

FOLHA DO RESUMO

Modalidade e n.º (11) 98.943 C	T D	Data do pedido: (22)	Classificação Internacional (51)
-----------------------------------	-----	----------------------	----------------------------------

Requerente (71): MERRELL DOW PHARMACEUTICALS, INC., uma sociedade organiza da e existindo segundo as leis do Estado de Delaware, Estados Unidos da América, norte-americana, industrial, com sede em 2110 East Galbraith Road, Cincinnati, Ohio 45215, Estados Unidos da América

Inventores (72):

DAVID ROGER BORCHERDING, CARL KEITH EDWARDS III, RONALD EUGENE ESSER e DOUGLAS LEON COLE

Reivindicação de prioridade(s) (30)

Data do pedido	País de Origem	N.º de pedido
14.09.1990	US	582,280
23.08.1991	US	748,172

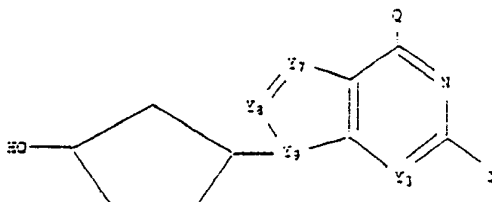
Figura (para interpretação do resumo)

Epígrafe: (54)

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS ANÁLOGOS CARBOCÍCLICOS DE ADENOSINA E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM"

Resumo: (máx. 150 palavras) (57)

Descreve-se um processo para a preparação de compostos de fórmula geral



NÃO PREENCHER AS ZONAS SOMBREADAS



Modalidade e n.º (11)	T D	Data do pedido (22)	Classificação Internacional (51)
-----------------------	-----	---------------------	----------------------------------

Resumo (continuação) (57)

2

ou dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, caracterizado pelo facto de se submeter o derivado ciclopentenílico correspondente a hidrogenação catalítica.

Estes compostos, que são utilizáveis no tratamento da rejeição de um aloenxerto ou de doenças imunitárias tais como diabetes mellitus insulino-dependente, esclerose múltipla, artrite reumatóide, lupus eritematoso sistémico ou miastenia gravis, exibem acção imunossupressora.

O Agente Oficial da Propriedade Industrial

(Dr. Jorge Garin)

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE NOVOS ANÁLOGOS CARBOCÍCLICOS
DE ADENOSINA E DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a determinados análogos carbocíclicos de adenosina que são úteis como imunossuppressores.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A imunidade está relacionada com o reconhecimento e eliminação de material antigênico estranho, que está presente no organismo. Tipicamente, os antigênicos encontram-se sob a forma de partículas de matéria (por exemplo, células, bactérias, etc.) ou de grandes moléculas de proteínas ou polissacáridos, que são reconhecidas pelo sistema imunitário como sendo "não próprias", isto é, detectavelmente diferentes ou estranhas aos constituintes próprios dos animais. Uma grande variedade de substâncias podem ser potenciais antigênicos, normalmente proteínas, que se encontram mais frequentemente localizadas na superfície externa das células. Por exemplo, podem encontrar-se potenciais antigênicos nos grãos de pólen, enxertos de tecidos, parasitas animais, vírus e bactérias. Uma vez reconhecido o material antigênico como "não próprio" pelo sistema imunitário, podem desencadear-se e manter-se respostas imunes naturais (não específicas) e/ou adaptativas, através da acção de células específicas do sistema imunitário dos anticorpos e do sistema do complemento. Em determinadas condições, incluindo certos estados de doença, o sistema imunitário

do animal reconhece os seus próprios constituintes como "não próprios" e inicia uma resposta imune contra material "próprio".

O sistema imunitário pode desencadear uma resposta através de mecanismos naturais ou adaptativos, cada um dos quais é composto de elementos mediados pelas células e humorais. Os mecanismos naturais de resposta imunitária dizem respeito àqueles mecanismos envolvidos em reacções imunes essencialmente não específicas, as quais envolvem o sistema do complemento e células mielóides, tais como macrófagos, mastócitos e leucócitos polimorfonucleares (PMN), ao reagir com certas bactérias, vírus, danos em tecidos e outros antigénios. Estes mecanismos naturais proporcionam aquilo que se designa como imunidade natural. Os mecanismos adaptativos de resposta imunitária dizem respeito aos mecanismos que são mediados por linfócitos (células T e B) e anticorpos que podem reagir com selectividade a milhares de materiais diferentes, reconhecidos como "não próprios". Estes mecanismos proporcionam aquilo que se designa por imunidade adaptativa e conduzem a uma memória específica e a um padrão de resposta permanentemente alterado, em adaptação ao meio ambiente que rodeia o animal. A imunidade adaptativa pode ser resultado da acção dos linfócitos e anticorpos por si só ou, mais vulgarmente, pode ser resultado da interacção dos linfócitos e anticorpos com o sistema do complemento e com as células mielóides dos mecanismos naturais de imunidade. Os anticorpos proporcionam o elemento humoral da resposta imunitária adaptativa e as células T proporcionam o elemento de mediação celular da resposta imunitária adaptativa.

Os mecanismos naturais de resposta imunitária envolvem a fagocitose, pelos macrófagos e LPMN, segundo a qual o material estranho ou antigénio é englobado e eliminado por estas célu-

las, Adicionalmente, os macrófagos podem destruir algumas células estranhas, pelos seus efeitos citotóxicos. O sistema do complemento, que está também envolvido na imunidade natural, é constituído por vários péptidos e enzimas que podem ligar-se ao material estranho ou antigénio, promovendo assim a fagocitose pelos leucócitos PMN e pelos macrófagos ou permitindo que ocorram processos de lise celular e efeitos inflamatórios.

Os mecanismos adaptativos de resposta imunitária envolvem a acção de anticorpos segregados pelos linfócitos B (ou células B), contra antigénios específicos, assim como a acção de vários linfócitos T (ou células T) sobre um antigénio específico, sobre as células B, sobre outras células T e sobre os macrófagos.

Os anticorpos responsáveis pelo aspecto humoral da imunidade adaptativa são as globulinas segregadas pelas células B, as quais possuem uma larga gama de especificidades para diferentes antigénios. Os anticorpos são segregados em resposta ao reconhecimento de antigénios específicos e proporcionam uma variedade de respostas protectoras. Os anticorpos podem ligar-se a toxinas bacterianas e neutralizá-las, podem ligar-se à superfície dos vírus, bactérias ou de outras células reconhecidas como "não próprias", promovendo assim a fagocitose pelos leucócitos PMN e pelos macrófagos. Adicionalmente, os anticorpos podem activar o sistema do complemento o que aumenta mais ainda a intensidade da resposta imunitária contra o antigénio específico.

Os linfócitos são pequenas células que se encontram no sangue e que circulam do sangue, para os tecidos e novamente para o sangue através do sistema linfático. Existem duas subpopulações principais de linfócitos denominadas células B e células T. As células B e as células T derivam de uma mesma célula-mãe lin-

fõide, diferenciando-se as células B na medula óssea e as células T no timo. Os linfócitos possuem determinados receptores que permitem a cada célula responder a um antigênio específico. Isto proporciona a base para a especificidade da resposta imunitária adaptativa. Adicionalmente, os linfócitos têm uma vida relativamente longa e têm a capacidade de proliferar formando clones, uma vez recebido o sinal adequado. Esta propriedade proporciona a base para o aspecto da memória da resposta imunitária adaptativa.

As células B são os linfócitos responsáveis pelo aspecto humoral da imunidade adaptativa. Em resposta ao reconhecimento de um antigênio estranho específico, uma célula B segrega um anticorpo específico que se liga ao antigênio específico. O anticorpo neutraliza o antigênio, no caso das toxinas, ou promove a fagocitose, no caso dos outros antigênios. Os anticorpos estão também envolvidos na activação do sistema do complemento, o que aumenta mais ainda a intensidade da resposta imunitária contra o antigênio invasor.

As células T são os linfócitos responsáveis pelo aspecto da mediação celular da imunidade adaptativa. Existem três principais tipos de células T, ou seja, as células T Citotóxicas, as células T Adjuvantes e as células T Supressoras. As células T Citotóxicas detectam e destroem células infectadas com um antigênio de vírus específico. As células T Adjuvantes têm uma variedade de funções reguladoras. As células T Adjuvantes, uma vez identificado o antigênio específico, podem promover ou aumentar uma resposta de anticorpos aos antigênios, pelas células B apropriadas, e pode promover ou aumentar a fagocitose do antigênio pelos macrófagos. As células T Supressoras têm um efeito de supressão de uma resposta imunitária dirigida

a um antigénio em particular.

A resposta imunitária mediada por células é controlada e monitorizada pelas células T através de uma variedade de compostos mensageiros reguladores segregados pelas células mielóides e pelos linfócitos. Através da secreção destes compostos mensageiros reguladores, as células T regulam a proliferação e activação de outras células imunitárias, tais como as células B, os macrófagos, os leucócitos PMN e outras células T. Por exemplo, uma vez ligado a um antigénio estranho, um macrófago ou outra célula capaz de detectar a presença de antigénios pode segregar interleucina-1 (IL-1), a qual activa as células T Adjuvantes. As células T, por sua vez, segregam determinadas linfoquinas, incluindo interleucina-2 (IL-2) e interferão γ , cada um dos quais tem diversos efeitos de regulação da resposta imunitária mediada por células. As linfoquinas são uma vasta família de moléculas produzidas pelas células T (e algumas vezes pelas células B) incluindo:

a IL-2, que promove a proliferação clonal das células T,

FAM ou factor de activação dos macrófagos, que aumenta muitas das funções dos macrófagos incluindo a fagocitose, aniquilamento intracelular e secreção de vários factores citotóxicos;

FAN ou factor de activação dos neutrófilos, que aumenta muitas das funções dos leucócitos PMN, incluindo a fagocitose, a produção de radicais de oxigénio, destruição de bactérias, quimiotaxia, produção de citocina;

FMM ou factor de migração dos macrófagos, o qual por



restringir o movimento dos macrófagos, concentra-os na vizinhança da célula T;

Interferão γ , que é produzido pela célula T activada e é capaz de produzir uma larga gama de efeitos em muitas células, incluindo a inibição da aplicação dos vírus, indução da expressão de moléculas de histocompatibilidade de classe II, permitindo que estas células se tornem activas para se ligarem aos antigénios e os processarem, activação dos macrófagos, inibição do crescimento celular, indução da diferenciação de várias linhas de células mielóides.

Os macrófagos e os leucócitos PMN activados, os quais proporcionam uma resposta imunitária aumentada, como parte da imunidade adaptativa mediada por células, caracterizam-se por terem uma produção aumentada de intermediários oxigenados reactivos. Esta produção aumentada de intermediários oxigenados reactivos, ou eclosão respiratória é conhecida por "iniciação" ("priming"). Determinadas linfoquinas, tais como o interferão γ , desencadeiam esta eclosão respiratória de intermediários oxigenados reactivos nos macrófagos e nos leucócitos PMN. Assim, as linfoquinas, tais como o interferão γ , as quais são segregadas pelas células T, proporcionam a activação destes macrófagos e leucócitos PMN, o que resulta numa resposta imunitária mediada por células aumentada.

A resposta imunitária pode proporcionar um tipo de resposta imediato ou retardado. Um exemplo de hipersensibilidade de "tipo retardado" é uma reacção inflamatória que ocorre em pacientes imunitariamente reactivos, dentro de 24 a 48 horas após o estímulo com um antigénio e é o resultado, principalmente, de uma resposta imunitária mediada por células contrariamen

te, a hipersensibilidade de "tipo imediato" tal como aquela que se observa em reacções anafiláticas ou de Arthus, é uma reacção inflamatória que ocorre em pacientes imunitariamente reactivos, no período de uns minutos até algumas horas após o estímulo com o antigénio e é o resultado, principalmente, de uma resposta imunitária humoral ou mediada por anticorpos.

A capacidade do sistema imunitário e, em particular, o sistema imunitário de mediação celular, para discriminar entre antigénios "próprios" e "não próprios" é vital para o funcionamento do sistema imunitário como defesa específica contra microrganismos invasores. Os antigénios "não próprios" são os antigénios ou substâncias do organismo que são detectáveis como diferentes ou estranhos em relação aos próprios constituintes dos animais. Os antigénios "próprios" são aqueles que não são detectavelmente diferentes ou estranhos em relação aos próprios constituintes dos animais apesar da resposta imunitária ser uma defesa importante contra substâncias estranhas que possam provocar doença, ela não pode distinguir entre substâncias estranhas adjuvantes e adversas e destrói ambas.

Há certas situações, tais como o transplante alogénico ou a doença do "enxerto versus hospedeiro", em que seria extremamente útil suprimir a resposta imunitária, de modo a prevenir a rejeição de tecidos ou órgãos estranhos ao organismo, mas necessários. Tecidos e órgãos alogénicos são tecidos e órgãos originários de um membro da mesma espécie, geneticamente diferente. A doença do "enxerto versus hospedeiro", ocorre quando o tecido transplantado, por exemplo, um transplante de medula óssea, contém células T alogénicas do dador que causam uma resposta imunitária contra os próprios tecidos do hospedeiro. Ape-

sar de ambos os tipos de resposta imunitária, humoral e mediada por células, desempenharem um papel na rejeição dos tecidos e órgãos alogênicos, o principal mecanismo envolvido, é a resposta imunitária mediada por células. A supressão da resposta imunitária e, em particular, a supressão da resposta imunitária mediada por células, seria então útil na prevenção da rejeição de tecidos e órgãos alogênicos transplantados. Por exemplo, usa-se correntemente a ciclosporina A como agente imunossupressor no tratamento de doentes que receberam transplantes alogênicos e na doença do "enxerto versus hospedeiro".

Há situações em que a resposta imunitária individual causa mais danos ou mal estar que os micróbios invasores ou o material estranho, como é o caso das reacções alérgicas. Será desejável a supressão da resposta imunitária nestes casos.

Ocasionalmente, os mecanismos imunológicos tornam-se sensíveis a uma parte do próprio corpo do indivíduo, causando interferências, ou mesmo destruição dessa mesma parte. A capacidade para distinguir entre "próprio" e "não próprio" está diminuída e o organismo começa a destruir-se a si próprio. Este facto pode resultar em doenças auto-imunes tais como a artrite reumatóide, diabetes mellitus insulino-dependente (a qual envolve a destruição auto-imune das células β dos ilhéus de Langerhans, as quais são responsáveis pela segregação de insulina), determinadas anemias hemolíticas, febre reumática, tiroidite, colite viciosa, miastenia gravis, glomerulonefrite, encefalomielite alérgica, destruição contínua do tecido nervoso e hepático, que, por vezes, se segue a uma hepatite viral, esclerose múltipla e lúpus eritematoso sistémico. Algumas formas de auto-imunidade surgem como resultado de um traumatismo de uma área

-0-

normalmente não exposta a linfócitos, tal como o tecido nervoso ou o cristalino do olho,

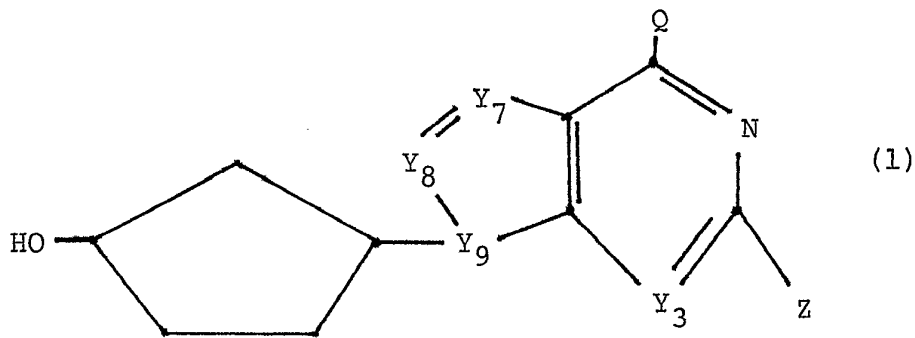
Quando os tecidos destas áreas ficam expostos aos linfócitos, as suas proteínas superficiais podem actuar como antígenos e despoletar a produção de anticorpos e respostas imunitárias celulares, as quais iniciam depois a destruição destes tecidos. Outras doenças auto-imunes desenvolvem-se após exposição do indivíduo a antígenos, os quais são geneticamente semelhantes, isto é, têm uma reacção cruzada, com os próprios tecidos do indivíduo. A febre reumática é um exemplo deste tipo de doença, na qual o antígeno da bactéria estreptocócica que causa a febre reumática apresenta uma reacção cruzada com regiões do coração humano. Os anticorpos não podem diferenciar entre antígenos bacterianos e os antígenos do músculo cardíaco e as células com um destes tipos de antígeno podem ser destruídas. A supressão do sistema imunitário, nestas doenças auto-imunes seria útil para minimizar ou eliminar os efeitos da doença. Algumas destas doenças auto-imunes, por exemplo, a diabetes mellitus insulino-dependente, esclerose múltipla e a artrite reumatóide, caracterizam-se como sendo o resultado de uma resposta auto-imune mediada por células e parecem ser devidas à acção das células T [Ver Sinha et al., Science, 248 (1990) 1380]. Outras, tais como a miastenia gravis e o lúpus eritematoso sistémico, caracterizam-se como sendo o resultado de uma resposta auto-imune humoral [ID].

A supressão da resposta imunitária seria então útil no tratamento de doentes sofrendo de doenças auto-imunes. Mais particularmente, a supressão da resposta imunitária mediada por células seria então útil no tratamento de doentes sofrendo de doenças auto-imunes devidas à acção das células T, tais como a

diabetes mellites insulino-dependente, esclerose múltipla e artrite reumatóide. A supressão da resposta imunitária humoral seria útil no tratamento de doentes sofrendo de doenças auto-imunes independentes das células T, tais como a miastenia gravis e o lupus eritematoso sistêmico.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona novos compostos de fórmula geral (1)



na qual,

o substituinte hidroxilo apresenta, no núcleo ciclo-pentânico, a configuração cis relativamente ao substituinte bicíclico,

Y₃, Y₇, Y₈ e Y₉ representam, cada um, independentemente, um átomo de azoto ou um grupo CH,

Q e Z representam, cada um, independentemente, um átomo de hidrogênio ou de halogênio ou um grupo NH₂ ou um seu sal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

A presente invenção proporciona também um método para efectuar a imunossupressão, e mais especificamente, um método para suprimir a imunidade adaptativa, em um doente disso necessitado, compreendendo a administração ao dito paciente, de uma

quantidade imunossupressora eficaz, de um composto de fórmula geral (1).

Adicionalmente, a presente invenção proporciona composições farmacêuticas que contêm uma quantidade imunossupressora eficaz de um composto de fórmula geral (1), em associação com um ou mais veículos ou excipientes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

Tal como aqui se utiliza, termo "halogêneo" diz respeito aos radicais monovalentes de iodo, bromo, cloro ou flúor. O termo "azoto" diz respeito a um radical de azoto trivalente, e a designação "grupo CH" diz respeito a um radical metílidino.

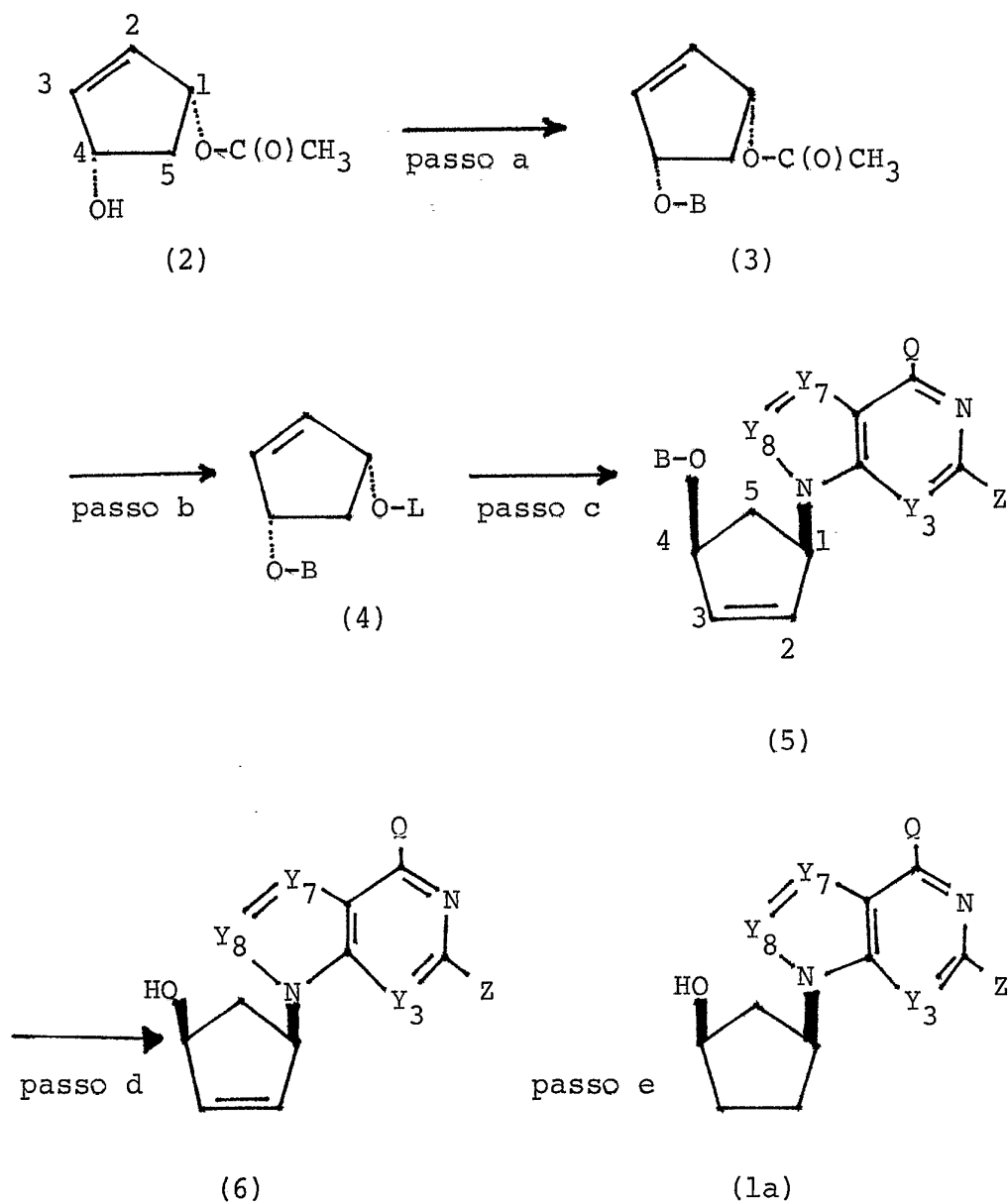
Tal como aqui se utiliza, a expressão, "sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico" diz respeito a sais de adição de ácidos, dos compostos de fórmula geral (1), nos quais a toxicidade do composto, não é aumentada comparativamente ao não sal. São exemplos representativos de sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, os quais são preparados mediante tratamento de compostos de fórmula geral (1) com os ácidos correspondentes: bromidrato, cloridrato sulfato, fosfato, nitrato, formato, acetato, propionato, succinato, glicolato, lactato, malato, tartarato, citrato, ascorbato, α -cetoglutarato, glutamato, aspartato, maleato, hidroximaleato, piruvato, fenilacetato, benzoato, para-aminobenzoato, autranilato, para-hidroxibenzoato, salicilato, para-amino-salicilato, metanossulfonato, etanossulfonato, hidroxietanossulfonato, halogenobenzenossulfonato, etilenossulfonato, toluenossulfonato, naftalenossulfonato e sulfanilato. Prefere-se o cloridrato como o sal aceitável sob o pon-

to de vista farmacêutico, dos compostos de fórmula geral (1).

Entende-se que o substituinte hidroxilo no anel ciclopentilo dos compostos de fórmula geral (1) tem a configuração cis relativamente ao substituinte bicíclico. Entende-se ainda que estes compostos de fórmula geral (1) podem existir com várias configurações estereoisométricas. É claro que os compostos de fórmula geral (1) abrangem e incluem tanto os estereoisômeros individuais como as suas misturas racêmicas.

No Esquema A apresenta-se um procedimento geral de síntese para preparação de compostos de fórmula geral (1), na qual y_9 representa um átomo de azoto.

ESQUEMA A



B= Grupo bloqueador; L=Grupo removível

No passo a, bloqueia-se a porção 4-hidroxi reactiva da molécula de (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenten-4-ol (2), com um grupo protector (B) do grupo hidroxilo, para formar o (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenten-4-ol hidroxilobloqueado correspondente (3). O grupo protector do grupo hidroxilo que se usa pode ser um dos muitos grupos protectores de grupo hidroxil

lo convencionais, os quais são conhecidos pelos entendidos na matéria. A selecção e a utilização de determinados grupos bloqueadores é do conhecimento dos entendidos na matéria. Em geral, devem seleccionar-se os grupos protectores que protejam adequadamente o grupo hidroxilo durante os passos de síntese subsequentes e que sejam fáceis de remover em condições que não provoquem a degradação do produto desejado.

São exemplos representativos de grupos protectores do grupo hidroxilo os grupos tetra-hidropiraniilo, metoximetilo, t-butil-dimetilsililo, metoxietoximetilo, acetoxi e afins. Pre fere-se o grupo 2-tetra-hidropiraniilo para bloqueador da porção 4-hidroxi do composto de (2). Quando se deseja bloquear o grupo 4-hidroxilo de (2) com um grupo 2-tetra-hidropiraniilo, pode fazer-se reagir (2) com um grupo 3,4-di-hidro-2H-pirano, na presença de ácido trifluoroacético, para se obter o (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-4-(2-tetra-hidropiraniiloxi)-2-ciclopenteno correspondente.

No passo b, hidrolisa-se o grupo 1-acetoxi do (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenten-4-ol-4-hidroxi-bloqueado (3) e modifica-se o grupo 1-hidroxilo resultante com um grupo removível apropriado (L) para formar o derivado 2-ciclopenteno (4) correspondente. Hidrolisa-se primeiramente o grupo 1-acetoxi de (3) com uma base tal como o hidróxido de potássio, hidróxido de sódio ou hidróxido de amónio em metanol ou etanol. Em seguida, modifica-se o grupo 1-hidroxilo, do derivado hidrolisado assim formado, com um grupo removível (L).

O grupo removível particular utilizado pode ser um dos muitos grupos removíveis convencionais conhecidos na técnica. A selecção e utilização dos grupos removíveis são do conhecimento dos entendidos na matéria. Em geral, deve seleccionar-se

o grupo removível que facilite adequadamente o deslocamento do mesmo por um derivado de uma base nucleosídica apropriada, para se obter um produto com retenção da configuração.

São exemplos representativos de grupos removíveis apropriados os grupos triflato, brosilato, tosilato, metanossulfonilo e afins. Prefere-se um grupo metanossulfonilo como grupo removível no passo b.

Por exemplo, quando se pretende converter o (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenteno-4-ol 4-hidroxi-bloqueado (3) no (1R,4S)-Cis-1-metanossulfoniloxi-2-ciclopenteno-4-ol 4-hidroxi-bloqueado correspondente, pode hidrolisar-se (3) com hidróxido de potássio em etanol, podendo isolar-se o álcool livre resultante e converter-se no (1R,4S)-Cis-1-metanossulfoniloxi-2-ciclopenteno-4-ol 4-hidroxi-bloqueado correspondente, mediante tratamento com cloreto de metanossulfonilo na presença de trietilamina.

No passo c, submete-se o derivado 2-ciclopenteno (4), contendo um grupo removível na posição 1 e um grupo hidroxilo bloqueado na posição 4, a um deslocamento pela base nucleosídica desejada (na qual Y₉ representa um átomo de azoto), para se obter o análogo nucleosídico carbocíclico 3-hidroxi-bloqueado (5) correspondente, com retenção da configuração. Por exemplo, quando se pretende converter um (1R,4S)-Cis-1-metanossulfoniloxi-2-ciclopenteno-4-ol 4-hidroxi-bloqueado no (1R-3S)-Cis-1-(9-adenil)-4-ciclopenteno-3-ol 3-hidroxi-bloqueado correspondente, pode tratar-se o derivado metanossulfoniloxi com ademina, na presença de hidreto de sódio.

No passo d, desbloqueia-se o análogo nucleosido carbocíclico 3-hidroxi-bloqueado (5), de acordo com procedimentos convencionais e técnicas bem conhecidas neste campo, para se

obter o análogo nucleósido carbocíclico (6) correspondente. Por exemplo, quando o grupo 3-hidroxi está bloqueado com um grupo tetra-hidropiraniilo, pode remover-se o grupo 3-hidroxi-bloqueador mediante tratamento com um ácido, tal como o ácido clorídrico,

No passo e, converte-se o análogo nucleósido carbocíclico (6) no análogo carbocíclico de adenosina (1a) mediante hidrogenação catalítica, tal como o tratamento com hidrogênio na presença do PtO_2 .

Alternativamente, podem preparar-se compostos de fórmula geral (1) na qual Y_9 representa um átomo de azoto, de acordo com a seguinte versão resumida do Esquema A. Pode modificar-se a porção 4-hidroxi reactiva da molécula de (1S,4R)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenten-4-ol, com um grupo removível (L) adequado, tal como se descreveu para o passo b do Esquema A. Prefere-se um grupo mesilato como grupo removível, neste esquema alternativo. Submete-se o derivado 2-ciclopenteno assim formado, contendo um grupo acetoxi na posição 1 e um grupo removível, tal como um grupo mesilato na posição 4, a um deslocamento pela base nucleosídica desejada (na qual Y_9 representa um átomo de azoto), para se obter o correspondente análogo nucleósido carbocíclico 3-hidroxi-bloqueado (5), tal como se descreveu no passo c do Esquema A. Preparam-se os compostos de fórmula geral (1), na qual Y_9 representa um átomo de azoto, de acordo com os passos d e e do Esquema A.

O exemplo seguinte, apresenta uma síntese típica, tal como se descreve no Esquema A. Entende-se que este exemplo é apenas ilustrativo e não se pretende que o mesmo limite o âmbito da presente invenção, em algum sentido. Tal como aqui se uti

lizam, os termos que se seguem têm os significados que se indicam: "g" refere-se a gramas; "mmole" refere-se a milimoles; "ml" refere-se a mililitros; "DMF" refere-se a dimetilformamida; "°C" refere-se a graus Celsius; "mg" refere-se a miligramas; "N" refere-se à normalidade de uma solução; "psi" significa libras por polegada quadrada; "THF" refere-se a tetra-hidrofurano.

EXEMPLO 1

Cloridrato da (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxíciclopentano

Passo a: (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-4-(2-tetra-hidropirani-
loxi)-2-ciclopenteno

Adiciona-se 0,6g (7,1 mmoles) de 3,4-di-hidro-2H-pirano e cinco gotas de ácido trifluoroacético a uma solução de 1g (7,0 mmoles) de (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenten-4-ol em 20 ml de diclorometano, em agitação. Agita-se a mistura durante 24 horas. Dilui-se a mistura com 50 ml de diclorometano e extrai-se com solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio e depois, com uma solução concentrada de cloreto de sódio. Seca-se a fase orgânica com sulfato de sódio. Remove-se o dissolvente sob vazio para se obter 1,58g do composto designado no título.

Passo b: (1R,4S)-Cis-1-metanossulfoniloxi-4-(2-tetra-hidropirani-
niloxi)-2-ciclopenteno

Dissolvem-se 3,0g de (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-4-(2-tetra-hidropirani-
loxi)-2-ciclopenteno (13 mmoles) em 50 ml de etanol absoluto. Adiciona-se a esta solução 0,8g (14 mmoles) de hidró-

xido de potássio e deixa-se a mistura em agitação durante 3 horas. Concentra-se a mistura e introduz-se uma coluna com 10g de gel de sílica e elui-se com uma mistura de acetato de etilo/hexano (1:1). Remove-se o dissolvente para se obter 2,38g de (1R,4S)-Cis-4-(2-tetra-hidropirani~~loxi~~)-2-ciclopenten-1-ol, sob a forma de um óleo incolor.

Dissolve-se 1,2g (6,6 mmoles) de (1R,4S)-Cis-4-(2-tetra-hidropirani~~loxi~~)-2-ciclopenten-1-ol em 25 ml de diclorometano e adicionam-se a esta solução 1,13g (9,9 mmoles) de cloreto de metanossulfonilo e 0,93g (9,2 mmoles) de trietilamina. Agita-se a mistura reaccional durante 45 minutos e extrai-se com água, e com uma solução concentrada de cloreto de sódio e seca-se a fase orgânica com sulfato de sódio. Concentra-se a solução para obter 1,62g do composto designado no título (rendimento de 94%), sob a forma de um óleo de cor amarela.

Passo c: (1R,3S)-Cis-1-(9-adenil)-3-(2-tetra-hidropirani~~loxi~~)-4-ciclopenteno

Adiciona-se 0,57g de hidreto de sódio (80%; 19,8 mmoles) a uma suspensão agitada de 2,67g (19,8 mmoles) de adenina em 100 ml de dimetilformamida, à temperatura de 60°C. Após agitação durante 3 horas a 60°C, adicionam-se 1,62g (6,2 mmoles) de (1R,4S)-Cis-1-metanossulfoni~~loxi~~-4-(2-tetra-hidropirani~~loxi~~)-2-ciclopenteno e continua-se a agitação durante 1 hora, a 60°C. Arrefece-se a mistura reaccional até à temperatura ambiente e deixa-se em agitação durante uma noite. No dia seguinte, aquece-se a mistura reaccional até à temperatura de 60°C, durante 6 horas e depois deixa-se arrefecer até à temperatura ambiente durante a noite. Elimina-se a dimetilformamida sob vazio e reto

ma-se o resíduo em diclorometano e água, em agitação. Remove-se a fase orgânica, extrai-se com solução concentrada de cloreto de sódio e seca-se com sulfato de sódio. Elimina-se o dissolvente sob vazio e dissolve-se o resíduo em diclorometano. Introduce-se a solução numa coluna com 10 g de gel de sílica e elui-se com uma mistura de diclorometano/etanol (19:1), obtendo-se 500 mg do composto designado no título (rendimento de 26,7%).

Passo d: Cloridrato de (1R,3S)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopenteno

Dissolve-se 0,5g de (1R,3S)-Cis-1-(9-adenil)-3-(2-tetra-hidropirani-oxi)-4-ciclopenteno (1,7 mmole) em 50 ml de água destilada e 1,5 ml de ácido clorídrico 6N. Agita-se a mistura durante 12 horas à temperatura ambiente e depois concentra-se até à secura sob vazio. Retoma-se o resíduo em etanol contendo hidróxido de amónio suficiente para formar uma solução e depois adiciona-se um volume igual de diclorometano (o cloreto de amónio precipita). Introduce-se a mistura numa coluna com 50g de gel de sílica (malha 70-230) e elui-se com uma mistura de diclorometano/metanol (4:1). Recupera-se o composto designado no título em fracções de 40 ml. Reunem-se e concentram-se até à secura as fracções que contêm o produto puro. Dissolve-se o resíduo em etanol e adiciona-se HCl 6N suficiente para ajustar o pH ao valor de 1. Concentra-se a solução até à secura, obtendo-se 230 mg do composto designado no título (rendimento de 62%).

Passo e: Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxiciclopentano

Dissolve-se 230 mg de cloridrato de (1R,3S)-cis-1-(9-

-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopenteno (0,99 mmole) em 25 ml de metanol e 75 ml de água destilada. Adicionam-se 50 mg de óxido de platina (IV) e hidrogena-se a mistura sob 2,1 kg/cm² (30 psi) de hidrogénio durante 3,5 horas. Filtra-se a mistura através de uma almofada de celite e concentra-se o filtrado até à secura. Dissolve-se o produto em metanol, aplica-se a solução sobre 20g de gel de sílica e elui-se com uma mistura de diclorometano/metanol (9:1). Concentra-se as fracções contendo produto, até à secura e dissolve-se o resíduo em metanol. Ajusta-se o pH ao valor de 1 com HCl 6N. Concentra-se este produto até à secura para se obter 210 mg do composto designado no título (rendimento de 83%).

$[\alpha]_{365} = +24,4^{\circ}$ (metanol, 1,0 mg/ml).

RMN-¹H(DMSO/TMS) δ = 8,7(s,1H), 8,5(s,1H), 5,02(m,1H), 4,3(m,1H), 2,4-1,8(m,6H).

Os compostos que se seguem podem ser preparados mediante procedimentos análogos aos descritos anteriormente para o Exemplo 1 usando compostos iniciais de fácil obtenção:

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-(3-de-aza-adenil) \int -3-hidroxiciclopentano

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-(7-de-aza-adenil) \int -3-hidroxiciclopentano

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-purinil \int -3-hidroxiciclopentano

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-(8-aza-adenil) \int -3-hidroxiciclopentano

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-(2-aminopurinil) \int -3-hidroxiciclopentano

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-(2,6-diaminopurinil) \int -3-hidroxiciclopentano

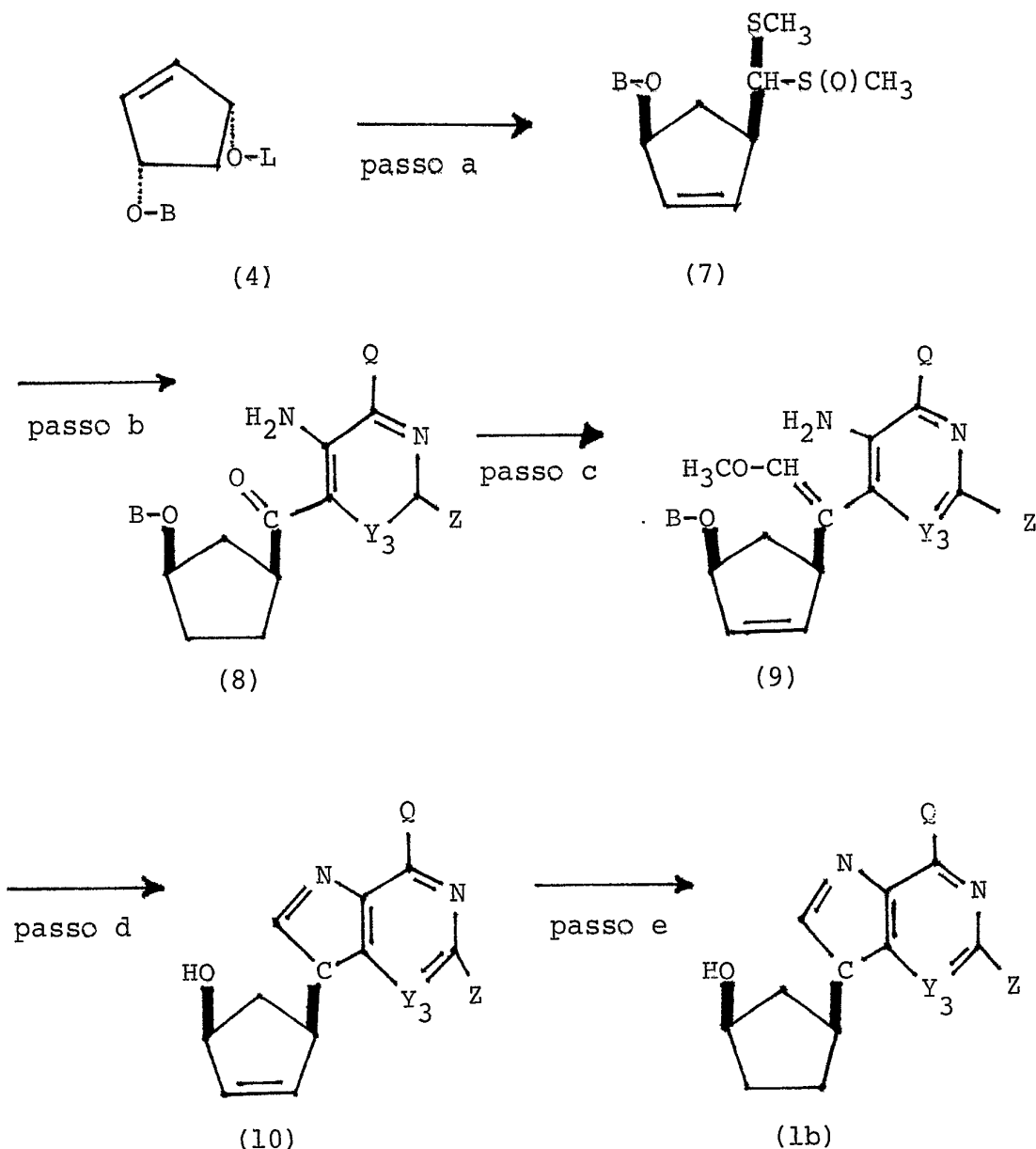
Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1-(9-(2-amino-6-cloropurinil)-3-hidroxiciclopentano.

Os compostos iniciais para o esquema de síntese descrito anteriormente, incluindo (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopent-4-ol, adenina, 7-desaza-adenina, purina, 8-aza-adenina, 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina e 2-amino-6-cloropurina, podem ser facilmente obtidos ou podem ser preparados de acordo com os procedimentos e técnicas convencionais.

No Esquema B apresenta-se um procedimento geral de síntese para preparar compostos de fórmula geral (1) na qual Y_8 e Y_9 representam, cada um, um grupo CH.

4.

ESQUEMA B



No passo a, faz-se reagir o derivado 2-ciclopenteno (4) com o anião sódico do metilsulfinilmetil-sulfureto de metilo, para se obter o derivado substituído na posição 1 correspondente (7).

No passo b, faz-se reagir o anião sódico do composto (7) com o derivado de pirimidina ou de piridina apropriado, tal como a 5-amino-4,6-dicloropirimidina, seguido de hidrólise para

se obter o derivado cetona correspondente (8).

No passo c, converte-se o derivado cetona (8) no éter enólico (9) correspondente, fazendo reagir o composto (8) com o reagente de Wittig apropriado, tal como o $\text{C}_6\text{H}_5\text{P}=\text{CH}_2\text{OCH}_3$ / cloreto de metoximetil-trifenilfosfilidina J , na presença de n-butil-lítio.

No passo d, cicliza-se o enolato (9) na presença de um ácido, tal como o HCl, e remove-se o grupo bloqueador do grupo 3-hidroxilo de acordo com técnicas convencionais bem conhecidas, para se obter o análogo nucleósido carbocíclico substituído na posição 6 (10).

No passo e, hidrogena-se o análogo nucleósido carbocíclico substituído na posição 6 (10), tal como se descreveu no Esquema A, passo e, para se obter o derivado nucleosídico substituído na posição 6 (1b). Quando o análogo nucleósido carbocíclico (10) possui um átomo de cloro na posição 6, o derivado 6-clorado pode ser convertido nos derivados 6-amino ou 6-hidrogênio, mediante técnicas convencionais bem conhecidas.

O exemplo que se segue apresenta uma síntese típica, tal como se descreveu no Esquema B. Entende-se que este exemplo é apenas ilustrativo e não se pretende que o mesmo limite o âmbito da presente invenção em algum sentido.

EXEMPLO 2

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- J 9-(9-desaza-adenil) J -3-hidroxiciclopentano

Passo a: (1R,4S)-Cis-4-t-butildimetilsililoxi-1- J metil(1-metilsulfinil-1-metilsulfureto) J -2-ciclopenteno

Adicionam-se 1,2 equivalentes de n-butil-lítio a uma

solução, em agitação, de 1,2 equivalentes de metilsulfinilmetil sulfureto de metilo em tetra-hidrofurano, à temperatura de 0°C e deixa-se em agitação durante 15 minutos. Durante um período de 15 minutos, adiciona-se, gota-a-gota, uma solução de 1 equivalente de (1R,4S)-Cis-1-metanossulfoniloxi-4-t-butildimetilsililoxi-2-ciclopenteno em tetra-hidrofurano e deixa-se em agitação durante várias horas a uma temperatura compreendida entre 0°C e 25°C. Dilui-se a mistura reaccional com água e extrai-se com acetato de etilo ou com cloreto de metileno. Lava-se a fase orgânica com água, solução aquosa concentrada de cloreto de sódio e seca-se com sulfato de sódio. Concentra-se a solução até à secura para obter o composto designado no título, sob a forma de um produto não purificado.

Passo b: (1R,4S)-Cis-4-t-butildimetilsililoxi-1-(5-amino-6-cloropirimidina-2-yl)-2-ciclopenteno

Adiciona-se n-butil-lítio a uma solução em agitação, de 1 equivalente de (1R,4S)-Cis-4-t-butildimetilsililoxi-1-(metil-(1-metilsulfinil-1-metilsulfureto)-2-ciclopenteno em tetra-hidrofurano, à temperatura de 0°C e continua-se a agitação durante 15 minutos. Durante 15 minutos, adiciona-se, gota-a-gota, uma solução de 1,1 equivalentes de 5-amino-4,6-dicloropirimidina em tetra-hidrofurano e agita-se a mistura reaccional durante 24 horas à temperatura ambiente. Dilui-se a mistura com água e extrai-se com acetato de etilo ou com cloreto de metileno. Lava-se a fase orgânica com água e com solução aquosa concentrada de cloreto de sódio e seca-se com sulfato de sódio. Concentra-se a solução até à secura para se obter o composto designado no título como um produto não purificado. Purifica-se o compos-

to designado no título numa coluna de gel de sílica, eluindo com uma mistura de acetato de etilo/hexano.

Passo c: (1R,4S)-Cis-4-t-butildimetilsililoxi-1- β -etileno-1-(4- β -5-amino-6-cloropirimidina γ)-2-metoxi γ -2-ciclopenteno

Adicionam-se 1,2 equivalentes de n-butil-lítio a uma suspensão, em agitação, de 1,2 equivalentes de cloreto de metoximetil-trifenilfosfilidina em tetra-hidrofurano, à temperatura de 0°C e depois agita-se durante 1 hora. Durante 15 minutos, adiciona-se 1 equivalente de (1R,4S)-Cis-4-t-butildimetilsililoxi-1- β -carbonil-(4- β -5-amino-6-cloropirimidina γ)-2-ciclopenteno em tetra-hidrofurano e deixa-se em agitação de um dia para o outro à temperatura de 0°C. Concentra-se a mistura reacional até à secura e dissolve-se o resíduo em éter dietílico. Arrefece-se até à temperatura de 0°C durante 1 hora e remove-se o precipitado (cloreto de lítio e óxido de trifenilfosfina) por filtração. Concentra-se o filtrado para se obter o composto designado no título. Purifica-se o composto numa coluna de gel de sílica, eluindo com uma mistura de acetato de etilo/hexano.

Passo d: Cloridrato de (1R,3S)-Cis-1- β -9-(9-de-aza-adenil) γ -3-hidroxi-4-ciclopenteno

Dissolve-se (1R,4S)-Cis-4-t-butildimetilsililoxi-1- β -etileno-1-(4- β -5-amino-6-cloropirimidina γ)-2-metoxi γ -2-ciclopenteno em solução aquosa de metanol e uma quantidade suficiente de HCl 6N e agita-se à temperatura ambiente durante 4 horas. Neutraliza-se o produto com hidróxido de amónio e concen

tra-se a mistura reaccional até à secura para se obter (1R,3S)-Cis-3-t-butildimetilsililoxi-1- \int 9-(6-cloro-9-desaza-purinil) \int -4-ciclopenteno. Purifica-se o produto numa coluna de gel de sílica eluindo com uma mistura de cloreto de metileno/etanol.

Introduzir o (1R,3S)-Cis-3-t-butildimetilsililoxi-1- \int 9-(6-cloro-9-desaza-purinil) \int -4-ciclopenteno num recipiente selado contendo metanol e amoníaco anidro e manter durante 24 horas, aquecendo, se necessário. Remove-se o dissolvente e introduz-se o produto numa coluna de Dowex 50WTM e elui-se com hidróxido de amónio diluído. Concentra-se o eluente até à secura, retoma-se o resíduo com água, acidifica-se com HCl 6N e agita-se durante 4 horas. Concentra-se a solução até à secura para se obter o composto designado no título.

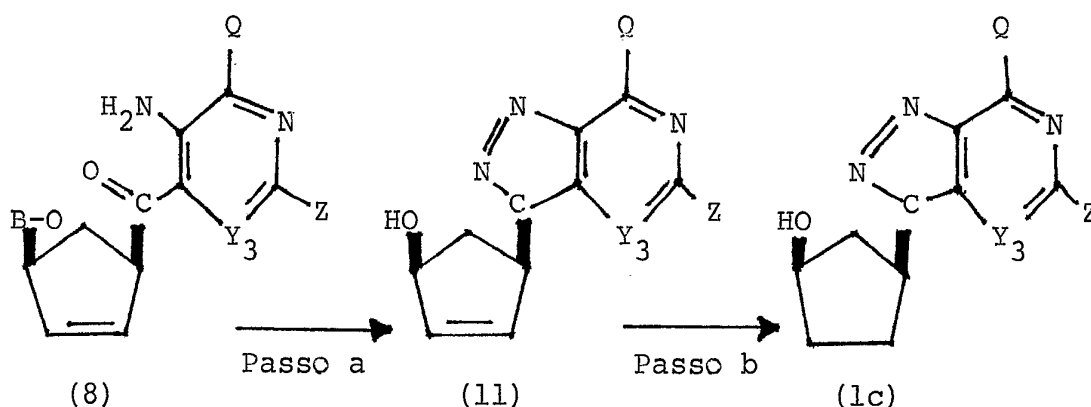
Passo e: Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- \int 9-(9-de-aza-adenil) \int -3-hidroxiciclopentano

Dissolve-se cloridrato de (1R,3S)-Cis-1- \int 9-(9-desaza-adenil) \int -3-hidroxi-4-ciclopenteno numa mistura de álcool etílico/água (1:1) e adiciona-se óxido de platina. Faz-se reagir a mistura num hidrogenador de Parr carregado com 2,45 kg/cm² (35 psi) de hidrogénio durante 12 horas. Remove-se o catalisador por filtração e concentra-se o filtrado até à secura para se obter o composto designado no título.

No Esquema C apresenta-se um procedimento geral de síntese para preparar compostos de fórmula geral (1) na qual Y₉ representa um grupo CH e Y₈ representa um átomo de azoto.

.../...

ESQUEMA C



No passo a, converte-se o derivado cetona (8) (obtido como se descreveu no Esquema B) no derivado oxima correspondente e depois, cicliza-se para formar o derivado 8-aza-9-desaza-6-substituído-nucleósido (11) correspondente, fazendo reagir a oxima com azodicarbóxilato de dietilo (DEAD) e trifenilfosfina. Adicionalmente, remove-se o grupo bloqueador do grupo 3-hidroxilo do composto (8), mediante técnicas convencionais bem conhecidas.

No passo b, pode converter-se o derivado 8-aza-9-desaza-6-substituído-nucleósido (11) no derivado de adenosina 8-aza-9-desaza-6-substituído-carbocíclico (1c), por hidrogenação, tal como se descreveu no Esquema A, passo e. Quando o derivado de adenosina 8-aza-9-desaza-6-substituído-carbocíclico (1c) possui um átomo de cloro na posição 6, pode converter-se o derivado clorado na posição 6 no derivado 6-amino ou 6-hidrogênio mediante técnicas convencionais bem conhecidas.

.../...

-78-

EXEMPLO 3

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1-(9-(8-aza-9-desaza-adenil)-3-hidroxiciclopentano

Passo a: Cloridrato de (1R,3S)-Cis-1-(9-(8-aza-9-desaza-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopenteno

Adiciona-se uma solução de hidróxido de sódio (1,2 equivalentes) a uma solução de (1S,4S)-trans-4-t-butildimetilsililoxi-1-(4-(5-amino-6-cloropirimidina)-2-ciclopenteno e 1,2 equivalentes de cloridrato de hidroxilamina em metanol anidro. Após 2 horas adiciona-se água e recolhe-se e seca-se o sólido assim formado (intermédio oxima). Dissolve-se o composto intermédio oxima (1 equivalente) em cloreto de metileno seguido de 1,2 equivalentes de DEAD e 1,1 equivalentes de trifenilfosfina. Deixa-se a mistura reagir durante 2 horas para se obter o (1R,3S)-Cis-3-t-butildimetilsililoxi-1-(9-(8-aza-6-cloro-9-desazapurinil)-4-ciclopenteno. Extrai-se a mistura reaccional com água seguida de solução aquosa concentrada de cloreto de sódio. Seca-se a fase orgânica com sulfato de sódio, concentra-se até à secura e adiciona-se éter dietílico para fazer precipitar o óxido de trifenilfosfina. Remove-se o precipitado por filtração e purifica-se o produto numa coluna de gel de sílica, eluindo com uma mistura de acetato de etilo/hexano.

Introduz-se o (1R,3S)-Cis-3-t-butildimetilsililoxi-1-(9-(8-aza-6-cloro-9-desazapurinil)-4-ciclopenteno num recipiente selado contendo metanol e amoníaco anidro, e mantem-se durante 24 horas, aquecendo, se necessário. Remove-se o dissol-

vente e introduz-se o produto numa coluna de Dowex 50WTM e elui-se com hidróxido de amónio diluído. Concentra-se o eluído até à secura, retoma-se com água, acidifica-se com HCl 6N. Agita-se durante 4 horas. Concentra-se a solução até à secura para se obter o composto designado no título.

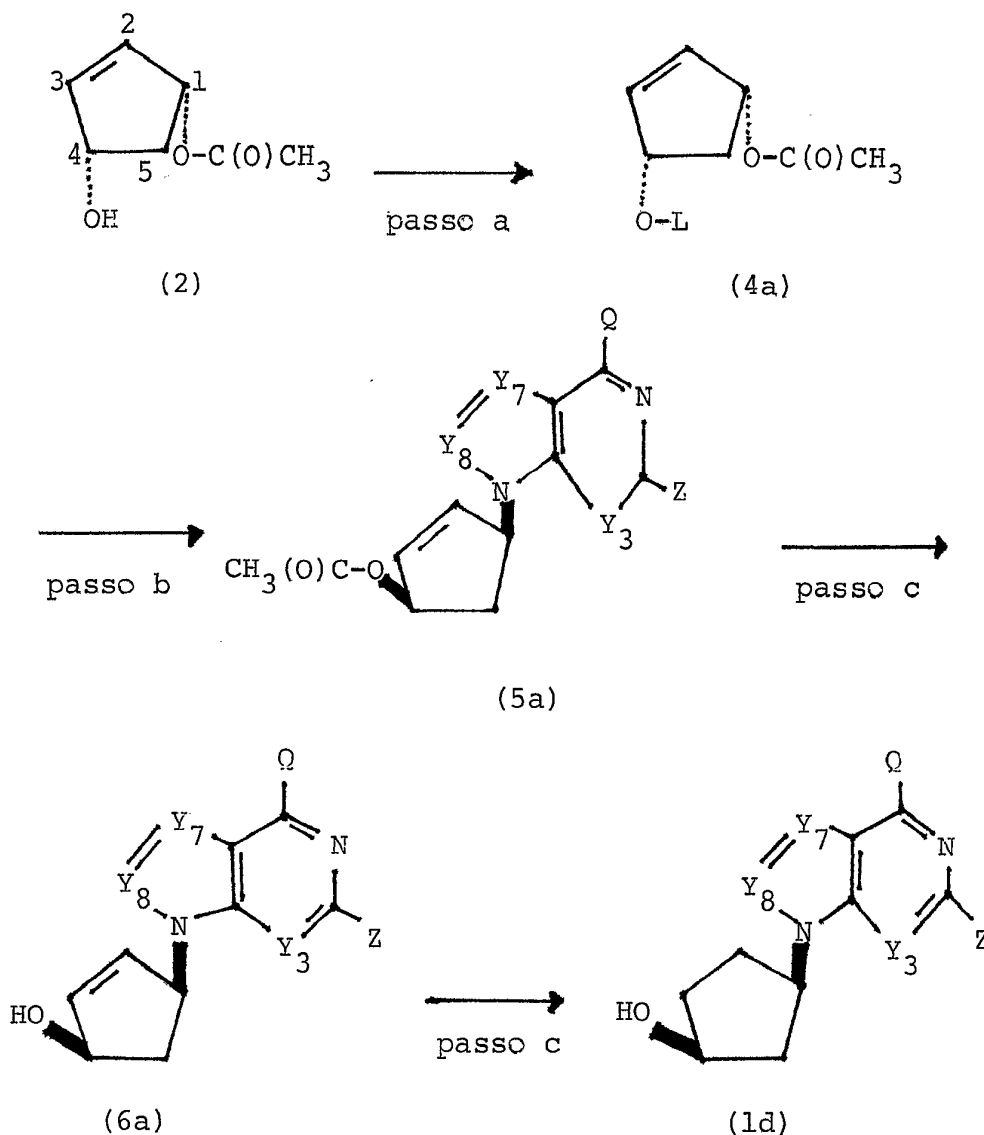
Passo b: Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1- β -9-(8-aza-9-desaza-adenil) β -3-hidroxiciclopentano

Dissolve-se o cloridrato de (1R,3S)-Cis-1- β -9-(8-aza-9-desaza-adenil) β -3-hidróxi-4-ciclopenteno numa mistura de etanol/água (1:1) e adiciona-se óxido de platina. Faz-se reagir a mistura num hidrogenador de Parr carregado com 2,45 kg/cm² (35 psi) de hidrogénio, durante 12 horas. Remove-se o catalisador por filtração e concentra-se o filtrado até à secura para se obter o composto designado no título.

Geralmente, quando se deseja sintetizar o correspondente enantiómero (1R,3S) dos compostos de fórmula geral (1), podem seguir-se procedimentos semelhantes aqueles que se descreveram anteriormente, excepto que em vez de se bloquear o grupo 4-hidróxi do composto intermédio (2) (para que se possa ligar um grupo removível à posição 1 após hidrólise do grupo acetoxi), liga-se um grupo removível apropriado à posição 4, removendo o grupo 1-acetoxi ou outro grupo bloqueador apropriado na posição 1.

Como exemplo, apresenta-se no Esquema D, um procedimento geral de síntese para preparar os correspondentes enantiómeros (1R,3S) dos compostos de fórmula geral (1) na qual Y₉ representa um átomo de azoto.

ESQUEMA D



L=Grupo removível

No passo a, modifica-se a porção 4-hidroxi da molécula de (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenteno-4-ol (2) com um grupo removível apropriado (L), mediante procedimentos com os descritos no Esquema A, para formar o derivado 2-ciclopenteno (4a) correspondente. São exemplos representativos de grupos removíveis adequados os grupos triflato, brosiló, tosilo, metanosulfonilo e afins. O grupo removível preferido é o grupo metanos-

sulfonilo.

No passo b, submete-se o derivado 2-ciclopenteno (4a) que comporta um grupo removível na posição 4 e um grupo acetoxi na posição 1, a um deslocamento pela base nucleósido correspondente (na qual Y₉ representa um átomo de azoto), para se obter o análogo nucleósido 1-acetoxi-carbocíclico (5a) correspondente, com retenção da configuração. Pode efectuar-se esta reacção tal como se descreveu para a reacção de deslocamento no Esquema A.

No passo c, remove-se o grupo 1-acetoxi do análogo nucleósido 1-acetoxi-carbocíclico (5a), de acordo com procedimentos e técnicas convencionais bem conhecidos, para se obter o análogo nucleósido carbocíclico (6a) correspondente. Por exemplo, pode remover-se o grupo 1-acetoxi por tratamento com uma base, tal como o carbonato de potássio.

No passo d, hidrogena-se o análogo nucleósido carbocíclico (6a), de acordo com procedimentos e técnicas convencionais, para se obter o análogo nucleósido carbocíclico (1d) correspondente.

O exemplo que se segue apresenta uma síntese típica, tal como se descreve no Esquema D. Entende-se que este exemplo é apenas ilustrativo e não se pretende que o mesmo limite o âmbito desta invenção em algum sentido.

EXEMPLO 4

Cloridrato de (1R,3S)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopentano

Passo a: (1S,4R)-Cis-1-metansulfoniloxi-4-acetoxi-2-ciclopenteno

Dissolvem-se 1,42g de (1R,4S)-Cis-1-acetoxi-2-ciclopenteno

teno -4-ol (10,0 mmoles) em 40 ml de diclorometano. Adicionam-se a esta solução, 3,72g de cloreto de metanossulfonilo (30,0 mmoles) e 3,63g (30,0 mmoles) de trietilamina, e deixa-se em agitação durante 4,5 horas. Extrai-se a mistura sequencialmente com água e depois com uma solução aquosa concentrada de cloreto de sódio. Seca-se a fase orgânica com sulfato de sódio. Concentra-se a solução para se obter o composto designado no título, sob a forma de um óleo de cor amarela (2,09g rendimento de 95%), o qual será usado imediatamente na reacção seguinte.

Passo b: (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-acetoxi-4-ciclopenteno

Adiciona-se 1,0g de hidreto de sódio (60%, 30,0 mmoles) a uma suspensão em agitação de 4,1g (30,0 mmoles) de adenina em 50 ml de dimetilformamida à temperatura de 60°C. Após agitação durante 3 horas a 60°C, adicionam-se 2,09g (9,5 mmoles) de (1S,4R)-Cis-1-metanossulfoniloxi-4-acetoxi-2-ciclopenteno e continua-se a agitar durante 16 horas, à temperatura de 60°C. Elimina-se a dimetilformamida sob vázio e retoma-se o resíduo com diclorometano e água, agitando. Remove-se a fase orgânica, extrai-se com uma solução aquosa concentrada de cloreto de sódio e seca-se com sulfato de sódio. Elimina-se o dissolvente sob vázio e dissolve-se o resíduo em diclorometano. Introduce-se a solução numa coluna com 40g de gel de sílica e elui-se com uma mistura de clorofórmio/metanol (9:1), para se obter 1,07g do composto designado no título (rendimento de 33%).

Passo c: (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopenteno

Dissolve-se 0,5g (1,7 mmoles) de (1S,3R)-Cis-1-(9-ade

nil)-3-acetoxi-4-ciclopenteno em 25 ml de metanol, adicionam-se 3 ml de água e em seguida 600 mg de K_2CO_3 . Agita-se a mistura durante 1 hora à temperatura ambiente e depois concentra-se sob vazio até à secura. Retoma-se o resíduo sólido em etanol para precipitar o K_2CO_3 e filtra-se a mistura. Adiciona-se uma quantidade igual de diclorometano. Introduce-se a mistura numa coluna com 50g de gel de sílica (malhas 70-230) e elui-se com uma mistura de diclorometano/metanol (4:1). Recolhem-se fracções de 40 ml e concentram-se até à secura as fracções que contêm o produto puro para se obter 257 mg do composto designado no título (rendimento de 62%).

Passo d: Cloridrato de (1R,3S)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopentano

Dissolvem-se 50 mg (0,2 mmole) de (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxi-4-ciclopenteno em 5 ml de etanol e 15 ml de água destilada. Adicionam-se a esta solução, 50 mg de óxido de platina (IV) e hidrogena-se a mistura sob $2,1 \text{ kg/cm}^2$ (30 psi) de hidrogénio gasoso, durante 3,5 horas. Filtra-se a mistura através de uma almofada de celite e concentra-se o filtrado até à secura para se obter 41 mg do composto designado no título (rendimento de 82%).

$$[\alpha]_{365} = -24^{\circ} \text{ (MeOH, } 0,29 \text{ mg/ml)}$$

$RMN^1H(DMSO/TMS) \delta = 8,7(s, 1H), 8,5(s, 1H), 5,02(m, 1H), 4,3(m, 1H), 2,4-1,8(m, 6H)$.

A presente invenção proporciona também um método para efectuar a imunossupressão e, mais especificamente, um método para suprimir a imunidade adaptativa, num paciente que disso

necessite, compreendendo a administração ao referido paciente de uma quantidade imunossupressora eficaz, de um composto de fórmula geral (1).

Tal como aqui se utiliza, o termo "paciente" refere-se a um animal de sangue quente, tal como um mamífero que sofra de uma doença, por exemplo, uma doença auto-imune ou doença do "enxerto versus hospedeiro", ou está em perigo de rejeitar um tecido ou órgão alogênico transplantado. Entende-se que os seres humanos, os ratinhos e os ratos, estão incluídos no âmbito do termo "paciente".

A administração de um composto de fórmula geral (1) a um paciente origina um efeito imunossupressor no paciente. Mais concretamente, a administração de um composto de fórmula geral (1) a um paciente, origina a supressão da imunidade adaptativa do doente. Por outras palavras, através do tratamento de um paciente com um composto de fórmula geral (1) inibe-se ou suprime-se a resposta imunitária adaptativa, no paciente, de outra maneira presente na ausência de tratamento.

Um paciente necessita de tratamento com um agente imunossupressor, tal como um composto de fórmula geral (1), quando o paciente sofre de uma doença auto-imune, uma doença do "enxerto versus hospedeiro" ou quando se pretende evitar a rejeição de tecidos ou órgãos alogénicos transplantados. A designação "doença auto-imune" diz respeito a estados de doença e patologias nos quais a resposta imunitária do paciente é dirigida contra os próprios constituintes do paciente, daí resultando uma patologia indesejável e frequentemente terrivelmente debilitante.

Pacientes sofrendo de doenças auto-imunes, tais como

a artrite reumatóide, diabetes mellitus insulino-dependente, certas anemias hemolíticas, febre reumática, tiroidite, colite ulcerosa, miastenia gravis, glomerulonefrite, encefalo-mielite alérgica, destruição contínua do tecido nervoso e hepático, a qual algumas vezes se segue a uma hepatite viral, esclerose múltipla e lupus eritematoso sistémico, necessitam de tratamento com um agente imunossupressor tal como um composto de fórmula geral (1). A artrite reumatóide, a diabetes mellitus insulino-dependente e a esclerose múltipla caracterizam-se por serem o resultado de uma resposta auto-imune mediada por células e parecem ser devidas à acção das células T. A miastenia gravis e o lupus eritematoso sistémico caracterizam-se por serem o resultado de uma resposta auto-imune humoral. Como tal, o tratamento de pacientes sofrendo destas doenças, pela administração de um composto de fórmula geral (1) seria particularmente eficaz na prevenção de posterior deterioração ou agravamento da patologia do doente. O tratamento de um doente numa fase precoce de uma doença auto-imune, tal como a artrite reumatóide, diabetes mellitus insulino-dependente, esclerose múltipla, miastemia gravis ou lupus eritematoso sistémico, seria particularmente eficaz na prevenção de posterior deterioração do estado da doença, resultando numa patologia mais grave. Por exemplo, a diabetes mellitus insulino-dependente (IDDM) é uma doença auto-imune que se crê ser o resultado de uma resposta auto-imune dirigida contra as células β dos Ilhéus de Langerhans que segregam insulina. O tratamento de um paciente sofrendo de um estado precoce de IDDM, anterior à completa destruição das células β dos Ilhéus de Langerhans, seria particularmente útil na prevenção da progressão da doença, dado que iria evitar ou

inibir posterior destruição das células β restantes, capazes de segregar insulina. Entende-se que o tratamento de um paciente que sofra de um estado precoce de outras doenças auto-imunes, seria também particularmente útil para prevenir ou inibir posterior progressão natural do estado da doença para estados mais graves.

Pacientes que receberam ou que vão receber um transplante de tecido ou órgão alogênico, tal como um rim, fígado, coração, pele, medula óssea alogênicos, são também pacientes que necessitam de tratamento profilático com um agente imunossupressor tal como um composto de fórmula geral (1). Um agente imunossupressor iria inibir a resposta imunitária adaptativa do hospedeiro e, assim, a rejeição do tecido ou órgão alogênico do dador. Do mesmo modo, doentes que sofram de doença de "enxerto versus hospedeiro", são doentes que necessitam do tratamento com um agente imunossupressor, tal como um composto de fórmula geral (1). Um agente imunossupressor impedirá a resposta imunitária adaptativa do tecido ou órgão transplantados de rejeitar o tecido ou órgão alogênico do hospedeiro.

Com base em testes e procedimentos clínicos e laboratoriais normalizados, o médico que faz o diagnóstico, como pessoa entendida na matéria, pode identificar rapidamente estes doentes que necessitam do tratamento com um agente imunossupressor, tal como um composto de fórmula geral (1).

Uma quantidade imunossupressora eficaz de um composto de fórmula geral (1) é a quantidade que, após administração em dose única ou múltipla, proporciona um efeito imunossupressor ou, mais em particular, a supressão da resposta imunitária adaptativa. Um efeito imunossupressor refere-se ao atraso, in-

terrupção, inibição ou prevenção da expressão da resposta imunitária adaptativa.

O clínico como entendido na matéria, pode facilmente determinar a quantidade imunossupressora eficaz de composto de fórmula geral (1), através de técnicas conhecidas e observando os resultados obtidos em circunstâncias análogas. Ao determinar a dose ou quantidade eficaz, o clínico em questão considera uma série de factores que inclui: a espécie do mamífero, o seu tratamento, idade e estado de saúde geral; a doença envolvida; o grau de desenvolvimento ou a gravidade da doença; a resposta individual do paciente; o composto administrado; o modo de administração; a biodisponibilidade característica da preparação administrada; o regime de dosagem seleccionado; o uso de medicação concomitante; e outras circunstâncias relevantes.

Admite-se que uma quantidade imunossupressora eficaz, de um composto de fórmula geral (1), deve variar entre cerca de 0,1 miligrama por quilograma de peso do corpo por dia (mg/Kg/dia) e cerca de 500 mg/Kg/dia. Admite-se que as quantidades preferidas estejam compreendidas entre cerca de 1 e cerca de 50 mg/kg/dia.

Ao efectuar o tratamento a um paciente, pode administrar-se um composto de fórmula geral (1), sob qualquer forma ou modo que torne o composto biodisponível em quantidades eficazes, incluindo as vias oral e parentérica. Por exemplo, podem administrar-se os compostos de fórmula geral (1) por via oral, sub-cutânea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, intranasal, rectal, etc. Geralmente, prefere-se a administração oral. Um profissional entendido na técnica de preparação de formulações pode facilmente seleccionar a forma e o modo de ad-

ministração adequados, de acordo com as características do com posto seleccionado e o estado de doença a tratar, a fase da doença e outras circunstâncias relevantes.

Podem administrar-se os compostos isoladamente ou na forma de uma composição farmacêutica, em associação com veículos ou excipientes aceitáveis em farmácia, cuja natureza e proporções são determinadas pela solubilidade e propriedades químicas do composto seleccionado, a via de administração escolhida e a prática farmacêutica comum. Os compostos de acordo com a presente invenção, embora eficazes por si só, podem ser formulados e administrados sob a forma dos seus sais de adição de ácidos, aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, por razões de estabilidade, facilidade de cristalização, maior solubilidade, etc.

A presente invenção proporciona também composições que contêm um composto de fórmula geral (1) em associação com um ou mais veículos inertes. Estas composições são úteis, por exemplo, como padrões de ensaio, como meios convenientes para expedição de grandes quantidades ou como composições farmacêuticas. Uma quantidade testável de um composto de fórmula geral (1) é uma quantidade facilmente mensurável por procedimentos de ensaio e técnicas normalizadas, como é sabido pelos entendidos na matéria. As quantidades testáveis de um composto de fórmula geral (1) variam geralmente, entre cerca de 0,001% e cerca de 75% do peso da composição. Os veículos inertes podem ser qualquer material que não se degrade nem reaja covalentemente com um composto de fórmula geral (1). Exemplos de veículos inertes adequados são a água; tampões aquosos, tais como aqueles que são geralmente utilizáveis na análise por Cromatografia Líqui-

da de Alta Resolução (HPLC); dissolventes orgânicos, como o acetonitrilo, acetato de etilo, hexano e afins; e veículos ou excipientes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

Mais concretamente, a presente invenção proporciona composições farmacêuticas que contêm uma quantidade imunossupressora eficaz de um composto de fórmula geral (1) em mistura ou outro tipo de associação com um ou mais veículos ou excipientes aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

As composições farmacêuticas são preparadas de modo conhecido na técnica farmacêutica. O veículo ou excipiente pode ser um material sólido, semi-sólido ou líquido, que pode servir como veículo ou meio para o ingrediente activo. Os veículos ou excipientes adequados são bem conhecidos neste campo. A composição farmacêutica pode adaptar-se ao uso oral ou parentérico, incluindo a aplicação tópica, e pode ser administrada ao paciente sob a forma de comprimidos, cápsulas, supositórios, soluções, suspensões, etc.

Os compostos de acordo com a presente invenção, podem administrar-se oralmente, por exemplo, com um diluente inerte ou com um veículo comestível. Podem ser acondicionados em cápsulas de gelatina ou prensados sob a forma de comprimidos. Para efeitos de administração terapêutica oral, podem incorporar-se estes compostos em excipientes e usar-se sob a forma de comprimidos, pastilhas, cápsulas, elixires, suspensões, xaropes, hóstias, gomas de mascar, etc. Estas preparações devem conter pelo menos 4% do composto de acordo com a presente invenção, o ingrediente activo, podendo esta percentagem variar, dependendo da forma farmacêutica específica, entre 4% e cerca de 70% do peso da unidade. A quantidade de composto presente nas composições será tal que

se obtenha uma dosagem apropriada. Preferem-se as composições e preparações de acordo com a presente invenção, preparadas de modo a que uma unidade de dosagem oral contenha 5,0 a 300 miligramas de um composto de acordo com a presente invenção.

Os comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas, etc. podem também conter um ou mais dos seguintes adjuvantes: agregantes, tais como a celulose microcristalina, goma tragacanto ou gelatina; excipientes, tais como o amido ou a lactose; agentes desagregantes tais como o ácido algínico, Primogel, amido de milho e afins; lubrificantes, tais como o estearato de magnésio ou Sterotex; deslizantes, tais como o dióxido de silício coloidal; podendo adicionar-se agentes edulcorantes, tais como a sacarose ou a sacarina ou um agente aromatizante tal como a hortelã-pimenta, salicilato de metilo ou aroma de laranja. Quando a unidade de dosagem é uma cápsula, esta pode conter, adicionalmente aos materiais anteriormente descritos, um veículo líquido, tal como o polietilenoglicol ou um óleo gordo. Outras unidades de dosagem podem conter outros materiais que modifiquem a forma física da unidade de dosagem, por exemplo, como revestimentos. Assim, os comprimidos ou as pílulas podem ser revestidos com açúcar, goma-laca ou outros agentes de revestimento entérico. Um xarope pode conter, adicionalmente aos presentes compostos, sacarose como agente edulcorante e determinados conservantes, corantes e aromatizantes. Os produtos usados na preparação destas composições devem ser puros, do ponto de vista farmacêutico e não tóxicos nas quantidades usadas.

Para efeitos de administração terapêutica parenteral, incluindo administração tópica, podem incorporar-se os compostos de acordo com a presente invenção, numa solução ou suspen-

são. Estas preparações devem conter pelo menos 0,1% de um composto de acordo com a presente invenção, percentagem esta que pode variar entre 0,1 e cerca de 50% do peso da preparação. A quantidade de composto de acordo com a presente invenção, existente nestas composições, permite obter uma dosagem apropriada. As composições e preparações preferidas, de acordo com a presente invenção, são preparadas de modo a que a unidade de dosagem parentérica contenha 5,0 a 100 miligramas do composto da presente invenção.

As soluções ou suspensões podem também conter um ou mais dos seguintes adjuvantes: diluentes estéreis, tais como água para injectáveis, solução salina, óleos fixos, polietileno glicóis, glicerina, propilenoglicol ou outros dissolventes sintéticos; agentes anti-bacterianos, tais como o álcool benzílico ou o metil-parabeno; anti-oxidantes, tais como o ácido ascórbico ou o bissulfito de sódio; agentes quelantes, tais como o ácido etilendiaminatetracético; tampões, tais como acetatos, citratos ou fosfatos; e agentes para ajustamento da tonicidade, tais como o cloreto de sódio ou a dextrose. A preparação parentérica pode ser acondicionada em ampolas, seringas descartáveis ou frascos-ampolas multidose, de vidro ou plástico.

Tal como acontece com qualquer grupo de compostos estruturalmente relacionados que possuem uma determinada utilidade genérica, preferem-se determinados grupos e configurações para os compostos de fórmula geral (1) na sua utilização final. Geralmente, preferem-se os compostos de fórmula geral (1) na qual Y_3 representa um átomo de azoto. Geralmente, preferem-se os compostos de fórmula geral (1) na qual Y_7 representa um átomo de azoto. Geralmente, preferem-se os compostos de fórmula ge

ral (1) na qual Y_8 representa um grupo CH. Geralmente, preferem-se os compostos de fórmula geral (1) na qual Y_9 representa um átomo de azoto. E ainda, prefere-se geralmente compostos de fórmula geral (1) na qual Q representa um grupo NH_2 e Z representa um átomo de hidrogênio.

Preferem-se particularmente os seguintes compostos de fórmula geral (1):

Cloridrato de (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxiciclopentano

Cloridrato de (1R,3S)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxiciclopentano

Os estudos que se seguem ilustram a utilidade dos compostos de fórmula geral (1). Entende-se que estes estudos são apenas ilustrativos e não se pretende que os mesmos limitem o âmbito da invenção, em algum sentido. Tal como aqui se usam, os termos que se seguem têm os significados que se indicam: " μM " refere-se a concentração micromolar; "Unidades" refere-se à medida de proteína internacionalmente aceite; "S.D." refere-se ao desvio-padrão; "nmole" refere-se a nanomoles; "ng" refere-se a nanogramas.

Isolaram-se macrófagos peritoneais de rato e desenvolveram-se em cultura celular, tal como descrevem Edwards et al. [Science, 239 (1988) 769]. Incubaram-se os macrófagos com zymosan opsonizado (3mg/ml), o qual actua como estímulo em partículas, e interferão γ recombinante de rato (rrIFN- γ) (1000 unidades/ml), que actua como uma linfoquina activadora, na presença de várias concentrações de (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxiciclopentano (0 a 1000 μM). Determinou-se o grau de iniciação ("priming") dos macrófagos usando o ensaio do Anião Superóxido (O_2^-) como descreveu Edwards et al. [Science, 239 (1988) 769]. Os resultados deste estudo mostram que o (1S,3R)-Cis-1-(9-ade-

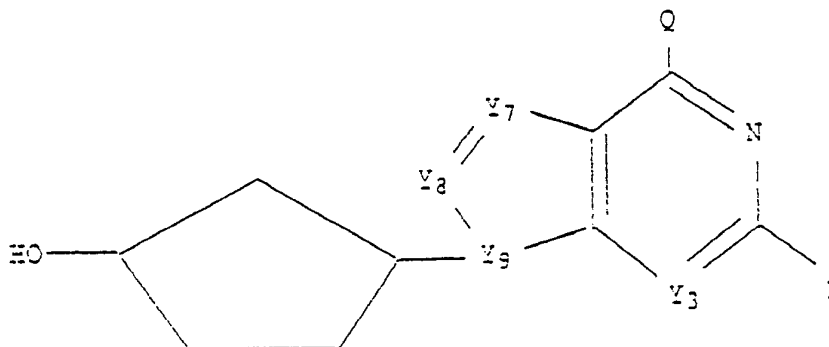
nil)-3-hidroxi-4-ciclopenteno inibe eficazmente a iniciação dos macrófagos de rato, in vitro, com uma CI_{50} de 2,5 μM .

Foi usado o modelo de inflamação da bolsa de ar do rato para obter PMN usando 25ng/bolsa de interleucina-1 humana recombinante (rHuIL-1) para eliciar as células, essencialmente de acordo com o método de Esser et al. [Internat. J. Tissue Reactions, XI (1989) 291]. Incubaram-se PMN com acetato de miristato de forbol (PMA) (200ng/ml), que actua como um estímulo solúvel, e rrIFN- γ (1000 unidades/ml), que actua como uma linfocina estimuladora, ou rHuIL-1 (500 Unidades/ml), que actua como uma citocina estimuladora, na presença de várias concentrações de (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxíciclopentano (0 a 1000 μM). Determinou-se o grau de iniciação de macrófagos usando o ensaio do Anião Superóxido, tal como descrevem Edwards et al. [Science, 239(1988)769]. Os resultados deste estudo demonstram que o (1S,3R)-Cis-1-(9-adenil)-3-hidroxíciclopentano inibe eficazmente a iniciação ("priming") de rrIFN- γ dos PMN de Rato, in vitro, com uma CI_{50} de 0,001 μM e inibe eficazmente a iniciação de rHuIL-1 dos PMN de rato, in vitro, com uma IC_{50} de 0,001 μM .

4.

REIVINDICAÇÕES

1.- Processo para a preparação de compostos de fórmula geral





na qual

o substituinte hidroxil apresenta, no núcleo ciclopentanílico, a configuração cis relativamente ao substituinte bicíclico;

Y_3 , Y_7 , Y_8 e Y_9 representam, cada um, independentemente, um átomo de azoto ou um grupo CH; e

Q e Z representam, cada um, independentemente, um átomo de hidrogénio ou de halogéneo ou um grupo NH_2 ,

ou dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, caracterizado pelo facto de se submeter o derivado ciclopentenílico correspondente a hidrogenação catalítica.

2.- Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se realizar a hidrogenação catalítica na presença de dióxido de platina.

3.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de (1S,3R)-cis-1(9-adenil)-3-hidroxiciclopentano, caracterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

4.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de (1R,3S)-cis-1(9-adenil)-3-hidroxiciclopentano, ca-

racterizado pelo facto de se utilizarem compostos iniciais correspondentemente substituídos.

5.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas apropriadas para o tratamento da rejeição de um aloenxerto ou de doenças autoimunitárias, tais como diabetes mellitus insulino-dependente, esclerose múltipla, artrite reumatóide, lupus eritematoso sistémico ou miastenia gravis, caracterizado pelo facto de se misturar uma quantidade eficaz sob o ponto de vista terapêutico de um composto de fórmula geral I preparado pelo processo de acordo com a reivindicação I com acção supressora da resposta imunitária do doente a tratar, com um ou mais veículos ou excipientes inertes aceitáveis em farmácia.

6.- Método para o tratamento da rejeição de um aloenxerto ou de doenças imunitárias tais como diabetes mellitus insulino-dependente, esclerose múltipla, artrite reumatóide, lupus eritematoso sistémico ou miastenia gravis, caracterizado pelo facto de se administrar, diariamente, a um doente uma quantidade eficaz sob o ponto de vista imunossupressor, compreendida entre 0,1 e 500 mg/Kg de peso do corpo do doente, de um composto de fórmula geral I, preparado pelo processo de acordo com a reivindicação I, com acção supressora da resposta imunitária des

4.

se doente.

Agente Oficial da Propriedade Industrial

[Handwritten signature]