

MEMÓRIA DESCRITIVA
DA
PATENTE DE INVENÇÃO
Nº 95 510

NOME: UNIVERSITY OF BIRMINGHAM, Universidade, com sede em
PO Box 363, Birmingham B15 2TT, Reino Unido

EPÍGRAFE: "Processo de preparação de pirimidina 4'-tionucleó-
sidos e de composições farmacêuticas que os con-
têm"

INVENTORES: Richard Walker, Paul Coe e Saad George Rahim

Reivindicação do direito de prioridade (ao abrigo do artigo
4º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883):

Reino Unido em 4 de Outubro de 1989 sob os nºs. 8922322.6;
8922393.7 e 8922397.8

71 613
61249

PATENTE Nº. 95 510

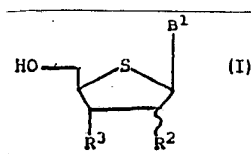
"Processo de preparação de pirimidina
4'-tionucleósidos e de composições
farmacêuticas que os contêm"

para que

UNIVERSITY OF BIRMINGHAM, pretende
obter privilégio de invenção em Por-
tugal.

R E S U M O

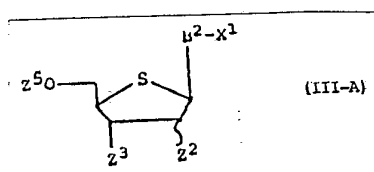
O presente invento refere-se ao processo de preparação de
pirimidina 4'-tionucleósidos de fórmula (I)



na qual B¹ é uma base pirimidina;
e (a) R² é hidrogénio e R³ é hidroxí ou fluoro,
ou (b) R² é hidroxí e R³ é hidrogénio, hidroxí ou fluoro,
ou (c) R² é fluoro e R³ é hidrogénio ou hidroxí,
ou (d) R² e R³, em conjunto, formam uma ligação carbono-carbono;
e dos seus derivados fisiologicamente funcionais.

O processo compreende:

A) a reacção de um composto de fórmula (III-A)



com reagente(s) que sirva(m) para converter o grupo X¹ no grupo X
desejado;

71 613

61249

-2-

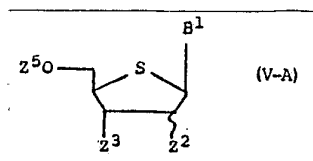
B) a reacção de um composto de fórmula (IV-A)

B^1 (IV-A)

H

ou de uma sua forma protegida, com um derivado de 4-tio-açúcar que sirva para introduzir a parte 4-tio-açúcar, ou uma sua forma protegida, na posição 1- da base B^1 ;

C) a reacção de um composto de fórmula (V-A)



sob condições e/ou com um reagente que sirvam para converter os grupos Z^2 e/ou Z^3 nos correspondentes grupos R^2 e/ou R^3 .

O invento refere-se ainda ao processo de preparação de composições farmacêuticas contendo aqueles compostos.

Os compostos preparados pelo processo do invento são úteis no tratamento de infecções virais.

71 613

61249



-3-

MEMÓRIA DESCRITIVA

O presente invento diz respeito a pirimidina-nucleósidos e à sua utilização em terapia médica, particularmente para o tratamento ou profilaxia de infecções virais.

Dentre os vírus de ADN, os do grupo herpes são as fontes das doenças virais humanas mais comuns. O grupo, inclui o vírus herpes simplex (HSV), o vírus varicela-zóster (VZV), o citomegalovírus (CMV); o vírus de Epstein-Barr (EBV) e o vírus do herpes humano 6 (HHV6). O HSV 1 e o HSV 2 são alguns dos agentes infecciosos mais comuns, do homem. A maior parte destes vírus, está apta a persistir nas células nervosas do hospedeiro; uma vez infectados, os indivíduos correm o risco de recorrência das manifestações clínicas da infecção, o que pode ser física e psicologicamente desgastante.

A infecção por HSV é, frequentemente, caracterizada por lesões extensas e debilitantes da pele, na boca e/ou nos órgãos genitais. As infecções primárias, podem ser subclínicas, embora tendam a ser mais graves do que as infecções em indivíduos já anteriormente expostos ao vírus. A infecção nos olhos, causada pelo HSV, pode dar origem a ceratite ou cataratas, pondo, por isso, em perigo, a visão do hospedeiro. As infecções no recém-nascido e em pacientes imuno-comprometidos, ou a penetração da infecção no sistema nervoso central, podem revelar-se fatais.

A transmissão do vírus, dá-se por contacto físico directo, entre um hospedeiro e um receptor; a propagação de infecções pelo HSV, é, portanto, considerada um problema social muito importante, sobretudo porque não está ainda disponível uma vacina eficaz.

O vírus varicela-zóster (VZV), é um vírus herpes que provoca varicela e herpes-zóster. A varicela, é a doença primária produzida num hospedeiro sem imunidade e, em crianças pequenas e, em regra, uma doença ligeira, caracterizada por erupção vesicular da pele e febre. O herpes-zóster, é a forma recorrente da doença, que ocorre em adultos que tenham sido previamente infectados com o vírus varicela-zóster. As manifestações clínicas do herpes-



-zóster, caracterizam-se por nevralgias e uma erupção vesicular da pele, com distribuição unilateral e dermatomal. A extensão da inflamação, pode conduzir a paralisia ou convulsões. Pode ocorrer um estado de coma se as meninges forem afectadas. Em pacientes imunodeficientes, o VZV pode disseminar-se, causando doenças graves ou mesmo fatais. O VZV é um problema grave, em pacientes que estejam a receber drogas imunossupressoras, para serem submetidos a transplantações ou para o tratamento de neoplasia maligna, e é uma complicação grave em pacientes com SIDA, devido ao seu sistema imunológico enfraquecido.

De comum com outros virus herpes, a infecção com o CMV dá origem a uma associação vitalícia do virus e do hospedeiro e, depois da infecção primária, pode ficar latente durante alguns anos. A infecção congénita, que se segue à infecção da mãe durante a gravidez, pode provocar efeitos clinicos, como a morte ou doenças graves (microcefalia, hepatosplenomegalia, ictericia, atraso mental), retinite, conduzindo à cegueira ou, em formas menos graves, a atrasos no crescimento e susceptibilidade a infecções no tórax e nos ouvidos. A infecção pelo CMV, em pacientes imunocomprometidos, por exemplo, como resultado de doença maligna, tratamento com drogas imunossupressoras depois de uma transplantação, ou infecção com o virus da Imunodeficiência Humana, pode dar origem a retinite, pneumonite, desordens gastrintestinais e doenças neurológicas. A infecção pelo CMV, em pacientes com SIDA, é uma causa de morbilidade predominante, uma vez que, em 50-80% da população adulta, está presente numa forma latente, podendo ser reactivado em pacientes imunocomprometidos.

O virus de Epstein-Barr (EBV) causa mononucleose infecciosa e é também apontado como o agente causal do cancro nasofaríngeo, do linfoma imunoblástico, do linfoma de Burkitt e da leucoplasia "hairy".

O HBV, é um virus patogénico da maior importância, em todo o mundo. O virus está associado, etiologicamente, com o carcinoma hepato-celular primário e pensa-se que cause 80% dos cancros no figado, a nível mundial. Nos Estados Unidos, mais de dez mil

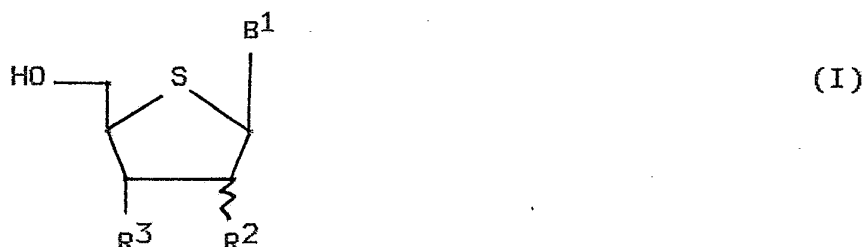
71 613

61249

-5-

pessoas são hospitalizadas todos os anos, devido a doença relacionada com o HBV e, em média, morrem 250 devido a doença fulminante. Existem, nos Estados Unidos, cerca de 500 000 - 1 000 000 de portadores infecciosos. A hepatite crónica activa desenvolve-se, em geral, em mais de 25% dos portadores, progredindo frequentemente, para cirrose. Os efeitos clínicos da infecção com o HBV, variam desde dor de cabeça, febre, mal-estar, náuseas, vômitos, anorexia e dores abdominais. A replicação do vírus é, normalmente, controlada pela resposta imunitária, com um período de recuperação que se prolonga por semanas ou meses, no ser humano, mas a infecção pode ser mais grave, originando uma doença crónica persistente do fígado, tal como foi referido acima.

Descobriu-se, recentemente, que certos pirimidina-4'-tio-nucleósidos têm uma actividade potente, contra os vírus de herpes. O presente invento diz, portanto, respeito, a pirimidina-4'-tio-nucleósidos, com a fórmula (I)



na qual B¹ é uma base pirimidica;

e (a) R² é hidrogénio e R³ é hidroxí ou fluoro,

ou (b) R² é hidroxí e R³ é hidrogénio, hidroxí ou fluoro,

ou (c) R² é fluoro e R³ é hidrogénio ou hidroxí,

ou (d) R² e R³ formam, em conjunto, uma ligação carbono-carbono,

e seus derivados fisiologicamente funcionais,

com a condição de que quando R² é hidrogénio e R³ é hidroxí, B¹ não seja uma base pirimidica de fórmula (X)



71 613

61249

-6-

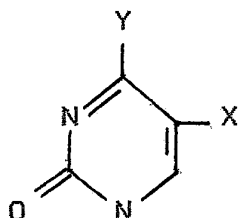
na qual Y^1 é hidroxí ou amino e X^1 é cloro, bromo, iodo, trifluorometilo, alquilo C_{2-6} , alcenilo C_{2-6} , haloalcenilo C_{2-6} ou alcinilo C_{2-6} .

Os compostos excluídos da condição anterior são os descritos e reivindicados por nós, no nosso pedido co-pendente, EP-A-90307820.2, depositado em 17 de Julho 1990 (pedido português nº. 94 731).

Na fórmula (I) a ligação a R^2 é apresentada como " $\angle$ " para indicar que R^2 , quando é hidroxí ou fluoro, pode estar na configuração α ou β .

Quando aqui usado o termo "base pirimídica" refere-se a qualquer base azotada que compreende o núcleo pirimidina e que tem substituintes em qualquer uma ou mais, das posições 2, 3, 4, 5 e/ou 6. Os substituintes na posição 2 incluem um átomo de enxofre no lugar do grupo oxo.

Bases pirimídicas, particulares, incluem as bases de fórmula (II)



(II)

na qual Y é hidroxí ou amina, monoalquilamino ou dialquilamino e X é halogéneo, alcoxi, alquilo, halo, alcenilo, haloalcenilo, alcinilo, amino, monoalquilamino, dialquilamino, ciano ou nitro.

Preferir-se-á que, em virtude da definição do grupo Y, as bases de fórmula (II), sejam derivados do uracilo ou da citosina.

Na definição da fórmula (II), as referências a grupos alquilo incluem grupos que, quando contêm pelo menos três átomos de carbono, podem ser ramificados ou cíclicos, mas que, de preferência, serão lineares (os grupos alquilo particulares incluem o etilo); as referências a grupos alcenilo incluem grupos alcenilo C_{2-6} ; os grupos alcenilo podem estar na forma E- ou Z-

71 613

61249

-7-

ou ser uma mistura de ambos e que contêm pelo menos três átomos de carbono, podem ser ramificados, embora sejam, de preferência, lineares; e as referências a grupos alcinilo incluem grupos alcinilo C_{2-6} ; grupos alcinilo que contêm pelo menos quatro átomos de carbono, podem ser ramificados, mas que são preferencialmente lineares; grupos alcenilo particulares, incluem o vinilo e o E-(1-propenilo), e os grupos alcinilo específicos incluem o etinilo e o 1-propinilo. As referências a alcoxi incluem grupos alcoxi C_{1-6} ; os grupos alcoxi que contêm pelo menos três átomos de carbono podem ser ramificados mas são, de preferência, lineares. As referências a halogéneo incluem flúor, cloro, bromo e iodo. As referências a grupos substituídos por halogéneo, incluem grupos substituídos por cloro, ^{bromo,} iodo e flúor, e grupos substituídos por dois ou mais halogéneos, que podem, ou não, ser os mesmos, por exemplo, grupos substituídos por per-halo (grupos halo-alquilo particulares incluem trifluorometilo, grupos halo-alcenilo particulares incluem o E-(2-bromovinilo)). As referências a grupos alquilamino e dialquilamino incluem grupos alquil- C_{1-6} -amino e di(alquil- C_{1-6}) amino; os grupos alquilo podem ser ramificados, mas são, de preferência, lineares. As referências a grupos dialquilamino incluem grupos amino em que os substituintes alquilo são diferentes.

Os compostos preferidos de fórmula II, incluem aqueles em que o grupo X é alquilo ou halo-alcenilo C_{2-4} , ou alcenilo ou alcinilo C_{3-4} . Os grupos halo-alcenilo preferidos, são grupos halo-alcenilo de cadeia linear, contendo um único grupo halogéneo no carbono terminal. Também preferidos, são os grupos halo-alcenilo contendo uma ligação dupla na posição 1. Dentre esses compostos, são preferidos os que possuem um grupo 2-halo-vinilo na configuração E.

São compostos de fórmula (I) aqueles em que

- (a) R^2 é hidrogénio e R^3 é hidroxí ou fluoro ou
- (b) R^2 e R^3 são ambos hidrogénio ou ambos hidroxí, ou
- (c) R^2 é α -fluoro ou β -fluoro e R^3 é hidrogénio ou α -hidroxí, ou
- (d) R^2 e R^3 formam em conjunto uma ligação carbono-carbono

71 613

61249

-8-

(dando uma porção 4-hidroximetil-1,4-di-hidrotiofenilo).

Os compostos específicos de fórmula (I) são aqueles em que B¹ é uma base pirimidica de fórmula II seleccionada de entre:

1. 5-Iodo-uracilo
2. 5-Iodocitosina
3. 5-Etiniluracilo
4. 5-(1-Propinil)-uracilo
5. 5-Viniluracilo
6. E-5-(2-Bromovinil)-uracilo
7. 5-(2-cloroetil)-uracilo
8. E-5-(1-propenil)-uracilo
9. 5-Etiluracilo
10. 5-Trifluorometiluracilo
11. 5-Nitro-uracilo
12. 5-Amino-uracilo
13. 5-Metoxi-uracilo
14. 5-Ciano-uracilo

e o 4-tiopentofuranósido é seleccionado entre os resíduos de:

1. Tio-D-ribofuranose
2. 4-Tio-D-arabinofuranose
3. 2-Desoxi-4-tio-D-ribofuranose
4. 2,3-Didesoxi-4-tio-D-pentenofuranose
5. 2,3-Didesoxi-4-tio-D-ribofuranose
6. 2-Fluoro-4-tio-D-arabinofuranose
7. 2-Fluoro-4-tio-D-ribofuranose
8. 2,3-Didesoxi-3-fluoro-4-tio-D-ribofuranose

Os derivados dos compostos de fórmula I incluem as sulfonas e sulfóxidos correspondentes. Os compostos de fórmula (I) preferidos são:

- 5-(2-cloroetil)-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
- 5-nitro-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
- 5-amino-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
- 5-metilamino-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
- 5-iodo-4'-tio-uridina;

71 613

61249

-9-

5-etinil-4'-tio-uridina;
E-5-(2-bromovinil)-4'-tio-uridina;
5-etinil-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
5-etil-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
5-(prop-1-inil)-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
E-5-(2-bromovinil)-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
1-(2-fluoro-4-tio- β -D-arabinofuranosil)-5-metil uracilo;
1-(2-fluoro-4-tio- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina;
1-(2,3-didesidro-2,3-didesoxi-4-tio-D-ribofuranosil)-5-metiluracilo; e
2'-desoxi-2'-fluoro-4'-tiocitidina.

Os compostos que se seguem são conhecidos:

1. 1-(2-desoxi-4-tio- β -D-eritro-pentofuranosil)-5-fluoro-uracilo;
2. 4'-tiocitidina;
3. 2'-desoxi-5-fluoro-4'-tio-uridina;
4. 2',3'-diacetato de 5-cloro-4'-tio-uridina;
5. 2',3'-diacetato de 5-fluoro-4'-tio-uridina;
6. 5-cloro-4'-tio-uridina;
7. 5-fluoro-4'-tio-uridina;
8. 5-iodo-4'-tio-uridina;
9. 5-bromo-4'-tio-uridina;
10. 1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)citosina;
11. 1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)timina;
12. 1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
13. hidrocloreto de 4'-tiocitidina;
14. 4'-tio-uridina;
15. 5-metil-4'-tio-uridina;

não se reivindicam qualquer destes compostos per se.

Dever-se-á notar que os compostos de fórmula (I) podem existir em várias formas tautoméricas.

Os derivados mencionados acima, incluem os sais farmacêuticamente aceitáveis, ésteres e sais de ésteres, ou qualquer outro composto que, administrado a um ser humano, seja capaz de proporcionar (directa ou indirectamente) o metabolito antiviral-



mente activo ou um seu residuo.

Os mono- e di-ésteres preferidos de acordo com o invento, incluem ésteres de ácidos carboxílicos, nos quais a porção não carbonílica do grupo éster, é seleccionada de entre alquilo de cadeia linear ou ramificada (por exemplo, t-butilo); grupos alquilo cíclicos (por exemplo, ciclo-hexilo); grupos alcóxialquilo (por exemplo, metoximetilo), carboxialquilo (por exemplo, carboxietilo), arilalquilo (por exemplo, benzilo), ariloxialquilo (por exemplo, fenoximetilo), arilo (por exemplo, fenilo, opcionalmente substituído por halogéneo, alquilo C₁₋₄ ou alcóxi C₁₋₄); ésteres sulfonato, tais como alquil- ou arilalquilsulfonilo (por exemplo, metanossulfonilo); ésteres mono-, di- ou tri-fosfato, bloqueados ou não, ésteres de aminoácidos e ésteres do tipo nitrato. Relativamente aos ésteres descritos acima, e desde que não seja especificado doutro modo, qualquer porção alquilo, neles presente, conterà, com vantagem, 1 a 18 átomos de carbono, particularmente 1 a 4 átomos de carbono, no caso de grupos alquilo de cadeia linear, ou 3 a 7 átomos de carbono, no caso de grupos alquilo ramificados ou cíclicos. Qualquer porção arilo presente em tais ésteres compreenderá, com vantagem, um grupo fenilo. Qualquer referência a qualquer um dos compostos citados acima incluirá uma referência a um seu sal fisiologicamente aceitável.

Sais de acordo com o invento, que podem ser convenientemente usados em terapia, incluem sais fisiologicamente aceitáveis de uma base, por exemplo, derivados de uma base apropriada, tais como sais de metais alcalinos (por exemplo, sódio) e de metais alcalino-terrosos (por exemplo, magnésio), e sais de amónio e NR₄ (onde R é um alquilo C₁₋₄). Quando Y representar um grupo amino, os sais incluirão sais fisiologicamente aceitáveis resultantes da adição de um ácido, incluindo os sais hidrocloreto e os acetatos.

Tais nucleósidos e seus derivados, serão referidos a seguir como "compostos de acordo com o invento". A expressão "ingrediente activo", como usada a seguir, referir-se-á a um composto

71 613

61249

-11-

de acordo com o invento, a não ser que o contexto exija outra interpretação.

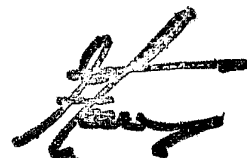
O presente invento, inclui ainda:

- a) compostos de acordo com o invento, para uso no tratamento ou na profilaxia de infecções virais, em particular, infecções por vírus herpes, como as que foram mencionadas acima e, particularmente, infecções pelos HSV, VZV ou CMV.
- b) um método para o tratamento ou a profilaxia de uma infecção pelo vírus herpes, como as que foram mencionadas acima, num mamífero, incluindo o homem, em particular, infecções pelos HSV, VZV ou CMV, o que compreende o tratamento de um sujeito, com uma quantidade não-tóxica, eficaz, de um composto de acordo com o invento.
- c) a utilização de um composto de acordo com o invento, na manufactura de um medicamento, para uso no tratamento ou na profilaxia de uma infecção pelo vírus herpes, como as que foram mencionadas acima, em particular as infecções pelos HSV, VZV ou CMV.

Os exemplos das condições clínicas que podem ser tratadas de acordo com o invento, incluem as infecções provocadas pelos HSV 1 e 2, VZV, CMV ou HBV, descritas acima.

Verificamos que os compostos de acordo com o invento, apresentam biodisponibilidade elevada, por via oral, e reduzida toxicidade. Isto dá origem a compostos com um índice terapêutico favorável.

Os compostos de acordo com o invento, podem ser administrados a mamíferos, incluindo o homem, por qualquer via, adequada ao estado a tratar, as vias adequadas incluindo as vias oral, rectal, nasal, tópica (incluindo bucal e sublingual), vaginal e parenteral (incluindo as vias subcutânea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal e epidural). Será apreciado que a via preferida possa variar com, por exemplo, o estado do receptor.



Para cada uma das finalidades e indicações referidas acima, a quantidade requerida, dos ingredientes activos, dependerá de um conjunto de factores, incluindo a gravidade do estado a tratar e as características do receptor, sendo, em última instância, fixada segundo o critério do médico assistente. Contudo em geral para cada uma dessas finalidades e indicações, a dose eficaz adequada estará na gama de 0,1 a 250 mg, por quilograma de peso corporal do receptor, por dia, de preferência na gama de 1 a 100 mg, por quilograma de peso corporal, por dia, e, muito preferivelmente, na gama de 5 a 30 mg, por quilograma de peso corporal, por dia; uma dose óptima, é cerca de 15 mg, por quilograma de peso corporal, por dia (a não ser que se indique doutra forma, todos os pesos de ingredientes activos são expressos em termos do composto-mãe; para os seus sais e ésteres, os valores serão acrescidos proporcionalmente). A dose pretendida pode, se desejado, ser apresentada na forma de duas, três, quatro ou mais sub-doses, administradas em intervalos apropriados ao longo do dia. Essas sub-doses, podem ser administradas em formas de dosagens unitárias, contendo, por exemplo, de 10 a 1000 mg (de preferência, de 20 a 500 mg e, muito preferivelmente, de 100 a 400 mg), do ingrediente activo, por cada forma de dosagem unitária.

Embora estes compostos possam ser administrados sozinhos, é preferível apresentá-los como formulações farmacêuticas. As formulações do presente invento compreendem pelo menos um ingrediente activo, tal como foi definido acima, juntamente com um ou mais dos seus veículos aceitáveis e, opcionalmente, outros ingredientes terapêuticos. O(s) veículo(s) têm de ser "aceitáveis", no sentido de serem compatíveis com os outros ingredientes da formulação e de não serem nocivos aos receptores.

As formulações, incluem formulações adequadas para administração oral, rectal, nasal, tópica (incluindo bucal e sub-lingual), vaginal ou parenteral (incluindo subcutânea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal e epidural). As formulações, podem ser apresentadas em formas de dosagens unitárias, conforme for conveniente, e podem ser preparadas através de qualquer dos métodos bem conhecidos na arte farmacêu-



tica. Esses métodos, incluem o passo de associação do ingrediente activo com o veículo, sendo este constituído por um ou mais ingredientes acessórios. Em geral, as formulações são preparadas associando, íntima e uniformemente, o ingrediente activo, com veículos líquidos ou veículos sólidos, finamente divididos, ou com ambos, e, a seguir, se necessário, moldando o produto.

As formulações do presente invento, adequadas para administração oral, podem ser apresentadas na forma de unidades discretas, como cápsulas, comprimidos ou pastilhas, contendo, cada uma, uma quantidade pré-determinada do ingrediente activo; na forma de pó ou grânulos; na forma de uma solução ou de uma suspensão, num líquido aquoso ou não-aquoso; ou na forma de uma emulsão líquida de óleo em água, ou de uma emulsão líquida de água em óleo. O ingrediente activo, também, pode ser apresentado na forma de um bolus, de electuário ou de pasta.

Um comprimido, pode ser produzido através de compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Os comprimidos obtidos por compressão, podem ser preparados, comprimindo numa máquina apropriada, o ingrediente activo que se apresenta numa forma ~~de sólido solto~~, como pó ou grânulos, e opcionalmente misturado com um ligante (por exemplo, povidona, gelatina, hidroxipropilmetilcelulose), um lubrificante, um diluente inerte, um conservante, um desintegrante (por exemplo, glicolato de amido e sódio, povidona reticulada, sal de sódio da carboximetilcelulose reticulada), ou agentes tensioactivos ou dispersantes. Os comprimidos moldados, podem ser feitos numa máquina apropriada, moldando uma mistura do composto pulverizado e humedecido, com um diluente líquido inerte. Os comprimidos, podem ser, opcionalmente, revestidos ou entalhados, e podem ser formulados de forma a que assegurem uma libertação lenta ou controlada do seu ingrediente activo, usando, por exemplo, hidroxipropilmetilcelulose, em diversas proporções, para se obter o perfil de libertação desejado.

Para as infecções dos olhos ou de outros tecidos externos, por exemplo, a boca e a pele, as formulações são aplicadas, de



preferência, na forma de um unguento ou um creme tópicos contendo o ingrediente activo em quantidades de, por exemplo, 0,075 a 20% p/p, de preferência, 0,2 a 15% p/p, e, mais preferivelmente de 0,5 a 10% p/p. Quando formulados num unguento, os ingredientes activos podem ser usados em conjunto com uma base de unguento, parafínica ou miscível com água. Em alternativa, os ingredientes activos podem ser formulados num creme, com um base de creme de óleo-em-água.

Se for desejado, a fase aquosa, da base de creme pode incluir, por exemplo, pelo menos 30% p/p de um poliol, isto é, um álcool contendo dois ou mais grupos hidroxilo, como o propileno-glicol, o butano-1,3-diol, o manitol, o sorbitol, o glicerol e o polietileno-glicol, e suas misturas. É desejável, que as formulações tópicas incluam um composto que aumente a absorção ou penetração do ingrediente activo através da pele ou de outras áreas afectadas. O dimetilsulfóxido e seus análogos relacionados estão incluídos nos exemplos desses incrementadores da penetração dérmica.

A fase oleosa das emulsões deste invento, pode ser constituída a partir de ingredientes conhecidos e através de um processo conhecido. Embora esta fase possa compreender apenas um emulsionante (também conhecido como emulgente), é desejável que compreenda uma mistura de, pelo menos, um emulsionante com uma gordura ou um óleo, ou ambos. De preferência, é incluído um emulsionante hidrofílico juntamente com um emulsionante lipofílico o qual actua como estabilizador. É, também, preferível incluir um óleo, e uma gordura. Em conjunto o(s) emulsionante(s), com ou sem estabilizador(es) adicionado(s), constituem a, assim designada, cera emulsionante, e o conjunto da cera com o óleo e/ou a gordura constitui a, assim designada, base emulsionante do unguento, que constitui a fase oleosa dispersa das formulações de cremes.

Os emulsionantes e os estabilizadores de emulsões, adequados para utilização na formulação do presente invento, incluem o Tween 60, Span 80, álcool cetosteárilico, álcool miristílico,

71 613

61249



-15-

mono-estearato de glicerilo e laurilsulfato de sódio.

A escolha de óleos ou gorduras adequados para a formulação, baseia-se na possibilidade de serem conseguidas as propriedades cosméticas desejadas, uma vez que é muito reduzida a solubilidade do composto activo na maioria dos óleos potencialmente utilizáveis na formulação de emulsões farmacêuticas. Assim, o creme deverá ser, preferencialmente, um produto não gorduroso, que não deverá manchar e que deverá ser lavável, com uma consistência adequada para evitar o seu derrame de tubos ou de outros recipientes. Podem ser usados ésteres alquílicos mono- ou dibásicos de cadeia linear ou ramificada, como di-iso-adipato, estearato iso-cetilico, di-éster do propileno-glicol com os ácidos gordos de côco, miristato isopropílico, oleato decílico, palmitato isopropílico, estearato butílico, palmitatos de 2-etil-hexilo ou uma mistura de ésteres de cadeia ramificada, conhecida como Crodamol CAP; os três últimos são os ésteres preferidos. Estes, podem ser utilizados sozinhos ou combinados, o que depende das propriedades requeridas. Em alternativa, podem ser usados lípidos de ponto de fusão elevado, como parafina branca mole e/ou parafina líquida ou outro óleo mineral.

As formulações adequadas, para administração tópica nos olhos, também incluem gotas para os olhos, em que o ingrediente activo está dissolvido ou suspenso num veículo adequado, sobretudo um solvente aquoso do ingrediente activo. O ingrediente activo está presente, nessas formulações, numa concentração preferencial de 0,5 a 20%, vantajosamente 0,5 a 10%, particularmente cerca de 1,5% p/p.

As formulações adequadas, para administração tópica na boca, incluem: trociscos, que compreendem o ingrediente activo e uma base aromatizada, usualmente sacarose e acácia ou tragacanto; pastilhas, que compreendem o ingrediente activo numa base inerte, como gelatina e glicerina, ou sacarose e acácia; e líquidos, para a higiene da boca, que compreendem o ingrediente activo num veículo líquido apropriado.

As formulações para administração rectal podem ser apresen-

71 613

61249

-16-



tadas na forma de supositórios, contendo uma base adequada, de manteiga de cacau ou de um salicilato por exemplo.

As formulações adequadas para administração nasal, em que o veículo é um sólido, incluem um pó grosseiro, com um diâmetro de partícula p.e. na gama 20 a 500 micron, que é administrado da mesma forma como se aspira o rapé, isto é, através de uma inalação rápida pela passagem nasal desde um recipiente que contém o pó e que se segura perto do nariz. Formulações adequadas para administração, por exemplo um pulverizador nasal ou gotas nasais, em que o veículo é um líquido incluem soluções aquosas ou oleosas do ingrediente activo.

As formulações adequadas, para administração vaginal, podem ser apresentadas na forma de pessários, tampões, cremes, geles, pastas, espumas ou formulações de pulverização, contendo os veículos conhecidos na arte como adequados, juntamente com o ingrediente activo.

As formulações adequadas, para administração parenteral, incluem soluções aquosas ou não aquosas estéreis, para serem injectadas, que podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostatos e solutos que tornam a formulação isotónica, em relação ao sangue do receptor previsto; e suspensões aquosas e não-aquosas estéreis, que podem incluir agentes de suspensão e agentes de espessamento, e lipossomas ou outros sistemas de micro-partículas, os quais são concebidos para dirigirem a acção do composto sobre componentes do sangue ou um ou mais órgãos. As formulações, podem apresentar-se em embalagens contendo doses unitárias ou contendo doses múltiplas, por exemplo, ampolas e frascos selados, e podem ser conservadas numa forma criodessecada (liofilizadas), necessitando apenas a adição do veículo líquido estéril, por exemplo água, no caso das injecções, imediatamente antes da utilização. As soluções e suspensões para injecção, podem ser preparadas extemporaneamente a partir de pós, grânulos e comprimidos estéreis, dos tipos descritos previamente.

As formas de dosagem unitária preferidas, são as que contêm uma unidade ou uma dose diária, uma sub-dose diária, como foi

71 613

61249

-17-

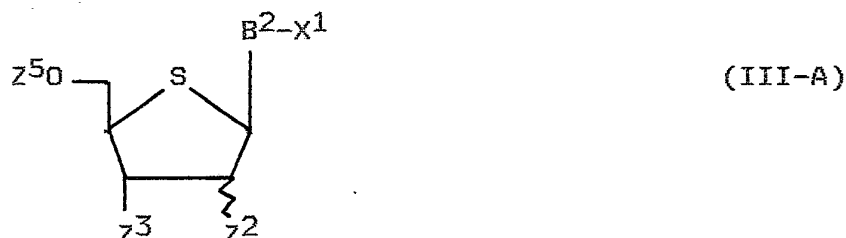
referido acima, ou uma sua fracção apropriada, de um ingrediente activo.

Deve ser entendido que além dos ingredientes especificamente mencionados acima, as formulações deste invento podem incluir outros agentes habituais nesta arte, tendo em atenção o tipo de formulação em questão, por exemplo, os aromatizantes podem estar incluídos nos agentes apropriados para administração oral.

Os compostos de fórmula (I), podem ser produzidos através de vários métodos, conhecidos na arte da química orgânica em geral e na da síntese dos nucleósidos em particular. As substâncias de partida, ou são conhecidas e rapidamente obteneveis de fornecedores comerciais, ou podem, elas próprias, ser produzidas através de técnicas conhecidas e habituais.

O presente invento proporciona, ainda, um processo para a produção de um composto de fórmula (I), tal como já foi aqui definida, processo esse que compreende:

A) a reacção de um composto de fórmula (III-A)



na qual X^1 é um precursor para um substituinte de uma base pirimidica, tal como definido em relação a B^1 na fórmula (I);

B^2 é uma pirimidina substituída pelo grupo X^1 ;

Z^2 e Z^3 são iguais ou diferentes e são grupo R^2 e R^3 tal como definido em relação à fórmula (I) ou hidroxilos protegidos; e

Z^5 é hidrogénio ou um grupo protector de hidroxilo com um reagente ou reagentes que servem para converter o grupo X^1 no grupo X desejado, tal como definido em relação à fórmula (II);

B) a reacção de um composto de fórmula (IV-A)

71 613

61249

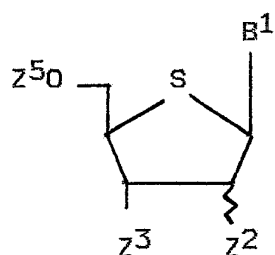
-18-



(IV-A)

ou uma sua forma protegida, com um derivado de um 4-tio-açúcar que serve para introduzir a porção 4-tio-açúcar, ou uma sua forma protegida, na posição 1 da base B^1 ;

C) a reacção de um composto de fórmula (V-A)



(V-A)

na qual

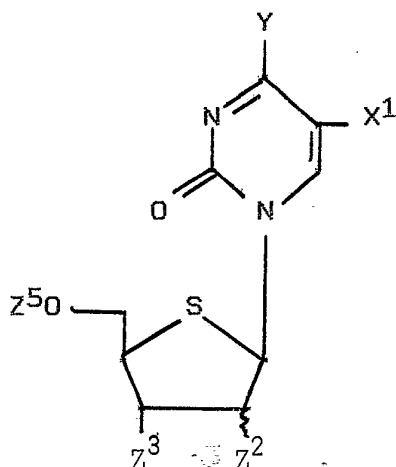
B^1 é uma base pirimídica como definida anteriormente;

Z^5 é hidrogénio ou um grupo protector de hidroxí e Z^2 e Z^3 são definidos como acima, onde pelo menos um de Z^2 e Z^3 representa um grupo precursor para o(s) grupo(s) R^2 e/ou R^3 na fórmula (I)

sob condições ou com um reagente que servem para converter os grupos Z^2 e/ou Z^3 nos respectivos grupos R^2 e/ou R^3 .

Quando B^1 é um composto de fórmula (II) os processos particulares que podem ser usados incluem:

D) a reacção de um composto de fórmula (III)



(III)

71 613

61249

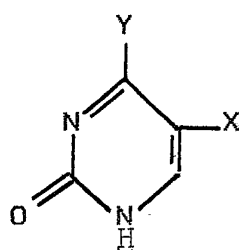
-19-

na qual X^1 é um precursor para o grupo X tal como definido em relação à fórmula (I);

Y é como definido em relação à fórmula (II);

Z^2 e Z^3 são iguais ou diferentes e são grupos R^2 e R^3 ou grupos hidroxilo protegidos e Z^5 é hidrogénio ou um grupo protector de hidroxilo, com um reagente ou reagentes que servem para converter o grupo X^1 no grupo X desejado;

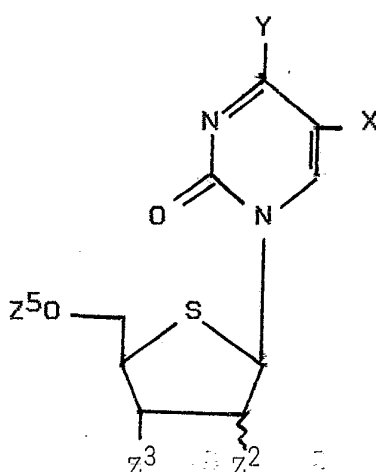
E) a reacção de um composto de fórmula (IV)



(IV)

na qual X e Y são como definidos em relação à fórmula (I) ou uma sua forma protegida, com um derivado de um 4-tio-açúcar que serve para introduzir a porção 4-tio-açúcar da fórmula (I), ou uma sua forma protegida, na posição 1 do composto de fórmula (IV);

F) a reacção de um composto de fórmula (V)



(V)

na qual X e Y são como definidos em relação à fórmula (I), Z^5 é um grupo protector de hidroxí ou hidrogénio; Z^2 e Z^3 são como definidos acima, onde pelo menos um de Z^2 e Z^3 representa um grupo precursor para o(s) grupo(s) R^2 e/ou R^3

na fórmula (I), sob condições ou com um reagente que servem para converter Z^2 e/ou Z^3 nos respectivos grupos R^2 e/ou R^3 .

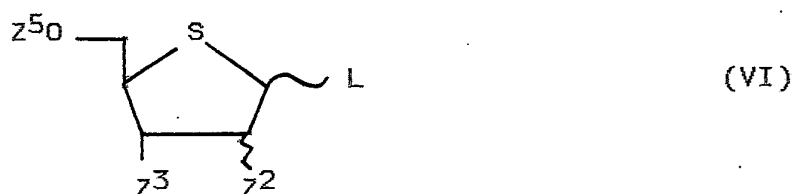
Quando necessário ou desejado, a seguir a um ou mais dos processos A a F anteriores, podem ser realizados um ou mais dos passos adicionais seguintes, em qualquer ordem desejada ou necessária:

- a) remoção de cada um dos grupos protectores,
- b) conversão de um composto de fórmula (I), ou de uma sua forma protegida, num outro composto de fórmula (I), ou numa sua forma protegida,
- c) conversão do composto de fórmula (I), ou de uma sua forma protegida, num derivado fisiologicamente aceitável do composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,
- d) conversão de um derivado fisiologicamente aceitável do composto de fórmula (I), ou de uma sua forma protegida, no composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,
- e) conversão de um derivado fisiologicamente aceitável do composto de fórmula (I) ou de uma sua forma protegida, num outro derivado fisiologicamente aceitável do composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,
- f) quando necessário, a separação dos anómeros α e β do composto de fórmula (I), ou de um seu derivado protegido ou de um derivado fisiologicamente aceitável de um composto de fórmula (I) ou de um seu derivado, e
- g) quando são necessários derivados 4'-sulfona ou sulfóxido da porção açúcar, oxidação parcial ou completa do enxofre da porção 4-tio-açúcar do composto de fórmula (I) correspondente, ou de uma sua forma protegida, ou de um composto de fórmula (II) ou de uma sua forma protegida, com uma quantidade limitada de um perácido, como o ácido m-cloroperbenzóico, ou com um excesso de um tal perácido para formar um derivado sulfóxido ou sulfona do composto de fórmula (I).

O termo "4-tio-açúcar" ou "composto 4-tio-açúcar" é aqui usado para referenciar um composto contendo um 4-tio-pentofuranósido opcionalmente substituído no qual o grupo 5-hidroxi está opcionalmente protegido, incluindo os substituintes opcionais nas posições 2 e 3, flúor e hidrogénio, e no qual a posição 1 está opcionalmente substituída por um grupo que se despede.

Os processos B e E podem ser realizados p.e. por qualquer um dos seguintes:

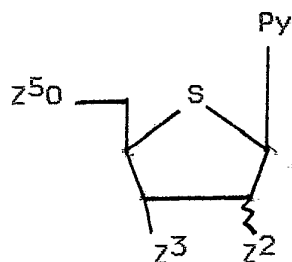
- a) reacção do composto de fórmula (IV) ou (IV-A), ou de uma sua forma protegida, com um composto 4-tio-açúcar de fórmula (VI)



na qual Z^2 , Z^3 e Z^5 são definidos como acima e L é um grupo que se despede, por exemplo halogénio, e.g. cloro, aciloxi (e.g. alcanoiloxi C_{1-6} como acetoxi), ou S-benzilo. O grupo Z^5 , por exemplo na fórmula (VI), é, preferivelmente, um grupo protector de hidroxi, particularmente um grupo benzilo ou toluilo. Quando Z^2 e Z^3 são grupos hidroxilo protegidos, os grupos protectores de hidroxi podem ser os definidos em relação a Z^5 .

A reacção pode ser realizada usando processos padrão incluindo o uso de um Ácido de Lewis como catalisador, como o cloreto ou o brometo mercúrico ou o cloreto estânico ou o trimetilsililtrifluorometano-sulfonato em solventes como acetonitrilo, 1,2-dicloroetano, diclorometano, clorofórmio ou tolueno a temperatura reduzida, ambiente ou elevada, como de -78°C até à temperatura do refluxo.

- b) Reacção do composto de fórmula (IV-A) ou (IV), ou uma sua forma protegida, com um composto de fórmula (VII)



(VII)

na qual z^2 , z^3 e z^5 são definidos como anteriormente e Py representa uma base pirimidica, na presença de um agente de sililação como a N,O-bis-(trimetilsilil)acetamida e na presença de um Ácido de Lewis como catalisador, como o trimetilsililtri fluorometano-sulfonato num solvente como o acetonitrilo. No composto de fórmula (VII), Py é, preferivelmente, a base uracilo ou timina.

O composto 4-tio-açúcar, pode ser produzido através de métodos convencionais, antes de ser acoplado com a base, ou derivado por modificação de uma outra porção açúcar, que já faz parte de um nucleósido. Nos exemplos, são descritos métodos específicos.

Serão descritos abaixo, métodos específicos para a produção de compostos de fórmula (I), conforme com os processos supra, os quais podem ser combinados, por forma a produzirem-se compostos adicionais, dentro dos limites da fórmula (I).

Pode ser feita referência aos textos seguintes:

Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry; Editores:

W.W. Zorbach, R.S. Tipson; Vol. 1, Interscience, 1973;

Nucleic Acid Chemistry - Improved and New Synthetic

Procedures, Methods and Techniques; Editores: L.B. Townsend e R.S. Tipson; 1ª. e 2ª. Partes, Wiley-Interscience, 1978 e 3ª. Parte, Wiley-Interscience, 1986;

Nucleoside Analogues-Chemistry, Biology and Medical

Applications; Editores R.T. Walker, E. De Clercq & F. Eckstein; NATO Advanced Study Institutes Series, Plenum Press, 1979;

Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry; Editores P.O.P. Ts'0; Academic Press, 1974.

No que diz respeito à utilização de grupos protectores, conforme foi referido acima, será apreciado que a natureza particular de tais grupos, dependerá da identidade e da natureza do(s) grupo(s) específico(s) a proteger, sendo aqueles, por isso, seleccionados, de acordo com as técnicas convencionais. Exemplos de grupos protectores, que podem ser genericamente utilizados, incluem grupos acilo, por exemplo alcanoílo C_{1-6} (e.g. acetilo), ou aroílo (e.g. benzoílo ou toluílo); grupos éter, como tri-(alquil C_{1-6})-sililo (e.g. trimetilsililo), ou o t-butil-difenilsililo; ou grupos arilmetilo, como os grupos benzilo ou trifenilmetilo.

Os grupos mencionados acima, podem ser removidos de um modo convencional, por exemplo os grupos acilo são removidos, com vantagem, sob condições básicas (por exemplo, utilizando metóxido de sódio), os grupos éter silílico são removidos, com vantagem, sob condições aquosas ou ácidas (utilizando, por exemplo, metanol em solução aquosa, para remover os grupos trimetilsililo); e os grupos arilmetilo são removidos, com vantagem, sob condições redutoras.

A protecção de grupos hidroxilo no anel pirimidina com trialkilsililo, por exemplo o trimetilsililo, é conseguida, de um modo conveniente, através de: a) reacção com clorotrimetilsilano, juntamente com trietilamina, ou b) reacção com hexametildissilazano, opcionalmente em conjunto com clorotrimetilsilano e/ou sulfato de amónio.

As técnicas seguintes são particularmente convenientes:

X é halogéneo

As 5-halopirimidinas estão disponíveis no mercado e podem ser acopladas com o composto 4-tio-açúcar, através de técnicas convencionais, por exemplo fazendo reagir uma 5-halopirimidina protegida com um composto 4-tio-açúcar, protegido, contendo um grupo que se despede na posição 1. O grupo que se despede do composto 4-tio-açúcar, pode ser um halogéneo, benziltio ou, de preferência, um grupo acetato.

A reacção do composto 4-tio-açúcar protegido, com uma 5-



-halopirimidina protegida, é conduzida sob condições convencionais, usando um Ácido de Lewis como catalisador, como, por exemplo, através de tratamento com cloreto mercúrico ou dibrometo mercúrico com carbonato de cádmio ou com cloreto estânico, ou, de preferência, usando trimetilsililtrifluorometano-sulfonato em tolueno, acetonitrilo, diclorometano ou 1,2-dicloroetano, como solvente, seguido de tratamento, conforme as necessidades, com metanol em solução aquosa (o que também serve para remover os grupos protectores de qualquer grupo hidroxilo do anel pirimidina).

Os grupos protectores, podem ser removidos por técnicas convencionais, por exemplo, os grupos trimetilsililo, podem ser removidos dos grupos hidroxilo, do anel pirimidina, através de tratamento com metanol em solução aquosa, os grupos benzilo são removidos dos grupos hidroxilo do composto 4-tio-açúcar, através de tratamento com tricloreto de boro em diclorometano, a -78°C ; e os grupos p-toluilo são removidos dos grupos hidróxilo do açúcar através de tratamento com metóxido de sódio em metanol, a temperatura ambiente.

Em alternativa, o substituinte halogéneo, da posição 5, pode ser introduzido nos 4'-tio-pirimidina-nucleósidos, não substituídos na posição 5, formados previamente, que contenham grupos hidroxilo, protegidos ou não.

Quando os grupos hidroxilo do composto 4-tio-açúcar estão protegidos (por exemplo com éteres como os éteres silílicos ou ésteres como de acetato, benzoato ou p-toluato), a reacção com N-clorossuccinimida, em ácido acético glacial, ou com cloro e iodobenzeno e ácido acético glacial, introduzirá um substituinte cloro na posição 5; e a reacção com monocloreto de iodo em diclorometano, introduzirá um substituinte iodo na posição 5; por outro lado, a reacção do 4'-tio-açúcar-pirimidina-nucleósido, não protegido, com cloro, em tetracloreto de carbono e ácido acético, também introduz o substituinte cloro na posição 5. A reacção com iodo e ácido nítrico, também introduz o substituinte iodo na posição 5. A reacção com bromo e ácido acético, introduz um



substituente bromo na posição 5 do nucleósido não protegido. A desprotecção, quando necessária, é executada por intermédio de técnicas convencionais e levada a cabo como passo final.

A substância de partida, 4'-tionucleósido não substituído na posição 5 de fórmula (II), pode ser produzida conforme foi descrito acima, acoplando uma pirimidina não substituída na posição 5, a um composto 4-tio-açúcar. A protecção dos grupos hidroxilo da porção 4-tio-açúcar pode ser efectuada em qualquer etapa julgada conveniente.

X é um alcinilo

Os 5-alcinilo-nucleósidos podem ser produzidos fazendo reagir um 5-iodo-nucleósido, em que os grupos hidroxilo do 4-tio-açúcar estão protegidos (por exemplo, através da reacção do nucleósido não protegido, com cloreto de p-toluil, em piridina, para introduzir grupos éster do p-toluil nos grupos hidroxilo do 4-tio-açúcar), com trimetilsililacetileno ou um alcino terminal, na presença de dicloreto de bis(trifenilfosfina)-paládio, iodeto cuproso, e trietilamina e, quando necessário, removendo, depois, os grupos de protecção usando metóxido de sódio em metanol [c.f. M.J. Robins *et al*: *Can. J. Chem.*, **60**:554 (1982)].

Em alternativa, o grupo alcinilo substituído na posição 5 pode ser introduzido, fazendo reagir uma 5-iodo-pirimidina com trimetilsililacetileno ou um alcino terminal, na presença de dicloreto de bis(trifenilfosfina)-paládio, iodeto cuproso, trietilamina e dimetilformamida, ao que se segue, quando necessário, a remoção dos grupos de protecção e fazendo reagir a 5-alcinil-pirimidina, numa forma convenientemente protegida (por exemplo, a forma protegida com o trimetilsililo), com um composto 4-tio-açúcar protegido, conforme foi descrito anteriormente, ao que se segue a remoção dos grupos de protecção da pirimidina e das porções açúcar, conforme requerido.

X é alcenilo

Os compostos 5-alcenilo podem ser produzidos através da hidrogenação parcial na base substituída por alcinil na posição 5, correspondente, ou do nucleósido, utilizando, por exemplo, um



catalisador de Lindlar envenenado com quinolina, e, a seguir, no caso da base, acoplando-se com um composto 4-tio-açúcar, tal como foi descrito acima.

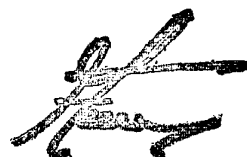
Em alternativa, pode fazer-se reagir um 5-iodo-nucleósido com um éster do ácido 2-alcenóico (por exemplo o éster metílico), na presença de acetato de paládio (II) e de trifenilfosfina, obtendo-se o derivado substituído pelo grupo 2-metoxycarbonilal-cenilo na posição 5. O grupo éster é então, removido, através de hidrólise, usando hidróxido de sódio, obtendo-se o composto 2-carboxi-alcenilo correspondente, que é sujeito a tratamento com trietilamina, em dimetilformamida, a 100°C [c.f. S.G. Rahim *et al.*, Nucleic Acids Research, **10**(17):5285(1982)].

Um outro método para a produção dos derivados 5-alcenilo, envolve o acoplamento do alceno terminal com um 5-iodo ou um 5-cloromercúrio-nucleósido (obtido, por exemplo, por reacção do nucleósido, não substituído na posição 5, com acetato de mercúrio (II) e cloreto de sódio), na presença de um catalisador de paládio, como o acetato de paládio (II), e de um sal de cobre, como o cloreto de cobre (I), ou de preferência, um catalisador de paládio, como o tetracloreto de dilítio e paládio. A reacção de um 5-iodo ou de um 5-cloromercúrio-nucleósido com halogenetos de alilo, tal como cloreto ou brometo, na presença de tetracloreto de dilítio e paládio, dá origem à formação do derivado 5-(2-alcenilo) correspondente, que pode ser rearranjado, através de tratamento com cloreto de tris(trifenilfosfina)-ródio, obtendo-se o derivado 5-(1-alcenilo).

Os processos acima, são exemplificados por J.L. Ruth & D.E. Bergstrom, J. Org. Chem., **43** (14): 2870 (1978); J. Goodchild *et al.*, J. Med. Chem., **26**: (1983); D.E. Bergstrom & J.L. Ruth, J. Am. Chem. Soc., **98**: 1587 (1976); e D.E. Bergstrom & M.K. Ogawa, J. Am. Chem. Soc., **100**: 8106 (1978).

X é um 5-haloalcenilo

Os substituintes 5-(haloalcenilo), podem ser introduzidos através de métodos convencionais. Por exemplo, para se prepararem compostos 5-(2-halovinilo), trata-se o 5-(2-carboxivinil)-



-nucleósido correspondente, com N-halossuccinimida em solução aquosa de acetato de potássio, ou com carbonato de potássio em dimetilformamida, quando o halogéneo é bromo ou iodo. Um 5-(2-clorovinil)-nucleósido também pode ser obtido a partir do 5-(2-carboxivinil)-nucleósido correspondente, utilizando cloro gasoso, em, por exemplo dimetilformamida.

Em alternativa, o grupo 5-haloalcenilo pode ser introduzido na base livre que é, a seguir, acoplado ao composto 4-tio, conforme foi descrito acima; isso pode ser conseguido, por exemplo através do tratamento de uma 5-iodo-pirimidina protegida com 2,4-dimetoxilo, com um éster de um ácido 2-alcenóico, na presença de acetato de paládio (II), trifenilfosfina e dioxano, seguido de remoção dos grupos protectores de metoxi, hidrólise do éster com hidróxido de sódio e reacção do derivado 5-(2-carboxivinilo) resultante, com N-halossuccinimida (onde halo é bromo ou iodo) ou com cloro gasoso (onde halo é cloro), na presença de uma base, tal como hidrogenocarbonato de sódio, em dimetilformamida. O composto 5-(2-carboxivinilo), também pode ser produzido através do tratamento de uma 5-(hidroximetil)-pirimidina não protegida, com um agente oxidante, tal como um persulfato ou dióxido de manganês, obtendo-se o aldeído correspondente, ao que se segue o tratamento do aldeído com ácido malónico. Os processos acima são exemplificados por A.S. Jones *et al.*, Tetrahedron Letts. **45**: 4415 (1979) e P.J. Barr *et al.*, J. Chem. Soc. Perkin Trans **1**, 1981, 1665.

A base 5-(2-haloalcenilo) pode, em alternativa, ser produzida por uma nova via, partindo de uma 5-bromo-pirimidina protegida com 2,4-dimetoxilo. Esta pode ser convertida no derivado 5-lítio correspondente, tratando-a com um reagente organolítico, de preferência n-butil-lítio, a uma temperatura baixa, como -70°C, num solvente etéreo, tal como o éter dietílico. A reacção do derivado de lítio, *in situ*, com um éster do ácido fórmico apropriado como o formato etílico, a uma temperatura baixa, como -70°C, dá origem ao composto 5-formilo correspondente. O tratamento do composto de formilo, com ácido malónico, tal como foi descrito acima, dá origem ao derivado 5-(2-carboxivinilo).



Uma halogenação similar ao processo descrito anteriormente dá origem ao composto 5-(2-haloalcenilo) requerido, o qual se apresenta sob a forma protegida pelo grupo 2,4-dimetoxilo. A desprotecção pode ser realizada através de técnicas convencionais.

Os compostos 5-halovinilo, com mais do que um substituinte halogéneo, podem ser produzidos a partir de uma pirimidina não substituída na posição 5, que se apresenta na forma protegida por 2,4-dimetoxilo, através de reacção com uma base forte, como butil-lítio, sendo o derivado de lítio resultante, depois, tratado com o haloalceno apropriado seguindo-se a remoção dos grupos protectores e o acoplamento ao composto 4-tio-açúcar, tal como descrito acima [c.f. P.L. Coe *et al.*, *J. Med. Chem.* **25**:1329 (1982)].

Em alternativa, os átomos de halogéneo podem ser introduzidos, sequencialmente, no substituinte da posição 5, da base pirimidica. Assim, por exemplo, o tratamento do 5-acetiluracilo, com um agente clorante, como o oxicloreto de fósforo, providencia o grupo 5-(1-clorovinilo), com cloração simultânea dos grupos hidroxilo da pirimidina. O tratamento com etóxido de potássio, a seguir com cloreto de hidrogénio e, por fim, com bromo, conduz à bromação da cadeia lateral insaturada na posição 5, da base pirimidica, com conversão simultânea dos grupos cloro, das posições 2 e 4, do anel da pirimidina, para formar o derivado uracilo correspondente. A base pirimidica, resultante, pode, então, ser acoplada ao composto 4-tio-açúcar, conforme foi descrito acima [c.f. P.J. Barr *et al.*, *Nucleic Acids Res.* **3**: 2485 (1976) e P.J. Barr *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans* **1**, 1981: 1665].

X é 5-haloalquilo

Os substituintes 5-fluoroalquilo podem ser gerados a partir dos substituintes 5-hidroxialquilo, preferivelmente partindo de nucleósidos tendo grupos hidroxilo protegidos na porção 4-tio-açúcar. Grupos protectores adequados incluem os grupos terc-butildifenilsilioxi que podem ser introduzidos usando o cloreto

de terc-butildifenilsililo. O nucleósido protegido na posição 5 por hidroxialquilo é tratado com um agente de fluoração, como o trifluoreto de dietilaminoenxofre, ao que se segue a desprotecção dos grupos hidroxilo, usando fluoreto tetra-n-butilamónio, para dar o derivado monofluoroalquilado. Alternativamente, o tratamento do nucleósido 4'-tio-açúcar protegido na posição 5 por hidroxialquilo com dióxido de manganês ou dicromato de piridínio, produz o aldeído correspondente, o qual pode ser tratado com trifluoreto de dietilaminoenxofre. O tratamento com fluoreto de tetra-n-butilamónio remove os grupos protectores e liberta o derivado 5-difluoroalquilo.

Outros derivados 5-haloalquilo, por exemplo haloetilo, podem ser gerados usando, também, os substituintes 5-hidroxialquilo. O composto 5-hidroxialquilo, na forma de uma base ou de um nucleósido, é feito reagir com tetracloreto de carbono e trifenilfosfato, para se introduzir um substituinte cloro, ou com N-bromosuccinimida e trifenilfosfato, para se introduzir um substituinte bromo, ou com N-bromo succinimida, trifenilfosfina e iodeto de tetrabutylamónio, para se introduzir um substituinte iodo [c.f. J.D. Fissekis & F. Sweet, J. Org. Chem. 1973, 38, 164, e W084/00759].

Os materiais de partida 5-hidroxialquilo-nucleósido anteriores em que o grupo alquilo é um metileno, são obtidos a partir dos correspondentes 5-metil-nucleósidos por protecção (por exemplo usando cloreto de terc-butildifenilsililo) dos grupos hidroxilo da porção 4'-tio-açúcar, bromação fotolítica (por exemplo, usando bromo, N-bromosuccinimida em tetracloreto de carbono) e hidrólise da cadeia lateral bromoalquilo usando bicarbonato.

X é alquilo

Os nucleósidos substituídos na posição 5 por alquilo, e.g. por etilo, são produzidos por hidrogenação da correspondente base pirimidica substituída na posição 5 por alcenilo ou por alcenilo ao que se segue o acoplamento com o composto 4'-tio-açúcar. Podem ser adoptadas condições de hidrogenação convencional, como hidrogénio sobre catalisadores de paládio/carvão.



Os substituintes 5-tri-haloalquilo podem ser formados por deslocamento de um grupo que se despede, por exemplo iodo, da posição 5 do nucleósido adequadamente protegido, por reacção com um agente de tri-haloalquilação adequado. No caso do grupo trifluorometilo, ele pode ser introduzido por reacção do 5-iodo-nucleósido com cloreto de tritilo em piridina, para proteger os grupos hidroxilo da porção açúcar, seguindo-se a reacção com iodeto de trifluorometilo na presença de cobre e desprotecção usando ácido acético [c.f. D. Barwolf & D. Murawski, DDR Patent WP 113,361, 1973, J. Matulic-Adamic *et al.*, *J. Med. Chem.*, 1988, 31: 1642 (1988) & Y. Kobayashi *et al.*, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, 1980: 2755]. O 5-trifluorometiluracilo está disponível comercialmente e pode ser condensado com um composto 4-tio-açúcar de acordo com os processos B ou E, descritos acima.

X é nitro ou amino opcionalmente substituído

Os substituintes nitro são introduzidos na posição 5 dos 4-tio-nucleósidos não substituídos na posição 5 por reacção com um agente de nitração, por exemplo, tetrafluoroborato de nitrónio (NO_2BF_4) e estes podem ser reduzidos sobre paládio/carvão ou cloreto de estanho (II), para proporcionarem os correspondentes substituintes amino. [c.f. G-F. Huang e P.F. Torrence, *J. Org. Chem.*, 42:3821 (1977)]. As pirimidinas substituídas por nitro na posição 5 estão prontamente disponíveis e podem ser acopladas com compostos de 4-tio-açúcar tal como descrito acima. Os substituintes 5-alquilamino e 5-dialquilamino podem ser introduzidos por reacção de um 5-iodo-nucleósido adequadamente protegido com uma alquilamina ou dialquilamina correspondente. A protecção é, preferivelmente, feita por acilação, por exemplo por acilação usando anidrido acético em piridina.

X é alcoxi

Os substituintes alcoxi são introduzidos na posição 5 por reacção do 5-hidroxi-4'-tio-nucleósido correspondente com uma base, por exemplo hidróxido de sódio, ao que se segue alquilação com um halogeneto de alquilo apropriado num solvente adequado, como o metanol. O 5-hidroxi-4'-tio-nucleósido de partida pode ser obtido a partir do 4'-tio-nucleósido não substituído na posição

5, por tratamento com bromo num solvente aquoso, como o tetra-hidrofurano aquoso, seguindo-se tratamento com base, como a trimetilamina.

Alternativamente, os substituintes alcoxi podem ser introduzidos por tratamento do 5-iodo-4'-tionucleósido correspondente com um agente de alcoxilação, como o alcóxido de sódio, num solvente apropriado, como o metanol ou a dimetilformamida ou o alcanol correspondente.

X é ciano

Os substituintes ciano são introduzidos na posição 5 por reacção do 5-iodo-4'-tio-nucleósido correspondente com cianeto de potássio, na presença de acetato de potássio num solvente adequado, como a dimetilformamida, preferivelmente a temperatura elevada, por exemplo 80°C-120°C, preferivelmente 100°C [c.f. P.F. Torrence & B. Bhoosham J. Med. Chem., 20, 974 (1977)].

Pode ser realizado um outro processo C), usando os seguintes procedimentos para preparar compostos de fórmula (I) nos quais R^2 e R^3 têm os significados seguintes, incluindo:

a) R^2 e R^3 formam, em conjunto uma ligação carbono-carbono

Estes compostos podem ser preparados a partir de um composto 3',5'-anidro, por exemplo, por tratamento com uma base forte, e.g. terc-butóxido de potássio. Estes compostos 3',5'-anidro podem ser preparados por tratamento do diéster de 3',5'-metanossulfonato com uma base.

Para a preparação de compostos de fórmula (I) na qual R^2 e R^3 são, cada um, grupos hidroxí, na configuração ribo ou arabino, pode ser usado o processo de condensação de um 4-tio-açúcar com uma base, tal como descrito acima.

O composto 4-tio-açúcar pode ser produzido por métodos convencionais antes do acoplamento com a base ou derivado por modificação de outra porção açúcar que já faz parte do nucleósido.

4-Tio-açúcares

Os 4'-tio-D-ribonucleósidos podem ser obtidos a partir dos

correspondentes compostos 4-tioribofuranose protegidos e activados em C-1, por procedimentos convencionais de condensação como descrito acima. O açúcar 4-tioribofuranose de partida é obtido de acordo com o procedimento de Whistler *et al.*, J. Org. Chem., **29**: 3723 (1964) ou Reist *et al.*, J. Amer. Chem. Soc., **86**: 5658 (1964), partindo da α -L-lixose.

Os 4'-tio- β -D-arabinonucleósidos podem ser obtidos a partir do correspondente 4'-tioribonucleósido de acordo com o procedimento de Otatoni e Whistler, J. Med. Chem., **17**, 535 (1974) através do O²,2'-anidrido, usando técnicas convencionais. Os açúcares insaturados (nos quais R² e R³ formam uma ligação carbono-carbono) são produzidos por métodos análogos aos descritos por J.P. Horowitz *et al.*, em "Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry", Eds Zorbach e Tipson, Interscience, 1973 e P. Herdewijn *et al.*, J. Med. Chem., **30**:1270 (1987), partindo de 2'-desoxi-4'-tioribonucleósidos.

A 4-tio-2-fluoro- β -D-arabinose pode ser obtida a partir do açúcar 4-tioribose correspondente, totalmente protegido, por desprotecção parcial em C-2, seguida por activação do hidroxilo livre resultante como sulfonato de imidazolo e fluoração com um agente de fluoração apropriado, por exemplo hidrogénio fluoreto de potássio e fluoreto de hidrogénio num solvente adequado tal como o 2,3-butanodiol.

Os 2'-fluoro-4'-tio- β -D-arabinonucleósidos podem ser obtidos por condensação da 4-tio-fluoro- β -D-arabinose protegida e activada em C-1, por procedimentos de condensação convencionais como descrito acima [c.f. P.F. Bradfuehrer *et al.*, J. Org. Chem., **50**: 2597 (1985); C. H. Tann *et al.*, J. Org. Chem., **50**: 3644 (1985)].

Os 2'-desoxi-3'-fluoro-4'-tioribonucleósidos podem ser obtidos por inversão dos grupos hidroxilo da posição 3' do 2'-desoxi-4'-tionucleósido correspondente usando um procedimento análogo ao descrito por J.J. Fox e N.C. Miller (J. Org. Chem., **28**, 936 (1963)) seguido por fluoração usando um agente de fluoração adequado tal como trifluoreto de dietilaminoenxofre

numa mistura de solventes como diclorometano/tetra-hidrofurano (9:1) de uma forma análoga à descrita em J. Med. Chem., 32:1743-1749 (1989).

As 1-(2-desoxi-2-fluoro- β -D-4-tioribofuranosil)-pirimidinas, por exemplo 1-(2-desoxi-2-fluoro- β -D-ribofuranosil)uracilo, podem ser produzidas de uma forma análoga à descrita por J. F. Coddington et al., J. Org. Chem. 29, 558 (1964).

As reacções anteriores são todas adequadas para a produção de nucleósidos uracilo; a maior parte pode, também, ser usada para formar nucleósidos citosina. Quando isto não é conveniente ou possível, os análogos de citosina podem ser muito convenientemente preparados a partir de compostos de uracilo usando um procedimento análogo ao que é descrito por W.L. Sung, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1981, 1089]: por exemplo o nucleósido uracilo acetilado (produzido, por exemplo, pelas reacções descritas acima e acetilado usando anidrido acético em piridina) é tratado com di-hidrocloreto de p-clorofenilfósforo, 1,2,4-triazolo e piridina para produzir o derivado 4-(1,2,4-triazol-1-il) o qual é, então, tratado com amoníaco em dioxano (que também remove o(s) grupo(s) protector(es) do 4-tio-açúcar) para formar o correspondente citosina 4'-tionucleósido, não protegido.

O uso de alquilaminas em vez de amoníaco, no último passo, pode produzir os nucleótidos 4-N-alquilcitosina adequados.

Os derivados dos compostos de fórmula (I) podem ser preparados de uma forma convencional. Por exemplo, podem ser preparados ésteres por tratamento de um composto de fórmula (I) com um agente de esterificação adequado, por exemplo, um halogeneto de acilo ou anidrido. Os sais podem ser preparados por tratamento de um composto de fórmula (I) com uma base adequada, por exemplo, um metal alcalino, um metal alcalino-terroso ou hidróxido de amónio ou, quando necessário, um ácido adequado, como o ácido clorídrico ou um acetato, e.g. acetato de sódio.

Os anómeros dos compostos de fórmula (I) podem ser separados por meios convencionais, por exemplo por cromatografia ou cristalização fraccionada.

71 613

61249

-34-

Os compostos de fórmula (V), nos quais z^2 é hidrogénio e z^3 é um grupo hidroxil protegido, podem ser produzidos por referência ao nosso pedido co-pendente EP-A-90307820.2, cujo conteúdo é aqui incorporado apenas por referência.

O invento é ilustrado pelos exemplos seguintes, não limitativos. Os Exemplos A a E ilustram a produção de compostos intermediários úteis para a produção de compostos de acordo com o invento.

Exemplo A

Preparação de Metil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-D-eritropentósido

A uma solução de 2-desóxi-D-ribose (50 g, 373 mmol) em metanol seco (900 ml), adicionou-se uma solução a 1% de cloreto de hidrogénio seco em metanol (100 ml). A mistura foi mantida num balão rolhado, durante 30 minutos, após o que se suspendeu a reacção, adicionando carbonato de prata (10 g), com agitação vigorosa. A mistura foi filtrada sob a acção da gravidade, e o filtrado incolor foi evaporado até à obtenção de um xarope, utilizando um evaporador rotativo isento de humidade. O metanol residual foi, então, removido através de evaporação repetida, com THF seco. O xarope foi, então dissolvido, em THF seco (470 ml). Adicionou-se, lentamente, hidreto de sódio, numa dispersão oleosa a 50% (39,4 g; 821 mmol) à mistura de THF sob uma atmosfera de azoto seco, a 0°C, com agitação. A seguir, foi adicionado iodeto de tetrabutylamónio seco (30,3 g, 82,1 mmol), seguindo-se brometo de benzilo (140 g, 821 mmol), que foi adicionado ao longo de 1 hora. Depois de agitar, durante 60 horas, à temperatura ambiente, na ausência de humidade, a TLC (hexano-acetato de etilo [4:1]), mostrou uma conversão quase completa para os dois componentes de movimentação mais rápida (R_f : 0,47 e 0,36). O THF foi removido, in vacuo, o residuo foi dissolvido em diclorometano e, a seguir, foi vertido em água/gelo. A solução de diclorometano foi extraída desta mistura e, a seguir, foi seca sobre sulfato de magnésio. O diclorometano foi evaporado sob pressão reduzida, e o residuo resultante foi aplicado, numa coluna de sílica-gel, eluída com hexano-acetato de etilo [4:1]. A combinação das fracções apropriadas produziu os isómeros α (R_f : 0,36) e β (R_f : 0,47) do

71 613

61249

-35-

composto do título, na forma de um xarope incolor limpido.

ESPECTROS DE RMN

isómero α

(^1H) δ ($d_6\text{DMSO}$): 7,56 - 7,17 (10H, d, aromático); 5,12-5,00 (1H, q; H-1); 4,60-4,45 (4H, m, PhCH_2O); 4,40-3,86 (2H, m, H-3, H-4); 3,58-3,42 (2H, d, H-5); 3,40 (3H, s, CH_3); 2,40-1,80 (2H, m, H-2).

(^{13}C) δ (CDCl_3): 128,3-127,6 (aromático); 105,2 (C-1); 82,1 (C-3 ou C-4); 78,6 (C-3 ou C-4); 73,4 (PhCH_2O); 71,5 (PhCH_2O); 70,2 (C-5); 55,1 (OMe); 38,9 (C-2).

isómero β

(^1H) δ ($d_6\text{DMSO}$): 7,50 - 7,20 (10H, d, aromático); 5,18-5,02 (1H, q, H-1); 4,65-4,43 (4H, d, PhCH_2O); 4,43-4,00 (2H, m, H-3, H-4); 3,60-3,42 (2H, m, H-5); 3,30 (3H, s, CH_3); 2,45-2,05 (2H, m, H-2).

(^{13}C) δ (CDCl_3): 128,3-127,6 (aromático); 105,4 (C-1); 82,8 (C-3 ou C-4); 80,0 (C-3 ou C-4); 73,3 (PhCH_2O); 72,0 (PhCH_2O); 70,2 (C-5); 54,9 (OMe); 39,3 (C-2).

Preparação do 3,5-di-O-benzil-2-desóxi-D-eritro-pentose dibenzil-ditioacetal

Adicionou-se gota a gota ácido clorídrico concentrado (150 ml), a uma mistura de metil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-D-eritro-pentósido (77,5 g, 236 mmol) e benziltiol (147 g; 1,19 mol), sob agitação, à temperatura ambiente. A temperatura foi, então, elevada para 40°C e a mistura foi agitada, durante 18 horas. Depois disso, a TLC (hexano/acetato de etilo, 4:1), mostrou dois micro-componentes mais rápidos (R_f : 0,58 e 0,53), um macro-componente (R_f : 0,29) e um micro-componente mais lento (R_f : 0,22). A mistura foi dissolvida em clorofórmio, vertida em água/gelo, neutralizada com hidrogenocarbonato de sódio e extractada com clorofórmio. Os extractos de clorofórmio foram secos sobre sulfato de magnésio e o clorofórmio foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi aplicado a uma coluna de sílica-gel, eluído com hexano-acetato de etilo (4:1). O primeiro componente a ser eluído da coluna, foram os anómeros α e β do benzil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1-tio-D-eritro-pentofuranósido, na forma de um xarope incolor limpido.

71 613

61249

-36-

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (D₆DMSO): 7,43-7,15 (15H,m,aromático; 5,12-4,94 (1H,m,H-1); 4,59-4,36 (4H,m,PhCH₂O); 4,12-3,30 (6H,m,H-3,H-4,H-5, PhCH₂S); 2,35-1,35 (2H,m,H-2).

ANALISE ELEMENTAR

Detectado: C:74,4; H:6,5. O C₂₆H₂₈O₃S requer C:74,3; H:6,7%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 420 M⁺, 297 [M-SBn]⁺, matriz 3-noba.

O produto do título foi o segundo componente a ser eluído da coluna, na forma de um xarope límpido (109 g, 85%).

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 7,35-7,05 (20H,m,aromático); 4,97-4,95 (1H,d,OH-4); 4,47-3,95 (4H,m,PhCH₂O); 3,81-3,66 (7H,m,H-1,H-3,H-4,PhCH₂S); 3,44-3,32 (2H,d,H-5); 2,10-1,83 (2H,m,H-2).

ANALISE ELEMENTAR

Detectado: C:73,0; H:6,5. O C₃₃H₃₆O₃S₂ requer C:72,8; H:6,7%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 298 [M-2.Sbn]⁺, matriz 3-noba.

ROTAÇÃO ESPECÍFICA

$[\alpha]_D^{25} = -101,8^\circ$ (c1,2 em EtOH)

Preparação do 4-O-benzoil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-L-treo-pentose dibenzil ditioacetal

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de DEAD (26,0 g, 149 mmol), em THF seco (200 ml), a uma solução de dibenzilditioacetal de 3,5-di-O-benzil-2-desóxi-D-eritro-pentose (54,1 g, 99,3 mmol), trifenilfosfina (39,1 g, 149 mmol) e ácido benzóico (18,2 g, 149 mmol), em THF seco (800 ml), à temperatura ambiente e com agitação.

Depois de se agitar à temperatura ambiente durante 18 horas, a TLC (hexano-acetato de etilo 4:1) revelou um componente mais rápido (R_f:0,56) e a substância de partida, mais lenta (R_f:0,36). O THF foi removido, in vacuo, e o resíduo foi aplicado a uma

71 613

61249

-37-

coluna de sílica-gel, eluído com hexano-acetato de etilo (85:15). A combinação das fracções apropriadas, deu origem ao produto do título, na forma de um sólido branco. A substância de partida também pôde ser recuperada.

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 7,99-6,98 (25H, m, aromático); 5,39-5,22 (1H, m, H-4); 4,54-4,04 (4H, m, PhCH₂O); 4,01-3,62 (8H, m, H-1, H-3, H-5, PhCH₂S); 2,17-1,84 (2H, m, H-2).

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C:74,3; H:6,4. O C₄₀H₄₀O₄S₂ requer C:74,0; H:6,2%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 525 [M-SBn]⁺, 435 [M-2.SBn]⁺, matriz de glicerol.

ROTAÇÃO ESPECÍFICA

[α]_D²⁵ = 51,6° (c 0,7 em CH₂Cl₂).

Preparação de 3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1-treo-pentose dibenzil ditioacetal

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de metóxido de sódio (11,1 g, 206 mmol), em metanol (205 ml), a uma solução do 4-O-benzoil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-L-treo-pentose dibenzil ditioacetal (88,8 g, 137 mmol), em diclorometano (500 ml), a 0°C e com agitação. A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente, o que se prolongou por 3 horas. Depois disso a TLC (hexano-acetato de etilo [4:1]) revelou a conversão completa, num componente de movimentação lenta (R_f:0,31). A mistura foi, então, vertida numa solução a 5% de NaH₂PO₄, após o que foi extractada com diclorometano. Os extractos em diclorometano foram, então, lavados com uma solução a 5% de hidrogénio-carbonato de sódio e água, secos (sobre sulfato de magnésio), e evaporados. O produto do título, bruto, foi aplicado a uma coluna de sílica-gel, eluído com hexano e acetato de etilo, (4:1). A combinação das fracções apropriadas, deu origem ao produto em título, na forma de um xarope incolor límpido.

71 613

61249

-38-

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 7,34-7,06 (20H,m,aromático; 4,88-4,86 (1H,d,OH-4); 4,55-4,00 (4H,m,PhCH₂O); 4,83-3,32 (9H,m,H-1,H-3,H-4,H-5, PhCH₂S); 2,08-1,84 (2H,m,H-2).

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C:72,6; H:6,9. O C₃₃H₃₆O₃S₂ requer C:72,8; H:6,7%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 297 [M-2.SBn+H]⁺, matriz de glicerol.

ROTAÇÃO ESPECÍFICA

[α]_D²⁵ = -75,6° (c 1,9 em EtOH).

Preparação de 3,5-di-O-benzil-2-desóxi-4-O-metano-sulfonil-L-treo-pentose dibenzil ditioacetal

Foi adicionado, gota a gota, cloreto de metanossulfonilo (19,4 g, 169 mmol) em piridina seca (200 ml), a uma solução da 3,5-di-O-benzil-2-desoxi-L-treo-pentose dibenzil ditioacetal, (61,4 g, 113 mmol) em piridina seca (700 ml), a 0°C e com agitação. A temperatura da mistura foi elevada até à temperatura ambiente, e a agitação continuou durante 18 horas. A piridina foi, então, removida in vacuo e o resíduo foi dissolvido em diclorometano. Os extractos, em diclorometano foram, então sucessivamente lavados, com ácido clorídrico 2M, carbonato de sódio 1M e água, secos (sulfato de magnésio) e evaporados, obtendo-se o composto do título, na forma de um xarope espesso viscoso. Uma amostra do produto foi cristalizada em hexano/acetato de etilo, obtendo-se o produto do título, na forma de cristais brancos (p.f. 82-83°C).

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 7,64-6,89 (20H,m,aromático); 4,88-4,64 (1H,m,H-4); 4,60-4,09 (4H,m,PhCH₂O); 4,05-3,43 (8H,m,H-1,H-3,H-5, PhCH₂S); 3,11 (3H,s,CH₃); 2,12-1,80 (2H,m,H-2).

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C:65,5; H:6,1. O C₃₄H₃₈O₅S₃ requer C:65,6; H:6,2%.

71 613

61249

-39-

ESPECTRO DE MASSA

m/z 499 [M-SBn]⁺, 393 [M-SBn-OBn + H]⁺, matriz de glicerol.

ROTAÇÃO ESPECÍFICA

$[\alpha]_D^{25} = -58,4^\circ$ (c 2,4 em CH₂Cl₂).

Preparação do benzil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1,4-ditio-D-eritro-pentafuranósido

Uma suspensão de 3,5-di-O-benzil-2-desóxi-4-O-metanossulfonyl-L-treo-pentose dibenzil ditioacetal (29,4 g, 47,4 mmol), iodeto de sódio (74,0 g, 494 mmol), carbonato de bário (148 g, 750 mmol) e acetona seca (1:1), foi mantida em refluxo, durante 42 horas. Depois disso, a suspensão foi filtrada e os sólidos foram lavados, com clorofórmio. O filtrado, foi sequencialmente lavado com água, com uma solução de tio-sulfato de sódio (5%), e com água, seco (sulfato de magnésio), e evaporado. O resíduo resultante, foi aplicado a uma coluna de sílica-gel, eluído com hexano-acetato de etilo (9:1). A combinação das frações apropriadas deu origem ao produto em título, na forma de um xarope límpido e ligeiramente amarelado, e à recuperação de parte da substância de partida.

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 7,50-7,12 (1SH, m, aromático; 4,66-4,13 (6H, m, H-1, H-4, PhCH₂O); 4,09-3,35 (SH, m, H-3, H-5, PhCH₂S), 2,44-1,94 (2H, m, H-2).

Anômero predominante

(¹³C) δ (CDCl₃): 129,0-127,1 (aromático); 83,04 (C-1); 73,1 (PhCH₂O); 73,1 (PhCH₂O); 71,0 (C-3); 53,2 (PhCH₂S); 49,9 (C-4); 41,3 (C-5); 37,0 (C-2).

Anômero secundário

(¹³C) δ (CDCl₃): 129,0-127,1 (aromático); 82,7 (C-1); 72,9 (PhCH₂O); 72,9 (PhCH₂O); 71,6 (C-3); 53,0 (PhCH₂S); 49,0 (C-4); 41,0 (C-5); 37,0 (C-2).

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C: 71,8; H: 6,7; S: 14,4. O C₂₆H₂₈O₂S₂ requer C: 71,5; H: 6,5; S: 14,7%.

71 613

61249

-40-

ESPECTRO DE MASSA

m/z 437 [M+H]⁺, 345 [M-Bn]⁺, 329 [M-OBn]⁺, 313 [M-SBn]⁺, 223 [M-SBn-Bn+H]⁺, matriz de glicerol.

Preparação da 3',5'-di-O-benzil-4'-tio-timidina e do seu anômero α

Uma suspensão de benzil 3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1,4-ditio-D-eritro-pentofuranósido (22,5 g, 51,6 mmol), bis-TMS-timina (46 g, 170 mmol), brometo mercúrico (20,5 g, 56,7 mmol), carbonato de cádmio (29,3 g, 170 mmol) e tolueno seco (1 l), foi mantida ao refluxo, com agitação, durante 24 horas. A mistura quente foi, então, filtrada, e os sólidos foram lavados com tolueno. O filtrado, foi lavado sucessivamente, com uma solução de iodeto de potássio a 30%, e com água, e, a seguir, foi evaporado. O resíduo foi retomado, numa mistura hidro-metanólica 1:4, foi agitado durante 30 minutos, após o que a suspensão foi filtrada e o filtrado foi evaporado. O resíduo foi aplicado a uma coluna de sílica-gel (hexano-acetato de etilo (1:1)), e a combinação das frações apropriadas deu origem ao produto do título, na forma de um xarope incolor. A RMN de ¹H, indicou que a razão entre os anômeros α e β era de 2,8 : 1. O prosseguimento da cromatografia em coluna, permitiu obter mais quantidade dos anômeros separados. O primeiro composto a ser eluído da coluna, foi a 3',5'-di-O-benzil-4'-tio-timidina, na forma de um xarope incolor. Este pode ser cristalizado a partir de metanol, produzindo cristais incolores de ponto de fusão 140-142°C.

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 11,36 (1H, s, NH); 7,69 (1H, s, H-6); 7,48-7,22 (10H, m, aromático); 6,33-6,27 (1H, t, H-1'); 4,61-4,51 (4H, m, PhCH₂O); 4,30 (1H, s, H-3'); 3,76-3,66 (3H, m, H-4', H-5'); 2,42-2,32 (2H, m, H-2); 1,66 (3H, s, CH₃).

ESPECTRO DE UV

máx. 269,1 nm (ϵ , 14 300)

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C:66,0; H:6,0; N:6,3. O C₂₄H₂₆N₂O₄S requer C:65,7; H:6,0; N:6,4%.

71 613

61249

-41-



ESPECTRO DE MASSA

m/z 439 [M+H]⁺, 347 [M-Bn]⁺, 331 [M-OBn]⁺, matriz 3-noba.

O próximo componente a ser eluído da coluna, foi o anômero α, na forma de um xarope incolor.

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 11,28 (1H,s,NH); 7,95 (1H,s,H-6); 7,43-7,20 (10H,m,aromático), 6,25-6,21 (1H,d,H-1'); 4,66-4,47 (7H,m, PhCH₂); 4,25 (1H,s,H-3'); 4,10-4,06 (1H,m,H-4'); 3,57-3,42 (2H,m,H-5'); 2,68-2,26 (2H,m,H-2'); 1,55 (3H,s,CH₃).

ESPECTRO DE UV

Máx. 268,1 nm (ε, 10 900).

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C:65,4; H:6,1; N:6,7; S:7,4. O C₂₄H₂₆N₂O₄S requer C:65,7; H:6,0; N:6,4; S:7,3%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 439 [M+H]⁺, 461 [M+Na]⁺, matriz 3-noba.

Preparação da β-4'-tio-timidina

Uma solução de β-3',5'-di-O-benzil-4'-tio-timidina (1,6 g, 3,7 mmol) em diclorometano seco (30 ml), foi adicionada a uma solução 2M de tricloreto de boro em diclorometano seco (55 ml), arrefecida a -78°C. A agitação prolongou-se durante 5 horas, a -78°C. Seguiu-se a adição, gota a gota, de uma solução 1:1 de metanol-diclorometano (200 ml), ao longo de 40 minutos. Permitiu-se que a mistura reaccional aquecesse até à temperatura ambiente, o que demorou 1 hora, após o que o solvente foi removido, in vacuo, e co-evaporado com metanol seco (3x30 ml). O resíduo foi aplicado a uma coluna de sílica-gel, eluído com clorofórmio-metanol (85:15) dando origem ao produto do título. Este pôde ser cristalizado, a partir de metanol, na forma de cristais incolores de ponto de fusão 208-209°C,

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 11,34 (1H,s,NH); 7,81 (1H,s,H-6); 6,32-6,26 (1H,t,H-1'); 5,26-5,25 (1H,d,OH-3'); 5,20-5,16 (1H,t,OH-S'); 4,40-4,35 (1H,m,H-3'); 3,18-3,16 (3H,m,H-4', H-5); 2,25-2,13 (2H,

71 613

61249

-42-

m, H-2'); 1,80 (3H, s, CH₃).

ESPECTRO DE UV

máx. 270,5 nm (ϵ , 10 300).

ANÁLISE ELEMENTAR

Detectado: C:46,2; H:5,3; N:10,6. O C₁₀H₁₄N₂O₄S requer C:46,5; H:5,5; N:10,9%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 259 [M+H]⁺, matriz 3-noba

Preparação do benzil-2-desóxi-1,4-ditio-3,5-di-O-p-toluil-D-eritro-pentofuranósido

Adicionou-se, gota a gota, uma solução de benzil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1,4-ditio-D-eritro-pentofuranósido (4,2 g, 10 mmol) em diclorometano seco (100 ml), a uma solução 2M de tricloreto de boro em diclorometano seco (150 ml), arrefecida a -78°C, ao longo de 30 minutos. Prosseguiu-se a agitação, durante 5 horas, a -78°C. Seguiu-se a adição, gota a gota, de uma solução 1:1 de metanol-diclorometano (200 ml), que se prolongou por 40 minutos. Permitiu-se o aquecimento da mistura reaccional até à temperatura ambiente, ao longo de uma hora, e o solvente foi removido in vacuo, e co-evaporado com metanol seco (3x30 ml). O residuo bruto, foi dissolvido em piridina seca (25 ml), arrefecido até 0°C, após o que se adicionou, gota a gota e sob agitação, uma solução de cloreto de p-toluil (4,6 g, 30 mmol) em piridina seca (25 ml). A piridina foi removida in vacuo, o residuo foi extractado, com clorofórmio, e o extracto foi lavado, sucessivamente, com ácido clorídrico 2M, carbonato de sódio 1M e água, seco (sulfato de magnésio) e evaporado. O residuo foi aplicado a uma coluna de sílica-gel, eluído com hexano-acetato de etilo (9:1), obtendo-se o produto do título na forma de um xarope límpido, ligeiramente amarelado (2,5 g, 53%).

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 7,94-7,25 (13H, m, aromático); 5,68-5,62 (1H, m, H-1'); 4,74-4,66 (1H, m, H-3'); 4,39-3,83 (6H, m, H-3', H-4', H-5', PhCH₂S); 2,51-2,25 (2H, m, H-2'); 2,39 (6H, s, CH₃).

71 613

61249

-43-

ANALISE ELEMENTAR

Detectado: C:67,2; H:5,7. O $C_{28}H_{28}O_4S_2 \cdot 1/2H_2O$ requer C:67,0; H:5,8%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 515 $[M+Na]^+$, 401 $[M-Bn]^+$, 369 $[M-SBn]^+$, 357 $[M-O_pTol]^+$, matriz 3-noba.

Preparação da E-5-(2-bromovinil)-2-desóxi-4'-tio-3',5'-di-O-p-toluil-uridina e do seu anómero α

Adicionou-se uma solução de bromo (0,49 g, 3,1 mmol) em tetracloreto de carbono (15 ml), a uma solução de benzil-2-desóxi-1,4-ditio-3,5-di-O-p-toluil-D-eritro-pentofuranósido (1,4 g, 2,8 mmol) em tetracloreto de carbono (15 ml), com agitação e à temperatura ambiente. Após 5 minutos, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida, após o que se adicionou tetracloreto de carbono (5 ml), sendo a mistura evaporada para remoção do bromo em excesso. O procedimento de evaporação foi repetido, por quatro vezes. O brometo xaroposo resultante, era instável e foi usado directamente no passo seguinte.

Adicionou-se o derivado bis-TMS do E-5-(2-bromovinil)uracilo (1,7 g; 4,7 mmol) em tetracloreto de carbono (10 ml), a uma solução do brometo em tetracloreto de carbono (10 ml). A mistura foi agitada, até se tornar homogênea, foi evaporada e o resíduo foi aquecido a 90-100°C, durante 1 hora. O resíduo escuro, arrefecido, foi dissolvido, numa mistura hidrometanólica 1:4 (30 ml), após o que a solução foi mantida em refluxo, durante 15 minutos e, a seguir, evaporada. O resíduo foi triturado com clorofórmio (40 ml) e o 5-(2-bromovinil)-uracilo, sólido, que se separou, foi separado por filtração. O filtrado foi lavado sucessivamente, com uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio e com água, seco (sulfato de sódio) e evaporado. O resíduo foi aplicado a uma coluna de sílica-gel, eluído com hexano-acetato de etilo (3:2). A combinação das fracções apropriadas produziu o produto do título, na forma de um sólido branco. A RMN do 1H , indicou que a razão entre os anómeros α e β era de 1,8:1. O prosseguimento da cromatografia em coluna (clorofórmio-2-propa-

71 613

61249

-44-

nol (98:1)), permitiu obter mais quantidade dos anômeros separados. O primeiro composto a ser eluído da coluna foi a E-5-(2-bromovinil)-2'-desóxi-4'-tio-3',5'-di-O-p-toluil-uridina, que pode ser cristalizado a partir de metanol, produzindo cristais incolores, de ponto de fusão 182-184°C.

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 11,73 (1H,s,NH); 8,10 (1H,s,H-6); 7,94-7,86 (4H,m,aromático); 7,39-7,19 (5H,m,H aromático e vinílico); 6,89 (1H,d,H vinílico, J=14Hz); 6,45-6,40 (1H,t,H-1'); 5,85-5,80 (1H,m, H-3'); 4,71-4,53 (2H,m,H-5'); 4,00-3,92 (1H,m,H-4'); 2,83-2,50 (2H,m,H-2'); 2,39 (6H,s,CH₃).

ESPECTRO DE UV

máx. 241,6 nm (ε, 34 960), 296,9 nm (ε, 10 100);
min. 271,4 nm (ε, 7 700).

ESPECTRO DE MASSA

m/z 586 [M+H]⁺, matriz de tioglicerol.

O próximo componente a ser eluído da coluna, foi o anômero α, que pode ser cristalizado, a partir de metanol, para dar origem a cristais incolores, de ponto de fusão 172-176°C.

ESPECTRO DE RMN

(¹H) δ (d₆DMSO): 11,64 (1H,s,NH); 8,36 (1H,s,H-6); 7,91-7,77 (4H,m,aromático); 7,36-7,22 (5H,m,aromático, H vinílico); 6,80 (1H,d,H vinílico, J=5Hz); 6,29-6,27 (1H,d,H-1'); 5,74-5,62 (1H,m, H-3'); 4,48-4,39 (3H,m,H-4',H-5'); 2,94-2,85 (2H,m,H-2'); 2,37 (6H,s,CH₃).

ESPECTRO DE UV

máx. 241,6 nm (ε, 47 000), 296,1 nm (ε, 12 500);
min. 273,1 nm (ε, 10 000).

ANALISE ELEMENTAR

Detectado: C:54,4; H:4,4; N:4,5. O C₂₇H₂₅BrN₂O₆S₁/2H₂O requer C:54,6; H:4,2; N:4,7%.

ESPECTRO DE MASSA

m/z 586 [M+H]⁺, matriz de tioglicerol.

EXEMPLO B3',5'-di-O-benzil-2'-desóxi-5-iodo-β-4'-tio-uridina

Adicionaram-se brometo mercúrico (370 mg, 1,03 mmol) e carbonato de cádmio (480 mg, 2,8 mmol), a uma solução de benzil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1,4-ditio-D-eritro-pentofuranósido (436 mg, 1,0 mmol) em MeCN (3 ml), protegida da humidade e sob agitação. Adicionou-se, uma solução de 5-iodo-bis-O-trimetilsilil-uracilo (3 mmol) em MeCN (12 ml), utilizando uma seringa. O decurso da reacção, foi controlado através de HPLC analítica, enquanto a mistura era mantida ao refluxo, durante 1 h. Depois de ter arrefecido até à temperatura ambiente, adicionou-se água (200 µl), e depois de se agitar a mistura durante 30 minutos, a suspensão foi filtrada. O filtrado foi evaporado e redissolvido em MeCN seco, o precipitado de 5-iodo-uracilo foi removido por filtração. O filtrado, foi purificado através de HPLC preparativa, numa coluna de inversão de fase Zorbax C8, de 2,5 cm (1 polegada), eluindo com 20 ml/min de um gradiente de [0-95% MeCN-água, contendo uma concentração constante de 0,2% de ácido trifluoroacético] ao longo de 20 minutos: foram recolhidas fracções cada meio minuto. As fracções que continham o produto puro foram reunidas e evaporadas, rendendo 330 mg de produto, na forma de uma goma. A razão entre os anómeros α e β, foi de 2,8:1, conforme ficou demonstrado por RMNN de ^1H a 200 MHz. [CDCl_3 δ: 8,72 (s; 0,26H; β-6-H); 8,55 (s, 0,74H, α-6-H); 6,35 (t; 0,26H; β-1'-H); 6,24 (dd, 0,74H; α-1'-H)].

EXEMPLO C3',5'-di-O-benzil-5-bromo-2'-desóxi-β-4'-tio-uridina

Este composto foi preparado através de um método similar ao que foi utilizado na preparação do composto de iodo, acima, com as modificações seguintes:

1. O volume total de solvente (MeCN), para a reacção, foi de 3 ml.
2. O CdCO_3 foi omitido.
3. O excesso de 5-bromo-bis-O-trimetilsililuracilo, foi reduzido a 1,5 equivalentes molares.

71 613

61249

-46-

O rendimento do composto, depois de purificado por HPLC, foi de 193 mg; o espectro de massa revelou o m/z 502, esperado para o $C_{23}H_{23}BrN_2O_4S$.

EXEMPLO D

1-acetoxi-3,5-di-p-toluil-2-desóxi-4-tio-D-eritro-pentofuranósido

Uma solução de benzil-3,5-di-O-benzil-2-desóxi-1,4-ditio-D-eritro-pentofuranósido (3,68 g, 8,76 mmol), em CH_2Cl_2 (20 ml), foi adicionada, gota a gota, a uma solução, 1 M de BCl_3 , em CH_2Cl_2 (125 ml; 0,125 ml; 0,125 mol), sob agitação, a $-78^\circ C$, sob N_2 . A mistura foi agitada a $-78^\circ C$, durante 4 horas e meia, após o que se adicionou lentamente, uma mistura de $MeOH-CH_2Cl_2$ (1:1, v/v). Depois de aquecimento até à temperatura ambiente, os solventes foram evaporados, obtendo-se o tio-açúcar, bruto, já sem o grupo O-benzilo. A goma foi dissolvida em piridina seca, a $0^\circ C$, sob N_2 , e adicionou-se, lentamente, uma solução de cloreto de p-toluil (3,47 ml, 26,3 mmol). A mistura foi agitada, durante 3 horas, a $0^\circ C$, após o que os solventes foram evaporados. O resíduo, foi dissolvido, em CH_2Cl_2 , lavado com HCl 2M, Na_2CO_3 1M e água, seco sobre $MgSO_4$, e evaporado. O resíduo, foi purificado, por cromatografia "flash" sobre SiO_2 , eluindo com $EtOAc$ -hexano (1:9, v/v), obtendo-se o derivado bis-toluiltio-açúcar (2,18 g; cerca de 50%); espectro de massa: m/z 492. Este produto foi dissolvido em anidrido acético (16 ml), e agitado, a $0^\circ C$. Adicionou-se H_2SO_4 concentrado (8 μl) e, após 10 minutos, seguiu-se uma segunda aliquota (8 μl); o decurso da reacção, foi controlado, por TLC. Depois de mais 55 minutos de agitação, adicionou-se $NaHCO_3$ (100 mg) e, após 20 minutos, a mistura foi cuidadosamente vertida em água/gelo, contendo $NaHCO_3$. O produto foi extraído, para CH_2Cl_2 , seco e evaporado. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" sobre SiO_2 , eluindo com 20-25% $EtOAc$ -hexano. Rendimento: 0,97 g: - 200MHz 1H -RMN $DMSO-d_6$, δ : 7,7-8,1 (m, 4H, ArH); 7,1-7,4 (m, 4H + solvente, ArH); 6,35 (dd, 0,55H, 1-H); 6,27 (q; 0,45H; 1-H); 5,7-5,9 (m, 1H, 3-H); 3,7-4,7 (m, 3H, 5-H₂+4-H); 2,2-2,7 (m, 2,2-2,7 (m+2xs, 8H, 2xArCH₃ + 2-H₂); 2,0-2,1 (2xs, 3H, CH₃CH₂- α & β). A razão entre os anómeros foi de 1,1/1, aproximadamente; as substâncias estavam suficiente-

71 613

61249

-47-

mente puras para utilização.

EXEMPLO E

Preparação da E-5-(2-bromovinil)-uracil-5-bromo-2,4-dimetoxipirimidina

Uma solução de 5-bromo-2,4-dicloropirimidina (16 g; 70,2 mmol) [D.M. Mulvey *et al.*, J. Het. Chem., 1973, pág. 79], em MeOH seco (55 ml), foi adicionada, lentamente, a uma solução de sódio (3,23 g; 140,4 mmol), em MeOH (55 ml), sob agitação, a 0°C, ao longo de 30 minutos. Removeu-se o banho de gelo e a mistura reaccional permaneceu sob agitação, à temperatura ambiente, durante 18 horas. O sal precipitado foi removido, por filtração e o filtrado foi evaporado, resultando num óleo. Adicionou-se-lhe uma solução aquosa de NaOH (30 ml; 30%, p/v); o produto foi separado como uma fase superior, posteriormente sujeita a extracção com éter dietílico. Os extractos orgânicos foram secos sobre MgSO₄ e evaporados. O resíduo foi cristalizado a partir de etanol, obtendo-se o produto, na forma de lamelas incolores, rendimento de 14,3 g, 93%, ponto de fusão: 62-63°C. Espectro de massa: el m/z 219 (M⁺, 11%). Análise elementar; detectado: C:33,20; H:3,26; Br:36,90; N:12,7%; o C₆H₇BrN₂O₂ requer: C:32,90; H:3,33; Br:36,50; N:12,80%.

5-formil-2,4-dimetoxipirimidina

Uma solução 1,6 M de n-butil-lítio em hexano (48 ml, 73,6 mmol), foi adicionada, ao longo de 5 minutos, a uma suspensão de 5-bromo-2,4-dimetoxipirimidina (16 g; 72,9 mmol), em Et₂O seco (240 ml), sob agitação, a -70°C e sob uma atmosfera de azoto seco. Adicionou-se formato de etilo seco (28 g; 377 mmol) e a solução cor de laranja obtida, foi agitada, a -70°C, durante 1 hora, permitindo-se-lhe, a seguir, que aquecesse, lentamente, até à temperatura ambiente. Adicionou-se água (400 ml), e separou-se a fase aquosa, sujeitando-a, depois, a extracção, com éter dietílico (3x200 ml). A fase etérea foi adicionada aos extractos e o conjunto foi seco sobre MgSO₄, filtrado e evaporado. O resíduo, foi purificado através de cromatografia em coluna, utilizando acetato de etilo e hexano (3:7, v/v), como eluente, e eluindo o resíduo através de uma coluna de SiO₂. As fracções

71 613

61249

-48-

correspondentes ao produto, foram combinadas e evaporadas, produzindo agulhas brancas finas, rendimento de 6,89 g (56%). Espectro de massa: m/z 169 ($M+H$)⁺. Análise elementar, detectado: C:50,1; H:4,5; N:16,9%; o $C_7H_8N_2O_3$ requer C:50,00; H:4,79; N:16,66%.

E-5-(2-carboxivinil)-2,4-dimetoxipirimidina

Adicionaram-se ácido malônico (13,03 g; 126,2 mmol) e piperidina redestilada (2 ml), a uma solução de 5-formil-2,4-dimetoxipirimidina (10,52 g; 62,6 mmol), em piridina seca (60 ml). A mistura foi aquecida, num banho de vapor durante 10 h, o solvente foi, então, removido, por destilação sob pressão reduzida. O óleo residual foi re-evaporado a partir de água (3x25 ml) e o sólido assim obtido foi recristalizado, primeiro a partir de água e, depois, a partir de metanol seco, dando origem ao produto, na forma de agulhas brancas, rendimento 6,45 g; uma segunda porção do produto foi obtida a partir do filtrado (1,08 g). Rendimento total: 7,53 g (57%). Espectro de massa: (E1) m/z 210 (M^+). Análise elementar, detectado: C:52,1; H:4,8; N:13,1%; o $C_9H_{10}N_2O_4$ requer C:52,43; H:4,79; N:13,33%.

E-5-(2-Bromovinil)-2,4-dimetoxipirimidina

Adicionou-se K_2CO_3 (0,45 g; 5,25 mmol) a uma solução de E-5-(2-carboxivinil)-2,4-dimetoxipirimidina (0,300 g; 1,43 mmol), em DMF seca (5 ml). Depois de agitação à temperatura ambiente, durante 15 minutos, foi adicionada, gota a gota, uma solução de N-bromossuccinimida (0,258 g; 1,45 mmol), em DMF seca (4 ml), ao longo de 10 minutos. A suspensão foi imediatamente filtrada, o sólido foi lavado com DMF, e o filtrado foi evaporado sob alto vácuo. O resíduo sólido, foi purificado através de cromatografia em coluna, sobre SiO_2 eluindo com EtOAc-hexano (7:3, v/v), As frações correspondentes ao produto foram reunidas e evaporadas, originando finos cristais brancos; rendimento: 0,561 g (45%). Espectro de massa FAB: m/z 245 e 247 ($M+H$)⁺. Análise elementar, detectado: C:39,9; H:3,6; N:11,5%; o $C_8H_9BrN_2O_2$ requer C:40,20; H:3,70; N:11,43%.

71 613

61249

-49-

E-5-(2-Bromovinil)-uracilo

Adicionou-se NaI (3,3 g; 2,2 eq; 22 mmol), a uma solução de E-5-(2-bromovinil)-2,4-dimetoxipirimidina (2,45 g; 10 mmol) em AcOH (10 ml), mantendo-se a solução, sob refluxo, durante 3 horas. A mistura foi filtrada a quente e diluída com água (15 ml). Depois de arrefecido, o produto precipitado foi separado por filtração, lavado com acetona (50 ml) e éter (20 ml) e seco, dando origem a um pó de cor amarelo-pálido (1,40 g; 65%). Ponto de fusão >320°C; 60 MHz ¹H-RMN, DMSO-6d, δ: 7,60 (s, 1H, H-6); 7,30 (d, 1H, J=13 Hz, H vinílico); 6,80 (d, 1H, J=13 Hz, H vinílico).

O invento é ilustrado pelos exemplos seguintes.

EXEMPLO 1

i) E-5-(2-bromovinil)-4'-tio-2',3',5'-tri-O-acetiluridina

Foram agitados E-5-(2-bromovinil)uracilo (0,49 g, 2,27 mmol) e sulfato de amónio (0,005 g) em hexametildissilazano (8 ml) até à dissolução (3 horas). O solvente foi evaporado, o óleo residual foi dissolvido em acetonitrilo seco (10 ml) e adicionado, sob condições rigorosas de ausência de humidade, a uma solução de 4'-tio-D-ribose-1,2,3,5-tetraacetato (sintetizado a partir da L-lixose usando um procedimento da literatura E.J. Reist, D.E. Gueffroy & L. Goodman, J. Am. Chem. Soc., 1964, 86, 5658) (0,5 g, 1,5 mmol) em acetonitrilo seco (10 ml). A mistura foi agitada sob azoto, a 0°C e foi adicionado cloreto de estanho (IV) (0,2 ml, 1,73 mmol). A mistura reaccional foi, então, deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 1 hora. A solução foi diluída com diclorometano (20 ml) e a mistura foi parada por adição de uma solução saturada de bicarbonato de sódio. A camada orgânica foi separada, lavada com água, seca (Na₂SO₄) e evaporada até à secura. A purificação por cromatografia em coluna (SiO₂) em acetato de etilo/hexano 1:1 a 2:1 originou o composto do título contaminado com 8% de tio-α-anómero.

Espectro de Massa E I: observado m/z 490 para C₁₇H₁₉BrN₂O₈S
¹H 200 MHz rmn CDCl₃ 8,23 (1H, bs, NH), 7,92 (s, H-6 do anómero α), 7,7 (1H, s, H-6), 7,45 (1H, d, H vinílico, J = 14 Hz), 0,74 (1H, d, H vinílico, J = 14 Hz), 6,47 (d, H-1' do anómero α,

71 613

61249

-50-

$J_{1',2'} = 5\text{Hz}$), 6,38 (1H, d, H-1', $J_{1',2'} = 7,5\text{ Hz}$), 5,49 (1H, m, H-2'), 5,4 (1H, m, H-3'), 4,56-4,28 (2H, m, H-5'), 3,68 (1H, m, H-4'), 2,2-2,0 ppm (9H, 3 x s, H de acetilo).

ii) E-5-(2-Bromovinil)-4'-tio-uridina

O E-5-(2-bromovinil)-4'-tio-2',3',5'-tri-O-acetiluridina da reacção anterior (0,4 g, 0,8 mmol) foi adicionado a uma solução de metóxido de sódio (0,8 mmol) em metanol seco (5 ml) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas. A solução foi neutralizada com resina Dowex 50 (H^+), a resina foi filtrada, lavada com metanol e o filtrado combinado com as lavagens foram evaporados até à secura para dar o produto bruto. A recristalização a partir de etanol deu uma amostra pura do composto do título contendo 4,5% do anómero α .

Ponto de fusão - decompõe-se a 192°C.

^1H 200 MHz rmn d_6DMSO : 11,55 (1H, bs, NH), 8,23 (1H, s, H-6) 7,99 (s, H-6 do anómero α), 7,3 (1H, d, H vinílico, $J = 14\text{ Hz}$), 6,96 (1H, d, H vinílico, $J = 14\text{ Hz}$), 6,09 (d, H-1' do anómero α $J_{1',2'} = 5\text{ Hz}$), 5,89 (1H, d, H-1' $J_{1',2'} = 7,5\text{ Hz}$), 5,55-5,15 (3H, m, OH-2', OH-3', OH-5'), 4,2 (1H, m, H-2'), 4,05 (1H, m, H-3'), 3,65 (2H, m, H-5') 3,18 ppm (1H, m, H-4').

Espectro de massa E1: observado m/z 364 para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S}$

Microanálise: calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 0,66\text{ H}_2\text{O}$

C:35,02; H:3,799; N:7,43%

Detectado C:35,00; H:3,90; N:7,45%

EXEMPLO 2

i) 5-Etinil-4'-tio-2',3',5'-tri-O-acetiluridina

Este composto foi preparado de uma forma análoga à do exemplo 1(i), usando 5-etiniluracilo. A separação cromatográfica do produto final permitiu o isolamento dos α e β tio-anómeros numa forma bruta.

anómero α : ^1H 200 MHz rmn d_6DMSO : 11,65 (1H, bs, NH), 8,2 (1H, s, H-6), 6,23 (1H, d, H-1'), 5,05 (1H, m, H-2'), 4,45 (1H, m, H-3'), 4,4-4,15 (2H, m, H-5'), 4,08 (1H, s, H de etinilo), 4,0 (1H, m, H-4'), 2,07-1,96 ppm (9H, x S, H de acetilo).

71 613

61249

-51-

anómero β : 1H 200 MHz rmn d_6 DMSO: 11,75 (1H, bs, NH), 8,38 (1H, s, H-6), 6,11 (1H, d, H-1'), 5,7 (1H, m, H-2'), 5,44 (1H, m, H-3'), 4,5-4,2 (2H, m, H-5'), 4,19 (1H, s, H de etinilo), 3,68 (1H, m, H-4'), 2,2-2,0 (9H, 3 x s, H de acetilo).

ii) 5-Etinil-4'-tio-uridina

A desprotecção dos anómeros individuais do composto (i) acima, de uma forma idêntica à do exemplo 1 (ii), originou os anómeros α e β do composto do título.

anómero α : p.f. decompõe-se a 217°C

Espectro de Massa EI: observado m/z 284 para $C_{11}H_{12}N_2O_5S$

1H 200 MHz rmn d_6 DMSO: 11,55 (1H, bs, NH), 8,33 (1H, s, H-6), 6,1 (1H, d, H-1'), 5,65 (1H, d, OH-2') 5,3 (1H, d, OH-3'), 4,93 (1H, t, OH-5'), 4,13 (1H, m, H-2'), 4,07 (1H, s, H de etinilo), 3,94 (1H, m, H-3'), 3,8-3,5 (2H, m, H-5') 3,9 ppm (1H, m, H-4').

anómero β : p.f. 230-5°C (decomp.)

Espectro de Massa EI: onservado m/z 284 para $C_{11}H_{12}N_2O_5S$

1H 200MHz rmn d_6 DMSO: 11,6 (1H, bs, NH), 8,4 (1H, s, H-6), 5,86 (1H, d, H-1'), 5,5 (1H, d, OH-2') 5,7 (2H, m, OH-3' e OH-5'), 4,02 (1H, m, H-2'), 4,13 (1H, s, H de etinilo), 4,0 (1H, m, H-3'), 3,62 (2H, m, H-5'), 3,2 ppm (1H, m, H-4').

EXEMPLO 3

i) 5-iodo-4'-tio-2',3',5'-tri-O-acetiluridina

Este composto foi preparado de uma forma análoga à do Exemplo 1 (i), usando o 5-iodo-uracilo.

1H 200 MHz rmn $CDCl_3$: 8,58 (1H, bs, NH), 8,23 (1H, s, H-6), 6,33 (1H, d, H-1'), 5,55 (1H, m, H-2'), 5,4 (1H, m, H-3') 4,55-4,15 (2H, m, H-5'), 3,7 (1H, m, H-4'), 2,3-2,05 ppm (9 H, 3 x s, H de acetilo).

ii) 5-Iodo-4'-tio-uridina

A desprotecção do composto (i) acima, de uma forma análoga à do Exemplo 1 (ii), originou o composto do título.

P.f. Decompõe-se a 227°C

71 613

61249

-52-

^1H 200 MHz rmn d_6DMSO : 11,65 (1H, bs, NH), 8,48 (1H, s, H-6), 5,85 (1H, d, H-1'), 5,48 (1H, d, OH-2'), 5,25 (1H, t, OH-5'), 5,2 (1H, d, OH-3'), 4,2 (1H, m, OH-2'), 3,99 (1H, m, H-3'), 3,62 (2H, m, H-5'), 3,2 ppm (1H, m, H-4').

Espectro de Massa E1: observado m/z 386 para $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_2\text{IO}_5\text{S}$

EXEMPLO 4

5-(2-cloroetil)-2'-desoxi-4'-tio-uridina

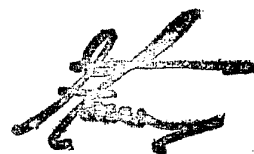
O 5-(2-cloroetil)uracilo (preparado pelo método de J.D. Fissekis & F. Sweet, J-Org. Chem., 1973, 28, 264) (0,122 g, 0,7 mmol) foi adicionado a hexametildissilazano (3 ml) e clorometilsilano (0,1 ml) e a mistura foi aquecida ao refluxo durante 2 horas. A mistura foi evaporada até à secura e foi adicionada ao residuo uma solução de 1-acetoxi-3,5-di-O-p-toluil-2-desoxi-D-eritropentafuranósido (ver Exemplo D) (0,2 g, 0,46 mmol) em diclorometano seco (10 ml), a mistura foi arrefecida a 0°C, com agitação, e foi adicionado trimetilsililtrifluorometanossulfonato (0,1 ml). Após agitação a 0°C durante 2 horas, foi adicionado diclorometano (30 ml) e a reacção foi parada com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (20 ml). A fase aquosa foi extractada com diclorometano (2 x 25 ml) e as fases orgânicas combinadas foram secas (Na_2SO_4) e evaporadas até à secura para dar o produto bruto sob a forma p-toluílica, protegida. Este intermediário (0,23 g) foi adicionado a uma solução de metóxido de sódio (0,9 mmol) em metanol seco (20 ml) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente, durante a noite. A solução foi neutralizada com resina Dowex 50 (H^+), a resina foi filtrada e lavada com metanol. O filtrado e as lavagens foram evaporados até à secura, o residuo sofreu partição entre éter e água, a camada orgânica foi reextractada com água e as fases aquosas combinadas foram evaporadas até à secura. O residuo foi cromatografado sobre sílica-gel, eluindo com metanol 7%/diclorometano, o produto foi crio-dessecado de água para dar o composto do titulo como uma mistura de anómeros na razão β/α de cerca de 1:1,25.

^1H 200 MHz rmn em $\text{d}_6\text{-DMSO}$: 11,4 (1H, m, NH), 8,2 (0,55H, s, H-6 do anómero α), 7,93 (0,44 H, s, H-6 do anómero β), 6,26 (0,44H, s,

71 613

61249

-53-



H-1' do anômero β), 6,15 (0,55H, dd, H-1' do anômero α), 4,38 (0,44H, m, H-3' do anômero β), 4,27 (0,55 H, m, H-3' do anômero α), 3,7 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 3,67-3,45 (2H, m, H-5'), 3,3 (1H, m mascarada pelo solvente, H-4'), 2,69 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 2,25-2,0 ppm (2H, m, H-2').

Espectro de Massa EI: observado m/z 306 para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S}$

Microanálise: calculada para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S} \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$

C:41,83; H:5,07; N:8,87%

Detectado: C:41,78; H:4,94; N:8,83%

EXEMPLO 5

2'-desoxi-5-nitro-4'-tio-uridina

Uma solução de éter 5-nitro-uracil-2,4-bis-trimetilsililico [a partir de 5-nitro-uracilo (118 mg, 0,75 mmol) e hexametildissilazida (3 ml)-clorotrimetilsilano (3 gotas), refluxo 1 hora] em CH_2Cl_2 seco (6 ml) foi adicionada a uma solução de 1-acetoxi-3,5-di-p-toluid-2-desoxi-4'-tio-D-eritropentafuranósido (200 mg, 0,5 mmol) em CH_2Cl_2 seco (10 ml). A mistura agitada foi arrefecida num banho de gelo e foi adicionado trimetilsililtri-fluorometanossulfonato (96 μl), recentemente destilado. Após 30 minutos a 0°C, a mistura foi vertida em NaHCO_3 saturado (50 ml) as fases foram separadas e a fase aquosa extractada com CH_2Cl_2 . A fase de CH_2Cl_2 combinada foi seca sobre MgSO_4 , evaporada e o resíduo foi triturado com éter para originar o nucleósido protegido bruto como um sólido branco. A desprotecção foi conseguida por adição de uma solução de sódio (20 mg) em MeOH (1 ml) a uma suspensão do produto (140 mg) em MeOH (10 ml). O sólido dissolveu-se em 5 minutos à temperatura ambiente. Após 2 horas a solução foi neutralizada com Dowex 50x8 H^+ , filtrada e evaporada. O resíduo foi triturado com éter e purificado por HPLC em Zorbax C8 de fase inversa, eluido com MeCN- H_2O (1:9, v/v). O anômero β puro foi isolado por crio-dessecação das fracções apropriadas. 200 MHz ^1H -RMN, DMSO- d_6 , δ : 12,0 (br s, 1H, NH); 9,55 (s, 1H, H6); 6,13 (t, 1H, 1'-H); 5,25 (m, 2H, 2 x OH); 4,3 (m, 1H, 3'-H); 3,65 (m, 2H, 5'-H); 3,1-3,4 (m, 4'-H mascarado por DOH); 2,3 (t, 2H, 2'-H). O espectro de massa FAB mostrou $(\text{M}+\text{H})^+$ a 290 e $(\text{M}+\text{Na})^+$

71 613

61249

-54-

a 311 para $C_9H_{11}N_3O_6S$.

EXEMPLO 6

E-5-(2-Bromovinil)-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo

Foi dissolvido E-5-(2-bromovinil)-4'-tio-uridina (0,196 g, 0,54 mmol) em piridina seca (2 ml) e foi adicionado 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetra-isopropildissiloxano (0,24 ml, 0,74 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida e o óleo residual foi cromatografado numa coluna de sílica-gel, eluindo com MeOH 5%/CH₂Cl₂, para se produzir o derivado 3',5'-dissiloxanilo. Este foi dissolvido em piridina seca (5 ml) a 0°C e foi adicionado cloreto de metanossulfonilo (0,04 ml, 0,48 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. A mistura reaccional foi arrefecida num banho de gelo/água e parada com água. O solvente foi removido por evaporação sob pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (10 ml) e lavado com água (10 ml). A camada aquosa foi extractada com diclorometano (10 ml) e as fases orgânicas combinadas foram secas (Na₂SO₄) e evaporadas até à secura. O resíduo foi co-evaporado com várias porções de diclorometano, a seguir tolueno, para se removerem traços de piridina, originando o derivado 3',5'-dissiloxanil-2-mesilato. O sólido espumoso resultante foi dissolvido em etanol aquoso 50% (20 ml) e foi adicionado carbonato de potássio (58 mg, 0,4 mmol) e a mistura foi aquecida a 80°C durante 1/2 hora. A mistura reaccional foi neutralizada com resina Dowex 50 (H⁺), a resina foi filtrada, lavada com etanol e o filtrado e lavagens combinados foram evaporados até à secura.

O resíduo sofreu partição entre diclorometano e água, a camada aquosa foi extractada com diclorometano (2x20 ml), os extractos orgânicos combinados foram secos (Na₂SO₄) e evaporados até à secura. A purificação por cromatografia em coluna sobre sílica-gel, eluindo com MeOH 5%/CH₂Cl₂, originou o derivado 2'-arabinose-3',5'-dissiloxanilo. Este foi dissolvido em tetra-hidrofurano seco (10 ml) e foi adicionado fluoreto de tetrabutílmónio, tri-hidratado (80 mg, 0,25 mmol). Após agitação à temperatura ambiente durante 1/2 hora, o solvente foi removido

71 613

61249

-55-

por evaporação e o residuo foi purificado por cromatografia em coluna (silica-gel), eluindo com MeOH 10%/CH₂Cl₂. As fracções apropriadas foram combinadas, evaporadas até à secura para dar uma amostra pura do produto do titulo. Ponto de fusão: começa a decompor-se a 165°C. 200 MHz ¹H RMN, d₆-DMSO: - 11,55 ppm (1H, bs, N-H); 8,39 (1H, s, H-6); 7,25 (1H, d, H vinílico, J = 14 Hz); 6,9 (1H, d, H vinílico, J = 14 Hz); 6,08 (1H, d, H-1' J_{1',2'} = 5Hz); 5,75 (1H, d, OH-2'); 5,45 (1H, d, OH-3'); 5,35 (1H, t, OH-5'); 3,9 - 4,1 (2H, m, H-2' & H-3'); 3,75 (2H, m, H-5'); 3,15 (1H, m, H-4').

Espectro de Massa EI: m/z: M, -Br 285; M, -base 149; base, +H, -Br 137, M-base, -H₂O 131

DADOS BIOLÓGICOS

a) Actividade anti-HSV

Virus Herpes Simplex do tipo 1 (HSV 1) e do tipo 2 (HSV 2), foram testados em monocamadas de células Vero dispostas em tabuleiros de alvéolos múltiplos. As estirpes de vírus utilizadas foram os SC16 e 186, para o HSV-1 e HSV-2, respectivamente. A actividade dos compostos foi determinada através do teste de redução da contagem de placa, de acordo com o qual, se infectou uma mono-camada celular, com uma suspensão de HVS apropriado, cobrindo-se, a seguir, com agarose nutritiva na forma de um gel, para assegurar que não haveria propagação do vírus a toda a cultura. Foi incorporada uma gama de concentrações de composto de molaridade conhecida, na camada de agarose nutritiva. As contagens das placas correspondentes a cada concentração da droga, foram expressas na forma de percentagens de uma contagem de controlo, traçando-se uma curva de dose-resposta, a partir desta curva, a concentração inibidora de 50% (CI₅₀) foi estimada em 0,66 µM para o composto de fórmula (I) em que X representava um grupo 2-bromovinilo.

b) Actividade anti-CMV

O citomegalovirus humano (HCMV), foi testado em mono-camadas de células MRC 5 (pulmão humano embrionário), em tabuleiros de alvéolos múltiplos. Utilizou-se a estirpe padrão AD 169, de CMV. A actividade dos compostos é determinada através do teste de

redução de contagem de placas, na qual uma mono-camada celular é infectada com uma suspensão de HCMV e, a seguir, coberta com agarose nutritiva, na forma de um gel, para assegurar que não haverá propagação do vírus a toda a cultura. Foi incorporada uma gama de concentrações de composto, de molaridade conhecida, na camada de agarose nutritiva. As contagens nas placas, correspondentes a cada concentração de droga, foram expressas na forma de percentagens de uma contagem de controlo, traçando-se uma curva de dose-resposta.

c) Actividade anti-VZV

Testaram-se vírus varicela-zóster (VZV), isolados clinicamente, em mono-camadas de células MRC-5. As células MRC-5 derivam do tecido do pulmão humano embrionário. Usou-se um teste de redução da contagem de placa, no qual se utilizou uma suspensão, dos vírus disponíveis, para infectar mono-camadas celulares, em tabuleiros de alvéolos múltiplos. Foi adicionada, aos alvéolos, uma gama de concentrações do composto em teste, de molaridade conhecida. As contagens nas placas, correspondentes a cada concentração da droga, foram expressas na forma de percentagens de uma contagem de controlo, traçando-se uma curva de dose-resposta. A partir dessas curvas, determinaram-se as concentrações inibidoras de 50%, para cada uma das drogas.

A actividade antiviral da 5-(2-cloroetil)-2'-desoxi-4'-tio-uridina foi determinada, sendo como se segue:

$$CI_{50} (\mu M) \text{ vs HSV-1} = 0,156$$

$$CI_{50} (\mu M) \text{ vs HSV-2} = >2$$

$$CI_{50} (\mu M) \text{ vs VSV} = 0,29$$

EXEMPLOS DE FORMULAÇÃO

Os exemplos seguintes, ilustram formulações farmacêuticas, conforme com o invento, nas quais o ingrediente activo é um composto de fórmula (I).

71 613

61249

-57-

Exemplo de Formulação A - Comprimido

Ingrediente activo	100 mg
Lactose	200 mg
Amido	50 mg
Polivinilpirrolidona	5 mg
Estearato de magnésio	<u>4 mg</u>
	359 mg

Os comprimidos são preparados, a partir dos ingredientes precedentes, através de granulação húmida, seguida de compressão.

Exemplo de Formulação B - Solução Oftálmica

Ingrediente activo	0,5 g
Cloreto de sódio, grau analítico	0,9 g
Tiomersal	0,001 g
Água purificada até	100 ml
pH ajustado a	7,5

Exemplo de Formulação C - Formulações de comprimidos

As formulações a e b seguintes, são preparadas através de granulação húmida dos ingredientes, com uma solução de povidona, seguida de adição de estearato de magnésio e compressão.

Formulação de Comprimidos a

	<u>mg/comprimido</u>	<u>mg/comprimido</u>
(a) ingrediente activo	250	250
(b) Lactose B.P.	210	26
(c) Povidona B.P.	15	9
(d) Glicolato de amido e sódio	20	12
(e) Estearato de magnésio	<u>5</u>	<u>3</u>
	500	300

71 613
61249



-58-

Formulação de Comprimidos b

	<u>mg/comprimido</u>	<u>mg/comprimido</u>
(a) Ingrediente activo	250	250
(b) Lactose	150	-
(c) Avicel PH 101	60	26
(d) Povidona B.P.	15	9
(e) Glicolato de amido e sódio	20	12
(f) Estearato de magnésio	<u>5</u>	<u>3</u>
	500	300

Formulação de Comprimidos c

	<u>mg/comprimido</u>
Ingrediente activo	100
Lactose	200
Amido	50
Povidona	5
Estearato de magnésio	<u>4</u>
	359

As formulações d e e seguintes, são preparadas através de compressão directa da mistura dos ingredientes. A lactose, usada na formulação e, é do tipo destinado a compressão directa.

Formulação de Comprimidos d

	<u>mg/cápsula</u>
Ingrediente activo	250
Amido pregelatinizado NF15	<u>150</u>
	400

Formulação de Comprimidos e

	<u>mg/cápsula</u>
Ingrediente activo	250
Lactose	150
Avicel	<u>100</u>
	500

Formulação de comprimidos f (Formulação de libertação controlada)

A formulação é preparada através de granulação húmida dos ingredientes (abaixo), com uma solução de povidona, seguida da adição de estearato de magnésio e compressão.

71 613

61249

-59-

	<u>mg/comprimido</u>
(a) Ingrediente activo	500
(b) Hidroxipropilmetilcelulose (Methocel K4M Premium)	112
(c) Lactose B.P.	53
(d) Povidona B.P.C.	28
(e) Estearato de magnésio	<u>7</u>
	700

A libertação da droga decorre ao longo de um período de, aproximadamente, 6-8 horas, estando completa depois de 12 horas.

Exemplo de Formulação D: Formulação de cápsulas

Formulação de Cápsula a

Prepara-se uma formulação de cápsulas, através de mistura dos ingredientes da Formulação d, do Exemplo C supra, e enchimento de uma cápsula de gelatina dura, de duas metades. A formulação b (infra) é preparada de modo similar.

Formulação de Cápsula b

	<u>mg/cápsula</u>
(a) Ingrediente activo	250
(b) Lactose B.P.	143
(c) Glicolato de amido e sódio	25
(d) Estearato de magnésio	<u>2</u>
	420

Formulação de Cápsula c

	<u>mg/cápsula</u>
(a) Ingrediente activo	250
(b) Macrogol 4000 BP	<u>350</u>
	600

As cápsulas são preparadas através de fusão do Macrogol 4000 BP, dispersão do agente activo na substância fundida e enchimento desta, em cápsulas de gelatina dura, de duas metades.

71 613

61249



-60-

Formulação de Cápsula d

	<u>mg/cápsula</u>
Ingrediente activo	250
Lecitina	100
Óleo de amendoim	<u>100</u>
	450

As cápsulas são preparadas, através de dispersão do ingrediente activo na lecitina e no óleo de amendoim, e enchimento da dispersão em cápsulas de gelatina elástica e macia.

Formulação de Cápsula e (Cápsula de Libertação Controlada)

A formulação de cápsula de libertação controlada, seguinte, é preparada por extrusão dos ingredientes a, b e c, utilizando uma extrusora, seguida de esferolação do extrudido e secagem. As pelotas secas são, a seguir, revestidas, com uma membrana controladora de libertação (d), e introduzidos numa cápsula de gelatina dura, de duas metades.

	<u>mg/cápsula</u>
(a) Ingrediente activo	250
(b) Celulose micro-cristalina	125
(c) Lactose BP	125
(d) Etil-celulose	<u>13</u>
	513

Exemplo de Formulação E: Formulação Injectável

<u>Ingrediente activo</u>	0,200 g
Tampão fosfato, estéril e isento de pirogénios até	10 ml

O ingrediente activo é dissolvido na maior parte do tampão fosfato (35-40°C), a seguir, completa-se o volume e filtra-se, através de um filtro de microporos estéril, para um frasco estéril, de 10 ml, de vidro amberizado (tipo 1), posto o que se faz a selagem, com rolha e cápsula de selagem estéreis.

Exemplo de Formulação F: Injecção Intramuscular

Ingrediente activo	0,20 g
Alcool benzílico	0,10 g
Glucofurol 75	1,45 g
Água para injeções q.b. para	3,00 ml

71 613

61249

-61-



O ingrediente activo é dissolvido no glicofurol. O álcool benzílico é, então, adicionado e dissolvido, adicionando-se, ainda, água, até 3 ml. A seguir, a mistura é filtrada, através de um filtro de microporos estéril, e selada, em frascos de vidro estéreis, de 3 ml (tipo 1).

Exemplo de Formulação G:

Suspensão de Xarope

Ingrediente activo	0,2500 g
Solução de sorbitol	1,5000 g
Glicerol	2,0000 g
Celulose dispersável	0,0750 g
Benzoato de sódio	0,0050 g
Aromatizante de pêssago, 17.42.3169	0,0125 ml
Água purificada q.b. para	5,0000 ml

O benzoato de sódio é dissolvido numa parte de água purificada e adiciona-se a solução de sorbitol. O ingrediente activo é adicionado e disperso. O espessante (celulose dispersável), é disperso no glicerol. As duas dispersões são misturadas e o volume é completado, com água purificada, até ao volume requerido. É conseguido um maior espessamento, à medida das necessidades, continuando a mexer a dispersão.

Exemplo de Formulação H: Supositório

mg/supositório

Ingrediente activo (63 μ m)*	250
Gordura consistente, BP (Witepsol H15 - Dynamit NoBel)	<u>1770</u> 2020

* O ingrediente activo é usado na forma de um pó, onde, pelo menos 90% das partículas, tem um diâmetro não superior a 63 μ m.

Uma quinta parte do Witepsol H15 é fundida num recipiente com uma camisa de vapor, a uma temperatura máxima de 45°C. O ingrediente activo, é peneirado através de um crivo de 200 μ m, e é adicionado à base fundida, mexendo bem com uma espátula munida de uma ponta cortante, até se obter uma dispersão mole. Mantendo a mistura a 45°C, adiciona-se o Witepsol H15 remanescente à suspensão e agita-se, para assegurar a homogeneidade da mistura.

71 613

61249

-62-

A suspensão é integralmente passada através de um crivo de 250 μ m, de aço inoxidável e, sob agitação continua, permite-se o seu arrefecimento até 40°C. A uma temperatura entre 38°C e 40°C, preenchem-se moldes de plástico adequados, com 2,02 g com a mistura. Depois, deixa-se que os supositórios arrefeçam até à temperatura ambiente.

Exemplo de Formulação I: Pessários

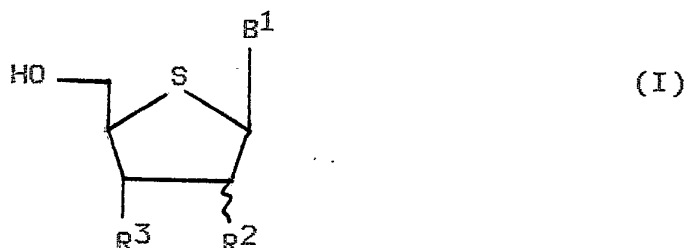
	<u>mg/pessário</u>
Ingrediente activo (63 μ m)	250
Dextrose anidra	380
Amido de batata	363
Estearato de magnésio	<u>7</u>
	1000

Os ingredientes supra, são misturados directamente, após o que se preparam os pessários, por compressão directa da mistura resultante.



R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1 - Processo de produção de um composto de fórmula (I)



na qual B¹ é uma base pirimidina;

e (a) R² é hidrogênio e R³ é hidroxí ou fluoro,

ou (b) R² é hidroxí e R³ é hidrogênio, hidroxí ou fluoro,

ou (c) R² é fluoro e R³ é hidrogênio ou hidroxí,

ou (d) R² e R³, em conjunto, formam uma ligação carbono-carbono;

e dos seus derivados fisiologicamente funcionais, com as condições de:

(i) quando R² for hidrogênio e R³ for hidroxí, B¹ não ser uma base pirimidina de fórmula (X)



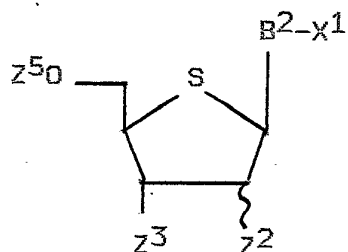
na qual Y¹ é hidroxí ou amino e X¹ é fluoro, cloro, bromo, iodo, metilo, trifluorometilo, alquilo C₂₋₆, alcenilo C₂₋₆, haloalcenilo C₂₋₆ ou alcinilo C₂₋₆;

(ii) que o composto de fórmula (I) não seja 4'-tiocitidina, 4'-tio-uracilo, 1-(4-tio-β-D-arabinofuranosil)citosina, 1-(4-tio-β-D-arabinofuranosil)timina ou 1-(4-tio-β-D-arabinofuranosil)-uracilo; e

(iii) que o composto de fórmula (I) não seja uma 4'-tio-uridina substituída na posição 5'-, onde o substituinte na posição 5- é halogênio ou metilo;

processo caracterizado por compreender:

A) a reacção de um composto de fórmula (III-A)



(III-A)

na qual X^1 é um precursor de um substituinte de uma base pirimidina, definido como para B^1 na fórmula (I);
 B^2 é uma pirimidina substituída pelo grupo X^1 ;
 z^2 e z^3 são iguais ou diferentes e são grupos R^2 e R^3 ou hidroxilos protegidos; e
 z^5 é hidrogénio ou um grupo protector de hidroxilo, com um reagente ou reagentes que sirvam para converter o grupo X^1 no grupo X desejado;

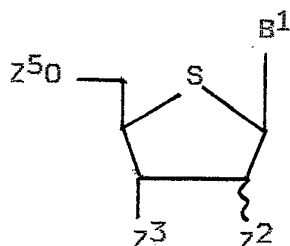
B) a reacção de um composto de fórmula (IV-A)



(IV-A)

ou de uma sua forma protegida, com um derivado de 4-tio-açúcar que sirva para introduzir a parte 4-tio-açúcar, ou uma sua forma protegida, na posição 1- da base B^1 ;

C) a reacção de um composto de fórmula (V-A)



(V-A)

na qual

B^1 é uma base pirimidina definida como anteriormente;
 z^5 é hidrogénio ou um grupo protector de hidroxilo e z^2 e z^3 são definidos como anteriormente, representando, pelo menos, um de z^2 e z^3 um grupo precursor do(s) grupo(s) R^2 e/ou R^3 da fórmula (I)

sob condições e/ou com um reagente que sirvam para converter os grupos z^2 e/ou z^3 nos respectivos grupos R^2 e/ou R^3 .

71 613

61249

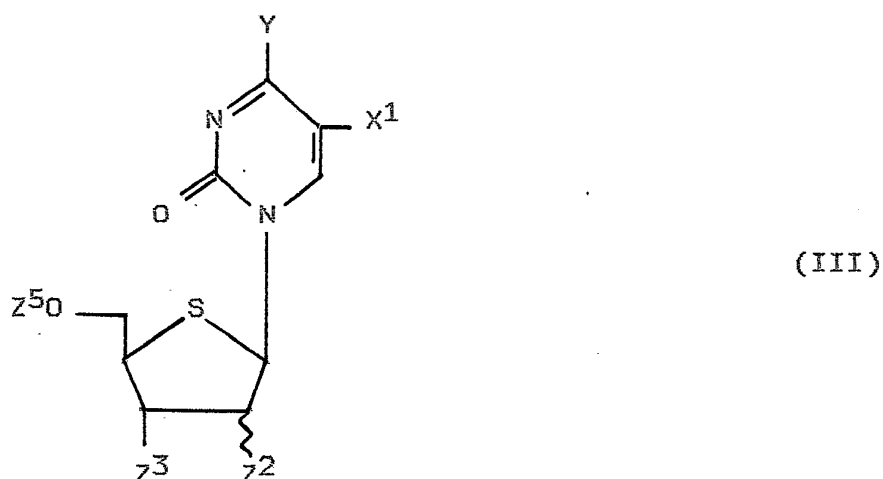
-65-

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por B¹ ter a fórmula (II)



na qual Y é hidroxí ou amino, monoalquilamino ou dialquilamino; e X é halogénico, alcoxi, alquilo, halo, alcenilo, haloalcenilo, alcínio, amino, monoalquilamino, dialquilamino, ciano ou nitro, caracterizado por compreender

D) a reacção de um composto de fórmula III



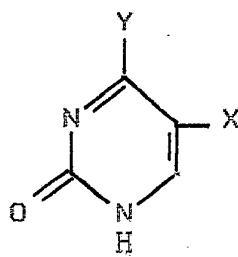
na qual X¹ é um precursor do grupo X, definido como para a fórmula (I);

Y é definido como para a fórmula (II);

Z² e Z³ são iguais ou diferentes e são grupos R² e R³ ou grupos hidroxilo protegidos e Z⁵ é hidrogénio ou um grupo protector de hidroxilo,

com um reagente ou reagentes que sirvam para converter o grupo X¹ no grupo X desejado;

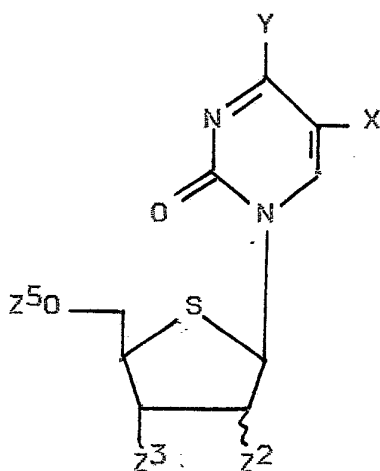
E) a reacção de um composto de fórmula (IV)



(IV)

na qual X e Y são definidos como para a fórmula (I), ou de uma sua forma protegida, com um derivado de 4-tio-açúcar que sirva para introduzir a parte 4-tio-açúcar de fórmula (I), ou uma sua forma protegida, na posição 1- do composto de fórmula (IV);

F) a reacção de um composto de fórmula (V)



(V)

na qual X e Y são definidos como para a fórmula (I), Z^5 é um grupo protector de hidróxi ou hidrogénio; Z^2 e Z^3 são definidos como anteriormente, representando, pelo menos, um de Z^2 e Z^3 um grupo precursor do(s) grupo(s) R^2 e/ou R^3 da fórmula (I) sob condições e/ou com um reagente que sirva para converter os grupos Z^2 e/ou Z^3 nos respectivos grupos R^2 e/ou R^3 .

3 - Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por incluir ainda, a seguir a uma ou mais das variantes A a F, qualquer um ou mais dos seguintes passos adicionais, por qualquer ordem:

- a) remoção de cada um dos grupos protectores,
- b) conversão de um composto de fórmula (I), ou de uma sua

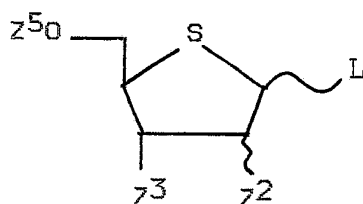


forma protegida, num outro composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,

- c) conversão do composto de fórmula (I), ou de uma sua forma protegida, num derivado, fisiologicamente aceitável, do composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,
- d) conversão de um derivado, fisiologicamente aceitável, do composto de fórmula (I) ou de uma sua forma protegida, no composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,
- e) conversão de um derivado, fisiologicamente aceitável, do composto de fórmula (I) ou de uma sua forma protegida, num outro derivado fisiologicamente aceitável, do composto de fórmula (I) ou numa sua forma protegida,
- f) quando necessário, separação dos anómeros α e β do composto de fórmula (I) ou de um seu derivado protegido ou de um derivado, fisiologicamente aceitável, de um composto de fórmula (I) ou de um seu derivado, e
- g) quando são necessários derivados das partes 4'-sulfona ou sulfóxido-açúcar, oxidar parcial ou completamente o enxofre da parte 4-tio-açúcar do correspondente composto de fórmula (I) ou de uma sua forma protegida ou de um composto de fórmula (II) ou de uma sua forma protegida, com um perácido.

4 - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1B, 2E ou 3, caracterizado por compreender:

- a) a reacção do composto de fórmula (IV) ou (IV-A), definidas como nas reivindicações 2 e 1, respectivamente, ou de uma sua forma protegida, com um composto 4-tio-açúcar de fórmula (VI)



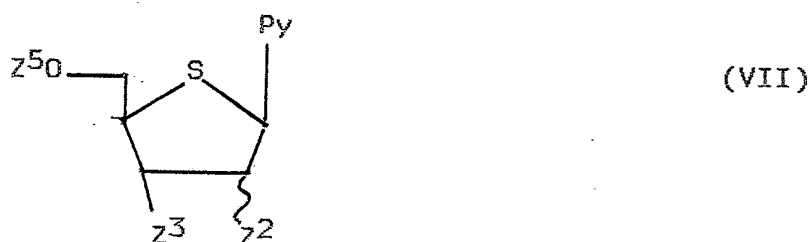
(VI)

na qual Z^1 , Z^3 e Z^5 são definidos como na reivindicação 1 e L é



um grupo que se despede,
na presença de um catalisador de ácido de Lewis, num solvente à temperatura ambiente ou a uma temperatura reduzida ou elevada;

b) a reacção do composto de fórmula (IV-A) ou (IV), definidas como anteriormente, ou de uma sua forma protegida, com um composto de fórmula (VII)



na qual Z^2 , Z^3 e Z^5 são definidos como anteriormente e Py representa uma base pirimidina, na presença de um agente de sililação e na presença de um catalisador de ácido de Lewis.

5 - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 4, caracterizado por X ser alquilo C_{2-4} , haloalquilo ou haloalcenilo ou alcenilo C_{3-4} ou alcinilo.

6 - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado por a parte 4-tiopentafuranósido do composto de fórmula (I) ser seleccionado a partir dos resíduos de:

tio-D-ribofuranose,
4-tio-D-arabinofuranose,
2-desoxi-4-tio-D-ribofuranose,
2,3-didesoxi-4-tio-D-pentenofuranose,
2,3-didesoxi-4-tio-D-ribofuranose,
2-fluoro-4-tio-D-arabinofuranose,
2-fluoro-4-tio-D-ribofuranose, e
2,3-didesoxi-3-fluoro-4-tio-D-ribofuranose.

7 - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado por o composto de fórmula (I) obtido ser seleccionado a partir de:

5-(2-cloroetil)-2'-desoxi-4'-tio-uridina;

71 613

61249

-69-

5-nitro-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
5-amino-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
5-metilamino-2'-desoxi-4'-tio-uridina;
5-iodo-4'-tio-uridina;
5-etinil-4'-tio-uridina;
E-5-(2-bromovinil)-4'-tio-uridina;
5-etinil-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
5-etil-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
5-(prop-1-inil)-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uracilo;
E-5-(2-bromovinil)-1-(4-tio- β -D-arabinofuranosil)uraci-
lo;
1-(2-fluoro-4-tio- β -D-arabinofuranosil)-5-metiluracilo;
1-(2-fluoro-4-tio- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina;
1-(2,3-didesidro-2,3-didesoxi-4-tio- β -D-arabinofurano-
sil)-5-metiluracilo; e
2'-desoxi-2'-fluoro-4'-tiocitidina.

8 - Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado por se obter um derivado, fisiologicamente aceitável, do composto de fórmula (I), sendo o derivado um sal de metal alcalino, de metal alcalino-terroso, de amónio, de NR_4 (onde R é alquilo C_{1-4}), de hidrocloreto ou de acetato.

9 - Processo de preparação de uma composição farmacêutica destinada ao tratamento ou profilaxia de uma infecção por vírus, caracterizado por se associar o composto de fórmula (I), obtido de acordo com as reivindicações 1 a 8, com um portador ou diluente farmacêuticamente aceitável.

Lisboa,

-4. Out. 1990

Por UNIVERSITY OF BIRMINGHAM

- O AGENTE OFICIAL -

