,

2H), 3,69 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 3,32 (m, 1H), 2,95 (s, 3H), 2,41 (M, 1H), 2,28 (m, 1H).

Exemplo 93 (Exemplo Comparativo):

Nitrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado ácido nítrico (7,1 mg, 0,113 mmol) e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal do título, nitrato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 57 mg (99%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,79 (d, 1H), 7,53 (m, 3H), 6,77 (s, 1H), 6,49 (s, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,10 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 3,86 (m, 2H), 3,74 (m, 1H), 3,57 (M, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,96 (s, 3H), 2,43 (m, 1H), 2,32 (m, 1H).

Exemplo 94 (Exemplo Comparativo):

Acetato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado ácido acético (7 mg, 0,11 mmol) e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal do título, acetato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 56 mg (100%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 7,79 (d, 1H), 7,57 (m, 3H), 6,77 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,17 (s, 3H), 4,02 (s, 3H), 3,98 (m, 1H), 3,86 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 2,95 (s, 3H), 2,43 (m, 1H), 2,30 (m, 1H);

[α]_D²⁵: +2,85° (c = 0,14, metanol).

Exemplo 95 (Exemplo Comparativo):

Gluconato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

O composto do exemplo (8) (50 mg, 0,116 mmol) foi suspenso em metanol (2 mL) e agitado. A esta mistura foi adicionado ácido glucónico (21 mg, 0,11 mmol) e a solução foi agitada e evaporada para se obter o sal, Gluconato de (+)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona.

Rendimento: 71 mg (100%);

IV (KBr): 3445,1648, 1560 cm^{-1} ;

RMN ^1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,61 (d, 1H), 7,59 (m, 3H), 6,76 (s, 1H), 6,73 (s, 1H), 4,75 (m, 2H), 4,09 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,70 (m, 9H), 3,30 (m, 1H), 2,89 (s, 3H), 2,34 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 430 (M+1), base livre;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +2,85° (c = 0,14, metanol);

Análise: ($\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{ClN}_2\text{O}$) C 54,31 (54,08), H 5,90 (5,94), N 2,49 (2,17), Cl 5,62 (5,34), água 3,30 (2,79).

Exemplo 96 (Exemplo Comparativo):

Cloridrato de (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

(Este composto é o enantiómero (-)-*trans* do composto descrito no exemplo 10. O enantiómero (-)-*trans* foi preparado para comparar a sua actividade com a do seu enantiómero (+)-*trans* correspondente.)

(A) (+)-*trans*-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

(+)-DBTA (112,7 g, 314,0 mmol) foi adicionado ao composto do exemplo (4) (88,5 g, 314 mmol), seguido pela adição de metanol (600 mL). A mistura foi submetida a refluxo durante 10 minutos, agitada lentamente à temperatura

ambiente durante 3 horas, o sal cristalizado foi filtrado e seco.

Rendimento: 80,5 g (40%);

$[\alpha]_D^{25}$: = +82,11° (C = 0,7, metanol).

O sal foi agitado com solução aquosa a 10% de Na₂CO₃ (255 mL) e EtOAc (200 x 3 mL) para se obter a base livre na camada de EtOAc. A camada de EtOAc foi concentrada para se obter o composto em epígrafe.

Rendimento: 30 g (98,5%);

$[\alpha]_D^{25}$: = +20,2° (c = 0,7, metanol);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,13 (s, 2H), 3,90 (m, 1H), 3,79 (s, 9H), 3,57 (dd, 1H), 3,38 (d, 1H), 3,13 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,47 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,00 (m, 1H), 1,93 (m, 1H).

(B) Éster 3-(3-acetil-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-1-metil pirrolidin-2-il metílico do ácido (+)-*trans*-acético

BF₃-eterato (36,8 g, 259 mmol) foi adicionado, gota a gota, com agitação, a 0 °C, numa atmosfera de N₂ a uma solução do composto do exemplo ((96-(A)) (14,6 g, 51,9 mmol) em anidrido acético (24,26 mL, 26,2 g, 256 mmol). A mistura de reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo picado (1 kg), basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃ e extraída usando EtOAc (3 x 200 mL). O extracto orgânico foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seco (Na₂SO₄ anidro) e concentrado para se obter o composto em epígrafe.

Rendimento: 17,8 g (98%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,1 (s, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,15 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 3,82 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,85 (s, 3H), 2,64 (s, 3H), 2,28 (m, 2H), 2,01 (s, 3H) .

(C) (+)-*trans*-1-[2-Hidroxi-3-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-4,6-dimetoxifenil]-etanona

A uma solução do composto do exemplo (96-(B)) (17,8 g, 50,7 mmol) em metanol (40 mL) foi adicionado, com agitação, à temperatura ambiente, uma solução aquosa de NaOH a 10% (40 mL). A temperatura da mistura reaccional foi elevada para 50 °C durante 45 min. A mesma foi arrefecida até à temperatura ambiente, acidificada com HCl concentrado e concentrada para remover o metanol. Em seguida foi basificada usando uma solução aquosa saturada de Na₂CO₃. O composto em epígrafe precipitado foi filtrado, lavado com água e seco.

Rendimento: 10,2 g (65%);

p.f.: 173-174 °C;

$[\alpha]_D^{25}$: = + 4,12° (c = 0,7, metanol);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 5,96 (s, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,58 (dd, 1H), 3,42 (d, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,62 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,00 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 310 (M+1).

(D) (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

Hidreto de sódio (50%, 0,54 g, 11 0,25 mmol) foi adicionado em porções a uma solução do composto do exemplo (96-(C)) (0,7 g, 2,2 mmol) em DMF seco (15 mL) a 0 °C, em atmosfera de azoto e com agitação. Após 10 min., 2-clorobenzoato de metilo (1 0,15 g, 6,75 mmol) foi adicionado. A mistura de reacção foi agitada a 25 °C durante 2 h. Metanol foi adicionado cuidadosamente a uma temperatura abaixo de 20 °C. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g), acidificada com 1:1 de HCl (pH 2) e extraída com EtOAc (2 x 100 mL). A camada aquosa foi basificada usando uma solução saturada de Na₂CO₃

(pH 10) e extraída com CHCl_3 (3 x 200 mL). A camada orgânica foi seca (Na_2SO_4 anidro) e concentrada. Ao resíduo, foi adicionado HCl concentrado (25 mL) e foi agitado à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura de reacção foi vertida sobre gelo triturado (300 g) e tornada básica com uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 . A mistura foi extraída com CHCl_3 (3 x 200 mL). O extracto orgânico foi lavado com água, seco (Na_2SO_4 anidro) e concentrou-se para se obter o composto do título.

Rendimento: 0,625 g (65%);

p.f.: 95-97 °C;

IV (KBr): 3431, 1648, 1598, 1571 cm^{-1} ;

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: = -4,95° (c = 0,7, metanol);

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,70 (dd, 1H), 7,68 (m, 3H), 6,50 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,20 (m, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,66 (dd, 1H), 3,37 (d, 1H), 3,15 (m, 1H), 2,77 (d, 1H), 2,54 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,05 (m, 2H);

MS (ES+): m/z 430 (M+1).

(E) (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Cloridrato de piridina fundido (2 g, 17,3 mmol) foi adicionado ao composto do exemplo (96-(D)) (0,2 g, 0,46 mmol) e aquecido a 180 °C durante 1,5 h. A mistura de reacção foi arrefecida até 25 °C, diluída com MeOH (10 mL) e basificada usando Na_2CO_3 até o pH 10. A mistura foi filtrada e a camada orgânica foi concentrada. O resíduo foi suspenso em água (5 mL), agitado durante 30 min., filtrado e seco para se obter o composto em epígrafe.

Rendimento: 0,125 g (67,6%);

p.f.: 228-230 °C;

IV (KBr): 3422, 3135, 1664, 1623, 1559 cm^{-1} ;

MS (ES+): m/z 402 (M+1);

Análise: $C_{21}H_{20}ClNO_5 \cdot 0,5 H_2O$ C, 61,81 (61,33), H, 4,62 (5,00), N, 3,75 (3,33), Cl 8,47 (8,45).

(F) Cloridrato de (-)-*trans*-2-(2-clorofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

O composto do Exemplo (96-(E)) (4,09 g, 10,18 mmol) foi suspenso em IPA (5 mL) e HCl a 3,5% (25 mL) foi adicionado. A suspensão foi aquecida para ficar uma solução límpida. A solução foi arrefecida e o sólido foi filtrado para se obter o composto em epígrafe.

Rendimento: 4,47 g (99%);

p.f.: 180-184 °C;

$[\alpha]_D^{25}$: = -20,2° (c = 0,4, metanol);

RMN 1H (CD_3OD , 300 MHz): δ 7,80 (d, 1H), 7,60 (m, 3H), 6,54 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 4,23 (m, 1H), 3,89 (m, 2H), 3,63 (m, 1H), 3,59 (dd, 1H), 3,38 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 2,51 (m, 1H), 2,30 (m, 1H);

MS (ES+): m/z 402 (M-36,5);

Análise: $C_{21}H_{21}Cl_2NO_5$ C, 57,2 (57,55); H, 4,92 (4,83); N, 2,98 (3,20); Cl, 15,74 (16,18).

Exemplo 97 (Exemplo comparativo)

Cloridrato de (-)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (Este composto é o enantiómero (-)-*trans* do composto descrito no exemplo 50. O enantiómero (-)-*trans* foi preparado para comparar a sua actividade com a do seu enantiómero (+)-*trans*) correspondente.

(A) Éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxifenílico do ácido (-)-*trans*-2-cloro-4-nitro-benzóico

Ácido 2-cloro-4-nitrobenzóico (3,55 g, 17 mmol) e cloreto de tionilo (2 mL) foram aquecidos juntos a 85 °C durante 3 horas. O excesso de cloreto de tionilo foi evaporado à

pressão reduzida e o resíduo foi seco a vácuo e dissolvido em THF (50 mL). Este foi adicionado gota a gota a uma solução do composto do exemplo (96-(B)) (4 g, 11 mmol) e trietilamina (15 mL, 108 mmol) em THF (100 mL) mantida a 15-20 °C. A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada durante 12 horas. No final de 12 horas, a mistura de reacção foi concentrada para remover o THF, acidificada com HCl diluído, alcalinizada com solução de NaHCO₃ a 10% até o pH 10, extraída com EtOAc (3 x 100 mL), lavada com água (50 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL) e a camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida para se obter o composto em epígrafe na forma de um óleo que foi utilizado como tal para a reacção posterior sem purificação.

Rendimento: 1,62 g (25%);

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8,35 (d, 1H), 8,25 (m, 2H), 6,45 (s, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,94 (s, 6H), 3,59 (m, 1H), 3,17 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,46 (m, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,17 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 1,83 (s, 3H);

MS (ES+): m/z 535 (M+1).

(B) (-)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroxi-1-metilpirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona

A uma solução de n-BuLi (15% em hexano, 2,54 mL, 5,8 mmol) em THF (25 mL), mantida a 0 °C em atmosfera de azoto, hexametildissilazano (1,25 mL, 5,8 mmol) foi adicionado gota a gota e agitado durante 15 min. A esta mistura, uma solução de éster 2-(2-acetoximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-6-acetil-3,5-dimetoxi-fenílico do ácido (-)-*trans*-2-cloro-4-nitro-benzóico (1,6 g, 3 mmol) em THF (25 mL) foi adicionada, gota a gota, mantendo a temperatura a 0 °C. Após a adição, a reacção foi deixada aquecer até à

temperatura ambiente e agitada durante 2,5 horas. A mistura de reacção foi acidificada com HCl diluído, basificada com solução de NaHCO₃ a 10% até o pH de 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL). A camada orgânica foi lavada com água (25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL), seca sobre Na₂SO₄ anidro. A camada orgânica foi concentrada à pressão reduzida e a vácuo para se obter o éster 3-{3-[3-(-2-cloro-4-nitrofenil)-3-oxopropionil]-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil}-1-metilpirrolidin-2-ilmetílico do ácido acético na forma de um sólido amarelo (1,6 g). Este éster foi dissolvido em HCl concentrado (16 mL) e agitado à temperatura ambiente durante três horas para efectuar a ciclização. Ao fim de 3 horas, a mistura de reacção foi tornada básica com NaHCO₃ sólido até o pH 8 a 9. A camada aquosa foi extraída com clorofórmio (3 x 50 mL) e lavada com água (25 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25 mL). A camada orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro, concentrada à pressão reduzida e seca a vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna com 3% metanol em clorofórmio e 0,1% amoníaco como eluente para produzir o composto em epígrafe na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,71 g (50%);

IV (KBr): 3447, 1648, 1600, 1570 cm⁻¹;

RMN ¹H (CDCl₃): δ 8,37 (d, 1H), 8,26 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,98 (s, 3H), 3,67 (m, 1H), 3,32 (m, 1H), 3,19 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,04 (m, 2H);

MS (ES⁺): m/z 475 (M+1).

(C) (-)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

Uma mistura de (-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-8-(2-hidroximetil-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona (0,4 g, 0,8 mmol), cloridrato de piridina (0,48 g, 4,1 mmol) e uma quantidade catalítica de quinolina foi aquecida a 180 °C, durante um período de 2 horas. A mistura de reacção foi arrefecida e diluída com metanol (50 mL) e basificada com Na₂CO₃ sólido até o pH 10. A mistura de reacção foi filtrada, e lavada com metanol. A camada orgânica foi concentrada e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna usando 0,1% amoníaco e 3% metanol em clorofórmio como eluente para produzir o composto em epígrafe na forma de um sólido amarelo.

Rendimento: 0,24 g (65%);

MS (ES⁺): m/z 447 (M+1)

(D) Cloridrato de (-)-*trans*-2-(2-cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona

(-)-*trans*-2-(2-Cloro-4-nitrofenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroximetil-1-metil pirrolidin-3-il)-cromen-4-ona (0,2 g, 0,4 mmol) foi suspenso em metanol (10 mL) e tratado com HCl etéreo e o solvente orgânico foi evaporado para se obter o sal em epígrafe.

Rendimento: 0,18 g (85%);

RMN ¹H (CD₃OD, 300 MHz): δ 8,51 (d, 1H), 8,36 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 6,69 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,91 (m, 2H), 3,73 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 3,00 (s, 3H), 2,55 (m, 1H), 2,32 (m, 1H);

MS (ES⁺): m/z 483 (M+1).

Exemplo 98 (Exemplo Comparativo: Preparado de acordo com o método descrito na Pedido de Patente US 2004/0106581 publicado)

(-)-*trans*-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol

O composto do exemplo 4 (27,3 g, 97,1 mmol), foi dissolvido em metanol (100 mL) e aquecido a 70 °C. A esta solução quente foi adicionado (+)DBTA (36,51 g, 101,9 mmol) e o aquecimento foi continuado durante 10 min. A solução foi concentrada para se obter um sólido (63,81 g), que foi cristalizado utilizando-se metanol (45 mL) e isopropanol (319 mL). A filtração e lavagem com isopropanol com subsequente secagem produziu uma mistura de do sal de tartarato cristalino (13,14 g), $[\alpha]_D^{25} = +55,34^\circ$ (C = 1,14, metanol). Este produto foi então recristalizado usando metanol (10 mL) e isopropanol (40 mL). O mesmo foi isolado como descrito acima, rendimento: 9,04 g, $[\alpha]_D^{25} = +49,67^\circ$ (C = 1,248, metanol). A base livre foi obtido a partir deste produto como se segue. O sal (9 g) foi suspenso em acetato de etilo (100 mL). A esta suspensão uma solução aquosa de NaHCO₃ a 5% (100 mL) foi adicionado e a mistura foi agitada durante 30 minutos. A porção orgânica foi separada e a porção aquosa foi ainda extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As porções orgânicas foram combinadas e concentradas para se obter o composto, (-)-*trans*-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il] metanol

Rendimento: 3,6 g (26,3%).

$[\alpha]_D^{25} = -17,6^\circ$ (C = 1,1, metanol).

RMN ¹H (CDCl₃): δ 6,13 (s, 2H), 3,90 (m, 1H), 3,79 (s, 9H), 3,51 (dd, 1H), 3,38 (d, 1H), 3,13 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,47 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,00 (m, 1H), 1,93 (m, 1H).

MS (ES+): m/z 282 (M+1).

Este composto foi submetido a HPLC quiral. A HPLC quiral foi realizada utilizando uma coluna Chiralcel OD-H (250 x 4,6 mm) e o sistema solvente hexano:etanol (92:08) com TFA (0,4%). Os resultados são registados a 264 nm com uma taxa

de fluxo de solvente de 1 mL/min. Como representado na figura 2, a HPLC quiral mostrou 88,3% de e.e do composto, (-)-trans-[1-Metil-3-(2,4,6-trimetoxifenil)-pirrolidin-2-il]-metanol.

Testes biológicos:

A eficácia dos enantiómeros (+)-*trans* dos compostos de fórmula I na inibição da actividade das quinases dependentes de ciclina pode ser determinada por inúmeros de ensaios farmacológicos bem conhecidos na técnica, tal como descrito adiante, ou, por exemplo, em Losiewicz, M. D., *et al. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, 201, 589. As quinases, ciclinas e substratos utilizados no ensaio de quinase *in vitro*, podem ser proteínas isoladas de células de mamífero, ou, alternativamente, podem ser proteínas produzidas de forma recombinante. Os ensaios farmacológicos exemplificados como aqui descritos adiante foram realizados com os compostos da presente invenção e os seus sais.

Ensaio de CDK4/Ciclina D1 Quinase e Ensaio CDK2/Ciclina Quinase E

Os ensaios medem a fosforilação da proteína de retinoblastoma (Rb) por CDK4 ou CDK2 após a activação pela ciclina D1 ou ciclina E, respectivamente, através da transferência de ($\gamma^{32}\text{P}$)-fosfato de $\gamma^{32}\text{P}$ -ATP num ensaio em placa-filtro de 96 poços.

Materiais:

CDK4 ou CDK2 foi co-expressa com ciclina D1 ou ciclina E, respectivamente, por um sistema de expressão de baculovírus em células de insecto. Para tanto, 1×10^7 células Sf9 foram co-infectadas com baculovírus contendo genes de CDK-4 ou 2 humana e ciclina D1 ou E e após 72 horas as células foram lisadas em 500 μL de um tampão de lise (HEPES 50 mM (pH 7,5), MgCl_2 10 mM, DTT 1 mM, 5 $\mu\text{g/mL}$

de aprotinina, 5 µg/mL de leupeptina, NaF 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfonilo 0,2 mM (PMSF), e ortovanadato de sódio. O lisado centrifugado foi purificado numa coluna de GST-sepharose. A pureza das proteínas foi verificada por SDS-PAGE seguido por manchas de Western usando anticorpos específicos (Santacruz Biotec, EUA) para CDK4 ou CDK2.

A proteína de fusão GST-retinoblastoma (Rb) (aa 776-928) é expressa na bactéria *E. coli* e purificada por cromatografia de afinidade em GSH-Sepharose. O GST-Rb ligado a essas contas serviu como substrato no ensaio.

Leitura:

A quantificação foi realizada por detecção de cintilação de ³²P)-GST-Rb em placas-filtro de 96 poços utilizando o contador de cintilação Top Count de 96 poços (Packard, EUA).

Procedimento:

O ensaio da enzima CDK4 ou CDK2 foi executado no formato de 96 poços, utilizando placas de filtração Millipore Multiscreen. Todas as etapas do ensaio ocorreram numa única placa de filtro (placas Unifilter, Packard, EUA). Os poços de filtração foram pré-humedecidos com tampão de quinase (100 µL/poço) e a solução foi então removida por aplicação de vácuo, com a placa-filtro num tubo de vácuo e o vácuo ligado. 50 µL de GST-Rb ligado a contas de GSH-Sepharose em tampão de quinase (0,5 µg GST-Rb/50 µL) foram adicionados a cada poço e vácuo foi aplicado para remover o tampão. Mais 25 µL de uma mistura de reacção contendo ATP (frio + quente) e inibidores de fosfatase diluídos no tampão de quinase foram adicionados a cada poço, seguido da adição do composto de teste (4x a concentração final em tampão de quinase) ou tampão de quinase (controlo) num volume adicional de 25 µL. Por fim 50 µL (100 ng) da enzima CDK-4/D1 ou CDK-2/E humana em tampão de quinase

foram adicionados a cada poço para dar início à reacção. A reacção foi incubada durante 30 min a 30 °C. Depois de completa a reacção, vácuo foi aplicado e a placa foi lavada com o tampão de lavagem (tampão TNEN) três vezes. A placa-filtro foi seca ao ar e colocada numa placa adaptadora Multiscreen. A cada poço foram adicionados 30 µL de coquetel Packard Microscint-O e a placa foi coberta com uma película Top-Seal A. A placa foi contada num Contador de Cintilação Packard Top Count por 10 min. Flavopiridol foi utilizado como inibidor padrão em todas as experiências.

A concentração de composto na qual 50% da actividade da fosfoquinase de CDK4-ciclina D1 e CDK2-ciclina E foram inibidos (IC_{50}) foi calculada para os compostos representativos e os seus sais farmacologicamente aceitáveis descritos nos Exemplos. Os resultados estão indicados na Tabela 1.

Tabela 1:

Composto(s)	IC_{50} (µM)	
	CKD-CICLINA D1	CKD-CICLINA E
Composto do Exemplo 10	0,065	2,8
Composto do Exemplo 96-(F)	NA	21
Composto do Exemplo 50	0,045	1,7
Composto do Exemplo 97-(D)	1	>10
Flavopiridol	60	360

Ensaio de proliferação celular e citotoxicidade *in vitro*: Foram utilizadas culturas de crescimento exponencial de dez linhagens de células cancerosas humanas (Calu 1 de pulmão, A-549 de pulmão, HT-29 de cólon, HL-60 de leucemia promielocítica, PC-3 de próstata, H-460 de pulmão, MDA-MB-231 de mama, MCF-7 de mama, HeLa Cólon, Cólon-205 do cólon, H9 linfoma (células T), U-937 de linfoma histiocítico (monócitos) e CaCO-2 Cólon) obtidas de NCCS,

Pune, Índia. Os ensaios de proliferação celular *in vitro* (NCI, protocolo dos EUA) e ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando procedimentos padrão, a saber, ensaio de absorção de ^3H -timidina e ensaio MTS, respectivamente (Por absorção de ^3H -timidina: *Cell Biology, A Laboratory Handbook*, 1998, Vol 1 Ed Julio E. Celis, e para o ensaio MTS: *Promega Protocol*, EUA, 2000). No ensaio de absorção de ^3H -timidina, as células foram colhidas após 72 horas em placas unifiltro GF/B (Packard, EUA), utilizando um colector Packard Filtermate Universal, e as placas foram contadas num contador de cintilação líquida de 96 poços Packard TopCount. A concentração de composto na qual 50% da actividade proliferativa foram inibidos (IC_{50}) e o grau de toxicidade de composto foram calculados para os compostos representativos e os seus sais farmacologicamente aceitáveis descritos nos Exemplos. Os resultados estão indicados na Tabela 2 adiante.

Tabela 2:

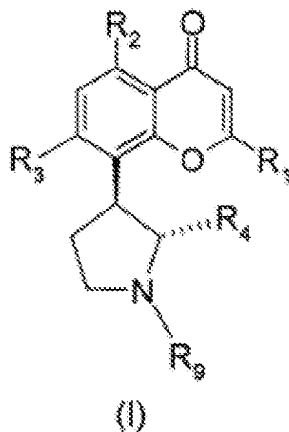
Composto(s)	Ensaio de timidina (IC_{50} μM)			Citotoxicidade de MTS (IC_{50} μM)		
	Calu 1 (Pulmão)	A-549 (Pulmão)	HT-29 (Cólon)	Calu 1 (Pulmão)	A-549 (Pulmão)	HT-29 (Cólon)
Composto do Exemplo 10	< 0,3	0,18	0,68	0,88	0,7	0,58
Composto do Exemplo 96-(F)	*NA	10	25 M	16,3	16	17,9
Composto do Exemplo 50	< 0,3	1,2	1,5	1,4	1,2	1,1
Composto do Exemplo 97-(D)	ND	*NA	10	ND	*NA	*NA
* Não foi observada inibição estatisticamente significativa						
NA - Não activo						
ND - Não realizado						

Os resultados indicam que o enantiómero (+)-*trans* dos compostos de fórmula (I) é um inibidor mais potente do que o seu enantiómero (-)-*trans*. Por conseguinte, a administração do enantiómero (+)-*trans* dos compostos de fórmula (I) substancialmente livre do enantiómero (-)-*trans* proporciona uma redução na dose requerida de medicamento.

Lisboa,

REIVINDICAÇÕES

1. Composto enantiomericamente puro representado pela seguinte fórmula (I) ou um seu sal farmacêuticamente aceitável;



caracterizado pelo facto de que

R_1 é fenilo, que é substituído com 2 substituintes diferentes: cloro e trifluorometilo;

R_2 e R_3 são cada um independentemente seleccionado de: hidroxilo e OR_8 ; em que R_8 é C_1 - C_{10} -alquilo não substituído;

R_4 é C_1 - C_4 alcileno-hidroxi; e

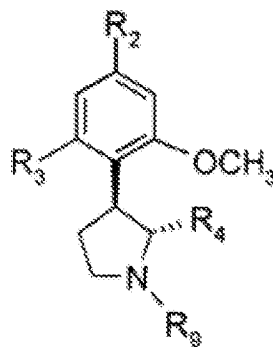
R_9 é C_1 - C_4 -alquilo; em que o termo "enantiomericamente puro" refere-se a um composto que está presente num excesso enantiomérico superior a 95%.

2. Composto enantiomericamente puro de fórmula I de acordo com a reivindicação 1, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, caracterizado por ser seleccionado de:
- (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-8-(2-hidroxi-1-metil-pirrolidin-3-il)-5,7-dimetoxi-cromen-4-ona;
- (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-trifluorometilfenil)-5,7-dihidroxi-8-(2-hidroxi-1-metilpirrolidin-3-il)-cromen-4-ona; ou
- cloridrato de (+)-*trans*-2-(2-cloro-4-

trifluorometilfenil)-5,7-di-hidroxi-8-(2-hidroxi metil-1-metil-pyrrolidin-3-il-cromen-4-ona.

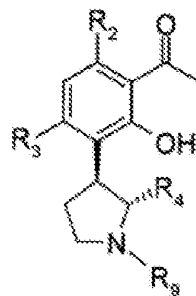
3. Processo para a preparação de um composto enantiomericamente puro de fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por compreender as etapas de:

(a) tratar o enantiômero (-)-*trans* de um composto representado pela fórmula (VIA),



VIA

em que R_2 e R_3 são metoxi, R_5 é metilo e R_4 é hidroxi metilo; com anidrido acético na presença de um catalisador do tipo ácido de Lewis seleccionado de: dietil eterato de trifluoreto de boro, cloreto de zinco, cloreto de alumínio e cloreto de titânio; para se obter o composto de fórmula (VIIA) acetilado resolvido,

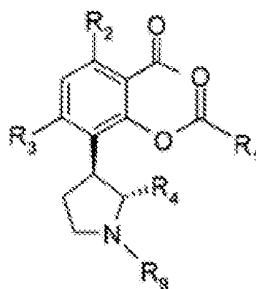


VIIA

em que R_2 , R_3 e R_5 são como definidos acima e R_4 é $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

(b) reagir o composto acetilado resolvido de fórmula (VIIA) da etapa (a) com um ácido de fórmula $R_1\text{COOH}$, ou

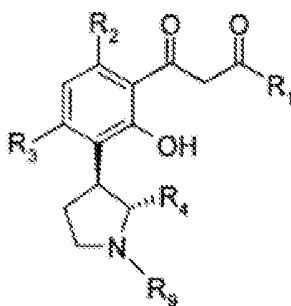
um cloreto de ácido de fórmula $R_1\text{COCl}$ ou um anidrido de ácido de fórmula $(R_1\text{CO})_2\text{O}$ ou um éster de fórmula $R_1\text{COOCH}_3$, em que R_1 é como definido na reivindicação 1, na presença de uma base e um solvente para se obter um composto de fórmula (VIII A);



VIII A

em que R_1 , R_2 , R_3 e R_5 são como aqui definido anteriormente e R_4 é $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

(c) tratar o composto resolvido de fórmula (VIII A) com uma base seleccionada de: hexametildissilasida de lítio, hexametildissilasida de sódio, hexametildissilasida de potássio, hidreto de sódio e hidreto de potássio; para se obter o composto de β -dicetona resolvido correspondente de fórmula (IX A);

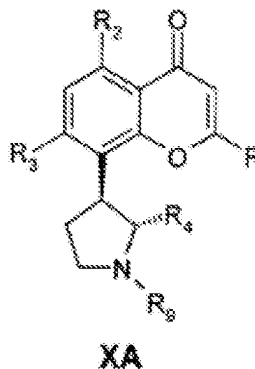


IX A

em que R_1 , R_2 , R_3 e R_5 são como aqui definidos acima e R_4 é $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$;

(d) tratar o composto de β -dicetona resolvido de fórmula (IX A) com um ácido tal como ácido clorídrico

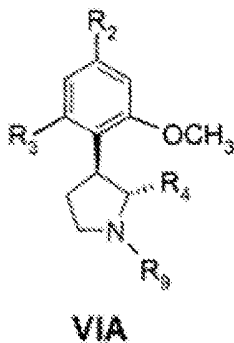
para se obter o composto ciclizado correspondente de fórmula (XA),



em que R_1 , R_2 , R_3 e R_5 são como aqui definidos acima, R_4 é CH_2OH ;

(e) tratar o composto de fórmula (XA) resolvido com um agente desalquilante seleccionado de cloridrato de piridina, tribrometo de boro, eterato de trifluoreto de boro e tricloreto de alumínio para realizar a desalquilação a uma temperatura que varia de 120-180 °C para se obter o composto de fórmula (I) enantiomericamente puro; em que R_1 é fenilo, que é substituído com 2 substituintes diferentes; cloro e trifluorometilo; R_2 e R_3 são hidroxilo, R_4 é CH_2OH e R_5 é metilo.

4. Processo de acordo com a reivindicação 3, em que o composto de fórmula (VIA);



em que R_2 e R_3 são metoxi, R_5 é metilo e R_4 é hidroximetilo; é preparado fazendo reagir um racemato

do composto de fórmula (VIA) com um auxiliar quiral; ácido (-)-dibenzoil tartárico ((-)-DBTA) na presença de metanol para se obter uma mistura de sais diastereoméricos dos enantiómeros (+)- e (-)- do composto de fórmula (VIA), separando os respectivos sais diastereoméricos e tratando o sal distereomérico do enantiómero (-)-*trans* com carbonato de sódio.

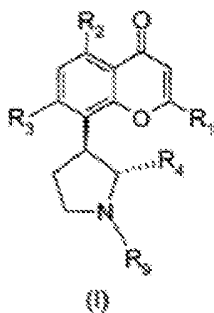
5. Composição farmacêutica para o tratamento do cancro, caracterizado por compreender uma quantidade terapêuticamente eficaz do composto enantiomericamente puro de fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1 ou 2, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, e um veículo farmacêuticamente aceitável, e opcionalmente um aditivo.
6. Composto enantiomericamente puro de fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1 ou 2, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável para utilização no tratamento do cancro.

Lisboa,

RESUMO

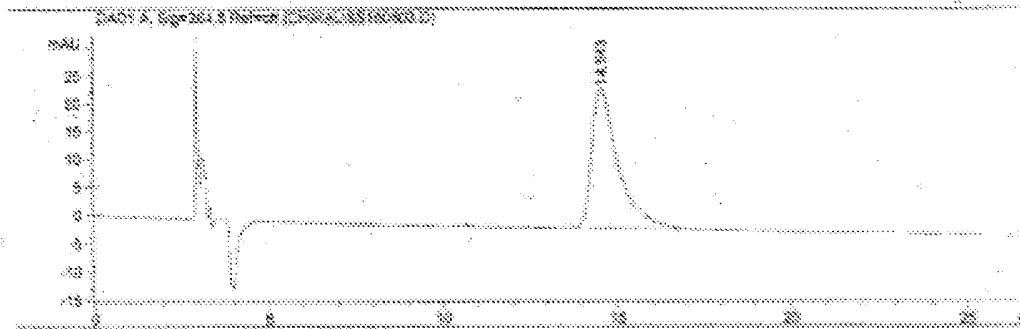
"DERIVADOS DE FLAVONA ENANTIOMERICAMENTE PUROS PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS PROLIFERATIVOS E PROCESSOS PARA A SUA PREPARAÇÃO"

A presente invenção refere-se a um enantiómero (+)-trans enantiomericamente puro de um composto representado pela fórmula (I):



em que R₁, R₂, R₃, R₄ e R₉ são como definido na memória descritiva; seus intermediários enantiomericamente puros, a processos para a preparação dos compostos enantiomericamente puros e seus intermediários, e a uma composição farmacêutica que compreende o composto enantiomericamente puro. O composto de fórmula (I) é útil para o tratamento de doenças ou distúrbios mediados pela inibição da quinase dependente de ciclina, tal como o cancro.

FIGURAS



Area Percent Report

Sorted by : Signal
Multiplier : 1.0000
Division : 1.0000

Signal 1: DSD1 A, Sig=201,0 Ref-off

Peak #	Retention (min)	Type	Width (min)	Area (mAU*s)	Height (mAU)	Area %
1	14.823	PK	0.7883	1313.26477	34.82734	100.0000
Totals				1313.26477	34.82734	

FIGURA 1

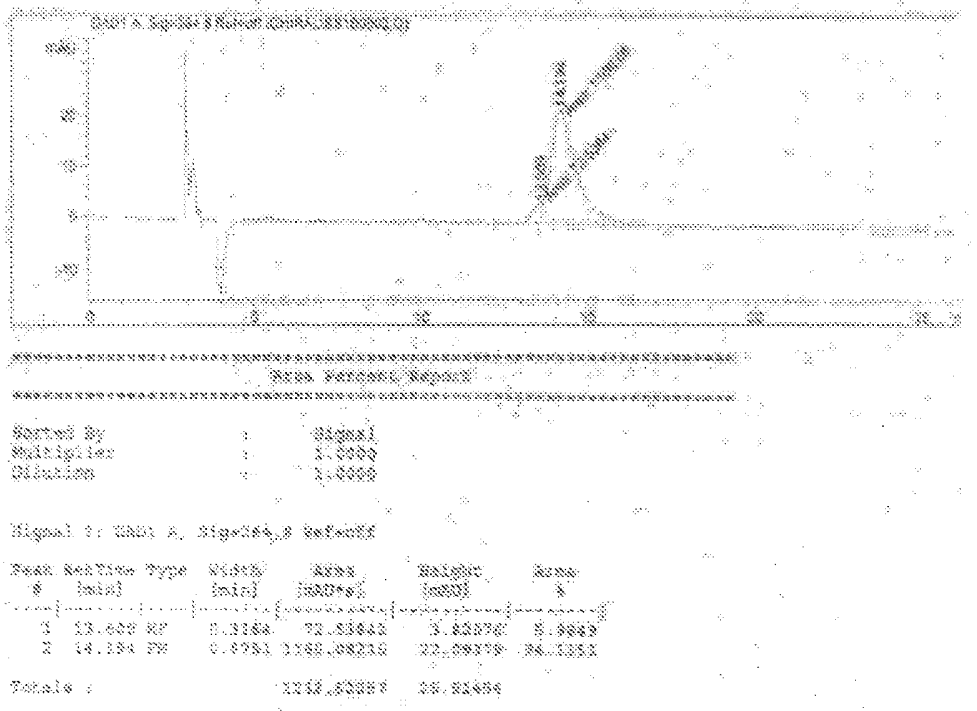


FIGURA 2

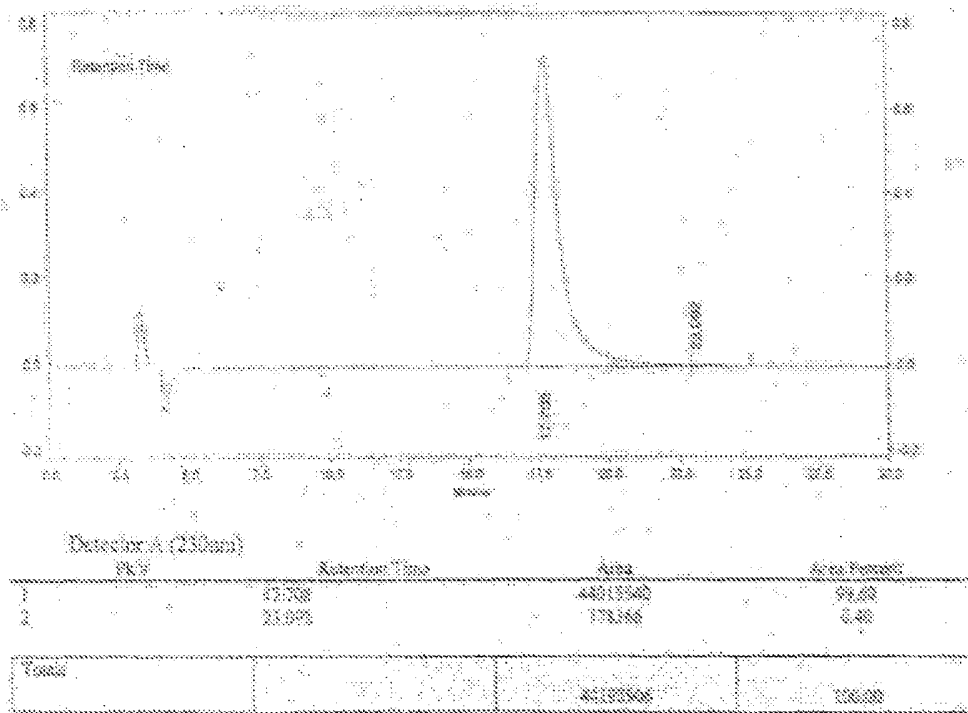


FIGURA 3