

(11) *Número de Publicação:* **PT 94521 B**

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)

C07D471/14 A

A61K031/55 B

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) <i>Data de depósito:</i> 1990.06.27	(73) <i>Titular(es):</i> BOEHRINGER INGELHEIM PHARMACEUTICALS INC.
(30) <i>Prioridade:</i> 1989.06.28 US 372974	90 EAST RIDGE, P.O. BOX 368, RIDGEFIELD CONNECTICUT 06877 US
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1991.02.08	KARL THOMAE GESELLSCHAFT D-7950 BIBERACH RISS DE
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 11/96 1996.11.25	(72) <i>Inventor(es):</i> KARL D. HARGRAVE US WOLFGANG EBERLEIN DE GUNTER TRUMMLITZ DE GUNTHER SCHMIDT DE WOLFHARD ENGEL DE
	(74) <i>Mandatário(s):</i> JOÃO DE ARANTES E OLIVEIRA RUA DO PATROCÍNIO 94 1350 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE
 5,11-DI-HIDRO-6H-DIPIRIDO-(3,2-B:2',3'-E)1,4-DIAZEPINO-6-ONAS E TIONAS E DE COMPOSIÇÕES FARMACÉUTICA PARA
 O TRATAMENTO OU A PROFILAXIA DA SIDA

(57) *Resumo:*

5,11-DI-HIDRO-6H-DIPIRIDO-(3,2-B:2',3'-E)(1,4)-DIAZEPINO-6-ONAS; TIONAS;
 TRATAMENTO; PROFILAXIA DA SIDA


[Fig.]

Descrição referente à patente de invenção de Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc., norte-americana, industrial e comercial, estabelecida em 90 East Ridge, P.O. Box 368, Ridgefield, Connecticut 06877, Estados Unidos da América e de Dr. Karl Thomae Gesellschaft mit beschränkter Haftung, alemã, industrial e comercial, com sede em D-7950 Biberach an der Riss, República Federal Alemã, (inventores: Dr. Karl D. Hargrave, residente nos E.U.A., Dr. Gunther Schmidt, Dr. Wolfhard Engel, Dr. Günter Trummlitz e Dr. Wolfgang Eberlein, residentes na Alemanha Ocidental), para "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE 5,11-DI-HIDRO-6H-DIPIRIDO-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-DIAZEPINO-6-ONAS E TIONAS E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO OU A PROFILAXIA DA SIDA".

Descrição

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se a novas 5,11-di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-onas ou tionas e aos seus sais de adição de ácido farmacêuticamente aceitáveis, aos processos para a preparação destes compostos, à utilização desses compostos na prevenção ou no tratamento da SIDA e às composições farmacêuticas que contêm esses compostos.



Enquadramento Geral da Invenção

A doença humana síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) é provocada pelo vírus da imunodeficiência humano (HIV), particularmente, a estirpe conhecida por HIV-1.

Tal como outros vírus, o HIV-1 não se pode multiplicar sem comandar o aparelho bio-sintético das células hospedeiras que infecta. Ele faz com que este aparelho produza as proteínas estruturais que provocam a progénie do vírus. Essas proteínas são codificadas pelo material genético contido dentro da partícula do vírus infectante ou virião. Sendo um retrovírus, no entanto, o material genético do HIV é ARN e não ADN, como acontece no genoma das células do hospedeiro. Por consequência, o ARN do vírus tem primeiro que ser transformado em ADN e, em seguida, integrado no genoma das células hospedeiras a fim de a célula hospedeira produzir as proteínas do vírus pretendidas.

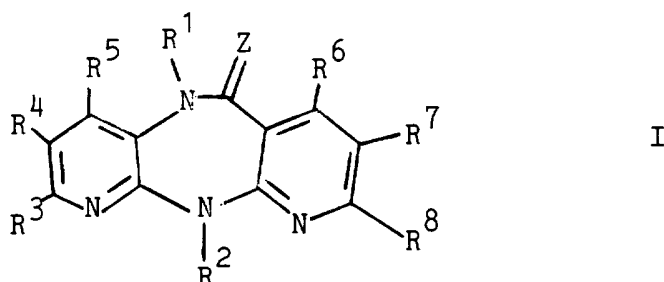
A transformação de ARN em ADN realiza-se mediante utilização da enzima de transcriptase inversa (RT), que é incluída dentro do virião infectante juntamente com o ARN.

A transcriptase inversa tem três funções enzimáticas; actua como ADN polimerase dependente de ARN, como uma ribonuclease e como ADN-polimerase dependente de ADN. Actuando primeiramente como ADN-polimerase dependente de ARN, a RT faz uma cópia de ADN de cadeia simples do ARN do vírus. Em seguida, actuando como ribonuclease, a RT liberta o ADN acabado de produzir a partir do ARN do vírus original e então destrói o ARN original. Por fim, igualmente actuando como ADN-polimerase dependente de ADN, a RT faz uma segunda hélice de ADN complementar usando a primeira hélice de ADN como modelo. As duas hélices formam ADN de hélice dupla, que é integrado no genoma das células do hospedeiro por outra enzima denominada integrase.

Os compostos que inibem as funções enzimáticas da transcriptase inversa do HIV-1 inibem a multiplicação de HIV-1 em células infectadas. Estes compostos são úteis para a prevenção ou para o tratamento da infecção por HIV-1 em seres humanos.

Descrição da Invenção

De acordo com um dos seus aspectos relativos e composições de matéria, a invenção refere-se a 5,11-di-hidro-6H-di-pirido-[3,2-b:2',3'-e] [1,4]-diazepino-6-onas e -tionas de fórmula



na qual


Z é o oxigénio ou enxofre;

R¹ é hidrogénio, alquilo ou flúor-alquilo com um até cinco átomos de carbono, tri-halogenimetilo, alcenilo ou alcinilo com três a cinco átomos de carbono, 2-halogeno-propen-1-ilo, aril-metilo (em que o agrupamento arilo é fenilo, tienilo ou furanilo, que é ou não substituído ou substituído por metilo, metoxi ou halogénio), alcanóilo com dois ou três átomos de carbono ou alcóxialquilo ou alquiltioalquilo com dois a quatro átomos de carbono;

R² é hidrogénio, alquilo ou flúor-alquilo com um até cinco átomos de carbono, alcenilo ou alcinilo com dois a cinco átomos de carbono, alcóxialquilo ou alquiltioalquilo com dois a quatro átomos de carbono, alcanóilo com dois a quatro átomos de carbono, hidroxialquilo com dois a cinco átomos de carbono, aril-metilo (em que o agrupamento arilo é fenilo, tienilo ou furanilo, que é ou não substituído ou substituído por alquilo ou alcoxi com um a três átomos de carbono, hidroxilo ou halogéneo), fenilo (que é ou não substituído ou substituído por alquilo ou alcóxi com um a três átomos de carbono, hidróxi ou halogéneo) ou alcóxicarbonil-metilo, em que o agrupamento alcóxi contém um a cinco átomos de carbono; e

cada um dos símbolos R³ até R⁸ é hidrogénio; ou

um dos símbolos R³ até R⁸ é alquilo com um a quatro átomos de



carbono, alcóxi ou alquiltio com um a quatro átomos de carbono, alcoxicarbonilo com dois a quatro átomos de carbono, hidróxi-alquilo com um até quatro átomos de carbono, alcanoílo com dois a quatro átomos de carbono, alcanoilóxi com dois a quatro átomos de carbono, alcanoilamino com um a quatro átomos de carbono, amino-alquilo com um a quatro átomos de carbono, alcoxicarbonil-alquilo em que os agrupamentos alcóxi e alquilo contêm cada um deles um ou dois átomos de carbono, carbóxi-alquilo com dois a quatro átomos de carbono, mono-alquilamino ou dialquilamino em que cada agrupamento alquilo contém um ou dois átomos de carbono, ciano, nitro, hidroxilo, carboxilo, amino, mono-alquilamino-alquilo ou dialquilamino-alquilo em que cada agrupamento alquilo contém um ou dois átomos de carbono, azido ou halogéneo, sendo outros cinco substituintes hidrogénio; ou

R^3 , R^4 e R^5 são, cada um deles independentemente, hidrogénio ou alquilo com um a três átomos de carbono, com a condição de que pelo menos um destes substituintes seja hidrogénio, ou um dos símbolos R^3 , R^4 e R^5 seja butilo, sendo os dois substituintes restantes hidrogénio; e


R^6 , R^7 e R^8 são, cada um deles independentemente, hidrogénio ou alquilo com um até três átomos de carbono, com a condição de que pelo menos um destes substituintes seja hidrogénio, ou um dos símbolos R^6 , R^7 e R^8 seja butilo, sendo os dois substituintes restantes hidrogénio,

com a condição de que, quando Z for oxigénio e R^1 e R^2 forem iguais ou diferentes e forem hidrogénio ou alquilo ramificado com um até cinco átomos de carbono, pelo menos um dos símbolos R^3 até R^8 é diferente de hidrogénio.

Um aspecto subgenérico da presente invenção compreende compostos de fórmula I em que

Z é oxigénio ou enxofre;

R^1 é hidrogénio, alquilo ou flúor-alquilo com um até cinco átomos de carbono, tri-halogeno-metilo, alcenilo ou alcinilo com dois até quatro átomos de carbono, 2-halogeno-propen-1-ilo ou alcóxi-alquilo ou alquiltio-alquilo com dois ou três átomos de carbono;


 R^2 é alquilo ou flúor-alquilo com um a quatro átomos de carbono, alcenilo ou alcinilo com dois até quatro átomos de carbono, alcóxi-alquilo ou alquiltio-alquilo com dois a quatro átomos de carbono, alcanóilo com dois ou três átomos de carbono, hidróxi-alquilo com dois a quatro átomos de carbono, arilmetilo (em que o agrupamento arilo é fenilo ou tienilo, que é ou não substituído ou substituído por metilo, metóxi, hidroxilo ou halogénio), fenilo (que é ou não substituído ou substituído por metilo, metóxi, hidroxilo ou halogénio) ou alcoxycarbonilmetilo, em que o agrupamento alcóxi contém um até cinco átomos de carbono; R^3 , R^4 e R^5 são, cada um deles independentemente dos outros, hidrogénio ou metilo, com a condição de que pelo menos um destes substituintes é hidrogénio, ou R^5 é etilo, propilo ou butilo, sendo os dois substituintes restantes hidrogénio; e R^6 , R^7 e R^8 são, cada um deles independentemente dos outros, hidrogénio ou metilo, com a condição de que pelo menos um destes substituintes é hidrogénio ou R^6 é etilo, propilo ou butilo, sendo os dois restantes substituintes hidrogénio.

Um aspecto subgenérico particular da presente invenção compreende compostos de fórmula I em que

Z é oxigénio ou enxofre;

R^1 é hidrogénio, alquilo ou flúor-alquilo com um até quatro átomos de carbono ou alilo;

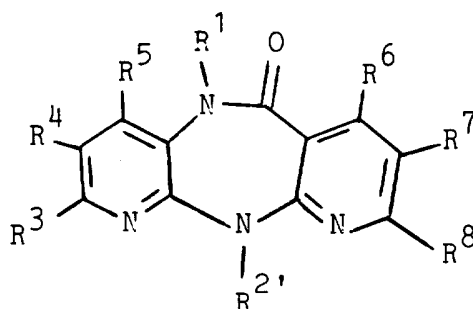
R^2 é alquilo ou flúor-alquilo com um até quatro átomos de carbono, alilo ou benzilo; e

os símbolos R^3 até R^9 são, cada um deles, hidrogénio.

Os compostos de fórmula I podem preparar-se por métodos conhecidos ou por suas modificações óbvias. Os processos A, B, C, D e E abaixo descritos são ilustrativos dos processos para a preparação dos compostos.

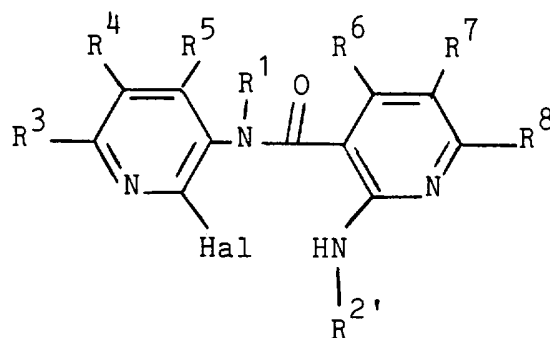
Processo A

Podem obter-se compostos de fórmula geral Ia



Ia

na qual
 R^1 e R^3 até R^8 são como se definiu acima e $R^{2'}$ tem as mesmas definições que R^2 com a exceção de hidrogênio,
 ciclizando amidas de ácidos carboxílicos de fórmula geral II



II

na qual
 R^1 , R^3 até R^8 e $R^{2'}$ têm as mesmas definições acima referidas em relação à fórmula Ia e Hal representa flúor, cloro, bromo ou iodo.

A ciclização realiza-se preferivelmente transformando os compostos de fórmula geral II nos seus sais de metais alcalinos e realizando a condensação subsequente a temperaturas compreendidas entre 0°C e o ponto de ebulição da mistura reacional.

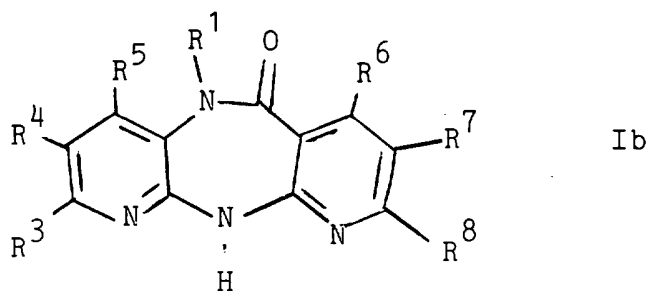
Se, nos compostos de partida de fórmula geral II, R^1 for diferente de hidrogênio, a metalação requer pelo menos 1 mole de agente metalante. Se, por outro lado, R^1 for hidrogênio têm de usar-se pelo menos 2 moles deste agente. Para a metalação, usam-se preferivelmente hidretos de lítio, de sódio e de potássio, derivados de alquilo de lítio, tais como n-butil-lítio.

A reacção realiza-se geralmente no seio de dissolventes inertes, por exemplo, no seio de tetra-hidrofurano, 1,4-dioxano, éter glicol-dimetílico, éter dietilenoglicol-dimetílico, éter trietilenoglicol-dimetílico, dimetil-formamida, benzeno ou anisol.

A ciclização pode também efectuar-se aquecendo amidas de ácidos carboxílicos de fórmula geral II no seio de dissolventes apróticos dipolares, preferivelmente, em sulfolano ou dimetil-sulfona. Verificou-se que podem ser utilizadas quantidades catalíticas de ácidos fortes, por exemplo, ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido fosfórico, ácido polifosfórico, ácido metano-sulfónico ou ácido p-tolueno-sulfónico. A temperaturas necessária para a realização da reacção está geralmente compreendida entre 110 e 220°C, sendo o intervalo preferido de temperatura compreendidos entre 130 e 170°C.

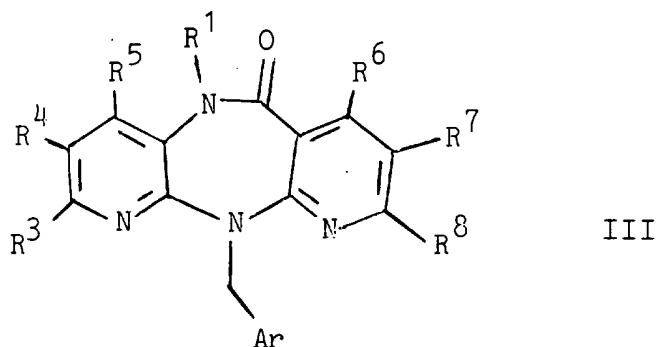
Processo B

Podem preparar-se compostos de fórmula geral Ib



na qual

R¹ e R³ até R⁸ são como se definiu acima, por clivagem hidrolítica do grupo de arilmetilo nos compostos de fórmula geral III



na qual

R^1 e R^3 até R^8 são como se definiu acima e Ar pode ser, por exemplo, um grupo fenilo ou 4-metóxi-fenilo.

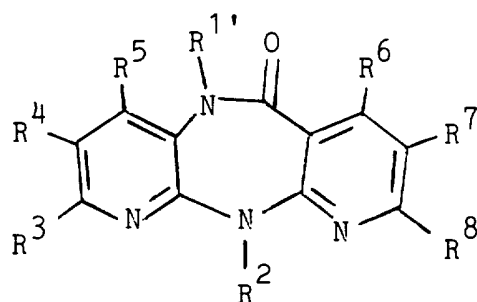
A hidrólise efectua-se por meio de ácidos desde moderados a fortes ou ácidos de Lewis, a temperaturas compreendidas entre -20 e $+150^{\circ}\text{C}$. Esses ácidos podem ser, por exemplo, ácido sulfúrico, ácido metano-sulfónico, ácido triflúor-acético, ácido triflúor-metano-sulfónico, ácido fosfórico ou ácido polifosfórico. Quando se utiliza ácido fosfórico ou ácido polifosfórico, a adição de dissolventes tais como benzeno, tolueno, fenol, anisol ou veratrol verificou-se ser vantajosa.

Se se utilizam ácidos de Lewis, tais como cloreto ou brometo de alumínio para eliminar o grupo arilmetilo, são apropriados dissolventes tais como hidrocarbonetos aromáticos, por exemplo, benzeno, tolueno, anisol ou suas misturas com diclorometano.

É evidente para os especialistas no assunto que o Processo B não é preferido nos casos em que qualquer das significações de R^1 e R^3 até R^8 forem substituintes facilmente hidrolisáveis, por exemplo, em que R^1 é alcanoílo ou qualquer dos símbolos R^3 até R^8 for alcanoilamino ou alcoxicarbonilo. Nos casos em que R^1 é alcanoílo ou qualquer dos símbolos R^3 até R^8 for alcoxicarbonilo, por exemplo, é preferível utilizar o Processo A acima descrito; quando R^1 é hidrogénio, têm de se utilizar 2 equivalentes de base. Nos casos em que qualquer dos símbolos R^3 até R^8 for alcanoilamino, por exemplo, é preferível realizar a hidrólise (e a subsequente acilação) no correspondente derivado nitrado e, em seguida, reduzir o agrupamento nítro com obtenção do grupo amina, seguindo-se a acilação para se obter o produto pretendido.

Processo C

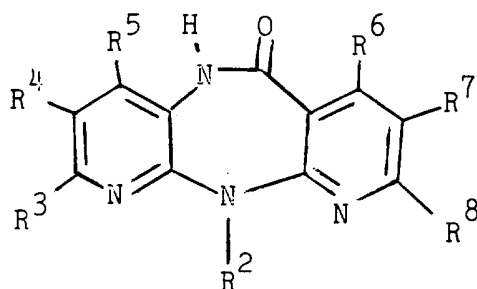
Pode obter-se um composto de fórmula geral Ic



Ic

na qual

$R^{1'}$ tem as mesmas definições que R^1 com a excepção de hidrogénio e os símbolos R^2 até R^8 são como se definiu acima, transformando uma 5,11-di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e] [1,4]-diazepino-6-ona de fórmula IV



(IV)

na qual

os símbolos R^2 até R^8 são como se definiu acima, no correspondente composto de metal alcalino ou de metal alcalino-terroso na posição 5 e, subsequentemente, fazendo reagir o composto de metal alcalino com um composto de fórmula V




(V)

na qual

$R^{1'}$ tem as mesmas significações que na fórmula Ic e X é o radical de um éster reactivo, um átomo de halogénio, o grupo $OSO_2OR^{1'}$, o grupo metano-sulfonilóxi ou o grupo etano-sulfonilóxi ou um grupo sulfonilóxi aromático.

Em vez de se transformar o composto de fórmula geral IV no seu correspondente sal de metal alcalino na primeira fase pode também realizar-se a alquilação de um composto de fórmula IV por reacção com um composto de fórmula V em presença de ami-



nas, tal como trietilamina, diazabicyclo-undeceno ou 4-(dime-
tilamino)-piridina, ou de carbonatos ou bicarbonatos de metais
alcalinos, tais como carbonato de sódio ou carbonato de potás-
sio ou bicarbonato de sódio.

A transformação de um composto de fórmula geral IV no
correspondente composto de metal alcalino ou de metal alcalino-
terroso pode efectuar-se fazendo reagir um composto de fórmula
IV com um hidróxido de metal alcalino ou de um metal alcalino-
terroso, como por exemplo hidróxido de lítio, hidróxido de bá-
rio, hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio, com um alco-
olato de metal alcalino, tal como metanolato de sódio ou tér-
cio-
butóxido de potássio, com uma amida de metal alcalino, tal co-
mo amida de sódio ou amida de potássio ou com um hidreto de me-
tal alcalino, tal como hidreto de sódio ou hidreto de potássio.

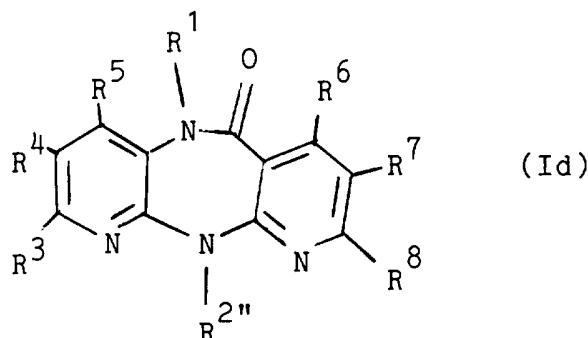
A reacção realiza-se preferivelmente a temperaturas
elevadas na presença de um dissolvente orgânico apropriado.
Dissolventes orgânicos inertes, tais como tetra-hidrofurano ou
éter glicol-dimetílico são os preferidos se se utilizarem hi-
dretos de metais alcalinos como agentes metalantes, enquanto se
se utilizar um hidróxido de metal alcalino ou um hidróxido de
metal alcalino-terroso, também se pode empregar uma mistura a-
quosa com um dissolvente orgânico, tal como metanol ou tetra-
-hidrofurano.

Para a transformação da 5,11-di-hidro-6H-dipirido-
-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona substituída por um metal
alcalino ou um metal alcalino-terroso assim obtida num composto
de fórmula geral Ic, faz-se reagir a solução do composto de me-
tal alcalino ou de metal alcalino-terroso directamente, isto é,
sem sofrer isolamento, com um composto de fórmula V a -20° ou a
temperaturas elevadas até ao ponto de ebulição do dissolvente
ou do meio reaccional, conforme o que for mais baixo. A substi-
tuição realiza-se quase exclusivamente no átomo de azoto na po-
sição 5 da di-hidro-dipirido-diazepinona, mesmo se R^2 na subs-
tância de partida de fórmula IV for um átomo de hidrogénio,
desde que se utilize um equivalente de base e um equivalente de
um composto de fórmula V.

É evidente para os especialistas no assunto que a presença de substituintes nucleofílicos nos compostos de fórmula Ic pode necessitar a utilização de um composto intermediário de fórmula Ic que tem substituintes que são diferentes do átomo de azoto na posição 11, não nucleofílicos, mas que podem ser derivatizados para se obter o grupo pretendido. Por exemplo, obtêm-se preferivelmente substituintes amino ou mono-alquilamino em qualquer dos substituintes R³ até R⁸ alquilando ou acilando um produto intermediário de fórmula Ic que tem um grupo nitro em qualquer dos substituintes R³ até R⁸ e reduzindo subsequentemente o grupo nitro e alquilando, se for apropriado, para se obter o produto final.

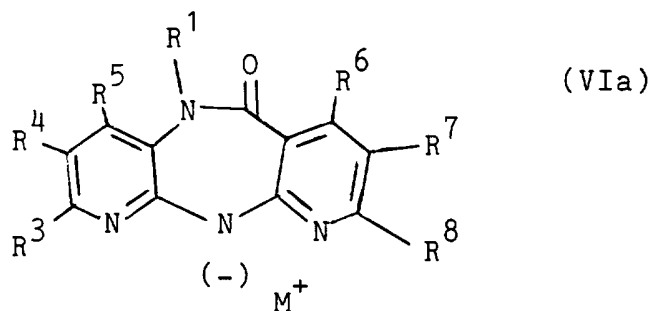
Processo D

Pode obter-se um composto de fórmula geral Id

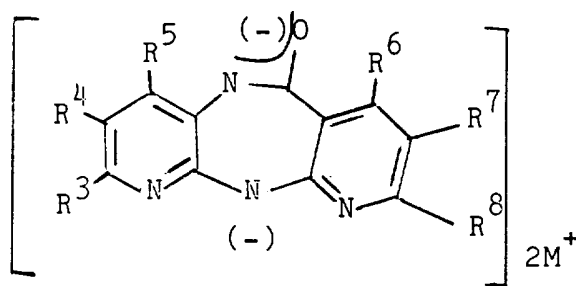


na qual

R^{2''} tem as significações de R² com a exceção de alcanóilo, hidróxi-alquilo ou alcóxi-carbonil-metilo e R¹ e R³ até R⁸ representam os grupos acima mencionados, transformando uma 5,11-di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona de fórmula geral Ib no correspondente sal de metal de fórmula geral VIa ou, no caso de R¹ no composto de fórmula Ib ser hidrogénio, num composto de fórmula VIb



Vib



nas quais


M representa um metal alcalino, tal como lítio, sódio, potássio rubídio ou cézio ou M representa o agrupamento $MgHal^+$, em que Hal é um átomo de cloro, bromo ou iodo, e alquilando subsequentemente com um composto de fórmula geral VII



na qual

$R^{2''}$ e X são como se definiu anteriormente na presente memória descritiva.

A transformação de um composto de fórmula geral Ib no correspondente composto de metal alcalino de fórmulas VId e VIB pode efectuar-se fazendo reagir um composto de fórmula Ib com um derivado de alquilo de lítio (por exemplo, n-butil-lítio ou t-butil-lítio), opcionalmente na presença de tetrametil-etilenodiamina, uma dialquilamina de lítio (por exemplo, di-isopropilamida de lítio, diciclo-hexilamida de lítio e isopropil-ciclo-hexilamida de lítio), um derivado de arilo de lítio (por



exemplo, fenil-lítio), um hidróxido de metal alcalino (por exemplo, hidróxido de lítio, de sódio ou de potássio), um hidreto de metal alcalino (por exemplo, hidreto de sódio ou de potássio), uma amida de metal alcalino (por exemplo, amidas de sódio ou de potássio) ou um reagente de Grignard (por exemplo, iodeto de metil-magnésio, brometo de etil-magnésio ou brometo de fenil-magnésio).

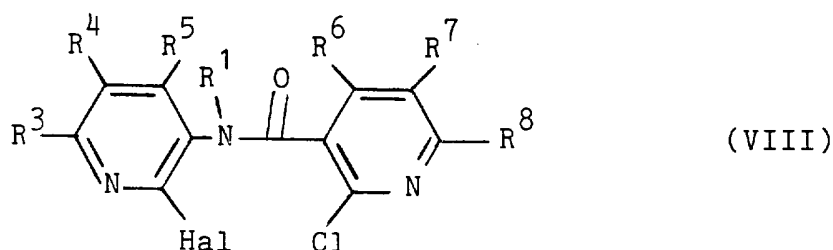
Para a formação de compostos de fórmula VIa, é necessário um equivalente de base, enquanto que para a formação de compostos de fórmula VIb são necessários dois equivalentes de base. A metalação realiza-se convenientemente no seio de um dissolvente orgânico inerte a temperaturas compreendidas entre -78°C e o ponto de ebulição da mistura reaccional em questão. Se para a metalação se utilizar um derivado de alquilo de lítio, um derivado de arilo de lítio, dialquilamida de lítio ou um reagente de Grignard, os dissolventes preferidos são éteres, tais como tetra-hidrofurano, éter dietílico ou dioxano, opcionalmente em mistura com hidrocarbonetos alifáticos ou aromáticos, tais como hexano ou benzeno, e a operação pode realizar-se a temperaturas compreendidas entre -20 e $+80^{\circ}\text{C}$. Quando se efectua a metalação com um hidreto de metal alcalino ou com uma amida de metal alcalino, além dos dissolventes mencionados anteriormente na presente memória descritiva, é também possível utilizar xileno, tolueno, acetonitrilo, dimetil-formamida e sulfóxido de dimetilo, enquanto que se se utilizar um hidróxido de metal alcalino, é também possível usar álcoois, tais como metanol etanol e cetonas alifáticas, tais como acetona, assim como misturas desses dissolventes com água.

Para a transformação do sal de metal alcalino assim obtido num composto de fórmula Id, faz-se reagir a solução ou a suspensão do composto de metal alcalino directamente, isto é, sem isolamento do produto reaccional, com um composto de fórmula VII a -20°C ou a temperaturas elevadas, preferivelmente ao ponto de ebulição do dissolvente ou do meio da suspensão ou ao ponto de ebulição do composto VII, conforme for o mais baixo.

É óbvio para os especialistas no assunto que a pre-

sença de substituintes nucleofílicos nos compostos de fórmula Id pode necessitar a utilização de um produto intermediário de fórmula Id que tem substituintes que são, além do azoto na posição 11, não nucleofílicos, mas que podem ser derivatizados para se obter o grupo pretendido. Por exemplo, os substituintes amino ou mono-alquilamino em qualquer dos agrupamentos R^3 até R^8 são preferivelmente obtidos alquilando ou acilando um produto intermediário de fórmula Ic que tem um grupo nitro em qualquer dos substituintes R^3 até R^8 e reduzindo subsequentemente o grupo nitro e alquilando, se isso for apropriado, para se obter o produto final.

As amidas de ácidos carboxílicos de fórmula geral II utilizadas como materiais de partida obtêm-se, por exemplo, por aminação de amidas de ácido 2-cloro-nicotínico de fórmula geral VIII



na qual

os substituintes R^3 até R^8 e Hal são como se definiu anteriormente na presente memória descritiva, com aminas primárias de fórmula geral IX



na qual

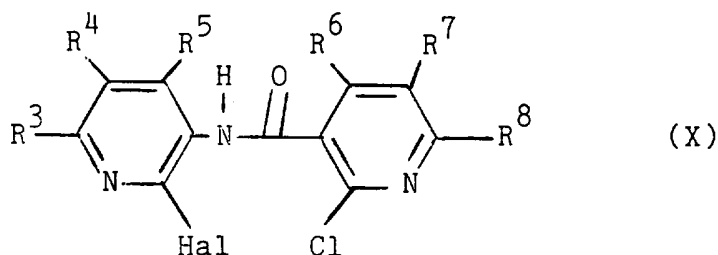
$R^{2'}$ é como se definiu anteriormente na presente memória descritiva.

A reacção pode também realizar-se em presença de bases auxiliares inorgânicas ou orgânicas, tais como trietilamina, N,N-dimetil-anilina ou carbonato de sódio ou carbonato de potássio. A reacção pode realizar-se sem se utilizar dissolvente; no entanto, é vantajoso usar dissolventes orgânicos a temperaturas compreendidas entre 0 e 150°C, preferivelmente à tempera-

tura de refluxo.

Os dissolventes inertes apropriados que podem ser utilizados incluem um excesso de amina primária de fórmula geral IX, éteres de cadeia aberta ou cíclicos, tais como tetra-hidrofurano, 1,4-dioxano, éter glicol-dimetílico, éter dietilenoglicol-dimetílico; hidrocarbonetos aromáticos, tais como benzeno, tolueno, xileno, clorobenzeno ou piridina; álcoois, tais como metanol, etanol, isopropanol; dissolventes apróticos dipolares, tais como dimetil-formamida; 1,3-dimetil-2-imidazolinona, 1,3-dimetil-tetra-hidro-2-(1H)-pirimidinona e sulfolano.


As substâncias de partida de fórmula geral VIII em que R¹ é diferente de hidrogênio podem preparar-se a partir de amidas de ácidos 2-cloro-nicotínicos de fórmula geral X



mediante reacção com agentes de alquilação de fórmula geral V na presença de reagentes aceitadores de protões, por exemplo, de aminas, tais como trietilamina, diaza-biciclo-undeceno, 4-(dimetilamino)-piridina ou hidróxidos de metais alcalinos ou metal alcalino-terrosos, tais como hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de cálcio, em presença de carbonatos de metais alcalinos ou carbonatos de metais alcalino-terrosos ou hidrógeno-carbonatos, tais como carbonato de sódio ou carbonato de potássio ou hidrógeno-carbonato de potássio.

As amidas dos ácidos 2-cloro-nicotínicos de fórmula geral X podem obter-se por condensação de ácido 2-cloronicotínico com 3-amino-2-halógeno-piridinas, em condições reaccionais bem conhecidas.

Todas as outras substâncias de partida são conhecidas da literatura ou podem ser compradas ou podem ser obtidas por maneiras de proceder conhecidas a partir da literatura.



Processo E


De acordo com o Processo E, obtém-se um composto de fórmula I, em que Z é enxofre, fazendo reagir um composto de fórmula I em que Z é oxigénio com um agente sulfurtante, tal como 2,4-bis-(4-metóxi-fenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano-2,4-dissulfureto; sulfureto de bis-(tríciclo-hexil-estanho); sulfureto de bis-(tri-n-butil-estanho); sulfureto de bis-(trifenil-estanho); sulfureto de bis-(trimetil-sililo) ou pentassulfureto de fósforo.

A reacção realiza-se no seio de um dissolvente orgânico inerte, tal como dissulfureto de carbono, benzeno ou tolueno, à temperatura ambiente ou a temperatura superior à temperatura ambiente, preferivelmente a temperatura elevada até ao ponto de ebulição da mistura reaccional e, preferivelmente, sob condições anidras. Quando se utilizam os sulfuretos de estanho ou de sililo acima mencionados, é preferível realizar a reacção de sulfuretação na presença de um ácido de Lewis, tal como tricloreto de boro.

É óbvio para os especialistas no assunto que a presença de outro agrupamento de carbonilo num composto de fórmula I, por exemplo, um composto em que Z é oxigénio e qualquer dos substituintes R^3 até R^8 é alcanoílo, necessita que o carbonilo de cetona seja protegido por métodos conhecidos por um grupo de protecção apropriado antes de realizar a reacção de sulfuração; a subsequente desprotecção a seguir à reacção de sulfuração origina o composto pretendido.

De forma semelhante, nos casos em que R^2 é, por exemplo, alcanoílo, é evidente que a reacção de sulfuração deve realizar-se antes da acilação do azoto na posição 11. Nos casos em que os substituintes em qualquer dos radicais R^3 até R^8 podem ser derivados de nitro, por exemplo, alcanoilamino, a reacção de sulfuração pode realizar-se sobre o correspondente derivado de nitro, seguida de uma redução apropriada (conhecida) e, finalmente, acilação, para se obter o produto pretendido.

Os compostos de fórmula I podem, caso assim se pre-



tenda, ser transformados nos seus sais de adição de ácido não tóxicos, farmacologicamente aceitáveis, por métodos convencionais. Por exemplo, dissolvendo um composto de fórmula I num dissolvente apropriado e acidulando a solução com um ou mais equivalentes molares do ácido pretendido. O âmbito da presente invenção também compreende esses sais.


São exemplos de ácidos inorgânicos e orgânicos que podem formar sais de adição de ácido farmacologicamente aceitáveis e não tóxicos com um composto de fórmula I os seguintes: ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido metano-sulfônico e semelhantes. Os compostos de fórmula geral I correntemente formam sais de adição de ácido com um equivalente molar do referido ácido.

Os compostos acima descritos de fórmula I possuem actividade inibitória contra transcriptase inversa de HIV-1. Quando administrados sob a forma de dosagens apropriadas, são úteis na prevenção ou no tratamento da SIDA, ARG e perturbações relacionadas associadas à infecção por HIV.

Outro aspecto da presente invenção, portanto consiste num método para evitar ou tratar a infecção por HIV-1 que compreende administrar-se a um ser humano exposto a ser infectado por HIV-1 ou já infectado por HIV-1 uma quantidade profilática ou terapêuticamente efectiva de um novo composto de fórmula I, como se descreveu acima.

Os compostos de fórmula I podem ser administrados em doses únicas ou divididas, por via oral, parentérica ou tópica. Uma dosagem por via oral apropriada de um composto de fórmula I está compreendida dentro do intervalo de cerca de 10 a 500 mg por dia. Nas formulações para administração parentérica, uma unidade de dosagem apropriada pode conter de 1 a 50 mg dos referidos compostos, enquanto que, para administração por via tópica, preferem-se formulações que contêm 0,01 a 1% de ingrediente activo.

Deve compreender-se, no entanto, que a dosagem de administração varia de paciente para paciente e a dosagem para




qualquer paciente particular depende da apreciação do médico, que utiliza como critérios para fixar uma dosagem apropriada o tamanho e o estado do paciente, assim como a resposta deste ao fármaco.

Quando os compostos de acordo com a presente invenção se destinam a ser administrados por via oral, podem ser administrados como medicamentos sob a forma de preparações farmacêuticas que os contêm em associação com material veicular farmacêutico compatível. Esse material veicular pode ser um material inerte orgânico ou inorgânico apropriado para administração por via oral. São exemplos desses materiais veiculares água, gelatina, talco, amido, estearato de magnésio, goma arábica, óleos vegetais, polialquilenoglicóis, gel de petróleo e semelhantes.

As preparações farmacêuticas podem preparar-se de acordo com a maneira de proceder convencional e as formas de dosagem acabadas podem ter a forma de dosagens sólidas, por exemplo, comprimidos, drageias, cápsulas ou semelhantes ou formas de dosagem líquidas, por exemplo, soluções, suspensões, emulsões e semelhantes.

As preparações farmacêuticas podem ser submetidas a operações farmacêuticas convencionais, tais como esterilização. Além disso, as preparações farmacêuticas podem conter agentes auxiliares convencionais, tais como agentes preservantes, agentes estabilizantes, agentes emulsionantes, agentes de melhoria do paladar, agentes molhantes, agentes tampão, sais para variar a pressão osmótica e semelhantes. O material veicular sólido que pode ser utilizado inclui, por exemplo, amido, lactose, manitol, metil-celulose, celulose microcristalina, talco, sílica, fosfato de cálcio não ácido e polímeros de elevado peso molecular (tal como polietileno-glicol).

Para utilização por via parentérica, um composto de fórmula I pode ser administrado sob a forma de solução, suspensão ou emulsão aquosa ou não aquosa num óleo ou numa mistura de líquidos farmacêuticamente aceitáveis, que pode conter agentes bacteriostáticos, agentes anti-oxidantes, agentes preservantes,



tampões ou outros solutos para tornar a solução isotônica com o sangue, agentes espessantes, agentes de suspensão ou outros aditivos farmacêuticamente aceitáveis.

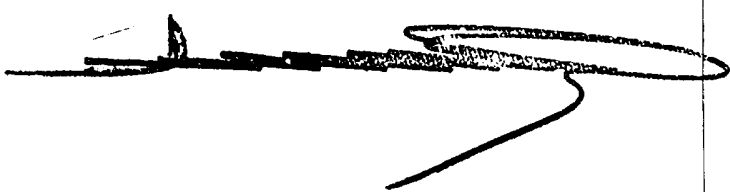
Os aditivos deste tipo incluem, por exemplo, tampões de tartarato, citrato e acetato, etanol, propileno-glicol poli-etileno-glicol, agentes complexantes (como por exemplo, EDTA), agentes anti-oxidantes (tais como bissulfito de sódio, metassulfito de sódio e ácido ascórbico), polímeros de elevado peso molecular (tais como polióxidos de etileno líquidos) para regular a viscosidade e derivados de polietileno de anidridos de sorbitol. Podem também adicionar-se, se for necessário, agentes preservantes, tais como ácido benzóico, metil-paraben ou propil-paraben, cloreto de benzalcónio e outros compostos de amónio quaternário.

Os compostos de acordo com a presente invenção podem também ser administrados sob a forma de solução para aplicação por via nasal e podem conter, além dos compostos de acordo com a presente invenção, tampões apropriados, ajustadores de tonicidade, preservantes microbianos, agentes anti-oxidantes e agentes para aumento da viscosidade, num veículo aquoso. São exemplos de agentes utilizados para aumentar a viscosidade álcool polivinílico, derivados de celulose, polivinil-pirrolidona, poli-sorbato ou glicerina. Os agentes microbianos adicionados podem incluir cloreto de benzalcónio, timerosal, clorobutanol ou álcool fenil-etílico.

Adicionalmente, os compostos de acordo com a presente invenção podem ser administrados sob a forma de supositórios.

Como se mencionou anteriormente, os compostos de acordo com a presente invenção inibem a actividade enzimática de HIV-1 RT. Com base nos ensaios destes compostos, realizada como se descreve abaixo, sabe-se que inibem a actividade ADN polimerase dependente de ARN da RT de HIV. Com base em outros ensaios, não descritos na presente memória descritiva, supõe-se que também inibam a actividade de ADN polimerase dependente de ARN de HIV RT.

Utilizando o ensaio de transcriptase inversa (RT) a-



baixo referido, podem ensaiar-se compostos relativamente à sua capacidade de inibir a actividade de ADN polimerase dependente de ARN de HIV RT. Certos compostos específicos descritos nos exemplos que são referidos mais abaixo foram assim ensaiados. Os resultados deste ensaio estão reunidos na Tabela I, que se encontra mais adiante.

ENSAIO DE TRANSCRIPTASE INVERSA (RT)

Teoria do Ensaio

Entre as enzimas para que o vírus da imunodeficiência adquirida humana (HIV-1) codifica, encontra-se uma transcriptase inversa (1), assim designada porque transcreve uma cópia de ADN a partir de um modelo de ARN. Esta actividade pode ser medida quantitativamente num ensaio de enzimas isento de células que foi previamente descrito (2) e baseia-se na observação de que a transcriptase inversa é capaz de utilizar um modelo sintético (poli r(C) primado com oligo d(G)) para transcrever uma cadeia de ADN rádio-marcado, precipitável com ácido, utilizando ^3H -dGTP como substrato.

Materiais

a) Preparação da Enzima

Isolou-se a enzima de transcriptase inversa da estirpe LAV do vírus de imunodeficiência humana (HIV-1) (1) a partir da estirpe bacteriana JM109 (3) que exprime o clone de ADN pBRTprt1+ (2) que se encontra sob o controlo do promotor lac no vector de expressão pIB121 (4).

Uma cultura desenvolvida durante a noite em meio de 2XYT (37°C , 225 rotações por minuto) (5), suplementado com 100 microgramas/ml de ampicilina para selecção positiva é inoculada na diluição de 1 : 40 em meio M9 suplementado com 10 microgramas/ml de tiamina, 0,5% de ácidos de casamina e 50 microgramas/ml de ampicilina (5).

A cultura é incubada (a 37°C , 225 rotações por minu-

to) até atingir uma densidade óptica a 540 nm compreendida entre 0,3 e 0,4. Quando isso acontece, adiciona-se o inibidor repressor IPTG (isopropil-b-D-tiogalactopiranosídeo) na concentração de 0,5 mM e incuba-se durante duas horas adicionais. Separaram-se as bactérias por centrifugação, ressuspendem-se em tampão de Tris 50 mM, EDTA 0,6 mM e NaCl 0,375 M e digere-se por adição de lisóxima (1 mg/ml) durante trinta minutos em banho de gelo. Lisam-se as células por adição de 0,2% de NP-40 e adiciona-se cloreto de sódio até a solução ficar 1 M.

Depois da remoção dos resíduos insolúveis por centrifugação, precipita-se a proteína por adição de 3 volumes de solução saturada aquosa de sulfato de amônio. Separa-se a enzima, ressuspende-se em tampão RT (50 mM de Tris de pH 7,5, 1 mM de EDTA, 5 mM de DTT, 0,1% de NP-40, 0,1 M de NaCl e 50% de glicerol) e guarda-se a -70°C para utilização posterior.

b) Composição da Mistura Reaccional de Armazenagem Concentrada
2X

<u>Reagentes Constitutivos da Mistura</u>	<u>Concentração da Mistura 2X</u>
<u>de Armazenagem</u>	
Tris 1M pH 7,4	100mM
1M Dithiothrietol	40mM
NaCl 1M	120mM
Nonidet P-40 a 1%	0,1%
MgCl ₂ 1M	4mM
[poli r(C) /oligo d(G)](5:1)	2µg/ml
³ H-dGTP (81µM)	0,6µM

Maneira de Proceder para a Realização do Ensaio

A mistura reaccional de armazenagem concentrada 2X é dividida em partes alíquotas e guardada a -20°C . A mistura é estável e descongelada para utilização em cada ensaio. Este ensaio de enzima foi adaptado a um sistema de placas de microtitulação com noventa e seis reentrâncias e foi previamente des-


crito (6).

Distribuem-se por placas de microtitulação de noventa e seis reentrâncias (10 microlitros/reentrância; três reentrâncias/composto) tampão e de Tris (50 mM, pH 7,4), veículo (diluído com dissolvente para se obter a diluição do composto) ou compostos dissolvidos no veículo. A enzima de HIV RT é descongelada, diluída em Tris 50 mM de pH 7,4, de modo que 15 microlitros de enzima diluída contenham 0,001 unidade (uma unidade é a quantidade de enzima que transforma 1 micromole de substrato por minuto a 25°C) e distribuem-se 15 microlitros por cada reentrância. Adicionam-se 20 microlitros de 0,12 - 0,5 M de EDTA aos três primeiras reentrâncias da placa de microtitulação. O EDTA quelata o Mg^{++} presente e evita a transcrição inversa. Este grupo serve como polimerização de fundo que é subtraída de todos os outros grupos. Adicionam-se 25 microlitros da mistura reaccional 2X a todas as cavidades e deixa-se que a mistura de ensaio seja incubada à temperatura ambiente durante sessenta minutos. Termina-se o ensaio precipitando o ADN em cada cavidade com 50 microlitros de solução a 10% de ácido tricloro-acético (TCA) em solução a 1% de pirofosfato de sódio.

Incuba-se a placa de microtitulação durante quinze minutos a 4°C e filtra-se o precipitado em papel de fibra de vidro nº 30 (Schleicher & Schuell) usando um recolhedor de amostras semi-automático Skatron. Os filtros são então lavados com uma quantidade adicional de solução a 5% de TCA contendo 1% de pirofosfato de sódio, lavados com etanol aquoso a 70%, secos e transferidos para frascos de cintilação (6). Cada frasco recebe 2 ml de mistura de cintilação e é contado no contador beta Beckman.

Os cálculos para a inibição percentual são os seguintes:

$$\text{Porcentagem de inibição} = \frac{\text{Valor do Ensaio Médio CPM} - \text{Valor do Ensaio Médio de Controlo de CPM}}{\text{Valor Médio do Controlo CPM}} \times 100$$



Referências Bibliográficas

1. Benn, S., et al., SCIENCE 230:949, 1985
2. Farmerie, W.G. et. al., SCIENCE 236:305, 1987
3. Yanisch-Perron, C., Viera, J., e Messing, J., GENE 33:103, 1985
4. International Biotechnologies, Inc., New Haven, CT 06535
5. Maniatis, T, Fritsch, E.F., e J. Sambrook, eds. MOLECULAR CLONING: ALABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982
6. Spira, T., et. al. J. Clinical Microbiology, 25:97, 1987.

A fim de confirmar que os compostos que são activos no ensaio com RT têm também a capacidade de inibir a multiplicação de HIV num sistema vivo, ensaiaram-se também compostos de acordo com a presente invenção no ensaio de cultura de células T humanas, que se descreve seguidamente. Os resultados deste ensaio estão reunidos na Tabela I.

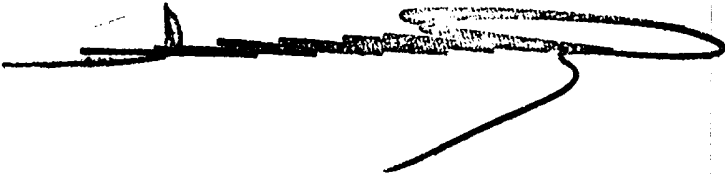
ENSAIO DE CULTURA DE CÉLULAS T HUMANAS

Teoria do Ensaio

A formação de sincítio é uma característica das culturas in vitro de CD4 + células T infectadas com HIV-1. Neste ensaio, as células T são tratadas com um composto que inibe provavelmente a replicação e em seguida infectadas com HIV-1. Depois de incubação, a cultura é verificada relativamente à formação de sincítio. A ausência ou a redução do número de sincítios é utilizada como medida da capacidade do composto de ensaio de inibir a replicação de HIV.

Método de Ensaio

As células a detectar, designadas C8166, são um subclone de células de linfoma humano de origem de células T e são estabelecidas com uma densidade inicial de 5×10^4 por 100 microlitros em RPMI 1640 (mais 10% de soro de feto bovino) que é utilizado como meio de cultura em noventa e seis cavidades de



chapas de fundo plano. Inclui-se uma quantidade escolhida de composto de ensaio, dissolvido em DMSO. Depois de vinte e quatro horas, inoculam-se 50 - 100 TCID₅₀ (a dose que tem como resultado o efeito induzido em 50% de culturas de ensaio) da estirpe HTLV-IIIB de HIV-1 (2) em cada cultura. As culturas de controlo recebem apenas compostos ou vírus.

Quatro dias depois da adição do vírus, as culturas são visualmente examinadas relativamente à frequência e à distribuição de sincítios de células gigantes provocadas pelo vírus. A inibição percentual do composto de ensaio é determinada por comparação com os valores do controlo. A confirmação da presença ou da ausência de replicação de vírus é realizada recolhendo os fluidos da cultura isentos de células de todos os grupos experimentais para se determinar a presença ou a ausência de progénie infecciosa provocada por indução da formação de sincítia em culturas de células T humanas secundárias depois de decorridos três dias.

Referências Bibliográficas

- (1) M. Somasundaran e H.L. Robinson, Science 242, 1554 (1998)
- (2) G.M. Shaw, R.H. Hahn, S.K. Arya, J.E. Groopman, R.C. Gallo e F. Wong-Staal, Science 226, 1165 (1984)

A fim de determinar a especificidade da actividade inibitória da enzima dos compostos proporcionados de acordo com a presente invenção, ensaiaram-se alguns deles usando métodos de ensaio conhecidos per se pela sua capacidade de inibir os vírus de leucémia felina derivados por transcriptase inversa e ADN derivado de timo de gado bovino alfa-polimerase. Nenhum dos compostos assim ensaiados revelou possuir qualquer actividade inibitória contra estas enzimas. Estes resultados indicam que a actividade inibitória da enzima dos compostos proporcionados pela presente invenção se dirige de maneira relativamente específica contra HIV RT.

A fim de comprovar grosseiramente a citotoxicidade dos compostos de acordo com a presente invenção, foram ensaiados diversos desses compostos de acordo com o ensaio de citoto-

- xicidade celular com MTT, descrito seguidamente. Os resultados deste ensaio estão indicados na Tabela I, abaixo. Preferem-se os compostos que têm um valor de CE_{50} relativamente elevado.

ENSAIO COM MTT DA CITOTOXICIDADE CELULAR

Teoria de Ensaio


O ensaio com MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio) baseia-se na clivagem do brometo de tetrazólio por células metabolicamente activas que resultam na formação de cor azul muito intensa. Este ensaio foi anteriormente descrito (1), mas foi optimizado para as finalidades de se realizar o ensaio referido na presente memória descritiva.

Método de Ensaio

Como linha de células a detectar no ensaio, utiliza-se a linha de células H9 (2), uma linha de células em suspensão de linfoma humano estabelecido, desenvolvida em RPMI 1640 suplementada com 10% de soro de feto bovino. Colocam-se células (100 microlitros) em reentrâncias de uma placa de microtitulação, a uma concentração de 10^5 células por mililitro, na presença de concentrações variáveis de inibidor. As células são incubadas a $37^{\circ}C$ num incubador com CO_2 humidificado.

Cinco dias depois, adicionam-se 20 microlitros de MTT (5 mg/ml em RPMI 1640, tratado com ultra-sons, filtrado através de filtro de 0,2 micrómetro e armazenado a $4^{\circ}C$) a cada reentrância. Depois de quatro horas de incubação adicional a $37^{\circ}C$, adicionam-se 60 microlitros de Triton-X a cada reentrância e mistura-se cuidadosamente para ajudar a solubilização dos cristais. Incuba-se em etanol absoluto (5 microlitros) durante trinta minutos a $60^{\circ}C$ e lê-se imediatamente no leitor de placas (Dynatech) a um comprimento de onda de 570 nm.

Os resultados deste ensaio são utilizados para realizar uma análise de regressão não linear que origina o valor de CE_{50} .



Referência Bibliográficas

1. Mosmann, Tim, J. Immunol. Methods, 65:55, 1983.
2. Jacobs, J.P., J. Natl. Cancer Inst., 34:231, 1965.

Os seguintes Exemplos destinam-se a ilustrar a presente invenção e permitem que outros especialistas no assunto a compreendem mais completamente. Deve ter-se presente, no entanto, que a presente invenção não se limita aos Exemplos particulares abaixo descritos.

EXEMPLOS

Exemplo 1

5,11-Di-hidro-11-etil-5-metil-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]- -diazepino-6-tiona

Aqueceu-se a refluxo durante duas horas e meia uma mistura de 2,66 gramas (0,01 mole) de 5,11-di-hidro-11-etil-5-metil-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona e 2,10 gramas (0,005 mole) de reagente de Lawesson (2,4-bis-(4-metóxi-fenil)-1,3-ditiaz-2,4-difosfo-etano-2,4-dissulfureto) em 50 ml de tolueno.

Eliminou-se então o dissolvente in vacuo e adicionou-se água ao resíduo. Extraiu-se o produto com acetato de etilo, secou-se (sulfato de sódio anidro) e concentrou-se in vacuo. A purificação efectuou-se numa coluna de gel de sílica, utilizando cloreto de metilo como primeiro eluente, seguido por acetato de etilo/hexano (1 : 4). A eliminação do dissolvente em vácuo, originou 2,20 gramas (74% da teoria) de 5,11-di-hidro-11-etil-5-metil-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-tiona sob a forma de pó amarelo, que se recristalizou em 10% de hexano/acetato de etilo para se obterem 1,1 gramas de agulhas amarelas com o ponto de fusão de 157-158°C.

Ensaaiou-se o composto resultante utilizando o ensaio de inibição de transcriptase inversa (a 10 microgramas/ml) e o ensaio de cultura de células T (a 3 microgramas/ml) e verificou-se a existência de 100% de inibição em ambos os ensaios.

Preparação do Composto de Partida

5,11-Di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona

a) 2-Cloro-N-(2-cloro-3-piridinil)-3-piridino-carboxamida

Num balão de fundo redondo de três tubuladuras, dotado de condensador de refluxo eficiente, agitador mecânico e funil de carga, colocaram-se 215 gramas (1,672 moles) de 3-amino-2-cloropiridina, dissolvidos numa mistura de 400 ml de dioxano, 500 ml de ciclo-hexano e 130 ml de piridina. Adicionou-se a solução de 299,2 gramas (1,7 moles) de cloreto do ácido 2-cloro-3-piridino-carboxílico recentemente preparada em 200 ml de dioxano, a uma velocidade tal que se mantém uma reacção vigorosa sob controlo. Em seguida, deixou-se arrefecer a mistura reaccional até à temperatura ambiente e separou-se o precipitado cristalino resultante por filtração e lavou-se sucessivamente com ciclo-hexano e com éter.

Dissolveu-se o produto castanho-escuro assim obtido em 5 litros de uma solução aquosa a 3% de hidróxido de sódio. Tratou-se a solução resultante com carvão de madeira, filtrou-se sob sucção e acidulou-se o filtrado por adição de ácido acético aquoso a 50%. Colectou-se o precipitado resultante por filtração e lavou-se cuidadosamente com água. Depois de se ter secado durante a noite numa corrente de azoto à temperatura ambiente, o produto quase incolor tinha um ponto de fusão de 156-159°C e era suficientemente puro para as reacções posteriores. O rendimento foi de 376,0 gramas (84% da teoria).

b) N-(2-Cloro-3-piridinil)-2-[[(4-metóxi-fenil)-metil]-amino]-3-piridino-carboxamida

Dissolveram-se 13,4 gramas (0,05 mole) do produto obtido na fase a) em 20 ml de xileno e misturou-se a solução resultante com 13,8 gramas (0,1 mole) de p-metóxi-benzilamina.

Em seguida, aqueceu-se a mistura a refluxo durante duas horas. Depois, evaporou-se a mistura reaccional in vacuo

e purificou-se o resíduo por cromatografia em coluna contendo gel de sílica (0,2 - 0,5 nm), usando diclorometano/acetato de etilo, na proporção de 10/1 (volume/volume), como eluente. Obtiveram-se cristais incolores solúveis a 122 - 124°C (depois de recristalização em acetonitrilo). O rendimento foi igual a 17,2 gramas (93% da teoria).


c) 5,11-Di-hidro-11-[(4-metóxi-fenil)-metil]-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona

Dissolveram-se 16,7 gramas (0,0453 mole) do produto obtido na fase b) em 150 ml de dioxano absoluto e misturou-se a solução resultante com 6,7 gramas (0,14 mole) e uma dispersão a 50% de hidreto de sódio em óleo mineral.

Em seguida, aqueceu-se a mistura a refluxo - enquanto se protegia contra a atmosfera externa por passagem de uma pequena corrente de azoto - até não se poder detectar a presença da substância de partida por cromatografia em camada fina. Decompos-se o excesso de hidreto de sódio por adição cuidadosa de 10 ml de uma mistura de metanol e tetra-hidrofurano (50/50, volume/volume). Neutralizou-se a mistura reaccional por adição de ácido acético e depois evaporou-se in vacuo. Purificou-se o resíduo por cromatografia em coluna contendo gel de sílica (0,2 - 0,5 nm) utilizando sucessivamente diclorometano/acetato de etilo (10/1 - volume/volume) e diclorometano/acetato de etilo (1/1 - volume/volume), como agente eluente. Recristalizou-se o produto cristalino obtido por evaporação das fracções apropriadas em acetonitrilo e 2-propanol.

O produto tinha um ponto de fusão de 213 - 215°C e foi identificado como sendo 5,11-di-hidro-11-[4-metóxi-fenil)-metil]-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona. O rendimento foi de 10,3 gramas (68% da teoria). R_F 0,7 (Macherey-Nagel, Polygram^R SIL G/UV₂₅₄, placas de plástico pré-revestidas para cromatografia em camada fina; diclorometano/acetato de etilo, 1/1 volume/volume).

d) 5,11-Di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona



Dissolveram-se 10,0 gramas (0,3 mole) do produto obtido na fase c) em 50 ml de ácido trifluor-acético, de modo a que a mistura ficasse ligeiramente aquecida.

Em seguida, agitou-se a mistura reaccional a 60°C durante uma hora. Nesse momento não foi possível detectar material de partida por cromatografia em camada fina. Em seguida, evaporou-se a mistura in vacuo. Agitou-se cuidadosamente o resíduo assim obtido com solução aquosa a 0,5% de amónia e depois filtrou-se sob sucção. Recristalizou-se o produto bruto em 150 ml de sulfóxido de dimetilo para se obterem cristais incolores com o ponto de fusão de 340°C. O rendimento foi igual a 4,8 gramas (75% da teoria).

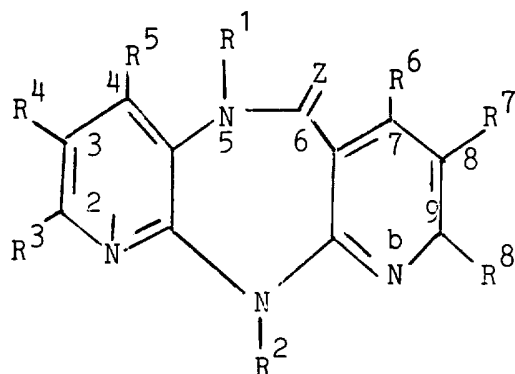
O produto foi identificado como 5,11-di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona.

e) A seguir à fase c), em vez de se ter procedido como aí se indica, podem fazer-se reagir 10 gramas do composto resultante com ácido trifluor-acético, agitando durante uma hora à temperatura ambiente, eliminando o ácido in vacuo e agitando o resíduo durante uma hora com solução 0,3% de amónia. Filtrou-se o sólido e secou-se para se obterem 6,7 gramas de derivado substituído por metilo na posição 5.

Adicionaram-se 2,0 gramas de uma dispersão a 50% de NaH em óleo mineral a 5,75 gramas de derivado substituído na posição 5 no seio de 100 ml de dimetil-formamida. Depois de ter terminado a libertação de hidrogénio, aqueceu-se a mistura a 50°C durante trinta minutos e agitou-se a mistura reaccional durante a noite à temperatura ambiente. Decompôs-se o excesso de hidreto de sódio por adição de gelo seguido de água. Extraíu-se o produto com éter, secou-se (sulfato de sódio anidro) e evaporou-se para se obterem 4,5 gramas de 5,11-di-hidro-11-etil-5-metil-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona.
ponto de fusão : 130 - 132°C.

Procedendo de maneira análoga ao Exemplo 1 (preparação das substâncias de partida) e de acordo com os Processos C e D (no caso de Z = 0) e de maneira análoga à que se descreveu


no Exemplo 1 (Processo E) (no caso de Z = S), prepararam-se os seguintes compostos e ensaiaram-se utilizando o ensaio de inibição de transcrição inversa, acima descrito:




Z é um átomo de oxigénio a não ser que o composto seja indicado como sendo uma tiolactama.

Os compostos são não substituídos nas posições 2, 3, 4, 7, 8 e 9, a não ser nos compostos anotados na coluna com o título "Outros".

Exemplo	R ¹	R ²	Outros	Inibição a 10 µg/ml	Ponto de fusão (°C)
2	H	-CH ₂ Ph-4-OMe		81%	209-210
3	Me	-CH ₂ Ph		66%	-
4	Me	-CH ₂ Ph-4-OMe		45%	120-121,5
5	Me	-CH ₂ CH ₂ F		96%	117-118
6	H	-Ph		71%	220-222
7	H	Et	4-Et	100%	212-214
8	Me	Et	8-Cl	94%	105-106
9	Me	Et	4-Me	98%	157-159
10	Me	-COCH ₃		73%	138-143
11	-CH ₂ SCH ₃	Et		93%	118-120
12	H	Et	2,3-di Me	100%	212-214
13	H	Et	9-Me	86%	244-247
14	H	Et	2-Me	91%	263-266
15	H	Et	2,4-di Me	100%	210-211
16	H	Et	3-Me	95%	não determinado



Exemplo	R ¹	R ²	Outros	Inibição a 10 µg/ml	Ponto de fusão (°C)
17	Me	Et	3-Me	96%	94-96
18	H	-COCH ₃		60%	>215-(dec).
19	Me	Et	2,9-di Me	98%	100-102
20	H	Et	2,4,9-tri Me	100%	228-230
21	Me	Et	2-Me	100%	124-126
22	H	Et	3,4-di Me	100%	265-266
23	Me	Et	3,4-di Me	99%	119-120
24	Me	Et	9-Me	96%	79-93
25	-COCH ₃	Et		96%	123-124,5
26	Me	-CH ₂ SCH ₃		99%	109-110
27	H	Et	3-Cl	92%	217-218
28	Me	Et	3-Cl	99%	124-125
29	-CH ₂ Ph	-COCH ₃		37%	169-170
30	Me	-CH ₂ CH=CH ₂		99%	93-95
31	H	Et	2-Cl	96%	252-254
32	Me	Et		100%	143-145
33	Me	-CH ₂ C≡CH		94%	169-170
34	Me	Et	2-Cl	100%	125-126
35	H	Et	7-Me	80%	193-194
36	H	Et	8,9-di Me	42%	204-206
37	H	Et	8-Me	89%	182-183
38	H	Et	4-Cl	100%	184-186
39	H	Et	4-OMe	96%	156-157
40	H	Et	4-Et	100%	218-219
41	H	Et	8-Br	-	233,5-235,5
42	Me	Et	3-NO ₂	-	154-156
43	Me	Et	3-NH ₂	-	235-240
44	H	i-Pr	4-Me	-	188-189
45	Me	Et	2,4-di Me	-	151-153
46	Me	Et	7-Me	-	122-124
47	H	Et	4-Me (tiolactama)	-	158-159
48	H	Et	4-OH (sal de 2HBr)	-	295-296
49	Me	Et	2-OMe	-	116-118
50	Me	Et	2-OH	-	215-218



Exemplo	R ¹	R ²	Outros	Inibição a 10 µg/ml	Ponto de fusão (°C)
51	H	Et	2,4-di Me (tiolactama)	-	199-201
52	Me	Et	2-NH ₂	-	197-199
53	Me	Et	2-NHMe	-	186-189

EXEMPLO A

Cápsulas ou Comprimidos

A-1

<u>Ingredientes</u>	<u>Quantidades</u>
composto activo	50 mg
amido	160 mg
celulose micro- cristalina	90 mg
sal de sódio de amido-glutato	10 mg
estearato de magnésio	2 mg
sílica coloidal	1 mg

A-2

<u>Ingredientes</u>	<u>Quantidades</u>
composto activo	50 mg
fosfato dicálcio	160 mg
celulose micro- cristalina	90 mg
ácido esteárico	5 mg
sal de sódio de amido-glicolato	10 mg
sílica coloidal	1 mg.

Mistura-se o composto do Exemplo 2 com uma mistura em pó constituída pelos materiais do excipiente pré-misturados, como se identifica acima, com excepção do agente lubrificante. Mistura-se então o agente lubrificante e a mistura resultante é comprimida de maneira a obterem-se comprimidos ou embalada em cápsulas de gelatina dura.

EXEMPLO B

Soluções Parentéricas

<u>Ingredientes</u>	<u>Quantidades</u>
composto activo	500 mg
ácido tartárico	1,5 g

álcool benzílico
água para injeções

0,1% em peso
q.b. até perfazer
100 ml.

Misturam-se as substâncias que constituem o excipiente com água e, em seguida, adiciona-se o composto activo. Continua-se a misturar até que a solução seja límpida. Ajusta-se o pH desta solução a 3,0 e depois filtra-se para frascos apropriados ou para ampolas e esteriliza-se por aquecimento em autoclave.

EXEMPLO C

Soluções Nasais

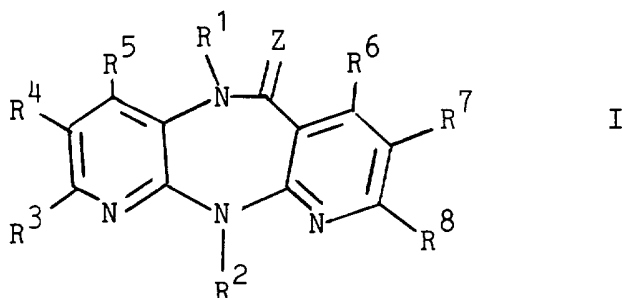
<u>Ingredientes</u>	<u>Quantidades</u>
composto activo	100 mg
ácido cítrico	1,92 g
cloreto de benzalcónio	0,025% em peso
EDTA	0,1% em peso
álcool polivinílico	10% em peso
água	q.b. para perfazer 100 ml.

Misturam-se as substâncias que constituem o excipiente com a água e, em seguida, adiciona-se o composto activo e continua-se a misturar até a solução ficar límpida. Ajusta-se o pH da solução de maneira a ser igual a 4,0 e depois filtra-se para frascos ou ampolas apropriados.

REIVINDICAÇÕES

- 1ª -

Processo para a preparação de 5,11-di-hidro-
-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-onas e -tionas da
fórmula




na qual

Z é oxigênio ou enxofre;

R¹ é hidrogênio, alquilo ou fluoralquilo com 1 a 5 átomos de carbono, tri-halogenometilo, alcenilo ou alcinilo com 3 átomos de carbono, 2-halogeno-propen-1-ilo, arilmetilo (em que o agrupamento metilo é fenilo ou tienilo ou furanilo que é não substituído ou substituído por metilo, metoxi ou halogéneo), alcanóilo com 2 ou 3 átomos de carbono ou alcoxialquilo ou alquiltioalquilo com 2 a 4 átomos de carbono;

R² é hidrogênio, alquilo ou fluoralquilo com 1 a 5 átomos de carbono, alcenilo ou alcinilo com 2 a 5 átomos de carbono, alcoxialquilo ou alquiltioalquilo com 2 a 4 átomos de carbono, alcanóilo com 2 a 4 átomos de carbono, hidroxialquilo com 2 a 5 átomos de carbono, arilmetilo (em que o agrupamento arilo é fenilo, tienilo ou furanilo que é ou não substituído por alquilo ou alcoxi com 1 a 3 átomos de carbono, hidroxilo ou halogéneo), fenilo (que é ou não substituído ou substituído por alquilo ou alcoxi com 1 a 3 átomos de carbono, hidroxilo ou halogéneo) ou alcoxicarbonilmetilo em que o agrupamento alcoxi contém 1 a 5 átomos de carbono; e um dos símbolos

R³ a R⁸ é alquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi ou alquiltio com 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi ou alquiltio com 1



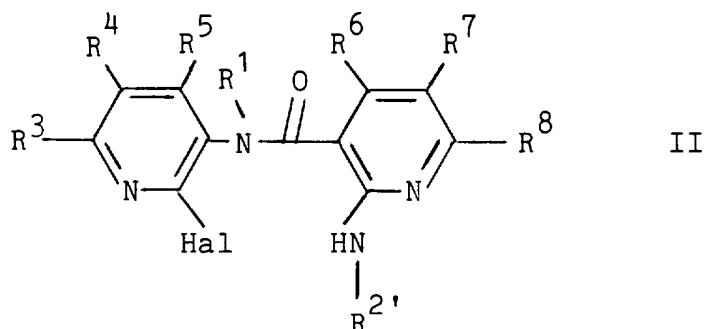
a 4 átomos de carbono, alcoxicarbonilo com 2 a 4 átomos de carbono, hidroxialquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alcanoílo com 2 a 4 átomos de carbono, alcanoi-loxi com 2 a 4 átomos de carbono, alcanoi-lamino com 1 a 4 átomos de carbono, aminoalquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alcoxicarbonilalquilo em que os agrupamentos alcoxi e alquilo contêm, cada um deles, 1 ou 2 átomos de carbono, carboxialquilo com 2 a 4 átomos de carbono, monoalquilamino ou dialquilamino em que cada agrupamento alquilo contém 1 ou 2 átomos de carbono, ciano, nitro, hidroxilo, carboxilo, amino, monoalquilaminoalquilo ou dialquilaminoalquilo em que cada agrupamento alquilo contém 1 ou 2 átomos de carbono, azido ou halogéneo, sendo os outros cinco substituintes hidrogénio; ou

R^3 , R^4 e R^5 são, cada um deles independentemente dos outros, hidrogénio ou alquilo com 1 a 3 átomos de carbono, com a condição de que pelo menos um destes substituintes seja hidrogénio, ou um dos substituintes R^3 , R^4 e R^5 é butilo sendo os dois substituintes restantes hidrogénio; e

R^6 , R^7 e R^8 , cada um independentemente dos outros, são hidrogénio ou alquilo com 1 a 3 átomos de carbono, com a condição de que pelo menos um destes substituintes é hidrogénio, ou um dos substituintes é R^6 , R^7 e R^8 é butilo sendo os dois substituintes hidrogénio;

com a condição de que, quando Z é oxigénio e R^1 e R^2 são iguais ou diferentes e são hidrogénio ou alquilo de cadeia linear ou ramificada com 1 a 5 átomos de carbono, pelo menos um dos substituintes R^3 a R^8 é diferente de hidrogénio, ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, caracterizado pelo facto de se efectuar um dos seguintes processos reaccionais:

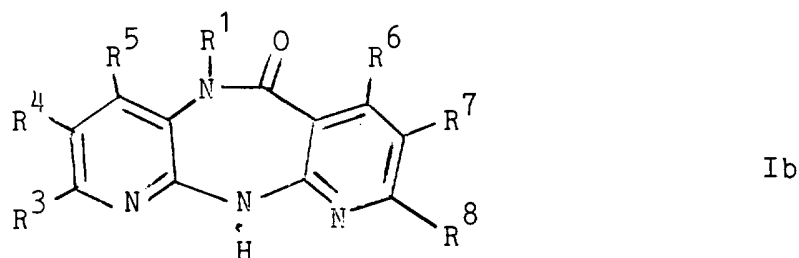
A. para a preparação de compostos de acordo com a fórmula I em que R^2 é diferente de hidrogénio, se ciclizar uma amida de ácido carboxílico da fórmula geral II



na qual

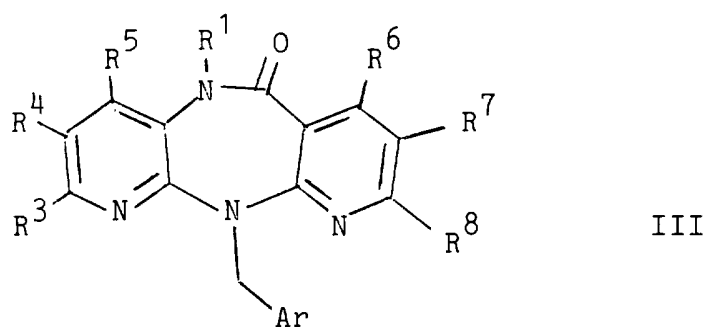
R^1 e R^3 até R^8 têm as mesmas significações que se indicaram para a fórmula I e $R^{2'}$ tem as mesmas significações que R^2 com a exceção de hidrogênio;

B. para a preparação de compostos de acordo com a fórmula geral Ib



na qual

R^1 e R^3 até R^8 têm as mesmas significações que se referiram para a fórmula I, se clivar hidrogencliticamente o grupo arilmetilo num composto de fórmula geral III



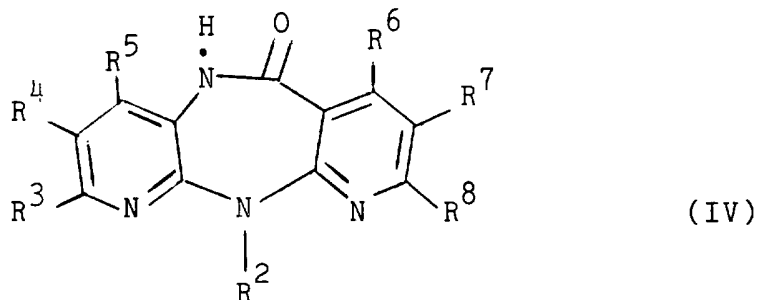
na qual

R^1 e R^3 até R^8 têm as mesmas significações como se definiu acima e

~~CONFIDENTIAL~~

Ar é um grupo fenilo ou 4-metoxifenilo;

- C. para a preparação de compostos de acordo com a fórmula I em que R^2 até R^8 são como se definiu para a fórmula I e R^1 é diferente de hidrogénio, se transformar uma 5,11-di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona da fórmula IV



na qual

R^2 até R^8 são como se definiu acima, num composto de metal alcalino ou alcalino-terroso na posição 5 e subsequentemente se fazer reagir o composto metálico assim obtido com um éster reactivo da fórmula V



na qual

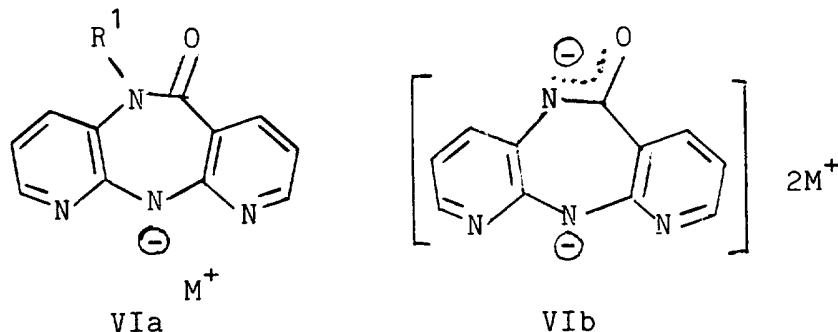
$R^{1'}$ tem as mesmas significações que R^1 com a excepção de hidrogénio e

X é o radical de um éster reactivo, um átomo de halogéneo, o grupo OSO_2OR^1 , o grupo metanossulfoniloxi ou etanossulfoniloxi ou um grupo sulfoniloxi aromático;

- C'. para a preparação de compostos de acordo com a fórmula I, em que R^2 até R^3 são como se definiu para a fórmula I e R^1 é diferente de hidrogénio, fazer-se reagir um composto de fórmula IV como se definiu acima, com um composto de fórmula V como se definiu anteriormente, na presença de uma amina ou de um carbonato ou bicarbonato de metal alcalino;

- D. para a preparação de um composto de fórmula I em que R^2 é diferente de alcanoílo, hidroxialquilo ou alcoxicarbonilo e R^1 e R^3 até R^8 são como se definiu anteriormente relativa-

mente à fórmula I, se transformar um composto de fórmula I em que R^2 é hidrogénio no correspondente sal de metal de fórmula geral VIa ou quando R^1 é hidrogénio, de fórmula VIb



em que


R^1 é como se definiu anteriormente e M representa um átomo de metal alcalino ou M representa o grupo MgHal em que Hal é um átomo de cloro, bromo ou iodo e subsequentemente se alquilar com um composto da fórmula geral VIII



na qual

$R^{2''}$ tem as mesmas significações que se indicaram para R^2 com a excepção de alcanoílo, hidroxialquilo ou alcoxicarbonilo e X é como se definiu acima;

- E. para a preparação de um composto de fórmula I em que Z é um átomo de enxofre e R^1 até R^8 são como se definiu relativamente à fórmula I, se fazer reagir um composto de fórmula I em que Z é um átomo de oxigénio com um agente de sulfuração e em que, em cada um dos processos anteriores, qualquer grupo reactivo pode ser protegido, se assim se pretenda ou seja necessário,
- e em seguida, como se pretenda,
- a) se desproteger qualquer grupo protegido,
 - b) se hidrolisar um grupo nitro de maneira a obter-se um grupo amino,
 - c) se acilar um grupo amino para se formar um grupo alcailamino,
 - d) se alquilar um grupo amino ou aminoalquilo para se formar



um grupo monoalquilamino ou dialquilamino ou monoalquilamino,

- e) se acilar o átomo de azoto na posição 11 de um composto de fórmula I em que R^2 é hidrogénio, preferivelmente a seguir ao processo E,

e em seguida se isolar o composto de fórmula I no estado livre ou de um seu sal de adição de ácido farmaceuticamente aceitável.

- 2ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de, como produto final, se obter um composto de fórmula I em que

Z é oxigénio ou enxofre,

R^1 é hidrogénio, alquilo ou fluoralquilo com 1 a 5 átomos de carbono, tri-halogenometilo, alcenilo ou alcinilo com 2 a 4 átomos de carbono, 2-halogeno-propen-1-ilo ou alcoxialquilo ou alquiltioalquilo com 2 ou 3 átomos de carbono;

R^2 é alquilo ou fluoralquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alcenilo ou alcinilo com 2 a 4 átomos de carbono, alcoxialquilo ou alquiltioalquilo com 2 a 4 átomos de carbono, alcanóilo com 2 ou 3 átomos de carbono, hidroxialquilo com 2 a 4 átomos de carbono, arilmetilo (em que o agrupamento metilo é fenilo ou tienilo (em que o agrupamento arilo é fenilo ou tienilo, que é ou não substituído ou substituído por metilo, hidroxilo, metoxi ou halogéneo), fenilo (que é não substituído ou substituído por metilo, metoxi, hidroxilo ou halogéneo) ou alcoxicarbonilmetilo em que o agrupamento alcoxi contém 1 a 5 átomos de carbono;

R^3 , R^4 e R^5 são, cada um independentemente dos outros, hidrogénio ou metilo, com a condição de que pelo menos um destes substituintes é hidrogénio ou R^5 é etilo, propilo ou butilo, sendo os dois substituintes restantes hidrogénio;

R^6 , R^7 e R^8 são, cada um independentemente dos outros, hidrogénio ou metilo, com a condição de que pelo menos um destes substituintes é hidrogénio ou R^6 é etilo, propilo ou butilo, sendo os restantes dois substituintes hidrogénio;

ou um seu sal de adição de ácido farmacêuticamente aceitável.

- 3ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de, como produto final, se obter um composto de fórmula I, em que

Z é oxigénio ou enxofre;

R¹ é hidrogénio, alquilo ou fluoralquilo com 1 a 4 átomos de carbono ou alilo;

R² é alquilo de cadeia linear ou ramificada ou fluoralquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alilo ou benzilo e

R³ até R⁸ são, cada um, hidrogénio;

ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

- 4ª -

Processo para a preparação de composições farmacêuticas para o tratamento ou a profilaxia de infecções provocadas por HIV-1, caracterizado por se incorporar como ingrediente activo pelo menos um composto de fórmula geral (I) quando preparado pelo processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3 num veículo ou num excipiente farmacêuticamente aceitável.

As requerentes reivindicam a prioridade do pedido norte-americano apresentado em 28 de Junho de 1989, sob o número de série 372,974.

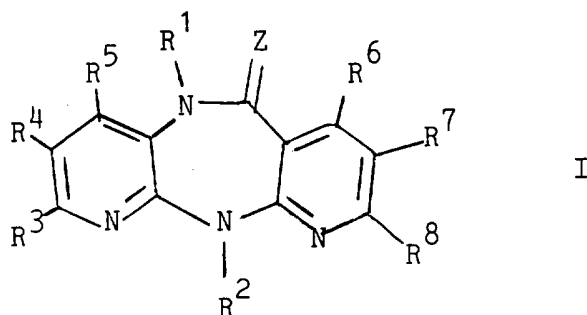
Lisboa, 27 de Junho de 1990
O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL



RESUMO

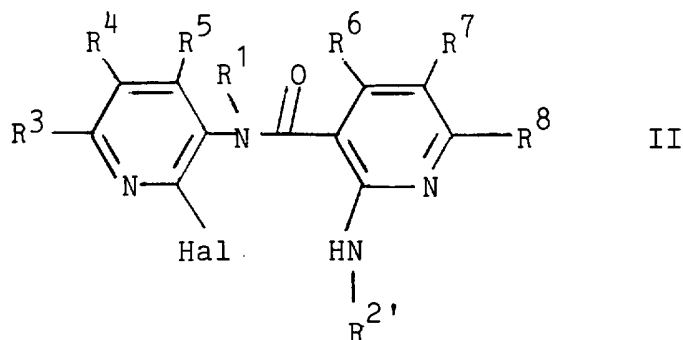
"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE 5,11-DI-HIDRO-6H-DIPIRIDO-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-DIAZEPINO-6-ONAS E TIONAS E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO OU A PROFILAXIA DA SIDA"

A invenção refere-se a um processo para a preparação de 5,11-di-hidro-6H-dipirido[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-onas e -tionas da fórmula

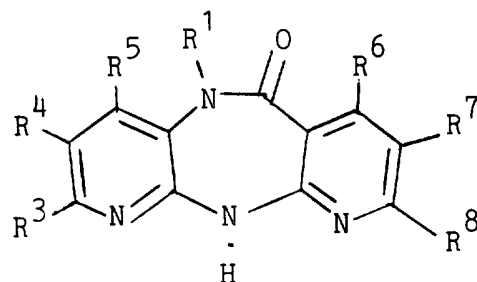


ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, que compreende efectuar-se nomeadamente um dos seguintes processos reaccionais:

A. Para a preparação de compostos de acordo com a fórmula I em que R^2 é diferente de hidrogénio, se ciclizar uma amida de ácido carboxílico da fórmula geral II

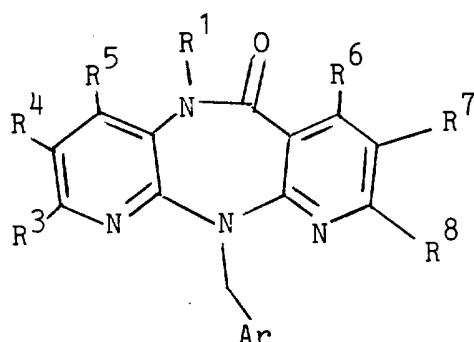


B. para a preparação de compostos de acordo com a fórmula geral Ib



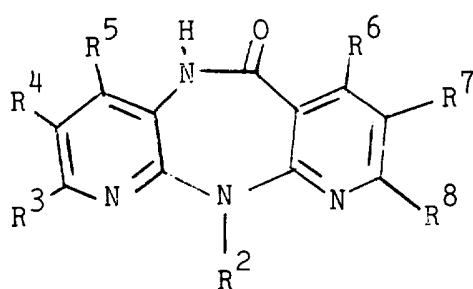
Ib

se clivar hidrogenoliticamente o grupo arilmetilo num composto de fórmula geral III



III

C. para a preparação de compostos de acordo com a fórmula I em que R^1 é diferente de hidrogénio, se transformar uma 5,11-di-hidro-6H-dipirido-[3,2-b:2',3'-e][1,4]-diazepino-6-ona da fórmula IV



(IV)

num composto de metal alcalino ou alcalino-terroso na posição 5 e subsequentemente fazer-se reagir o composto metálico assim obtido com um éster reactivo da fórmula V



(V)