



(19) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) *Número de Publicação:* PT 771789 E

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07C401/00 A

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

<p>(22) <i>Data de depósito:</i> 1996.10.18</p> <p>(30) <i>Prioridade:</i> 1995.10.30 EP 95117037</p> <p>(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1997.05.07</p> <p>(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2000.02.16</p>	<p>(73) <i>Titular(es):</i> F. HOFFMANN-LA ROCHE AG. 124 GRENZACHERSTRASSE CH-4002 BASEL CH</p> <p>(72) <i>Inventor(es):</i> FERNAND SCHNEIDER CH</p> <p>(74) <i>Mandatário(s):</i> JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO RUA DO SALITRE, 195 R/C DTO 1250 LISBOA PT</p>
--	---

(54) *Epígrafe:* 1 ALFA 26-DI-HIDROXI-D-HOMO-VITAMINA D3

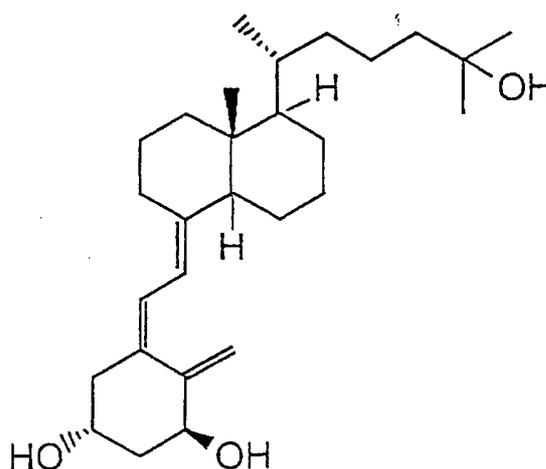
(57) *Resumo:*



DESCRICAÇÃO

"1 ALFA, 26-DI-HIDROXI-D-HOMO-VITAMINA D3"

A presente invenção diz respeito a um novo derivado da vitamina D. Mais particularmente, a invenção refere-se a 1 α ,26-di-hidroxi-D-homo-vitamina D₃ de fórmula I



A nomenclatura sistemática do composto de fórmula I é (1R,3S)-5-[(Z)-2-[(E) - (4aR,5R,8aR)-5-[(R)-5-hidroxi-1,5-dimetil-hexil]-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ilideno]-etilideno]-4-metileno-ciclo-hexano-1,3-diol.

A presente invenção refere-se além disso a um processo para a preparação do composto de fórmula I, às composições farmacêuticas que contêm o composto de fórmula I e à utilização do composto de fórmula I para o tratamento de perturbações que dependem da vitamina D e para a preparação de composições farmacêuticas para o tratamento de perturbações que dependem da vitamina D.

258

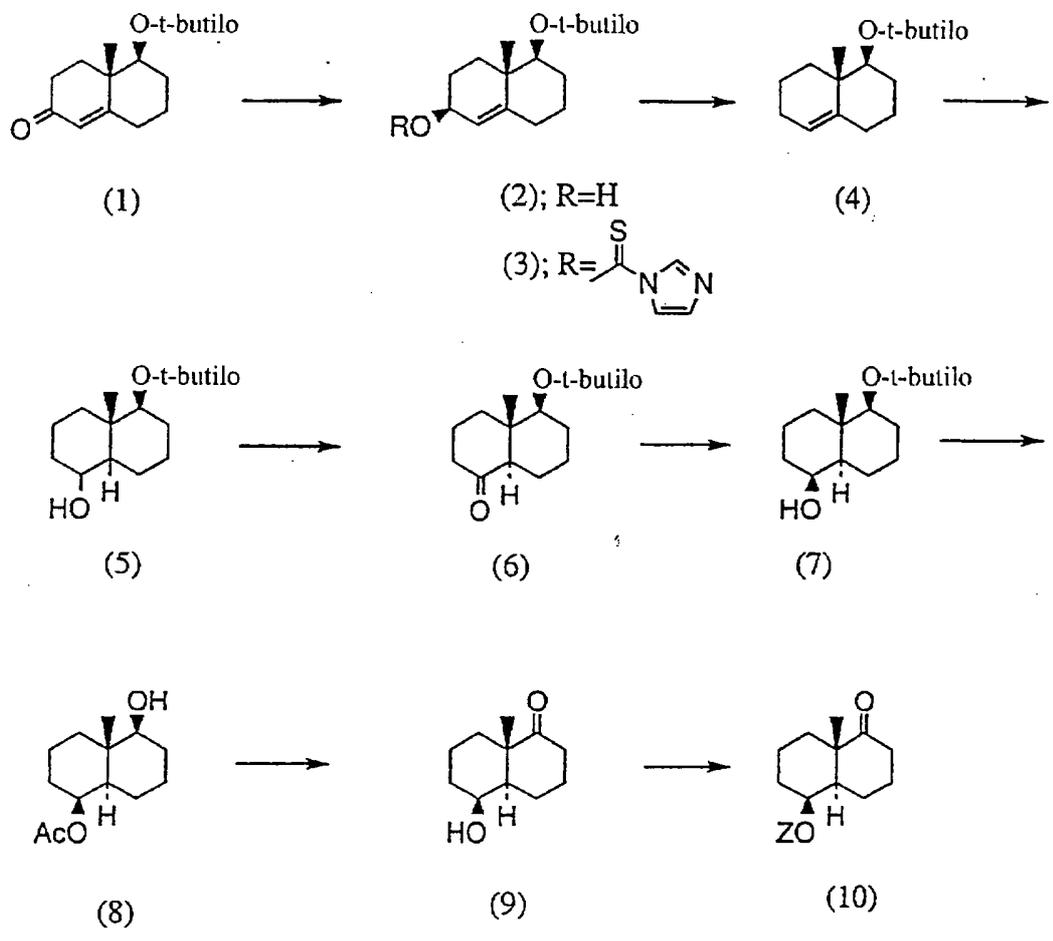
2

A vitamina D₃ e os seus derivados podem ser utilizados para o tratamento de perturbações que dependem da vitamina D; exemplos de derivados da vitamina D₃ encontram-se descritos na patente de invenção WO 95 01960.

A expressão "perturbações que dependem da vitamina D" refere-se a perturbações que podem ser tratadas ou prevenidas pela administração de compostos tendo actividade de vitamina D, tais como vitamina D₃ ou os seus derivados, em particular os seus derivados hidroxilados, por exemplo, calcitriol ou calcipotriol. Exemplos de tais perturbações são perturbações hiper-proliferativas da pele tais como a psoríase, doenças neoplásicas tais como a leucemia; perturbações das glândulas sebáceas acne e dermatite seborreica; osteoporose; e hiperparatiroidismo que acompanha o colapso renal.

Pode preparar-se os compostos de fórmula I conforme se indica nos esquemas de fórmulas 1 e 2 mais abaixo :

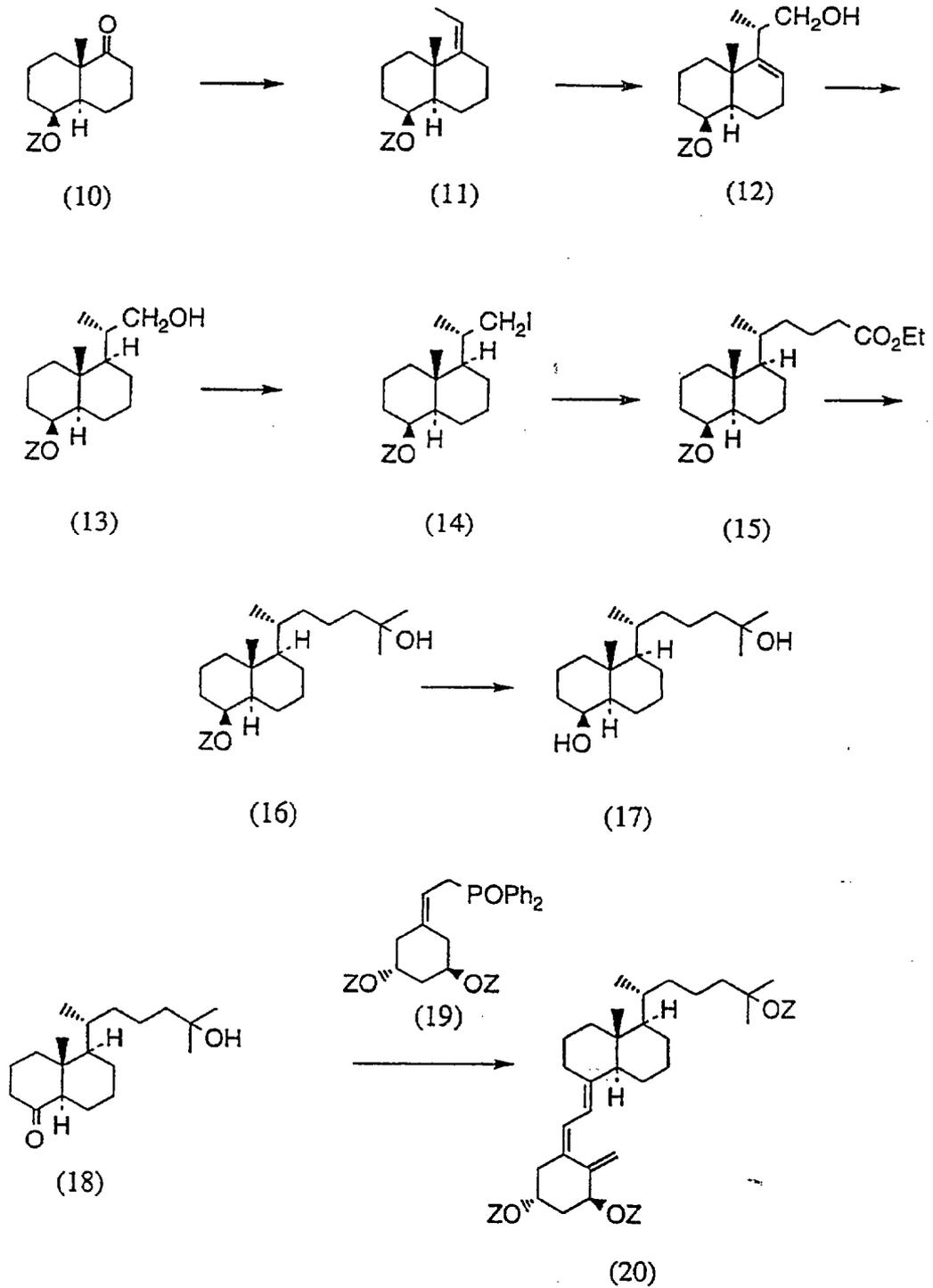
Esquema I



De acordo com o Esquema 1, reduz-se o composto (1) [Synthesis 957 (1993)] para se obter o álcool equatorial (2), que se transforma em (4) através do tiocarbamato (3). Pode hidrobortar-se o composto (4) para se obter o composto (5). A oxidação do álcool, por exemplo, com clorocromato de piridínio e a equilibração com butóxido terc de potássio proporciona o composto (6), que pode ser reduzido para se obter o composto (7). A acetilação de (7) e a cisão da função éter terc-butílico proporciona o composto (8) que se oxida e se desacetila para se obter o ceto-álcool (9). Para a construção da cadeia lateral da vitamina D3 protege-se apropriadamente o grupo álcool do composto (9), por exemplo, por meio de um

grupo protector de éter sililo Z, para se obter o composto (10).

Esquema II



De acordo com o Esquema 2, converte-se a cetona (10) por meio de uma

reacção de Wittig no composto (11) a partir do qual se obtém o composto (12) por uma reacção eno com paraformaldeído e cloreto de dimetilalumínio. A hidrogenação catalítica de (12) proporciona (13), a partir do qual se obtém (15) por via do iodeto (14) por meio de um prolongamento da cadeia com acrilato de etilo. A partir de (15) pode obter-se o álcool terciário (16) por meio de uma reacção de Grignard. A cisão do grupo protector representado por Z reproduz finalmente o composto (17).

Oxida-se o diol (17) no cetoálcool (18) que, após protecção apropriada da função hidroxil, por exemplo, como éter silílico, se faz reagir com o iodeto de (19) para se obter (20) a partir do qual se obtém a 1-alfa-2,6-di-hidroxi-D-bromo-homo-vitamina D₃ (I) mediante cisão dos grupos protectores representados pelo símbolo Z. Embora o símbolo Z represente de preferência um grupo terc.-butil-dimetil-sililo, podem utilizar-se outros grupos protectores de éter sililo. A inserção e a cisão destes grupos protectores pode ser conseguida por métodos conhecidos dos especialistas na matéria. Por exemplo, podem cindir-se estes grupos protectores mediante tratamento com um sal fluoreto tal como fluoreto de tetrabutílamónio no seio de um solvente orgânico polar, por exemplo um éter tal como o tetra-hidrofurano.

Os exemplos seguintes descrevem a preparação do composto de fórmula (I) em mais pormenor :

Exemplo 1

Arrefece-se uma solução de 30,1 g (0,13 mole) de (4aS, 5S)-5-terc.-butoxi-4a-metil-4,4a,5,6,7,8-hexa-hidro-2(3H)-naftalenona em 600 ml de tetra-hidrofurano sob agitação e sob atmosfera de árgon à temperatura de -78°C. Após adição gota a gota de 140 ml (0,14 mole) de L-selectrido (1 molar em

tetra-hidrofurano), mantém-se a mistura reaccional à temperatura de -78°C durante mais uma hora, aquece-se então até à temperatura ambiente e mantém-se a esta temperatura durante 4 horas e 30 minutos. Após arrefecimento até -15°C , adicionam-se sequencialmente e gota a gota 12 ml de H_2O , 90 ml de NaOH 4N e 100 ml de H_2O_2 (30 %) mantendo a temperatura compreendida entre -10°C e -15°C . Uma vez terminada a adição, aquece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente, despeja-se sobre água e extrai-se três vezes com acetato de etilo. Secam-se as camadas orgânicas reunidas com sulfato de sódio e evaporam-se após filtração para se obter 30 g de (2S, 4aS, 5S)-5-terc.-butoxi-4a-metil-2,3,4,4a,5,6,7,8-octa-hidro-hidro-naftalen-2-ol bruto sob a forma de um produto amorfo que, por cromatografia em camada fina e RMN, se mostra ser suficientemente puro para as transformações ulteriores.

Exemplo 2

A uma solução de 13 g (54,54 mMol) de (2S, 4aS, 5S)-5-terc.-butoxi-4a-metil-4,4a,5,6,7,8-octa-hidro-naftalen-2-ol em 150 ml de tetra-hidrofurano adicionam-se 20 g (112 mMol) de 1,1'-tiocarbonildiimidazol. Aquece-se a mistura reaccional a refluxo durante duas horas, arrefece-se até à temperatura ambiente e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o resíduo sobre gel de sílica com hexano/acetato de etilo a 4/1 e obtém-se 14,8 g do éster imidazol-1-carbotiólico do ácido (2S, 4aS, 5S)-O-(5-terc.-butoxi-4a-metil-2,3,4,4a,5,6,7,8-octa-hidro-naftalen-2-ilico) sob a forma de um material amorfo.

Exemplo 3

A uma solução agitada de 9,95 g (28,5 mMol) do éster imidazol-1-

258 7

-carbotiólico do ácido (2S, 4aS, 5S)-O-(5-terc.-butoxi-4a-metil-2,3,4,4a,5,6,7,8-octa-hidro-naftalen-2-ílico) em 285 ml de tolueno mantida sob atmosfera de argon adicionam-se 75,7 ml (285 mMol) de hidreto de tributil-estanho e 75,7 ml de uma solução 1 molar de trietilborano em tetra-hidrofurano. Aquece-se a mistura reaccional até 120°C durante 4 horas e adicionam-se mais 20 ml de hidreto de tributil-estanho bem como 20 ml de uma solução de trietilborano (1 molar em tetra-hidrofurano). Mantém-se a mistura reaccional à temperatura de 120°C durante 3 dias, arrefece-se à temperatura ambiente e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o resíduo duas vezes sobre 900 g de gel de sílica com tolueno/hexano a 1/1 para se obter 4,3 g de (4S, 4aS)-4-terc.-butoxi-4a-metil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octa-hidro-naftaleno (líquido).

Exemplo 4

Arrefece-se sob atmosfera de argon e com agitação à temperatura de 0°C uma solução de 6,15 g (27,6 mMol) de (4aS, 4aS)-5-terc.-butoxi-4a-metil-1,2,3,4,4a,5,6,7-octa-hidro-naftaleno em 180 ml de tetra-hidrofurano. Adicionam-se 55,3 ml (55,3 mMol) de uma solução 1 molar de borano em tetra-hidrofurano, mantém-se a mistura reaccional durante mais uma hora à temperatura de 0°C, aquece-se à temperatura ambiente e mantém-se sob agitação durante a noite. Após arrefecimento até 0°C, adicionam-se 421 ml de água, gota a gota, seguindo-se a adição de 25,3 g de $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Agita-se a suspensão à temperatura ambiente durante 4 horas e em seguida extrai-se a mistura reaccional 3 vezes com éter dietílico. Lavam-se as fases orgânicas reunidas uma vez com salmoura, secam-se sobre sulfato de sódio e evaporam-se sob vazio para se obter 12,07 g de produto

bruto, que se cromatografa sobre 500 g de gel de sílica com hexano/acetato de etilo a 4/1 para se obter 3,4 g de uma mistura a 2:1 de (1S, 4aS, 5S, 8aS)-e (1R, 4aS, 5S, 8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-deca-hidronaftalen-1-ol sob a forma de um material oleoso.

Exemplo 5

A uma solução de 3,4 g (14,1 mMol) de (1RS, 4aS, 5S, 8aRS)-5-terc.-butoxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ol em 34 ml de cloreto de metileno adicionam-se sob agitação 3,66 g (17,0 mMol) de clorocromato de piridínio e mantém-se a mistura reaccional sob agitação durante a noite. Dilui-se em seguida a mistura reaccional com 33 ml de éter dietílico mantendo a agitação durante 15 minutos e filtra-se sobre florissil. Evapora-se o filtrado até à secura sob vazio e dissolve-se o resíduo em 33 ml de tetra-hidrofurano. Sob agitação e atmosfera de argon, adicionam-se 1,65 ml de uma solução um molar de butóxido terc de potássio em tetra-hidrofurano e mantém-se a reacção durante a noite. Esta equilibração foi seguida por CCF (gel de sílica, hexano / acetato de etilo a 4/1) que mostra o desaparecimento quase completo de um dos dois epímeros. Evapora-se a mistura reaccional sob vazio até à secura, retoma-se o resíduo com água e extrai-se 3 vezes com éter dietílico. Lava-se a fase orgânica reunida com água e com salmoura, seca-se sobre sulfato de sódio e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o resíduo sobre 120 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 2,39 g (71 %) de (4aS, 5S, 8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona pura.

Obteve-se uma amostra analítica mediante cristalização em hexano com um P.F. de 78 – 79°C.

Exemplo 6

Arrefece-se à temperatura de -78°C uma solução de 2,12 g (8,9 mMol) de (4aS, 5S, 8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona em 44,5 ml de tetra-hidrofurano e adiciona-se gota a gota sob agitação e atmosfera de árgon 9,8 ml (9,8 mMol) de uma solução um molar de L-selectrido em tetra-hidrofurano. Mantém-se a mistura reaccional a esta temperatura durante mais uma hora, aquece-se à temperatura ambiente e mantém-se durante a noite. Baixa-se então a temperatura até -15°C e adiciona-se gota a gota 0,17 ml de H_2O . Segue-se a adição gota a gota de 7,60 ml de NaOH 3N e 6,36 ml de H_2O_2 . Mantém-se a temperatura da mistura reaccional compreendida entre -10 e -15°C . Despeja-se então a mistura reaccional em água e extrai-se 3 vezes com acetato de etilo. Lavam-se os extractos orgânicos reunidos com salmoura e evaporam-se sob vazio até à secura. Cromatografa-se o resíduo sobre 120 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 4/1 para se obter 1,03 g (48 %) de (1S,4aS,5S,8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ol puro sob a forma de um produto amorfo.

Exemplo 7

Trata-se uma solução de 4,11 g (17,1 mMol) de (1S,4aS,5S,8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ol e 313,6 g (2,6 mMol) de 4-dimetil-aminopiridina em 26 ml de piridina com 13 ml de anidrido acético sob agitação e atmosfera de árgon durante duas horas. Despeja-se a mistura reaccional sobre água gelada e extrai-se 3 vezes com éter dietílico. Lava-se a camada orgânica reunida duas vezes com água, seca-se sobre sulfato de sódio e evapora-se sob vazio para se obter 1,26 g de produto bruto que se cromatografa sobre 60 g de gel de sílica com

258

hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 4,64 g (91 %) do éster (1S,4aS,5S,8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ílico do ácido acético sob a forma de um produto puro amorfo.

Exemplo 8

Trata-se gota a gota sob agitação e atmosfera de argon uma solução de 4,08 g (14,45 mMol) do éster (1S,4aS,5S,8aR)-5-terc.-butoxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ílico do ácido acético em 7,25 ml de tetracloreto de carbono com 2,56 ml (18,8 mMol) de iodeto de trimetilsililo mantendo a temperatura ambiente. Uma vez terminada a adição agita-se a mistura reaccional durante mais 30 minutos e adicionam-se então 1,79 ml de metanol e mantém-se a reacção durante 15 minutos. Evapora-se a mistura reaccional sob vazio até à secura para se obter 5,52 g. Cromatografa-se o resíduo sobre 500 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 4/1 para se obter 2,88 g (88 %) do éster (1S,4aS,5S,8aR)-5-hidroxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ílico do ácido acético puro.

Exemplo 9

Adicionam-se 3,73 g (17,3 mMol) de clorocromato de piridínio sob agitação a uma solução de 3,25 g (14,35 mMol) do éster (1S,4aS,5S,8aR)-5-hidroxi-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ílico do ácido acético em 32,5 ml de diclorometano. Agita-se a mistura reaccional durante a noite, dilui-se com 70 ml de éter dietílico, agita-se durante 15 minutos e filtra-se sobre florisil utilizando éter dietílico para eluição completa. A evaporação sob vazio proporciona 3,34 g de um resíduo, que se cromatografa sobre 200 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 4/1 para se obter 3,02 g (94 %) do éster (1S,4aS,8aR)-4a-metil-5-oxo-deca-hidro-naftalen-

258

-1-ílico do ácido acético puro sob a forma de um óleo.

Exemplo 10

Trata-se uma solução de 2,99 g (13,3 mMol) do éster (1S,4aS,8aR)-4a-metil-5-oxo-deca-hidro-naftalen-1-ílico do ácido acético (13) em 13,3 ml de etanol sob agitação e atmosfera de argon com etóxido de sódio preparado a partir de 0,67 g (29,4 atom g) de sódio e 29,4 ml de etanol e mantém-se a mistura reaccional durante a noite. Evapora-se o solvente sob vazio até à secura, retoma-se o resíduo com água e após arrefecimento até 0°C ajusta-se o pH até 3 – 4 com HCl 1N. Após extracção 3 vezes com éter dietílico, lava-se o extracto orgânico reunido com salmoura, seca-se com sulfato de sódio e evapora-se o solvente sob vazio. Tritura-se o resíduo com hexano, eliminam-se os cristais mediante filtração e secam-se : 1,07 g (95 %) de (4aR,5S,8aS)-5-hidroxi-8a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona (4aR,5S,8aS)-5-hidroxi-8a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona, pura P.F. : 109,5 – 111°C.

Exemplo 11

A uma solução de 2,3 g (12,6 mMol) de (4aR,5S,8aS)-5-hidroxi-8a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona em 63 ml de dimetilformamida adicionam-se sob agitação e atmosfera de argon 3,74 g (24,8 mMol) de cloreto de terc.-butil-dimetil-sililo e 1,94 g (28,5 mMol) de imidazol. Aquece-se a mistura reaccional até 100°C durante 4 horas, em seguida adicionam-se mais 3,74 g de cloreto de terc.-butil-dimetilsililo e 1,94 g de imidazol e mantém-se a mistura reaccional durante a noite a 100°C. Despeja-se a mistura reaccional sobre água gelada e extrai-se 3 vezes com éter dietílico. Lava-se o extracto orgânico reunido uma vez com água e com salmoura, seca-se sobre sulfato de sódio e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o

258

resíduo sobre 250 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 3,17 g (85 %) de (4aR,5S,8aS)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona cristalina de baixo ponto de fusão.

Exemplo 12

Trata-se uma suspensão de 11,8 g (31,7 mMol) de brometo de etiltrifenilfosfônio em 64 ml de tetra-hidrofurano sob agitação e atmosfera de argon com 31,9 ml de uma solução 1 molar de butóxido terc. de potássio e trata-se a suspensão laranja resultante com uma solução de 3,17 g (10,7 mMol) de (4aR, 5S, 8aS)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona em 64 ml de tetra-hidrofurano e mantém-se à temperatura ambiente durante 3 horas. Adicionam-se mais 11,8 g (31,7 mMol) de brometo de etiltrifenilfosfônio e 31,9 ml de uma solução um molar de butóxido terc. de potássio em tetra-hidrofurano e mantém-se a mistura reaccional durante a noite. Adiciona-se isobutiraldeído (5,4 ml), agita-se a mistura reaccional durante 10 minutos, dilui-se com éter dietílico e filtra-se sobre Florisil utilizando éter dietílico como eluente. Após evaporação sob vazio, cromatografa-se o resíduo (4,79 g) sobre 120 g de gel de sílica com hexano para se obter 3,15 g (95 %) de (1S,4aS,8aR)-terc.-butil-(5-etilideno-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-iloxi)-dimetil-silano puro (E/Z 4/1) sob a forma de um óleo.

Exemplo 13

A uma solução agitada de 3,11 g (10,1 mMol) de (1S,4aS,8aR)-terc.-butil-(5-etilideno-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-iloxi)-dimetilsilano em 125 ml de tolueno adiciona-se 0,33 g (11,1 mMol) de paraformaldeído finamente pulverizado. Arrefece-se a mistura reaccional até 0°C e adicionam-se 12,56 ml de uma solução

258

um molar de cloreto de dimetilalumínio em hexano e mantém-se durante uma hora a esta temperatura. Agita-se a mistura reaccional à temperatura ambiente durante a noite, dilui-se com éter dietílico, lava-se com HCl 1N e com água, seca-se então sobre sulfato de sódio e evapora-se sob vácuo. Cromatografa-se o resíduo sobre uma coluna de gel de sílica de 250 g de média pressão com hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 2,31 g (67,5 %) de (S)-2-[(4aR, 5S, 8aS)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octa-hidro-naftalen-1-il]-propan-1-ol puro sob a forma de um óleo.

Exemplo 14

A uma solução de 2,27 g (6,7 mMol) de (S)-2-[(4aR, 5S, 8aS)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octa-hidro-naftalen-1-il]-propan-1-ol em 22,7 ml de acetato de etilo adicionam-se 227 mg de Pd/C a 10 % e 227 mg de bicarbonato de sódio. Agita-se a mistura reaccional sob atmosfera de hidrogénio durante a noite, filtra-se sobre Speedex utilizando acetato de etilo para lavagem completa e evapora-se o solvente sob vácuo. Cromatografa-se o resíduo sobre uma coluna de 250 g Lobar com hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 2,18 g (95,5 %) de (S)-2-[(1R,4aR,5S,8aR)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-deca-hidro-naftalen-1-il]-propan-1-ol sob a forma de um produto oleoso.

Exemplo 15

A uma solução de 485 mg (1,35 mMol) de (S)-2-[(1R,4aR,5S,8aR)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-deca-hidro-naftalen-1-il]-propan-1-ol em 10 ml de CH₂Cl₂ adicionam-se sob agitação 216,3 mg (3,17 mMol) de imidazol e 704,4 mg (2,68 mMol) de trifenilfosfina. Arrefece-se a mistura reaccional até -10°C e

adiciona-se gradualmente 681,6 mg (2,68 mMol) de iodo. Mantém-se a mistura reaccional à temperatura de -10°C durante meia hora, aquece-se então até à temperatura ambiente e agita-se durante a noite. Extingue-se a reacção com 0,3 ml de etanol, agita-se durante meia hora e trata-se com uma solução de 300 mg de tiosulfato de sódio em 0,3 ml de água. Extrai-se 3 vezes a suspensão obtida após evaporação sob vazio com éter dietílico. Lava-se os extractos reunidos com água, secam-se sobre Na_2SO_4 , filtram-se e evaporam-se. Cromatografa-se o resíduo sobre 25 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 563 mg (93 %) de (1S,4aR,5R,8aR)-terc.-butil-[5-[(S)-2-iodo-1-metil-etil]-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-iloxi]-dimetil-silano sob a forma de um produto amorfo.

Exemplo 16

A 342,5 mg (5,24 mMol) de zinco em pó adicionam-se 1,57 ml de tetra-hidrofurano /piridina a 2/1. Agita-se a mistura reaccional sob atmosfera de argon e adicionam-se 247,2 mg (1,04 mMol) de $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ e depois 472,2 mg (4,72 mMol) de acrilato de etilo. Aquece-se a mistura reaccional à temperatura de 65°C durante 30 minutos, arrefece-se à temperatura ambiente e adicionam-se 947 mg (2,10 mMol) de (1S,4aR,5R,8aR)-terc.-butil-[5-[(S)-2-iodo-1-metil-etil]-4a-metil-deca-hidronaftalen-1-iloxi]-dimetil-silano dissolvido em 1,57 ml de tetra-hidrofurano / piridina a $\frac{1}{2}$ após o que se mantém a mistura reaccional durante a noite à temperatura ambiente. A filtração através de Speedex e a lavagem do bolo do filtro com acetato de etilo é seguida por evaporação sob vazio até $\frac{1}{3}$ do volume. Dilui-se a solução com acetato de etilo e lava-se a fase orgânica 4 vezes com uma solução de EDTA (8 g de EDTA e 8 g de NaHCO_3 em 100 ml de água) e duas vezes

com salmoura. Seca-se a fase orgânica sobre Na_2SO_4 , filtra-se e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o resíduo sobre 100 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 98/2 para se obter 269 mg de material inicial e 390 mg (44 %) do éster etílico do ácido (R)-5-[(1R,4aR,5S,8aR)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-deca-hidro-naftalen-1-il]-hexanóico sob a forma de um produto amorfo.

Exemplo 17

Arrefece-se até à temperatura de 0°C sob agitação e atmosfera de argon uma solução de 360 mg (0,85 mMol) do éster etílico do ácido (R)-5-[(1R,4aR,5S,8aR)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-deca-hidro-naftalen-1-il]-hexanóico em 5 ml de tetra-hidrofurano absoluto. Após adição de 1,6 ml (4,54 mMol) de uma solução de MeMgCl em tetra-hidrofurano (22 %), aquece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e mantém-se durante 3 horas. Extingue-se a mistura reaccional arrefecida (banho de gelo) com uma solução aquosa saturada de NH_4Cl , dilui-se com acetato de etilo e lava-se a fase orgânica separada com salmoura, água, seca-se sobre Na_2SO_4 , filtra-se e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o produto bruto sobre 80 g de gel de sílica com hexano / acetato de etilo a 9/1 para se obter 202 mg (58 %) de (R)-6-[(1R,4aR,5S,8aR)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-deca-hidronaftalen-1-il]-2-metil-heptan-2-ol sob a forma de um produto amorfo.

Exemplo 18

A uma solução agitada de 267 mg (0,65 mMol) de (R)-6-[(1R,4aR,5S,8aR)-5-(terc.-butil-dimetil-silaniloxi)-8a-metil-deca-hidronaftalen-1-il]-2-metil-heptan-2-ol em 2,5 ml de tetra-hidrofurano adiciona-se 7,5 ml de acetonitrilo e 2,5 ml de uma

solução aquosa a 40 % de HF. Mantém-se a mistura reaccional durante 72 horas, despeja-se sobre água e extrai-se 3 vezes com éter dietílico. Lavam-se os extractos orgânicos reunidos com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 , com água, seca-se sobre Na_2SO_4 , filtra-se e evapora-se sob vazio. Cromatografa-se o resíduo sobre 40 g de gel de sílica com tolueno / éter dietílico a 4/1 para se obter 107 mg (56 %) de (1S,4aR,5R,8aR)-5-[(R)-5-hidroxi-1,5-dimetil-hexil]-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ol cristalino puro. O material cristalizado com éter diisopropílico tem P.F. : 85,1 – 86,9°.

Exemplo 19

A uma solução de 104 mg (0,35 mMol) de (1S,4aR,5R,8aR)-5-[(R)-5-hidroxi-1,5-dimetil-hexil]-4a-metil-deca-hidro-naftalen-1-ol em 2 ml de CH_2Cl_2 adicionam-se sob agitação 91,5 mg (0,42 mMol) de clorocromato de piridínio. Mantém-se a mistura reaccional sob agitação durante 4 horas, adiciona-se éter dietílico e filtra-se a suspensão através de Florisil utilizando éter dietílico como eluente. Cromatografa-se o resíduo obtido após evaporação sob vazio sobre 5 g de gel de sílica com CH_2Cl_2 / acetato de etilo a 9/1 para se obter 88 mg (85,5 %) de (4aR,5R,8aR)-5-[(R)-5-hidroxi-1,5-dimetil-hexil]-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona pura oleosa.

Exemplo 20

Arrefece-se sob agitação e atmosfera de argon até à temperatura de 0°C uma solução de 24 mg (0,08 mMol) de (4aR,5R,8aR)-5-[(R)-5-hidroxi-1,5-dimetil-hexil]-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona em 0,5 ml de tetra-hidrofurano. Agita-se a mistura reaccional durante mais uma hora após adição de 12 μl (0,08 mMol) de

258¹⁷

trimetilsililimidazol, de 5,1 μ l (0,04 mMol) de cloreto de trimetilsililo e de 2,8 mg (0,04 mMol) de imidazol. Despeja-se a mistura reaccional sobre água gelada, extrai-se 3 vezes com éter dietílico, lavam-se os extractos orgânicos reunidos duas vezes com salmoura e secam-se sobre Na₂SO₄. Evapora-se o solvente orgânico sob vazio e cromatografa-se o resíduo sobre 5 g de gel de sílica com hexano/éter dietílico a 9/1 para se obter 25 mg de (4aR,5R,8aR)-5-[(R)-1,5-dimetil-5-trimetil-silaniloxi-hexil]-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona pura, oleosa.

Exemplo 21

A uma solução agitada sob atmosfera de árgon de 134 mg (0,23 mMol) de óxido de (3S-(3-alfa, 5 beta, Z))-2-{2-[2-metileno-3,5-bis-[[[(1,1-dimetiletil)-dimetilsilil]-oxi]-ciclo-hexilideno]-etil]-difenilfosfona em 0,9 ml de tetra-hidrofurano, arrefecida à temperatura de -78°C adicionam-se lentamente 143 μ l (0,23 mMol) de uma solução de BuLi em hexano (1,6 M). Mantém-se a mistura reaccional a esta temperatura durante 30 minutos e então adiciona-se com uma seringa uma solução de 40,2 mg (0,11 mMol) de (4aR,5R,8aR)-5-[(R)-1,5-dimetil-5-trimetil-silaniloxi-hexil]-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ona (24) em 0,9 ml de tetra-hidrofurano. Decorridos mais 30 minutos à temperatura de -78°C, aquece-se a mistura reaccional à temperatura ambiente no decurso de duas horas. Extingue-se a reacção à temperatura de 0°C com 2 ml de uma solução aquosa a 5 % de NaHCO₃, despeja-se sobre salmoura e extrai-se 3 vezes com éter dietílico. Lavam-se os extractos orgânicos reunidos duas vezes com salmoura, secam-se sobre Na₂SO₄, filtram-se e evaporam-se sob vazio. Cromatografa-se o resíduo sobre 20 g de gel de sílica com hexano / éter diisopropílico a 19,5 / 0,5 para se obter 21 mg de produto

sililado impuro (CCF gel de sílica, CH_2Cl_2 / acetato de etilo a 9/1, $R_f = 0,74$). Dissolve-se este material em 0,2 ml de tetra-hidrofurano sob atmosfera de argon e adiciona-se 0,1 ml de uma solução de fluoreto de tetrabutílamônio em tetra-hidrofurano (1M). Mantém-se a mistura reaccional à temperatura ambiente durante a noite, evapora-se sob vazio e cromatografa-se o resíduo sobre 5 g de gel de sílica com acetato de etilo / hexano a 4/1 para se obter 11,5 mg de material cristalino, que se recristaliza em acetato de etilo / hexano para se obter 5 mg de (1R,3S)-5-[(Z)-2-[(E)-(4aR,5R-8aR)-5-[(R)-5-hidroxi-1,5-dimetil-hexil]-4a-metil-octa-hidro-naftalen-1-ilideno]-etilideno]-4-metileno-ciclo-hexano-1,3-diol (1 α ,26-di-hidro-D-homo-vitamina D₃, I) cristalina, pura, P.F. 124 – 127°C.

As propriedades farmacológicas dos compostos de fórmula I podem ser determinadas pelas técnicas de ensaio seguintes :

1. Activação do VDR

Para medir a activação do receptor da vitamina D (VDR) por análogos da vitamina D em células utilizou-se um ensaio de activação de transcrição. Cotransfectaram-se células COS ou células CV-1 com o VDR humano (expresso em pSG5) e um gene repórter que contém três elementos de resposta (VDRE3) a partir do gene da osteocalcina do rato, o promotor basal de timidina quinase e o gene repórter da luciferase.

Nestes sistema, exprime-se a actividade do composto em estudo como a concentração que conduz a uma indução semi-máxima (CE_{50}) da actividade de luciferase (a indução máxima é 8-10 vezes).

2. Diferenciação de HL-60

Ensaaiou-se a indução de diferenciação de células HL-60 por medição do seu potencial de oxidação explosiva pela via da redução de NBT (azul nitro de tetrazólio) de acordo com um processo modificado de E. Pick et al. em J. Reticul. Soc. 30, 581 (1981).

Mantêm-se células HP-60 em meio RPMI 1640 suplementado com 10 % de FCS, 2 mM de L-glutamina, 1 mM de piruvato de sódio, aminoácidos não essenciais a 1 %, 50 U/ml de penicilina e 50 µg/ml de estreptomicina (=RPMI / FCS). Semearam-se 30 000 células / 90 µl de RPMI / FCS em cavidades de microtitulação de fundo plano. Imediatamente após a sementeira, adicionaram-se 10 µl de derivados de vitamina D diluídos em meio completo (RPMI / FCS) até se obterem concentrações finais compreendidas entre 10^{-11} e 10^{-6} (a partir de soluções de armazenagem 1 mM em etanol que foram armazenadas à temperatura de -20°C e protegidas da luz). Decorridos 3 dias eliminou-se o meio com uma pipeta de canais múltiplos e substituiu-se por 100 µl de uma solução de NBT (1 mg/ml em PBS de Dulbecco com 200 nM de acetato miristato de forbol (PMA)). A seguir a uma incubação durante uma hora à temperatura de 37°C , eliminou-se a solução de NBT e adicionaram-se 100 µl de SDS a 10 % em HCl 0,01 N. Após uma incubação ulterior à temperatura de 37°C durante 6 horas (ou mais), quantificou-se fotometricamente a quantidade de NBT reduzido a 540 nm utilizando um leitor de placas automático. Calculou-se a média de três cavidades.

Exprimiram-se os valores como uma percentagem da diferenciação máxima conseguida com calcitriol 100 – 1000 nM na mesma experiência. A concentração (nM) que conduz a 50 % deste valor máximo é determinada

graficamente e dada como CE₅₀.

3. Dependência do cálcio (ensaio da tolerância em murganhos) :

Este ensaio de rotina proporciona um quadro global da disponibilidade calcémica. Alterações profundas na homeostase do cálcio afectam fortemente o desenvolvimento do peso dos animais. Utilizou-se este parâmetro como um ensaio primário para a tolerância. Murganhos (25 – 30 gramas de peso do corpo) receberam diariamente administrações subcutâneas de derivado de vitamina D durante 4 dias consecutivos. Registou-se o peso do corpo imediatamente antes e no final de um período de tratamento de cinco dias. A “dose tolerada mais alta” (HTD) nos murganhos é a dose que dá como resultado um ganho de peso nulo durante este período de tratamento.

Os resultados obtidos com o composto de fórmula I e com o calcitriol nestes ensaios encontram-se indicados a seguir :

Composto	Activação do VDR	Diferenciação de	Dose tolerada mais
	CE ₅₀ [nM]	HL-60 CE ₅₀ [nM]	elevada (murganhos) [µg/kg]
	Células COS/Células CV-1	5	0,5
Calcitriol	2,8 / 0,14	0,37	0,6
Composto de fórmula I	1,2 / 0,04		

Os compostos de fórmula I podem ser administrados por via oral, para o tratamento de doenças neoplásicas tais como a leucemia e para o tratamento de

osteoporose e hiperparatiroidismo, em animais de sangue quente que necessitam de tal tratamento, por exemplo um humano adulto com doses que se encontram incluídas na gama de cerca de 0,1 a 10 μg por dia. O composto de fórmula I pode também ser administrado por via tópica ou oral para o tratamento de doenças hiperproliferativas da pele tais como psoríase, carcinomas das células basais, perturbações da queratinização e queratose, em animais de sangue quente que necessitam de tal tratamento, por exemplo um humano adulto em dosagens que se encontram compreendidas na gama de cerca de 5 – 50 μg por grama de formulação tópica e por dia.

As composições farmacêuticas seguintes podem ser preparadas por uma maneira conhecida de per si :

Exemplo A

<u>Forma de Dosagem Oral de Cápsula de Gelatina Mole</u>	<u>mg/Cápsula</u>
Composto I	0,0001 – 0,010
Hidroxitolueno Butilado (BHT)	0,016
Hidroxianisol Butilado (BHA)	0,016
Óleo de coco fraccionado (Neobee M-5)	160,0

Exemplo B

<u>Creme Tópico</u>	<u>mg/g</u>
Composto I	0,005-0,050
Álcool cetílico	1,5
Álcool estearílico	2,5

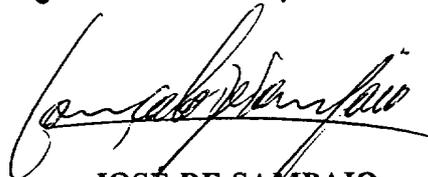
Span 60 (Monoestearato de sorbitano)	2,0
Arlacel 165 (Monoestearato de glicerilo e mistura de estearato de polioxietileno-glicol)	4,0
Tween 60 (polisorbato 60)	1,0
Óleo mineral	4,0
Propileno-glicol	5,0
Propil-parabeno	0,05
BHA	0,05
Solução de Sorbitol	2,0
Edetato Dissódico	0,01
Metilparabeno	0,18
Água destilada	q.b.

Exemplo C

<u>Pomada Tópica</u>	<u>mg/g</u>
Composto I	0,005 – 0,50.
Propilenoglicol	exc. ad ung. pro 1 g

Lisboa, 23 de Fevereiro de 2000

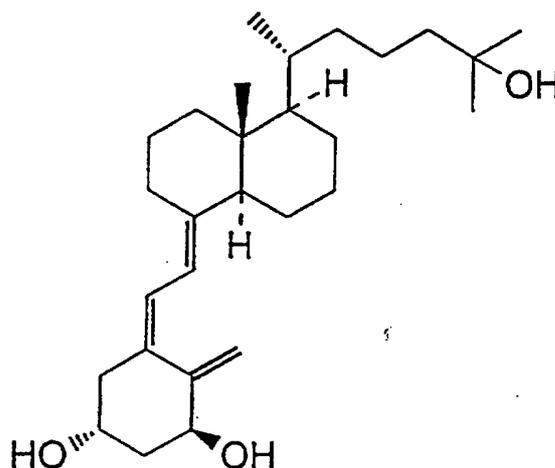
 O Agente Oficial da Propriedade Industrial



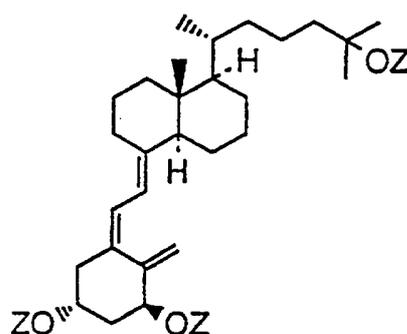
JOSE DE SAMPAIO
A.O./I.
Rua do Salitre, 195, r/c-Drt.
1250 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. O composto 1 α ,26-di-hidroxi-D-homo-vitamina D₃ de fórmula I



2. Um composto de formula geral

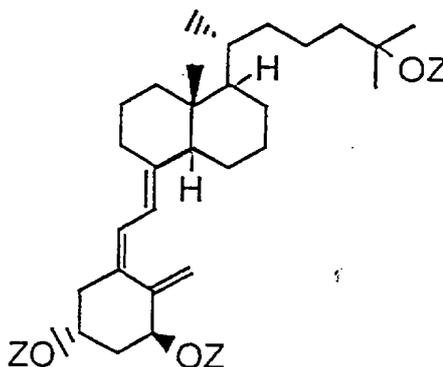


na qual o símbolo Z representa um grupo protector.

3. Composição farmacêutica, particularmente para o tratamento de perturbações que dependem da vitamina D, tais como psoríase; leucemia; acne e dermatite seborreica; osteoporose; e hiperparatiroidismo que acompanha o colapso renal, que compreende uma quantidade eficaz do composto de acordo com a

reivindicação 1, e um veículo aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

4. Processo para a preparação do composto de fórmula I de acordo com a reivindicação 1, que compreende a cisão do grupo protector representado pelo símbolo Z no composto de fórmula geral



na qual o símbolo Z representa um grupo protector.

5. Composto de acordo com a reivindicação 1 para utilização como um agente activo sob o ponto de vista terapêutico, em particular para o tratamento de perturbações que dependem da vitamina D, tais como psoríase; leucemia; acne e dermatite seborreica; osteoporose; e hiperparatiroidismo que acompanha o colapso renal.

6. Utilização do composto de acordo com a reivindicação 1 para a preparação de um medicamento para o tratamento de perturbações que dependem da vitamina D, tais com psoríase; leucemia; acne e dermatite seborreica; osteoporose; e hiperparatiroidismo que acompanha o colapso renal.

Lisboa, 23 de Fevereiro de 2000

O Agente Oficial da Propriedade Industrial

José de Sampaio

JOSÉ DE SAMPAIO
A.O.P.I.

Rua do Salitre, 195. c/c-Drt.
1250 LISBOA