



(11) *Número de Publicação:* PT 830371 E

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07K005/02 A C07D471/04 B
A61K031/435 B A61K038/55 B

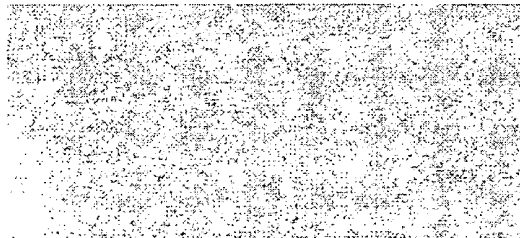
(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) <i>Data de depósito:</i> 1996.05.29	(73) <i>Titular(es):</i> AKZO NOBEL N.V. VELPERWEG 76 NL-6824 BM ARNHEM NL
(30) <i>Prioridade:</i> 1995.06.02 EP 95201448	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1998.03.25	(72) <i>Inventor(es):</i> HENRICUS C. J. OTTENHEYM ANTON EGBERT PETER ADANG JACOBUS ALBERTUS MARIA PETERS NL NL NL
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2000.12.20	(74) <i>Mandatário(s):</i> ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA RUA DAS FLORES 74 4/AND. 1294 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* INIBIDORES DE SERINA-PROTEASE DERIVADOS DE IMIDAZOL[1,5A]PIRIDINA

(57) *Resumo:*

INIBIDORES DE SERINA-PROTEASE DERIVADOS DE IMIDAZOL[1,5A]PIRIDINA



DESCRIÇÃO

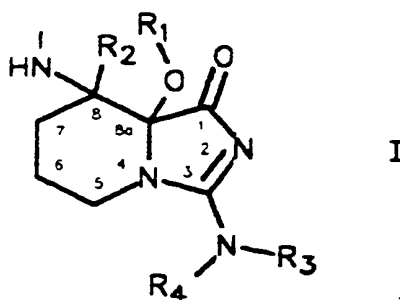
"Inibidores de serina-protease derivados de imidazo[1,5a]piridina"

A presente invenção refere-se a inibidores de serina-protease derivados de imidazo[1,5a]piridina, a um processo para a sua preparação, a uma composição farmacêutica contendo os mesmos, bem como à utilização destes inibidores de serina-protease derivados de imidazo[1,5a]piridina para terapia médica, e em particular para o tratamento e prevenção de trombose ou outras doenças associadas à trombina.

Os derivados de imidazo[1,5]piridina são conhecidos, por exemplo a 3-amino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona é descrita por Klein *et al.* (*Liebigs Ann. Chem.* 1623-1637, 1983). Não é revelada qualquer actividade farmacológica para este composto.

Os derivados de 3,8-diaminoimidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona substituídos na posição 8, da presente invenção, são compostos novos que são inibidores selectivos reversíveis de serina-proteases que requerem um resíduo de aminoácido básico na posição P1 dos seus substratos.

A invenção refere-se a inibidores de serina-protease derivados de imidazo[1,5a]piridina compreendendo uma unidade com a fórmula geral I



em que R₁ é hidrogénio, alquilo inferior ou um grupo acilo; R₂ é hidrogénio ou alquilo inferior; R₃ e R₄ são independentemente hidrogénio, alquilo inferior ou em conjunto formam =CH-NR₅R₆, sendo R₅ e R₆ alquilo inferior; ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

Na definição dos compostos de fórmula I a expressão alquilo inferior significa um grupo alquilo ramificado ou não ramificado possuindo preferivelmente 1-6 átomos de carbono, como hexilo, isobutilo, propilo, isopropilo, etilo, e, o mais preferido, metilo.

A expressão grupo acilo significa um grupo 1-oxoalquilo derivado de ácido carboxílico possuindo de 1 a 6 átomos de carbono, como hexanoílo, *tert*-butanoílo, propionilo, acetilo e formilo. O grupo acilo preferido é o grupo acetilo.

As serina-proteases são uma classe de enzimas proteolíticas que catalisam a hidrólise de ligações peptídicas específicas em substratos proteínicos. Schechter e Berger (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 27, 157-162, 1967) propuseram uma nomenclatura agora muito frequentemente usada, para a identificação de resíduos de aminoácido nos substratos das serina-proteases:

Substrato: ~ = ligação físsil

..P_n...P₄-P₃-P₂-P₁~P₁'-P₂'-P₃'-P₄'...P_n'...

Enzima:

..S_n...S₄-S₃-S₂-S₁-S₁'-S₂'-S₃'-S₄'...S_n'...

Os resíduos de aminoácido dos sublocais do substrato no terminal N da ligação físsil P₁-P₁' são designados P₁, P₂ etc. e P₁', P₂' etc. no terminal C. Estes sublocais do substrato correspondem aos possíveis sublocais (S₁, S₂, etc.) na enzima com os quais ocorrem as interacções de ligação.

Os compostos da presente invenção são inibidores de serina-proteases que requerem um resíduo de aminoácido básico, como arginina ou lisina, na posição P₁ dos seus substratos. São exemplos representativos destas serina-proteases a tripsina, plasmina, o activador de plasminogénio-uroquinase, calicreínas, calpaína, acrosina, e trombina.

A presente invenção proporciona análogos de substratos peptídicos, que abrangem resíduos da região P de substratos apenas das proteases pertinentes,

em que o resíduo terminal P_1 é substituído pela unidade 3,8-diaminoimidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona de fórmula I.

É um dos objectivos principais da presente invenção proporcionar inibidores selectivos de certas serina-proteases que fazem parte da cascata da coagulação do sangue. Nesta cascata enzimática a forma activada de um factor da coagulação catalisa a activação do factor seguinte, conduzindo por último à rápida produção da serina-protease dirigida por arginina (o resíduo do substrato P_1 é uma arginina), trombina (factor IIa) a partir do seu precursor, protrombina (factor II). Este último processo é catalisado por factor Xa, que é também uma serina-protease dirigida por arginina. A trombina, a última enzima no sistema da coagulação, clivará a proteína plasmática solúvel, fibrinogénio, para gerar monómeros de fibrina, que reticulam para formar um gel insolúvel. Para além de estar envolvida na regulação das suas próprias produção e actividade, a trombina é um potente agonista de plaquetas, induzindo portanto a agregação de plaquetas. As plaquetas activadas formam, em conjunto com a matriz polimérica de fibrina e eritrócitos aprisionados, o coágulo sanguíneo ou trombo.

A trombina desempenha um papel chave no processo de hemóstase, o processo fisiológico que pára hemorragias de um vaso sanguíneo danificado. Desempenha também um papel na trombose, que é a condição patológica pela qual uma actividade inadequada do mecanismo hemostático resulta na formação de trombos intravasculares, que por sua vez conduzem à interrupção do fluxo sanguíneo. A trombose pode ocorrer tanto nas veias como nas artérias.

Actualmente estão em uso clínico, para evitar a trombose, dois tipos de anticoagulantes, *i.e.* heparinas e antagonistas de vitamina K. Ambos actuam indirectamente reduzindo a actividade da trombina. A heparina actua principalmente acelerando a inactivação de trombina através dos seus inibidores fisiológicos como a antitrombina III e o cofactor II heparina. A heparina actua apenas quando dada parentericamente. Os antagonistas da vitamina K, dos quais o derivado de cumarina warfarina é um exemplo bem conhecido, são oralmente activos e actuam inibindo a produção, na forma funcional, de vários dos factores da coagulação dependentes da vitamina K (II, VII, IX e X). Devido ao seu mecanismo de acção, estes últimos agentes têm lentos início e inversão de acção. Os principais problemas clínicos associados à utilização de heparinas



e cumarinas são a hemorragia e a sua pequena e imprevisível margem de segurança terapêutica.

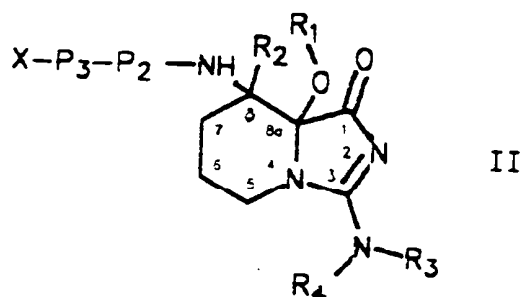
Existe portanto necessidade de desenvolver inibidores da coagulação melhorados, que inibam por exemplo a trombina ou o factor Xa de forma directa.

Verificou-se que compostos que compreendem a unidade 3,8-diamino-8a-hidroxi-imidazo[1,5-a]piridin-1(5H)-ona da invenção são inibidores de serina-proteases, que requerem um resíduo de aminoácido básico (*i.e.* arginina, lisina) na posição P_1 dos seus substratos. Estes compostos são presumivelmente capazes de interaccionar no local de especificidade principal, S_1 , da protease. A selectividade do seu modo de acção é ainda determinada pelo substituinte no grupo 8-amino da unidade 3,8-diamino-8a-hidroxi-imidazo[1,5-a]piridin-1(5H)-ona. O substituinte pode ser qualquer grupo que seja capaz de interaccionar com os sublocais $S_n \dots S_2$, e preferivelmente um grupo peptídico que seja homólogo dos sublocais $P_n \dots P_2$ do substrato da enzima pertinente ou pode ser qualquer derivado ou mímica dos sublocais $P_n \dots P_2$ do substrato que se ligam aos sublocais $S_n \dots S_2$ putativos do local activo da enzima.

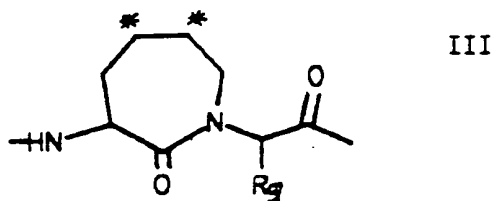
Uma concretização preferida da presente invenção refere-se a inibidores de serina-proteases, como trombina e factor Xa, que estão envolvidos no processo de trombose e hemóstase. Os inibidores de acordo com uma concretização preferida compreendem a unidade possuindo a fórmula I e um substituinte no grupo 8-amino que é um homólogo, um derivado ou uma mímica dos sublocais $P_3 - P_2$ do substrato da serina-protease pertinente. Vários destes derivados $P_3 - P_2$ são já conhecidos na arte, por exemplo como descrito por Hauptmann e Markwardt (*Seminars in Trombosis and Hemostasis*, 18, 200-217, 1992), Jakubowski *et al.* (*Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 27, 99-108, 1992) e Shuman *et al.* (*J. Med. Chem.* 36, 314-319, 1993), que são aqui incorporados por referência.

Os compostos preferidos de acordo com a invenção são os derivados de 3,8-diamino-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1[5a]-ona de fórmula I em que R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são hidrogénio.

Numa concretização mais preferida a presente invenção refere-se a inibidores de serina-protease possuindo a fórmula II,



em que R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são hidrogénio; X é hidrogénio, R_7 , $R_7-O-C(O)-$, $R_7-C(O)-$, R_7-SO_2- , $-(CHR_8)_mCOOR_8$, ou um grupo protector de N, em que R_7 é (1-12C)alquilo ou (2-12C)alcenilo, grupos estes que podem opcionalmente estar substituídos com (3-8C)cicloalquilo, (1-6C)alcoxi, OH ou halogéneo, ou R_7 é (3-8C)cicloalquilo, (4-10C)heterociclilo, (4-14C)arilo, (7-15C)aralquilo e (8-16C)aralcenilo, grupos estes que podem opcionalmente estar substituídos com (1-6C)alquilo, (3-8C)cicloalquilo, (1-6C)alcoxi, OH ou halogéneo, e cujos grupos arilo podem opcionalmente compreender um heteroátomo; cada grupo R_8 é independentemente hidrogénio ou tem o mesmo significado que R_7 ; m é 1, 2 ou 3; P_3 é uma ligação, um aminoácido de fórmula $-NH-CH[(CH_2)_pC(O)OH]-C(O)-$ ou um éster seu derivado e sendo p 0, 1, 2 ou 3, $-N(\text{benzil})-CH_2-CO-$, $D-Tiq$, Atc , $3-Piq$, $1-Piq$ ou um D-aminoácido possuindo uma cadeia lateral hidrófoba; P_2 é Pro ou Pec, opcionalmente substituídos com (1-4C)alquilo, halogéneo, hidroxí ou oxo, ou um aminoácido seleccionado de entre Gly, Val, Ile, 2,4-MePro, 3,3-Dmp, Ilc, Thz, Hyp, 2,2-Dmt, 5,5-Dmt, Lac, Apy, Ac_5c , 1-Nal e 2-Nal, ou P_2 é um aminoácido de fórmula $-N[(3-8C)cicloalquil]-CH_2-C(O)-$, cujo anel pode opcionalmente estar substituído com (1-6C)alquilo, halogéneo, hidroxí ou oxo; ou P_2 é uma ligação, caso em que P_3 é também uma ligação e X é R_7-SO_2- ; ou P_2 e P_3 representam em conjunto uma estrutura que imita um dipéptido com a fórmula III



que, nas posições indicadas com um asterisco, pode estar fundida com um anel benzeno e em que R₉ é hidrogénio ou alquilo inferior.

O grupo protector de N, tal como definido na definição da porção X, é qualquer grupo protector de N tal como usualmente utilizado na química peptídica para a protecção de um grupo α -amino, como o grupo *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo benziloxicarbonilo (Z), o grupo 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc) ou o grupo ftaloílo (Phth). Os grupos protectores de N adequados podem ainda ser encontrados em T.W. Green e P.G.M. Wuts. *Protective Groups in Organic Synthesis*, Segunda Edição (Wiley, NY, 1991) e em *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology*, Vol. 3 E. Gross e J. Meienhofer, Eds., (Academic Press, New York, 1981).

O termo (1-12C)alquilo significa um grupo alquilo ramificado ou não ramificado possuindo 1 a 12 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, *t*-butilo, isopentilo, heptilo, dodecilo, e semelhantes. Os grupos alquilo preferidos são grupos (1-6C)alquilo, possuindo 1-6 átomos de carbono. Os mais preferidos são os grupos (1-4C)alquilo, possuindo 1-4 átomos de carbono, tais como metilo, etilo, isopropilo, *n*-butilo e *t*-butilo.

Um grupo (2-12C)alcenilo é um grupo hidrocarboneto insaturado ramificado ou não ramificado possuindo 2 a 12 átomos de carbono. Os exemplos são etenilo, propenilo, alilo, e semelhantes.

O termo (1-6C)alcoxi significa um grupo alcoxi possuindo 1-6 átomos de carbono, cuja porção alquilo tem o significado anteriormente definido.

O termo (3-8C)cicloalquilo significa um grupo cicloalquilo possuindo 3-8 átomos de carbono, sendo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo ou ciclo-octilo. Ciclopentilo e ciclo-hexilo são os grupos cicloalquilo preferidos.

O termo (4-10C)heterociclilo significa um grupo hidrocarboneto cíclico substituído ou não substituído, possuindo 4 a 10 átomos de carbono, contendo também um ou dois heteroátomos seleccionados de entre N, O, e S, como 3-metil-1,2,3,4-tetra-hidro-8-quinolinilo. Os substituintes no grupo heterocíclico

podem ser seleccionados de entre grupos tais como (1-6C)alcoxi, hidroxi, halogéneo, nitro, amino, dialquilamino ou alquilo inferior. O termo dialquilamino significa a grupo dialquilamino em que alquilo tem o significado de alquilo inferior como anteriormente definido. Um grupo (4-14C)arilo é uma porção aromática de 4 a 14 átomos de carbono. O grupo arilo pode ainda conter um ou dois heteroátomos e pode estar substituído, *e.g.* com (1-6C)alquilo, (3-8C)cicloalquilo, (1-6C)alcoxi, hidroxi, nitro, amino, dialquilamino ou halogéneo. Os exemplos de grupos arilo são fenilo, dimetoxifenilo, naftilo, 4-bifenilo, imidazolilo, tienilo, benzotienilo, (iso)quinolilo, 3-metil-8-quinolinilo, indanilo, indolilo e semelhantes. Os grupos arilo preferidos são fenilo e naftilo.

Os grupos (7-15C)aralquilo e (8-16C)aralcenilo são grupos alquilo e alcenilo, respectivamente, substituídos com um ou mais grupos arilo, sendo o número total de átomos de carbono de 7 a 15 e 8 a 16, respectivamente.

O termo halogéneo significa flúor, cloro, bromo ou iodo.

A expressão derivado éster significa qualquer derivado éster apropriado, preferivelmente (1-4C)alquil-ésteres, tais como metil-, etil- ou t-butil-ésteres.

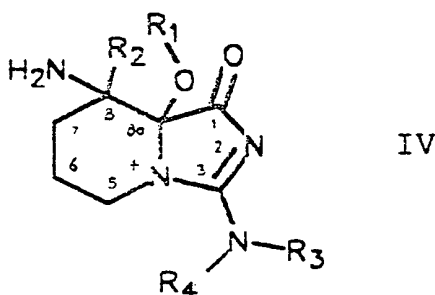
A expressão cadeia lateral hidrófoba significa um (1-12C)alquilo, opcionalmente substituído com um grupo (3-8C)cicloalquilo ou um grupo aromático (que pode conter um heteroátomo, *e.g.* azoto) tal como ciclo-hexilo, ciclo-octilo, fenilo, piridinilo, naftilo, tetra-hidronaftilo, e semelhantes, cuja cadeia lateral hidrófoba pode opcionalmente estar substituída com substituintes tais como halogéneo, nitro, trifluorometilo, alquilo inferior (por exemplo metilo ou etilo), (1-6C)alcoxi (por exemplo metoxi), feniloxi, benziloxi, e semelhantes. Nos compostos de acordo com a fórmula III, o significado de alquilo inferior na definição de R_9 é como anteriormente definida.

São particularmente preferidos inibidores de serina-protease de fórmula II em que R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são hidrogénio; X é hidrogénio, alquilo inferior, um grupo acilo, R_7-SO_2- , em que R_7 é (4-10C)heterociclilo, (6-14C)arilo, cujos grupos arilo podem conter um heteroátomo, ou X é um grupo protector de N; P_3 é uma ligação, caso em que X é R_7-SO_2- , ou P_3 é seleccionado de entre D-Phe, D-Nle, D-Dpa, D-MePhe, D-1-Tiq, D-Cyk, D-Phg, D-Tic, D-Atc, D-2-Nal, D-2-Pal, D-Chg, e D-2-Nag; P_2 é seleccionado de entre Pro, Pec, Gly, Val, Ile, 2,4-MePro,

3,3-Dmp, Ilc, Thz, Hyp, 2,2-Dmt, 5,5-Dmt, Lac, Apy, e Ac5 c; ou P_2 é uma ligação, caso em que P_3 é também uma ligação e X é $R_7-SO_2^-$; P_2 e P_3 representam em conjunto a estrutura que imita um dipéptido possuindo a fórmula III, estando as posições indicadas com um asterisco fundidas com benzeno. Os resíduos de aminoácido aromáticos na definição de P_3 na fórmula II nestes inibidores de serina-protease preferidos, e.g. Phe, Dpa, Tiq, Phg, Nal, e Nag, podem estar substituídos no(s) anel(éis) aromático(s) pertinente(s) com (1-6C)alquilo, (1-6C)alcoxi, halogéneo, hidroxí ou nitro. Os derivados de fenilalanina (Phe) ou fenilglicina (Phg) preferidos possuem um substituinte cloro ou nitro nas posições *para* do grupo fenilo.

Na concretização mais preferida da invenção o inibidor de serina-protease está na forma do acetato.

Os compostos de acordo com a fórmula geral II podem ser preparados por condensação de $X-P_3-P_2-OH$ com um derivado de 3,8-diamino-8a-hidroxiimidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona possuindo a fórmula IV



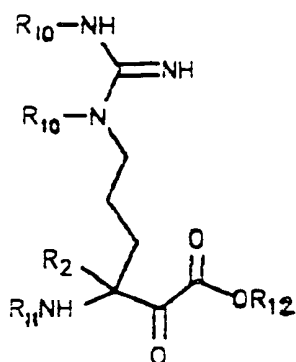
em que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , P_2 , P_3 e X têm os significados anteriormente definidos.

Nos casos em que $X-P_3-P_2-OH$ representa um grupo dipeptídico, ou $R_7-SO_2-P_2-OH$ ou contém a estrutura que imita um dipéptido de fórmula III, a condensação pode ser realizada por activação da função ácido carboxílico na estrutura de outro modo adequadamente protegida, por métodos usualmente utilizados para a condensação de fragmentos peptídicos tais como pelo método da azida, método do anidrido misto, método do éster activado ou, preferivelmente, pelo método da carbodi-imida, especialmente com a adição de compostos catalíticos e de supressão de racemização como a

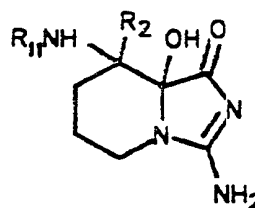
N-hidroxi-succinimida e o N-hidroxibenzotriazolo. É dada uma revisão destes métodos de condensação, que são comuns na química peptídica, em *The Peptides, Analysis, Synthesis, Biology, Vol 3, ibid.*, que é aqui incluído por referência.

Nos casos em que X representa R_7-SO_2 e P_2 e P_3 são uma ligação, a condensação pode ser realizada utilizando um derivado de halogeneto de sulfonilo activado, tal como R_7-SO_2Cl , em que R_7 tem o significado anteriormente definido.

Os compostos de fórmula IV podem ser preparados a partir de derivados de ácido 3-amino-6-guanidino-2-oxo-hexanóico de fórmula geral V



V



VI

em que R_2 tem o significado definido para a fórmula I, e em que R_{10} e R_{11} representam um grupo protector de N que é comum na química peptídica e R_{12} representa alquilo inferior, como anteriormente definido, por remoção dos grupos protectores de guanidino R_{10} , após o que o composto VI obtido, em que R_2 e R_{11} têm os significados definidos para a fórmula V, é opcionalmente alquilado, acilado ou convertido no derivado 8-[(amino)metileno]amino do composto VI por métodos conhecidos na arte, após o que R_{11} é removido.

Os derivados de ácido 3-amino-6-guanidino-2-oxo-hexanóico de fórmula geral V podem ser preparados introduzindo grupos protectores no grupo α -amino e no grupo guanidino do aminoácido arginina ou de uma arginina substituída em 2 com alquilo, e subsequente conversão da função ácido carboxílico numa função α -cetoéster por métodos conhecidos na arte.

Os compostos da invenção podem ser utilizados no fabrico de medicamentos para o tratamento e profilaxia de doenças mediadas por trombina e associadas à trombina. Estas doenças incluem embolia pulmonar, tromboflebite, oclusão arterial derivada de trombose ou embolia, reclusão arterial durante ou após angioplastia ou trombólise, trombose nas veias profundas, estenose recidiva após lesão arterial ou procedimentos cardiológicos invasivos, embolia ou trombose venosa pós-operatória, aterosclerose aguda ou crónica, ataque, e enfarte do miocárdio, cancro e metástases, e doenças neurodegenerativas.

Os compostos da invenção também podem ser utilizados como anticoagulantes *in vitro*.

Os novos compostos de fórmula I ou II, que podem ocorrer na forma de uma base livre, podem ser isolados a partir da mistura reaccional na forma de um sal farmacologicamente aceitável. Os sais farmacologicamente aceitáveis podem também ser obtidos tratando a base livre de fórmula I ou II com um ácido orgânico, tal como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido maleico, ácido malónico, ácido metanossulfónico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzóico, e ácido ascórbico.

Os compostos da presente invenção podem possuir um ou mais átomos de carbono quirais, e podem portanto ser obtidos na forma de um enantiómero puro, ou na forma de uma mistura de enantiómeros, ou na forma de uma mistura contendo diastereoisómeros. Os métodos para obtenção dos enantiómeros puros são bem conhecidos na arte, *e.g.* cristalização de sais que são obtidos a partir de ácidos opticamente activos e da mistura racémica, ou cromatografia utilizando colunas quirais.

Os compostos da invenção podem ser administrados entérica ou parentericamente, e a humanos preferivelmente numa dosagem diária 0,001-10 mg por kg de peso corporal. Misturados com auxiliares farmacologicamente adequados, *e.g.* como descrito na referência *standard*, Gennaro *et al.*, *Remington's Pharmaceutical Sciences* (18^a ed., Mack Publishing Company, 1990, veja-se especialmente a parte 8: *Pharmaceutical Preparations and their Manufacture*), os compostos podem ser prensados em unidades de dosagem



sólidas, tais como pílulas, comprimidos, ou ser processados em cápsulas ou supositórios. Através de líquidos farmacologicamente adequados, os compostos também podem ser aplicados como preparação para injeção, na forma de uma solução, suspensão, emulsão, ou na forma de pulverização, *e.g.* uma pulverização nasal.

Para a preparação de unidades de dosagem, *e.g.* comprimidos, é contemplada a utilização de aditivos convencionais tais como enchimentos, corantes, aglutinantes poliméricos e semelhantes. Em geral, pode ser utilizado qualquer aditivo farmacologicamente aceitável que não interfira com a função dos compostos activos. Os transportadores adequados com os quais as composições podem ser administradas incluem lactose, amido, derivados de celulose e semelhantes, ou suas misturas, utilizados em quantidades adequadas.

A invenção é ainda ilustrada pelos exemplos que se seguem.

As abreviaturas seguintes de aminoácidos foram utilizadas em toda a descrição e nas reivindicações:

Aic = ácido 2-aminoindan-2-carboxílico
Ac₅c = ácido aminociclopentan-2-carboxílico
Apy = aminopirrolidona
Arg = arginina
Atc = ácido 2-aminotetralin-2-carboxílico
Cha = ciclo-hexilalanina
Chg = ciclo-hexilglicina
Cyk = ciclo-octilalanina
3,3-Dmp = 3,3-dimetilprolina
2,2-Dmt = ácido 2,2-dimetiltiazolidin-4-carboxílico
5,5-Dmt = ácido 5,5-dimetiltiazolidin-4-carboxílico
Dpa = 3,3-difenilalanina
Hyp = 4-hidroxiprolina
Ilc = ácido (S)-indolin-2-carboxílico
Lac = 3-amino-2-oxo-1-piperidina ('δ-lactama')
MePhe = α-metilfenilalanina
2-Nag = 2-naftilglicina

1-Nal = 1-naftilalanina
2-Nal = 2-naftilalanina
Nle = norleucina
2-Pal = 2-piridilalanina
Pec = ácido piperídico
Phg = fenilglicina
1-Piq = 1-carboxiper-hidroisoquinolina
3-Piq = 3-carboxiper-hidroisoquinolina
Pro = prolina
Thz = ácido tiazolidin-4-carboxílico
Tic = ácido 1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolin-3-carboxílico
1-Tiq = 1-carboxi-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina

Outras abreviaturas utilizadas são:

Ac = acetilo

Pmc = 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo

Todas as sequências peptídicas mencionadas no pedido estão escritas de acordo com a convenção genericamente aceita em que o aminoácido do terminal N está à esquerda e o aminoácido do terminal C está à direita. Se não for estabelecida a configuração do aminoácido, todos os aminoácidos, tanto de ocorrência natural como os aminoácidos "que não de proteínas", referidos neste pedido estão na forma L.

A cromatografia em camada fina ascendente (TLC) foi realizada utilizando placas de sílica pré-revestidas (Merck, F₂₅₄) nos seguintes sistemas de solventes:

Sistema A: diclorometano-acetato de etilo = 9:1 (v/v)

Sistema B: n-butanol-piridina-ácido acético-água = 10:1:1:2 (v/v/v/v)

Sistema C: acetato de etilo-piridina-ácido acético-água = 63:20:6:11 (v/v/v/v)

Sistema D: n-butanol-piridina-ácido acético-água = 6:1:1:2 (v/v/v/v)

Sistema E: tolueno:etanol = 8:2 (v/v)

Sistema F: acetato de etilo-piridina-ácido acético-água = 63:10:3:5,5 (v/v/v/v)

Sistema G: diclorometano:acetato de etilo = 95:5 (v/v)

Sistema H: acetato de etilo-piridina-ácido acético-água = 6:2:2:1 (v/v/v/v)

Exemplo 1 (esquema I)

3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (6)

A: Éster metílico de N^α,N^δ,N-tribenziloxicarbonil-L-arginina
(Z-Arg(Z₂)-OMe; 1).

Dissolveu-se N^α,N^δ,N-tribenziloxicarbonil-L-arginina (40 g), preparada como descrito (Jetten *et.al. Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 6025-6028), numa mistura de diclorometano (1080 ml) e metanol (120 ml).

Adicionou-se tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio (TBTU; 22,4 g) à solução, após o que se adicionou trietilamina à solução até um pH aparente de 8. Agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 1 hora, após o que a solução foi lavada sucessivamente com água, uma solução de bicarbonato de sódio e água, seca e evaporada para obter um resíduo sólido, o qual foi cristalizado em metanol. Rendimento: 35 g. Rf 0,60 (sistema G).

B: N^α,N^δ,N-tribenziloxicarbonil-L-arginal
(Z-Arg(Z₂)-H; 2)

Adicionou-se uma solução de hidreto de di-isobutilalumínio em hexano (180 ml; 1 M) gota a gota, a -78°C, a uma solução agitada de Z-Arg(Z₂)-OMe (90 g) em diclorometano seco (700 ml). Agitou-se a mistura durante 1 hora a -78°C, após o que se adicionou uma solução a 20% (v/v) de ácido clorídrico concentrado em etanol até pH 2. Extractou-se a mistura com diclorometano. Lavaram-se os extractos com água, uma solução de bicarbonato de sódio, e água, secaram-se (sulfato de sódio) e evaporou-se para obter um produto bruto (25 g), que foi processado sem mais purificação. Rf 0,48 (sistema A).

C: 2-acetoxi-3-(benziloxicarbonilamino)-6-(dibenziloxicarbonilguanidino)-hexanonitrilo (3)

Uma solução de cianeto de sódio (28 g) e cloreto de trietilbenzilamónio (35 g) em água (700 ml) e anidrido acético (14 ml) foram adicionados simultaneamente, com agitação, a uma solução pré-arrefecida de Z-Arg(Z₂)-H

(30 g) em diclorometano (700 ml). Agitou-se a mistura durante 30 minutos a 0-5°C. A camada orgânica foi separada e subsequentemente lavada com água e salmoura aquosa, foi seca (sulfato de sódio) e evaporada para obter um resíduo, que foi cromatografado sobre sílica. A eluição com diclorometano/acetato de etilo (95:5, v/v) originou um produto sólido (17 g). Rf 0,76 (sistema A)

D: Éster metílico do ácido 3-(benziloxycarbonilamino)-6-(dibenziloxycarbonilguanidino)-2-hidroxi-hexanóico (4)

Dissolveu-se 2-acetoxi-3-benziloxycarbonilamino)-6-(dibenziloxycarbonilguanidino)hexanonitrilo (6,0 g) numa mistura de éter dietílico e metanol (3:1 v/v; 140 ml). A -78°C, fez-se passar cloreto de hidrogénio gasoso através da solução até se obter uma solução 3 M. Agitou-se a mistura durante 16 horas a 5°C, após o que a mistura foi extractada com diclorometano. Os extractos combinados foram lavados com água, uma solução de bicarbonato de sódio e água, foram secos (sulfato de sódio) e evaporados para obter uma goma (6,1 g). Rf 0,48 (sistema A).

E: Éster metílico do ácido 3-(benziloxycarbonilamino)-6-(dibenziloxycarbonilguanidino)-2-oxo-hexanóico (5)

Adicionou-se lentamente ácido crómico (1,3 ml de uma solução 8N em ácido sulfúrico aquoso) a uma solução pré-arrefecida de éster metílico de ácido 3-(benziloxycarbonilamino)-6-(dibenziloxycarbonilguanidino)-2-hidroxi-hexanóico (1,3 g) em acetona (130 ml). Agitou-se a mistura durante 1 hora a 0°C e depois verteu-se em água gelada. Removeu-se o precipitado por filtração, lavou-se com água e secou-se sob vácuo para obter um sólido branco (1,15 g). Rf 0,80 (sistema A).

F: 3,8-Diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (6)

Adicionaram-se ácido clorídrico (1,04 ml de uma solução aquosa 1M) e paládio sobre carvão activado (Pd/C a 10%; 64 mg) a uma solução de éster metílico de ácido 3-(benziloxycarbonilamino)-6-(dibenziloxycarbonilguanidino)-2-oxo-hexanóico (644 mg) em dimetilformamida (20 ml). Passou-se hidrogénio gasoso através da solução até a reacção estar completa, como monitorizado por

cromatografia em camada fina. Filtrou-se a mistura reaccional para remover o catalisador. Evaporou-se o filtrado sob vácuo para obter um óleo (320 mg). Rf 0,50 (sistema B).

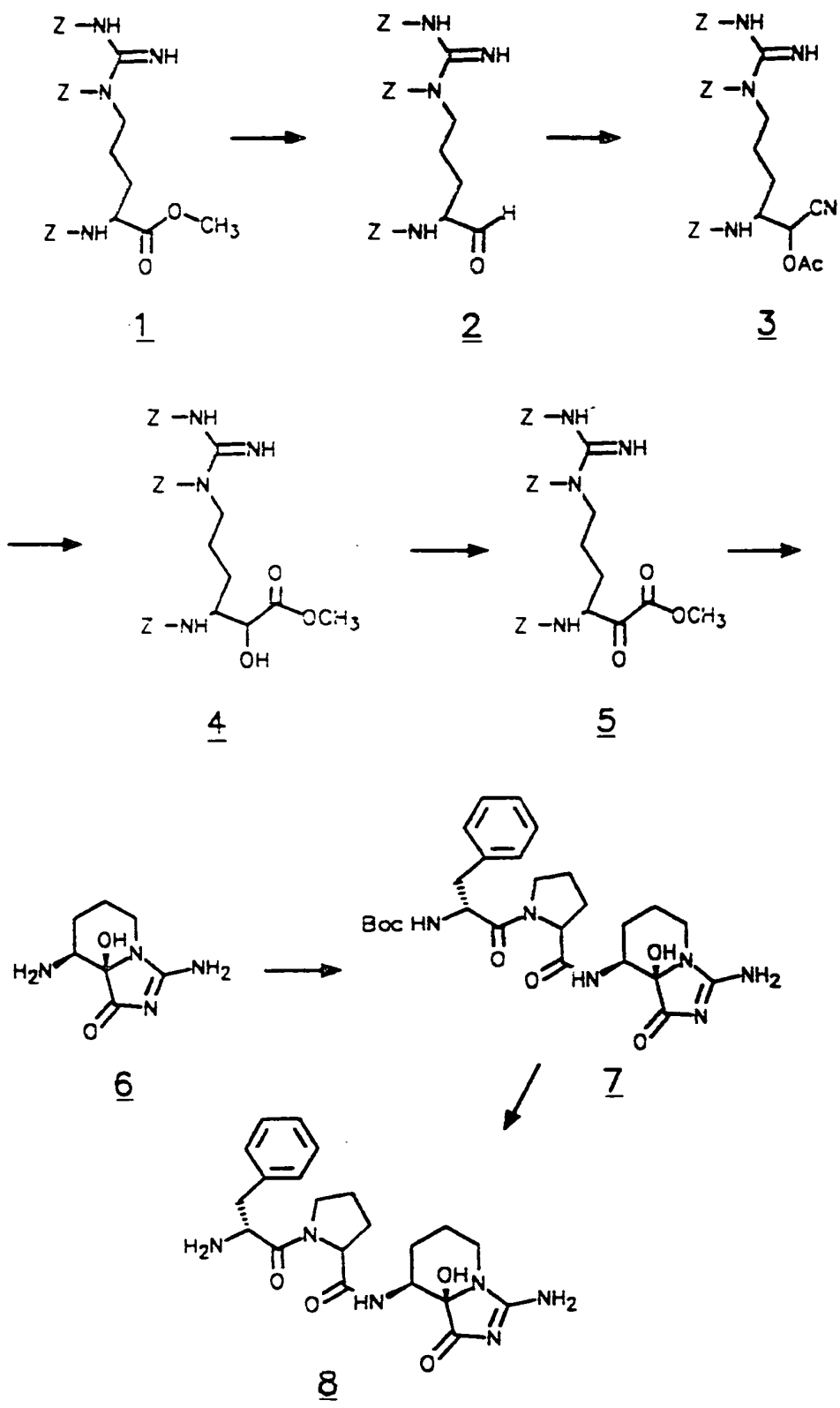
Exemplo 2 (Esquema I)

N^o(D-fenilalanilproil)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (8)

Adicionaram-se sucessivamente 1-hidroxibenzotriazolo (233 mg) e dicitlo-hexilcarbodi-imida (261 mg) a uma solução de Boc-D-Phe-Pro-OH (0,41 g) em dimetilformamida (10 ml), mantendo a temperatura a 0-5°C. Agitou-se a mistura reaccional durante 15 minutos, após o que se adicionou uma solução de 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (192 mg) em dimetilformamida (10 ml), cujo pH tinha sido previamente ajustado para 7 por adição de trietilamina. Agitou-se a solução durante 16 horas à temperatura ambiente, após o que se removeu por filtração a dicitlo-hexilureia precipitada. Evaporou-se o filtrado até um volume pequeno. Adicionou-se n-butanol, após o que se lavou a solução com uma solução de bicarbonato de sódio e água, secou-se (sulfato de sódio) e evaporou-se para obter o composto 7 protegido com N^o-Boc (0,89 g). Rf 0,50 (sistema C).

Dissolveu-se o produto bruto a 0°C em ácido trifluoroacético aquoso a 90% (15 ml), contendo também anisolo (0,43 ml). Agitou-se a mistura durante 2 horas à temperatura ambiente e subsequentemente evaporou-se sob vácuo. Dissolveu-se o resíduo em *tert*-butanol-água (1:1 v/v) e adicionou-se Dowex-2 (X-8, na forma de acetato), em porções, até o pH da solução aumentar para 5-6. Removeu-se a resina de permuta iónica por filtração, após o que se liofilizou o filtrado. Cromatografou-se o produto sobre sílica. A eluição com n-butanol-piridina-ácido acético-água (8:1:1:2 v/v) originou o composto do título 8 (120 mg). Rf 0,70 (sistema D)). Os dados do espectro de RMN estavam de acordo com a estrutura com a configuração 8S,8aR.

Esquema I



Exemplo 3

N⁸(N^α(metil)-D-fenilalanilproilil)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

A: Z-N(Me)-D-Phe-OH

Adicionou-se cloreto de carbobenzoí (6,4 mmol) a uma solução de H-N(Me)-D-Phe-OH (4,0 mmol) e hidróxido de sódio (4,0 mmol) em dioxano-água (1:1, v/v). Agitou-se a solução durante 24 horas, mantendo o pH a 12 por adição de hidróxido de sódio (solução 4N em água). Extractou-se a mistura reaccional com éter dietílico para remover o excesso de cloreto de carbobenzoí. Adicionou-se ácido clorídrico aquoso à solução até pH 2. Extractou-se o produto precipitado com acetato de etilo. Lavou-se a camada orgânica com salmoura, secou-se (sulfato de sódio) e evaporou-se sob vácuo para obter um xarope (76%). Rf 0,45 (sistema E).

B: Z-N(Me)-D-Phe-Pro-OMe

Dissolveram-se Z-N(Me)-D-Phe-OH (3 mmol), H-Pro-OMe.HCl (3 mmol) e N-hidroxibenzotriazolo (6 mmol) em dimetilformamida (20 ml). Adicionou-se 4-etilmorfolina à solução até pH 6,5, após o que se arrefeceu a solução a 0°C. Adicionou-se lentamente uma solução de diciclo-hexilcarbodi-imida (3,3 mmol) em dimetilformamida (5 ml) à solução fria. Agitou-se a mistura durante 1 hora a 0°C e depois durante 16 horas à temperatura ambiente. Removeu-se por filtração a diciclo-hexilureia precipitada e evaporou-se o filtrado sob vácuo para obter um xarope, o qual se dissolveu em acetato de etilo. Subsequentemente lavou-se a solução com uma solução de bicarbonato de sódio, uma solução de bissulfato de sódio e salmoura, secou-se (sulfato de sódio) e evaporou-se sob vácuo para obter uma espuma (96%). Rf 0,47 (sistema E).

C: Z-N(Me)-D-Phe-Pro-OH

Adicionou-se hidróxido de sódio (6 mmol; solução aquosa 4N) a uma solução de Z-N(Me)-D-Phe-Pro-OMe (3 mmol) em dioxano-água (1:1, v/v) enquanto se agitava. Manteve-se a solução à temperatura ambiente durante 16 horas. Diluiu-se a solução com água e extractou-se com éter dietílico. Adicionou-se ácido clorídrico à solução aquosa até pH 2. Extractou-se o produto precipitado com acetato de etilo. Lavaram-se os extractos combinados com

salmoura, secaram-se (sulfato de sódio) e evaporaram-se para obter uma espuma (0,94 g; 77%). Rf 0,22 (sistema E).

D: Preparou-se o composto do título acoplando 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona e Z-N(Me)-D-Phe-Pro-OH utilizando o método de acoplamento descrito no Exemplo 2, seguido pela remoção do grupo protector N-benziloxicarbonilo por desidrogenação catalítica. Rf 0,60 (sistema C)

Exemplo 4

N⁸(D-difenilalanilproil)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

A: Z-D-Dpa-OH

Adicionou-se lentamente uma solução de N-(benziloxicarbonilo)-sucinimida (Z-ONSu; 2,0 mmol) em dioxano (15 ml), enquanto se agitava, a uma solução de D-difenilalanina (H-D-Dpa-OH; 2,0 mmol) em solução aquosa a 10% (p/v) de bicarbonato de sódio. Agitou-se a mistura durante 2 dias, após o que se lavou a mistura com éter dietílico. Acidificou-se a solução aquosa até pH 1-2 por adição de ácido clorídrico. Extractou-se o produto precipitado com acetato de etilo. Lavaram-se os extractos combinados com salmoura, secaram-se (sulfato de sódio) e evaporaram-se para obter um óleo (0,74 g; 100%). Rf 0,77 (sistema E).

B: Z-D-Dpa-Pro-OtBu

Dissolveram-se Z-D-Dpa-OH (2,0 mmol), H-Pro-OtBu.HCl (2,0 mmol) e N-hidroxibenzotriazolo (4 moles) em dimetilformamida (15 ml). Adicionou-se 4-etilmorfolina à solução agitada até pH 6,5, após o que se arrefeceu a solução até 0°C. Adicionou-se lentamente uma solução de diciclo-hexilcarbodi-imida (2,2 mmol) em dimetilformamida (4 ml) à mistura reaccional fria, a qual se agitou depois durante 1 hora a 0°C e mais 16 horas à temperatura ambiente. Removeu-se por filtração a diciclo-hexilureia precipitada e evaporou-se o filtrado sob vácuo para obter um xarope, que se dissolveu em acetato de etilo. Lavou-se subseqüentemente a solução com uma solução de bicarbonato de sódio, uma solução de bissulfato de sódio e salmoura, secou-se (sulfato de

sódio) e evaporou-se sob vácuo para obter um óleo (0,88 g; 83%). Rf 0,69 (sistema E).

C: Z-D-Dpa-Pro-OH

Dissolveu-se Z-D-Dpa-Pro-OtBu (1,67 mmol) a 0°C em ácido trifluoroacético aquoso a 90% (15 ml), também contendo anisolo (0,43 ml). Agitou-se a mistura durante 30 minutos à temperatura ambiente e subsequentemente evaporou-se sob vácuo. Triturou-se o resíduo com éter dietílico para obter um sólido (0,33 g; 42%).

Rf 0,53 (sistema E). FAB-MS: mm 472

D: O composto do título foi preparado por acoplamento de 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona e Z-D-Dpa-Pro-OH utilizando o método de acoplamento descrito no Exemplo 2, seguido por remoção do grupo protector N^α-benziloxicarbonilo por desidrogenação catalítica. Rf 0,40 (sistema C).

Exemplo 5

N⁸(H-D-Phe-Ilc)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

A: Z-D-Phe-Ilc-OH

Adicionou-se 4-etilmorfolina (1 mmol) a uma solução de ácido (S)-indolino-2-carboxílico (1 mmol; 163 mg) e o N-carboxianidrido de Z-D-Phe-OH (4 mmol; 1,3 g) em tetra-hidrofurano seco (10 ml). Agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 16 horas, após o que se evaporou o solvente sob vácuo. Purificou-se o produto bruto por distribuição em contracorrente no sistema de solventes diclorometano-metanol-tolueno-água (5:8:5:3; v/v/v/v) para obter Z-D-Phe-Ilc-OH com rendimento quantitativo (0,45 g). Rf 0,60 (sistema F). FAB-MS: mm 444.

B: N⁸(Z-Phe-Ilc)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

Adicionou-se 4-etilmorfolina (0,67 mmol) a uma solução em dimetil-formamida (12 ml) de Z-D-Phe-Ilc-OH (0,67 mmol; 300 mg) e 3,8-diamino-

6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (0,71 mmol; 320 mg). Adicionaram-se sucessivamente N-hidroxibenzotriazolo (1,1 mmol; 150 mg) e diciclo-hexilcarbodi-imida (0,71 mmol; 147 mg) à solução, mantendo a temperatura a 0-2°C. Agitou-se a mistura a esta temperatura durante 1 hora, e mais 16 horas à temperatura ambiente. Removeu-se a diciclo-hexilureia por filtração, após o que se evaporou o filtrado sob vácuo. Dissolveu-se o resíduo em n butanol. Lavou-se a solução com uma solução de bicarbonato de sódio e salmoura, secou-se (sulfato de sódio) e evaporou-se sob vácuo para obter uma espuma (322 mg; 70%). Rf 0,37 (sistema C).

C: Adicionou-se paládio sobre carvão activado (Pd/C a 10%; 30 mg) a uma solução do produto do Exemplo 5 (0,43 mmol; 300 mg) em metanol (10 ml). Passou-se hidrogénio gasoso através da solução, enquanto se agitava, durante 16 horas. Removeu-se o catalisador por filtração, após o que se evaporou o filtrado sob vácuo. Cromatografou-se o resíduo sobre óxido de alumínio (Lichroprep AloxT; 25-30 µm). A eluição com acetato de etilo-piridina-ácido acético-água (63:20:6:11; v/v/v/v) originou o composto do título (135 mg; 45%). Rf 0,35 (sistema C).

Exemplo 6

De uma maneira semelhante à descrita nos Exemplos 1-5 prepararam-se:

N⁸(H-D-MePhe-Pro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-1-Tiq-Pro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Nle-Pro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

N⁸(Pmc-Gly)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo-[1,5a]piridin-1(5H)-ona

N⁸(Phth-Gly)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona



N⁸(H-D-Atc-Pro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(Ac-D-Phe-Pro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-2-Nag-Pro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Phe-3,3-Dmp)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Phe-2,4-MePro)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo-
[1,5a]piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Phe-2,2-Dmt)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Phe-5,5-Dmt)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Phe-Thz)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

N⁸(H-D-Phe-Hyp)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]-
piridin-1(5H)-ona

Exemplo 7

N⁸[2-(S)[4(R)-(1,3-Di-hidro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-il)-1,3,4,5-tetra-hidro-3-oxo-
2H-2-benzazepin-2-il]-1-oxo-propil]-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-
imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

A: Éster metílico de N-ftaloil-D-fenilalanil-L-alanina

Adicionou-se, a uma solução de cloridrato de éster metílico de L-alanina
(1,15 g, 8,3 mmol) em diclorometano (20 ml), trietilamina (1,15 ml, 8,3 mmol),

seguida de N-ftaloil-D-fenilalanina (2,44 g, 8,3 mmol) e N-hidroxibenzotriazolo (1,27 g, 9,1 mmol). Agitou-se a mistura até se formar uma solução amarela límpida. Arrefeceu-se a solução a 0°C, e adicionou-se 1-[3-(dimetilamino)-propil-3-etil]carbodi-imida (1,74 g, 9,1 mmol). Após agitação à temperatura ambiente durante 64 h, diluiu-se a solução com diclorometano (50 ml). Adicionou-se ácido clorídrico aquoso (1N; 50 ml) e filtrou-se a suspensão resultante. Separaram-se as camadas, e lavou-se a fase orgânica com ácido clorídrico aquoso (1N; 15 ml), bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 ml), água (50 ml), e salmoura (50 ml), sucessivamente. Secou-se o extracto orgânico (sulfato de sódio) e evaporou-se para obter 2,50 g (80%) de material cristalino. Cristalizou-se uma amostra analítica em acetato de etilo/heptano, p.f. 118-120°C.

B: N-Ftaloil-D-fenilalanil-L-alanina

Adicionou-se a uma solução de éster metílico de N-ftaloil-D-fenilalanil-L-alanina (1,46 g, 3,8 mmol) em acetona (20 ml), água (11 ml) e HCl concentrado (6 ml). Manteve-se a mistura em refluxo durante 3,5 h. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, 0,80 g (2,1 mmol) o composto do título foi isolado por filtração. Concentraram-se as águas-mães para remover a acetona, e extractou-se a solução aquosa com acetato de etilo (3x20 ml). Extractaram-se as camadas orgânicas com bicarbonato de sódio aquoso saturado (3x25 ml). Lavaram-se os extractos aquosos combinados com acetato de etilo (25 ml), e ajustou-se a pH 1 com ácido clorídrico concentrado. Adicionou-se acetato de etilo (50 ml), separaram-se as camadas, e extractou-se a camada aquosa com acetato de etilo (2x25 ml). Lavaram-se os extractos de acetato de etilo combinados, com salmoura (2x50 ml), secaram-se (sulfato de sódio) e evaporaram-se para obter 0,50 g do ácido do título. Rendimento total de 1,30 g (3,6 mmol, 92%). Cristais em metanol, p.f. 241-242°C.

C: 3-[2(R)-(1,3-Di-hidro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-il)-4(S)-metil-1-oxo-3-fenilpropil]-5-oxazolidinona

Adicionou-se, a uma solução de N-ftaloil-D-fenilalanil-L-alanina (0,50 g, 1,4 mmol) em diclorometano seco, paraformaldeído em excesso (0,50 g) e crivo molecular de 4Å (2,5 g). Agitou-se a suspensão durante 30 min à temperatura ambiente. Adicionou-se ácido triflico (120 µl, 1,4 mmol) e continuou-se a agitação durante 24 h. Filtrou-se a solução, lavou-se com bicarbonato de sódio aquoso saturado (2x25 ml) e salmoura (25 ml). Secou-se a fase orgânica

(sulfato de sódio) e evaporou-se até à secura. Purificou-se o resíduo por cromatografia em coluna (sílica, acetato de etilo/heptano 1:2) para obter 400 mg (1,1 mmol, 80%) do composto do título, Rf (acetato de etilo/heptano 2:1) 0,45.

D: Ácido 4(R)-(1,3-di-hidro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-il)- α (S)-metil-1,3,4,5-tetra-hidro-3-oxo-2H-2-benzazepin-2-acético.

Dissolveu-se a oxazolidinona (250 mg, 0,7 mmol), obtida como descrito acima, em diclorometano seco (1 ml) e adicionou-se a ácido tríflico (1 ml). Agitou-se vigorosamente a mistura durante 2h. Após diluição da mistura reaccional com diclorometano (10 ml), adicionou-se cuidadosamente água (15 ml) com agitação vigorosa contínua. Separaram-se as camadas e extractou-se a fase aquosa com diclorometano (2x10 ml). Lavaram-se as camadas orgânicas combinadas com salmoura (25 ml), secaram-se (sulfato de sódio), e evaporaram-se. Cristalizou-se o resíduo em etanol/éter dietílico para obter 150 mg (0,4 mmol, 60%) do composto do título, p.f. 209-210°C.

E: N^o[2-(S)[4(R)-(1,3-di-hidro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-il)-1,3,4,5-tetra-hidro-3-oxo-2H-2-benzazepin-2-il]1-oxo-propil]-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

Adicionou-se a uma solução de 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona.2HCl (90 mg, 57% puro, 0,19 mmol) em dimetilformamida seca (15 ml), o ácido descrito em D (75 mg, 0,19 mmol). Ajustou-se o pH para 7,4 com 4-etilmorfolina, e adicionou-se N-hidroxibenzotriazol (45 mg, 0,3 mmol). Após arrefecimento a 0°C, adicionou-se diciclo-hexilcarbodi-imida (42 mg, 0,2 mmol), e agitou-se a solução resultante durante 3 h a 0°C e mais 33 h à temperatura ambiente. Evaporou-se parcialmente a solução, e adicionaram-se algumas gotas de água. Agitou-se a solução durante 30 min., filtrou-se e evaporou-se até à secura. A purificação por cromatografia em coluna (óxido de alumínio; eluição com acetato de etilo:piridina:ácido acético:água = 6/2/2/1, v/v/v/v) originou 75 mg do composto do título. Rf 0,65 (sistema H)



Exemplo 8

3-[[[(Dimetilamino)metileno]amino]-N⁸(2-naftilsulfonil)-8-amino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

Adicionou-se trietilamina a uma solução de 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (100 mg) em dimetilformamida (10 ml) até um pH aparente de 8. Adicionaram-se sucessivamente à solução, cloreto de 2-naftilsulfonilo (135,5 mg) e uma quantidade equimolar de trietilamina, enquanto se agitava. Agitou-se a mistura durante 16 horas à temperatura ambiente, após o que se removeram os voláteis. Purificou-se o resíduo por cromatografia em coluna (sílica, acetato de etilo-piridina-ácido acético-água = 5:2:2:1; v/v/v/v) para obter o composto do título (12,6 mg). Rf 0,45 (sistema C).

Exemplo 9

N⁸(2-naftilsulfonil)-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

Adicionou-se trietilamina a uma solução de 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona (257 mg) em dimetilformamida (10 ml) até um pH aparente de 8. Adicionaram-se sucessivamente à solução, cloreto de 2-naftilsulfonilo (227 mg) e uma quantidade equimolar de trietilamina, enquanto se agitava. Agitou-se a mistura durante 16 horas à temperatura ambiente, após o que se removeram os voláteis. Purificou-se o resíduo por cromatografia em coluna (sílica, acetato de etilo-piridina-ácido acético-água = 5:2:2:1; v/v/v/v) para obter o composto do título (26 mg). Rf 0,30 (sistema C).

Exemplo 10

N⁸[N^α(2-naftilsulfonil)glicil]-3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona

Dissolveram-se N^α(2-naftilsulfonil)glicina (2-Nas-Gly-OH; 1,0 mmol) – preparada por condensação de cloreto de 2-naftilsulfonilo e glicinato de metilo,

seguida por saponificação do éster metílico em hidróxido de sódio aquoso -, 3,8-diamino-6,7,8,8a-tetra-hidro-8a-hidroxi-imidazo[1,5a]piridin-1(5H)-ona.2HCl (1,0 mmol) e N-hidroxibenzotriazolo (2,0 mmol), em dimetilformamida (15 ml). Ajustou-se o pH da solução para 6,5 através da adição de 4-etilmorfolina, após o que se arrefeceu a solução a 0°C e adicionou-se díciclo-hexilcarbodi-imida (1,1 mmol). Agitou-se a mistura durante 1 hora a 0°C e mais 17 horas à temperatura ambiente. Removcu se por filtração a díciclo-hexilureia precipitada e evaporou-se o filtrado para deixar um resíduo, o qual se dissolveu em butanol. Lavou-se a solução orgânica com solução de bicarbonato de sódio a 5% (p/v) e com salmoura, após o que se removeu o butanol sob vácuo. Purificou-se subsequentemente o produto bruto por cromatografia sobre óxido de alumínio (Alox T; 25-40 µm) para obter o composto do título (70 mg). Rf 0,40 (sistema H).

Lisboa, 12.03.2001

Por AKZO NOBEL N.V.

- O AGENTE OFICIAL -

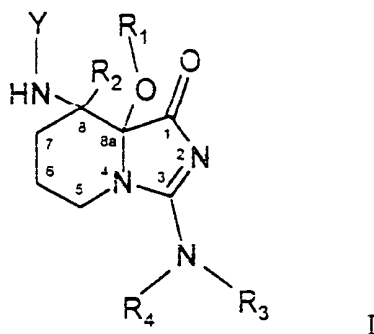
O ADJUNTO



ENG.º ANTÓNIO JOÃO
DA CUNHA FERREIRA
Ag. Of. Pr. Ind.
Rua das Flores, 74 - 4.º
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. Inibidor de serina-protease derivado de imidazolo[1,5a]piridina de fórmula I



em que

R₁ é hidrogénio, (1-6C)alquilo ou um grupo acilo;

R₂ é hidrogénio ou (1-6C)alquilo;

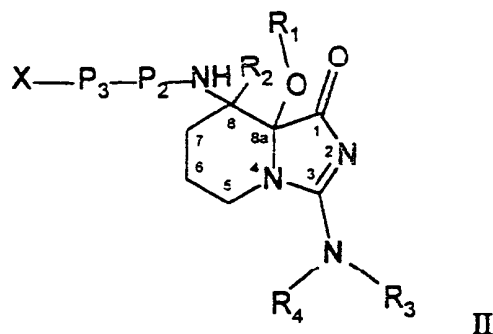
R₃ e R₄ são independentemente hidrogénio, (1-6C)alquilo ou, em conjunto, formam =CH-NR₅R₆, sendo R₅ e R₆ (1-6C)alquilo;

em que a unidade de fórmula I está ligada a um grupo Y que é capaz de interactuar com os sublocais S_n...S₂ do local activo de uma serina-protease;

ou um seu sal farmacologicamente aceitável.

2. Inibidor de serina-protease de acordo com a reivindicação 1, em que R₁, R₂, R₃, e R₄ são hidrogénio.

3. Inibidor de serina-protease de acordo com a reivindicação 2 possuindo a fórmula II



em que R_1 , R_2 , R_3 e R_4 são hidrogénio;

X é hidrogénio, R_7 , R_7 -O-C(O)-, R_7 -C(O)-, R_7 -SO₂-, $-(CHR_8)_m$ COOR₈, ou um grupo protector de N,

em que R_7 é (1-12C)alquilo ou (2-12C)alcenilo, grupos estes que podem opcionalmente estar substituídos com (3-8C)cicloalquilo, (1-6C)alcoxi, OH ou halogéneo, ou R_7 é (3-8C)cicloalquilo, (4-10C) heterocíclico, (4-14C)arilo, (7-15C)aralquilo e (8-16C)aralcenilo, grupos estes que podem opcionalmente estar substituídos com (1-6C)alquilo, (3-8C)cicloalquilo, (1-6C)alcoxi, OH ou halogéneo, cujos grupos arilo podem conter opcionalmente um heteroátomo;

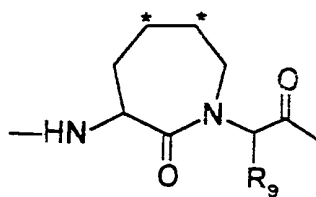
cada grupo R_8 é independentemente hidrogénio ou tem o mesmo significado que R_7 ;

m é 1, 2 ou 3;

P_3 é uma ligação, um aminoácido de fórmula -NH-CH[(CH₂)_pC(O)OH]-C(O)-, ou um éster seu derivado, e p sendo 0, 1, 2 ou 3, -N(benzil)-CH₂-CO-, D-Tiq, Atc, 3-Piq, 1-Piq ou um D-aminoácido possuindo uma cadeia lateral hidrófoba;

P_2 é Pro ou Pec, opcionalmente substituídos com (1-4C)alquilo, halogéneo, hidroxí ou oxo, ou um aminoácido seleccionado de entre Gly, Val, Ile, 2,4-MePro, 3,3-Dmp, Ilc, Thz, Hyp, 2,2-Dmt, 5,5-Dmt, Lac, Apy, Ac₅c, 1-Nal e 2-Nal, ou P_2 é um aminoácido de fórmula -N[(3-8C)cicloalquilo]-CH₂-C(O)-, cujo anel pode opcionalmente estar substituído com (1-6C)alquilo, halogéneo, hidroxí ou oxo; ou P_2 é uma ligação, caso em que P_3 é também uma ligação e X é R_7 -SO₂-; ou

P_2 e P_3 representam em conjunto uma estrutura que imita um dipéptido de fórmula III



III

em que as posições indicadas com um asterisco podem estar fundidas com um anel benzeno e em que R_9 é hidrogénio ou (1-6C)alquilo.

4. Inibidor de serina-protease de acordo com a reivindicação 3 em que

X é hidrogénio, alquilo inferior, um grupo acilo, $R_7-SO_2^-$, em que R_7 é (4-10C)heterociclilo, (6-14C)arilo, em que os grupos arilo podem conter um heteroátomo, ou X é um grupo protector de N;

P_3 é uma ligação, caso em que X é $R_7-SO_2^-$, ou P_3 é seleccionado de entre D-Phe, D-Nle, D-Dpa, D-MePhe, D-1-Tiq, D-Cyk, D-Phg, D-Tic, D-Atc, D-2-Nal, D-2-Pal, D-Chg, e D-2-Nag;

P_2 é seleccionado de entre Pro, Pec, Gly, Val, Ile, 2,4-MePro, 3,3-Dmp, Ilc, Thz, Hyp, 2,2-Dmt, 5,5-Dmt, Lac, Apy, e Ac_5c , ou P_2 é uma ligação, caso em que P_3 é também uma ligação, X é $R_7-SO_2^-$; ou

P_2 e P_3 representam em conjunto a estrutura que imita um dipéptido de fórmula III, estando as posições indicadas com um asterisco fundidas com benzeno.

5. Inibidor de serina-protease de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-4 em que o inibidor está na forma do acetato.

6. Composição farmacêutica compreendendo o inibidor de serina-protease de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5 em mistura com auxiliares farmacêuticamente aceitáveis.

7. Inibidor de serina-protease de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5 para utilização em terapia.


8. Utilização do inibidor de serina-protease de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-5 para o fabrico de um medicamento para o tratamento ou prevenção de trombose ou outras doenças associadas à trombina.

Lisboa, 19 JUN 2001

Por AKZO NOBEL N.V.

- O AGENTE OFICIAL -

○ ADJUNTO


**ENG.º ANTÓNIO JOÃO
DA CUNHA FERREIRA**
Ag. Of. Pr. Ind.
Rua das Flores, 74 - 4.º
1200 LISBOA