

**(11) Número de Publicação: PT 776899 E**

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

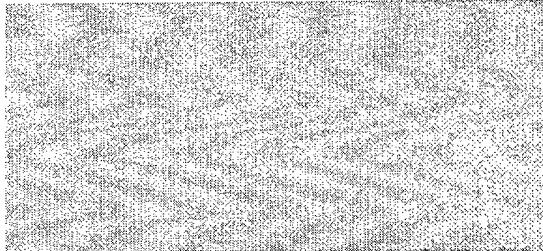
C07D498/22 A A61K031/40 B  
C07D498/22 C C07D273:00 C  
C07D209:00 C C07D209:00 C

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

<b>(22) Data de depósito:</b> 1996.11.18	<b>(73) Titular(es):</b> ELI LILLY AND COMPANY LILLY CORPORATE CENTER INDIANAPOLIS, IN 46285	US
<b>(30) Prioridade:</b> 1995.11.20 US 7345		
<b>(43) Data de publicação do pedido:</b> 1997.06.04	<b>(72) Inventor(es):</b> LEONARD LARRY WINNEROSKI, JR MARGARET MARY FAUL CHRISTINE ANN KRUMRICH	US US US
<b>(45) Data e BPI da concessão:</b> 2000.03.29	<b>(74) Mandatário(s):</b> JORGE BARBOSA PEREIRA DA CRUZ RUA DE VÍTOR CORDON 10-A 3/AND. 1200 LISBOA	PT

**(54) Epígrafe:** INTERMEDIÁRIOS E SEU USO PARA A PREPARAÇÃO DE BISINDOLILMALEIMIDAS COM PONTES N,N

**(57) Resumo:**



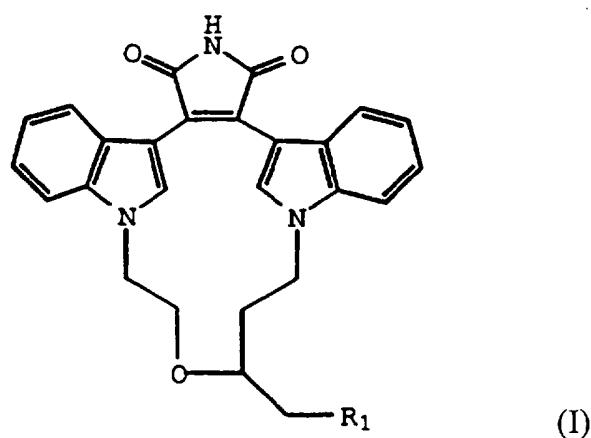


## DESCRIÇÃO

### "INTERMEDIÁRIOS E SEU USO PARA A PREPARAÇÃO DE BISINDOLILMALEIMIDAS COM PONTES N,N'"

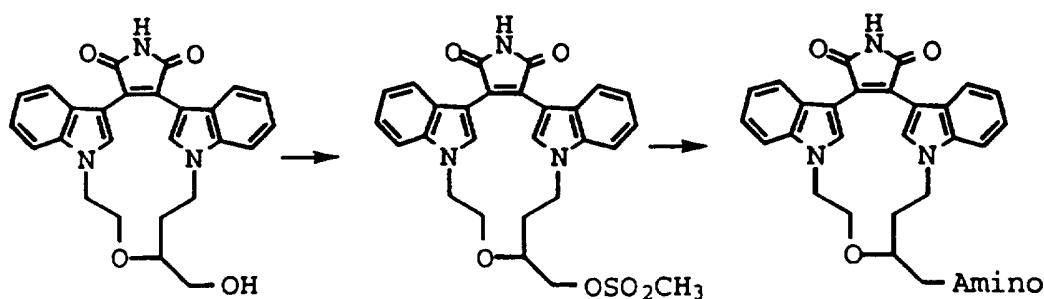
A natureza ubíqua das isozimas da proteína quinase C e os seus papéis importantes em fisiologia proporcionam incentivos para se produzirem inibidores de PKC altamente selectivos. Dada a evidência que demonstra a ligação de certas isozimas a estados de doença, é razoável assumir que compostos inibitórios que são selectivos para uma ou duas isozimas de proteína quinase C relativamente às outras isozimas de PKC e a outras proteínas quinases, são agentes terapêuticos superiores. Tais compostos demonstram maior eficácia e menor toxicidade por virtude da sua especificidade.

Em Heath *et al.*, (EP 0 657 458), publicada a 14 de Junho, 1995, foi revelada uma classe de bisindolilmaleimidas com pontes N,N' selectivas para a isozima de PKC. Um composto preferido nesta série com pontes N,N' inclui um composto com a Fórmula I





em que R é um amino, alquilamino, ou dialquilamino. Heath *et al.* exemplificam um número destas bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas sendo preparadas da seguinte forma:



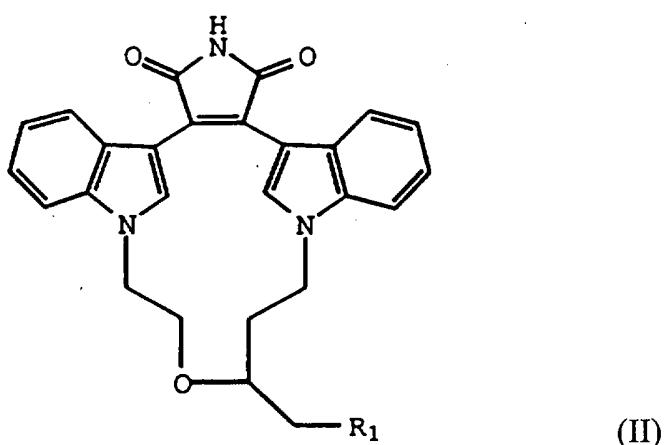
Infelizmente, tem-se verificado que a funcionalidade O-mesilato usada para se preparam bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas é tóxica e verificou-se também uma impureza não desejada na preparação das bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas. Devem-se utilizar técnicas de purificação dispendiosas para se assegurar a remoção do intermediário O-mesilato do produto final.

A presente invenção proporciona um intermediário chave na síntese das bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas. Este novo intermediário é facilmente convertido em bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas sem se passar através do intermediário O-mesilato. O intermediário é também dramaticamente mais reactivo. O intermediário é preferencialmente utilizado para se preparam bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas a menores temperaturas e num tempo de reacção mais curto, resultando num maior rendimento com menos subprodutos. Assim, o intermediário é útil na preparação de bisindolilmaleimidas com pontes N,N' em rendimento elevado sem impurezas tóxicas não desejadas.



Além disto, os compostos reivindicados são úteis como inibidores selectivos de isozima de PKC. Como tal, os compostos são úteis no tratamento de condições associadas com diabetes *mellitus* e suas complicações, isquemia, inflamação, desordens do sistema nervoso central, doença cardiovascular, doença dermatológica e cancro.

A presente invenção proporciona um composto com a Fórmula II:

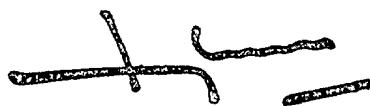


em que  $R_1$  é Br, I, ou O-tosilo.

A presente invenção proporciona ainda uma formulação farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula II e um ou mais veículos, diluentes ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

Um aspecto adicional da invenção é um processo de utilização do composto de Fórmula II para se prepararem bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas com a Fórmula I, que compreende a reacção de um composto com a Fórmula II com uma amina num solvente não-reactivo, polar.

Para os objectivos da presente invenção, conforme aqui revelado e reivindicado, os seguintes termos e abreviações são definidos como se segue.

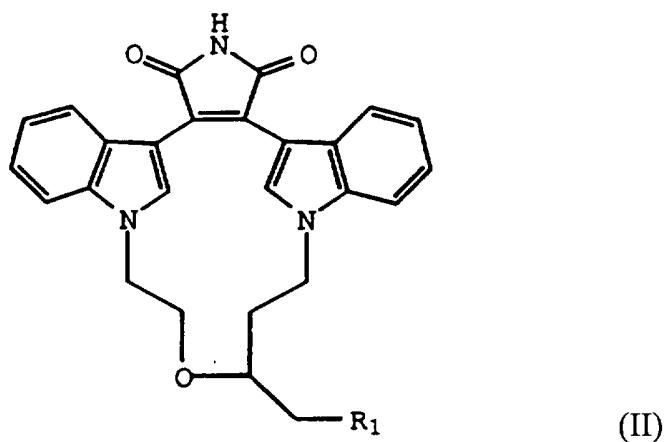


O termo "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>" representa um grupo alquilo de cadeia cíclica, linear ou ramificada tendo desde um a quatro átomos de carbono tais como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo e semelhantes.

O termo "arilo" representa um benzilo, fenilo ou naftilo substituído ou não substituído.

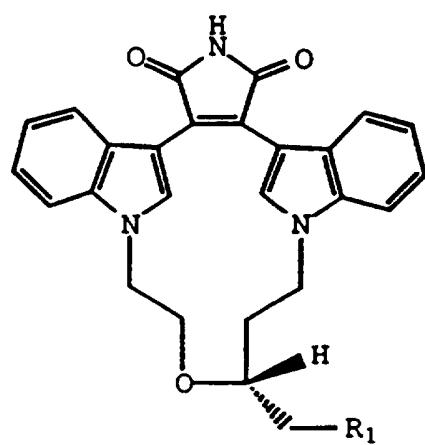
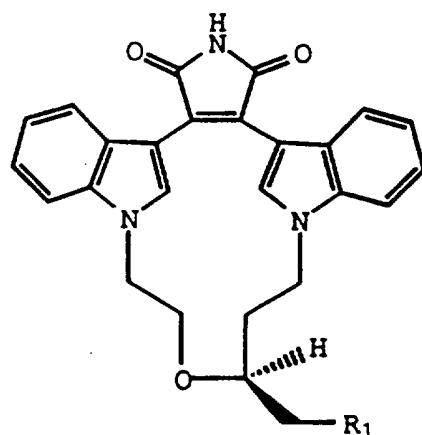
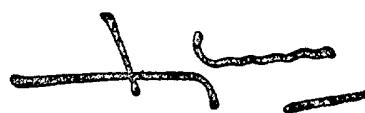
O termo "amina" da forma como é aqui utilizado refere-se a -N(CF<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>), -NH(CF<sub>3</sub>) ou -NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub> em que R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> são independentemente hidrogénio, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, fenilo, benzilo ou então combinam-se com o azoto ao qual eles estão ligados para formarem um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado.

Conforme se fez notar anteriormente, a invenção proporciona um composto com a Fórmula II:



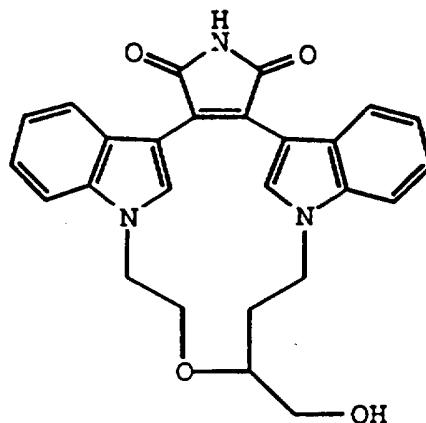
em que R<sub>1</sub> é Br, I ou O-tosilo.

É reconhecido que podem existir várias formas estereoisoméricas dos compostos de Fórmula II. Os compostos preferidos da presente invenção são os de Fórmula IIa e IIb:

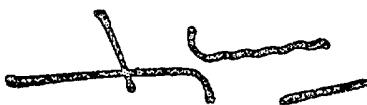


Contudo, racematos e enantiómeros individuais e misturas dos mesmos formam parte da presente invenção.

Os compostos da presente invenção são mais facilmente preparados a partir de um composto com a fórmula:

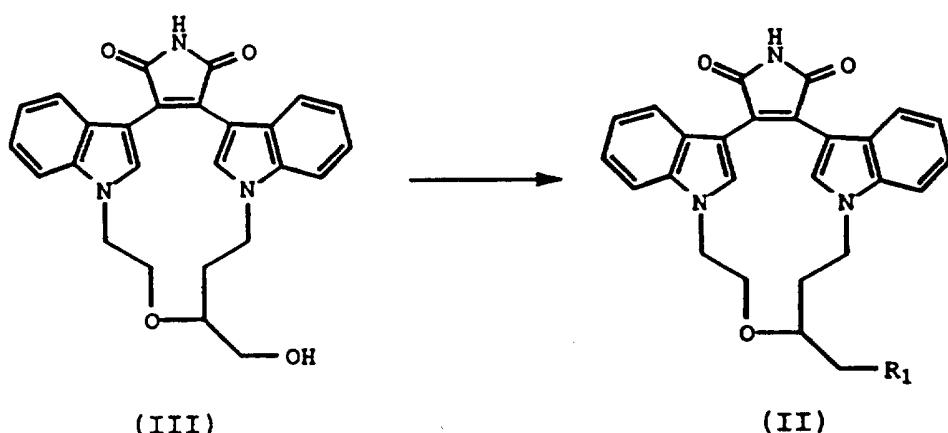


(III)



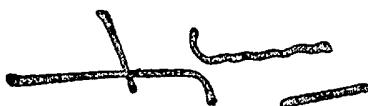
Esta bisindolilmaleimida com pontes N,N' hidroxi substituída, composto III, é preparada por técnicas descritas em Heath *et al.*, (EP 0 657 458), publicada a 14 de Junho, 1995, aqui incorporada por referência.

Os compostos reivindicados são preparados da seguinte forma:



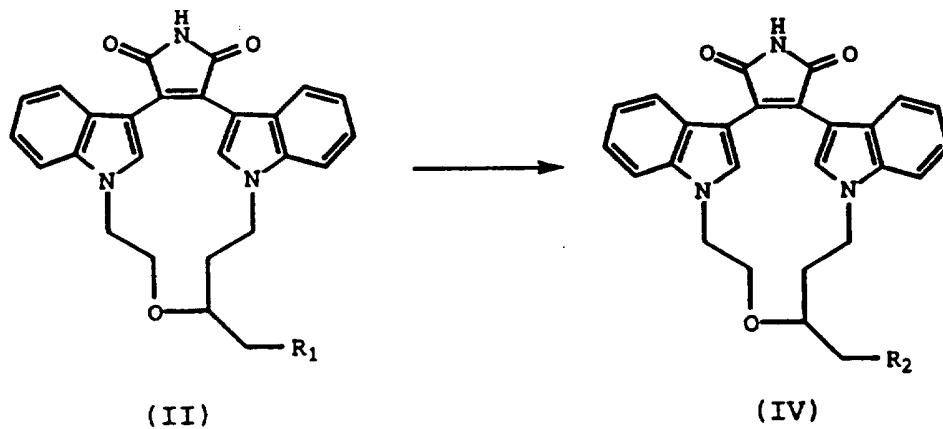
$R_1$  é o mesmo conforme previamente definido. De preferência,  $R_1$  é Br ou I, mais preferencialmente  $R_1$  é Br. Os compostos de tosilato reivindicados (p-toluenossulfônico) são preparados por reacção do álcool com anidrido p-toluenossulfônico na presença de uma base tal como piridina em THF, éter, cloreto de metileno ou outro solvente orgânico não-reactivo. A reacção é geralmente levada a cabo sob azoto desde a temperatura ambiente até à temperatura de refluxo da mistura reaccional.

Os haletos reivindicados são preparados por reacção do álcool com uma fonte de brometo ou iodeto. A fonte de brometo ou iodeto podem ser um número de reagentes apreciados na técnica incluindo: HI, HBr, LiBr, CaBr<sub>2</sub>, PBr<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>PBr<sub>2</sub>, N-bromosuccinimida, CBr<sub>4</sub>, Br-alilo, Br-benzilo, SOBr<sub>2</sub>; em que R<sub>5</sub> é fenilo, feniloxi, alquilo ou arilo. Um especialista na técnica reconheceria que se podem adicionar vários agentes de activação à reacção tais como 1,1'-



carbonildiimidazol. A conversão de um hidroxi (III) num haleto (II) pode ser realizada através de técnicas apreciadas na técnica e reveladas em Richard C. Larock, A GUIDE TO FUNCTIONAL GROUP PREPARATIONS, VCH Publishers, p. 356-63 (1989), aqui incorporado por referência. Condições preferidas incluem o brometo ou iodeto na presença de um reagente de haleto fosforoso tal como  $\text{PX}_3$ ,  $(\text{fenil})_3\text{PX}_2$  ou  $(\text{fenoxi})_3\text{PX}_2$  onde X é bromo ou iodo. A reacção é convenientemente levada a cabo em THF, acetonitrilo, cloreto de metíleno ou outros solventes não-reactivos apreciados na técnica. DMF ou outros solventes são também eficazes devido à formação de um reagente do tipo Vilsmeier conforme descrito em Barluenga J. Synthesis p. 426 (1985) e Hodosi G, Carbohydrate Research 230:327-42 (1992).

Compostos com a Fórmula II são convertidos nas bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas com a Fórmula IV, como se segue:



onde  $R_1$  é Br, I ou O-tosilo; e  $R_2$  é  $-N(CF_3)(CH_3)$ ,  $-NH(CF_3)$  ou  $-NR_3R_4$  em que  $R_3$  e  $R_4$  são independentemente hidrogénio, alquilo  $C_1-C_4$ , fenilo, benzilo ou então combinam-se com o azoto ao qual eles estão ligados para formarem um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado. De preferência,  $R_2$  é  $N(CH_3)$ .

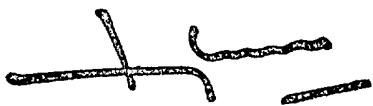


O processo de utilização do Composto II para se formar o Composto IV, comprehende a reacção de um composto II com uma amina com a fórmula:  $\text{HN}(\text{CF}_3)(\text{CH}_3)$ ,  $\text{HNH}(\text{CF}_3)$  ou  $\text{HNR}_3\text{R}_4$  onde  $\text{R}_3$  e  $\text{R}_4$  são independentemente hidrogénio, alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_4$ , fenilo, benzilo ou então combinam-se com o azoto ao qual eles estão ligados para formarem um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado, num solvente não-reactivo, polar aprótico. A reacção é preferencialmente levada a cabo numa solução de DMF, THF: água ou dimetilacetamida a temperaturas variando de  $0^\circ\text{C}$  até à temperatura de refluxo da mistura reacional. A reacção está geralmente completa em cerca de 1 a 20 horas. De preferência, a reacção é realizada à temperatura ambiente até  $50^\circ\text{C}$ . O composto IV pode ser purificado da mistura reacional utilizando-se técnicas padrão mas é preferencialmente cristalizado directamente da mistura reacional.

Muito inesperadamente, a utilização do intermediário reivindicado para se preparar uma  $\text{N,N}'\text{-bisindolilmaleimida amino-substituída}$  resulta num maior rendimento e evita impurezas tóxicas. O intermediário reivindicado é surpreendentemente mais reactivo do que o intermediário de mesilato conhecido. A reactividade de vários grupos de saída para  $\text{HN}(\text{CH}_3)_2$  é apresentada na Tabela I. A reactividade relativa predita na técnica é descrita em CAREY AND SUNDBERG, Parte A, 3<sup>a</sup> Edição, página 291 (1990).

Tabela I. Velocidades de reacção com  $\text{HN}(\text{CH}_3)_2$

Grupo	$k_{\text{rel}}$
(Velocidade de reacção dos grupos de saída com $\text{HN}(\text{CH}_3)_2$ )	
p-toluenossulfonato	$2,2 \times 10^{-2}$
$\text{MsO}^-$	$5,5 \times 10^{-3}$
$\text{Cl}^-$	$9,8 \times 10^{-4}$
$\Gamma$	$2,0 \times 10^{-1}$
$\text{Br}^-$	$2,2 \times 10^{-2}$



Os dados na Tabela I demonstram que o tosilo, o brometo e o iodeto são inesperadamente reactivos -- particularmente o brometo e o iodeto que são desde 8× até 36× mais reactivos do que o intermediário de mesilato conhecido. Este aumento de reactividade relativamente ao MsO foi também observada com H<sub>2</sub>NCH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>N(benzilo). O aumento na reactividade resulta numa menor temperatura de reacção que é completa num período de tempo mais curto. A utilização do intermediário reivindicado resulta também em menos impurezas no produto. Utilizando-se o intermediário de O-Mesilo conhecido, a reacção para se produzir uma N,N'-bisindolilmaleimida amino substituída resulta num nível de impureza de 15 a 30% devido aos subprodutos formados da reacção no grupo carbonilo da maleimida. Utilizando-se o intermediário reivindicado, o nível de impureza é inferior a 5%, uma melhoria substancial.

Conforme anteriormente exposto, tem-se verificado que a funcionalidade O-mesilato utilizada para se prepararem bisindolilmalimidas com pontes N,N' amino substituídas é tóxica e verificou-se também uma impureza não desejada na preparação de bisindolilmaleimidas com pontes N,N' amino substituídas. Devem-se empregar técnicas de purificação dispendiosas para se assegurar que o intermediário O-mesilato é removido do produto final. Por isso, uma vantagem adicional dos presentes intermediários e do processo para a preparação de bis-indolilmalimidas com pontes N,N' amino substituídas utilizando-se os intermediários reivindicados, prende-se com o facto de se evitarem os difíceis passos de purificação para se removerem as impurezas tóxicas.

Os compostos preferidos, preparados utilizando-se os intermediários reivindicados, são os seguintes: (S)-13-[(Dimetilamino)metil]-10,11,14,15-



tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo-[3,4-H][1,4,13]oxadiaza-ciclohexadecino-1,3(2H)-diona, particularmente como o sal de mesilato; (S)-13-[(Monometilamino)metil]-10,11,14,15-tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo-[3,4-H][1,4,13]oxadiaza-ciclohexadecino -1,3(2H)-diona; monoclorídato de (S)-13-[(pirrolidino)metil]-10,11,14,15- tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo-[3,4-H][1,4,13]oxadiaza-ciclohexadecino-1,3(2H)-diona; e (S)-13-[benzilaminometil]-10,11,14,15-tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo-[3,4-H][1,4,13]oxadiaza-ciclohexadecino-1,3 (2H)-diona.

As aminas mono-substituídas preferidas com a Fórmula IV podem ser preparadas directamente a partir dos compostos reivindicados. Não é possível um método directo de alto rendimento para se prepararem estes compostos com o intermediário mesilato.

Os compostos com a Fórmula IV são preparados como a base livre e são preferencialmente convertidos num sal farmaceuticamente aceitável através de técnicas apreciadas na técnica.

Os seguintes exemplos e preparações são fornecidos meramente para ilustrarem adicionalmente a invenção. O âmbito da invenção não é analisado como sendo meramente constituído pelos seguintes exemplos. Nos exemplos e preparações que se seguem, ponto de fusão, espectros de ressonância magnética nuclear, espectros de massa, cromatografia líquida a alta pressão sobre gel de sílica, N,N-dimetilformamida, tetrahidrofurano e acetato de etilo são abreviados P.F., RMN, MS, HPLC, DMF, THF e EtOAc respectivamente. Os termos "RMN" e "MS" indicam que o espetro foi consistente com a estrutura desejada.



## Preparação 1

### Metanossulfonato de 3-[(metilssulfônio)oxi]etoxi]-4-trifenilmethoxy)-1-butanol

Dissolveu-se cloreto de tritilo (175,2 g, 0,616 mol) em 500 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sob N<sub>2</sub>. Adicionou-se trietilamina (71,9 g, 100 ml, 0,710 mol) e em seguida adicionou-se R,S-glicidol (50,0 g, 0,648 mol) e aqueceu-se a reacção até a um refluxo brando (42°C) durante 4 horas. Arrefeceu-se a reacção até à temperatura ambiente e extraiu-se duas vezes com 250 ml de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio e em seguida com 250 ml de salmoura. As camadas aquosas foram extraídas em contra-corrente com 100 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e a camada orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>) e evaporada *in vacuo* para dar tritil-glicidol como um óleo que foi recristalizado a partir de etanol para dar 104,4 g (54%) de tritil-glicidol como um sólido.

Arrefeceu-se uma solução THF 1 M de brometo de vinilmagnésio (50 ml, 50 mmol, 2,0 eq.) até -20°C sob N<sub>2</sub> e adicionou-se uma quantidade catalítica de iodeto de cobre (0,24 g, 1,26 mmol, 0,05 eq.). A mistura resultante foi agitada a -20°C durante 5 minutos e em seguida adicionou-se gota a gota uma solução de tritil-glicidol (7,91 g, 25,0 mmol) em 40 ml de THF seco durante 15 minutos a -20°C. Agitou-se a mistura reacional durante 3 horas a -20°C e em seguida deixou-se aquecer até à temperatura ambiente e agitou-se durante 15 minutos. Temperou-se a reacção por arrefecimento da mistura reacional para -30°C e adicionou-se lentamente 125 ml de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio. A mistura resultante foi extraída com 200 ml de acetato de etilo. A camada orgânica foi então extraída com uma solução aquosa de 0,93 g (2,50 mmol, 0,1 eq.) de ácido etilenodiaminetetraacético, sal dissódico dihidratado (EDTA) em 125 ml de água desionizada para se removerem quaisquer metais. As camadas orgânicas foram contra-extraídas com 50 ml de

acetato de etilo e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com 100 ml de salmoura, secas ( $MgSO_4$ ) e evaporadas *in vacuo* para darem um óleo que foi filtrado através de sílica (76 g) utilizando-se 1,2 L de hexanos/acetato de etilo 3/1. O filtrado foi evaporado *in vacuo* para dar 9,07 g de 1-(trifenilmetoxi)-4-penten-2-ol como um óleo colorido amarelo claro (100%).

Suspendeu-se uma suspensão de 60% de hidreto de sódio em óleo mineral (6,13 g, 0,153 mol, 1,5 eq.) em 175 ml de THF seco à temperatura ambiente. Agitou-se a mistura resultante a 45°C durante 1,5 horas e em seguida adicionou-se por via de seringa 17,7 ml (0,204 mmol, 2,0 eq.) de brometo de alilo recentemente destilado. Aqueceu-se a reacção até 45°C durante 1 hora. A reacção pode ser monitorizada por TLC ou HPLC. Arrefeceu-se a mistura reaccional para 0°C e adicionou-se lentamente 400 ml de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio para temperar o excesso de base. A mistura resultante foi extraída com 800 ml de acetato de etilo e lavou-se a camada orgânica com 500 ml de água. As camadas aquosas foram contra-extraídas com 100 ml de acetato de etilo e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com 200 ml de salmoura, secas ( $MgSO_4$ ) e evaporadas *in vacuo* para darem 41,5 g (>100%) de 1,1',1"-[[[2-(2-propeniloxi)-4-pentenil]oxi]metilidino]tris [benzeno] como um óleo amarelo.

Dissolveu-se 1,1',1"-[[[2-(2-propeniloxi)-4-pentenil]oxi]metilidino]tris[benzeno] (39,3 g, 0,102 mol) numa solução de 390 ml de álcool metílico anídrico e 60 ml de  $CH_2Cl_2$  e arrefeceu-se para -50° a -40°C enquanto se borbulhava  $N_2$  através da solução reaccional viscosa. Borbulhou-se então ozono através da mistura reaccional a -50° a -40°C durante 80 minutos até a reacção mudar para uma cor azul pálido. Deixou-se a mistura reaccional resultante aquecer até 0°C sob  $N_2$  e em seguida adicionou-se lentamente uma solução de boro-hidreto de sódio (23,15 g, 0,612 mol, 6 eq.) em 85 ml de etanol/85 ml de água para se temperar a reacção enquanto se mantinha a temperatura da reacção

abaixo dos 10°C. Agitou-se a reacção num banho de gelo durante 30 minutos e em seguida deixou-se aquecer até à temperatura ambiente e agitou-se durante a noite. A temperatura subiu até 31°C durante o aquecimento. A mistura reaccional foi diluída com 400 ml de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio e extraída com 800 ml de acetato de etilo. Lavou-se a camada orgânica com 400 ml de água e as camadas aquosas foram contra-extraídas com 150 ml de acetato de etilo. A camada orgânica combinada foi lavada com 200 ml de salmoura e foi seca ( $MgSO_4$ ) e evaporada *in vacuo* para dar um óleo turvo. Este óleo foi recristalizado a partir de hexanos/acetato de etilo 2/1 em 3 porções para dar 28,9 g de 3-(2-hidroxietoxi)-4-(trifenilmetoxi)-1-butanol (72%).

Dissolveu-se 3-(2-hidroxietoxi)-4-(trifenilmetoxi)-1-butanol (14,0 g, 35,7 mmol) em 140 ml de  $CH_2Cl_2$ , arrefeceu-se até 0°C sob  $N_2$  e adicionou-se trietilamina (10,8 g, 14,9 ml, 0,107 mol, 3,0 eq.). Adicionou-se em seguida gota a gota, a uma temperatura < 5°C, cloreto de metanossulfônico (11,0 g, 7,46 ml, 96,4 mmol, 2,7 eq.). A mistura reaccional resultante foi diluída com  $CH_2Cl_2$  adicional (300 ml) e lavada com 200 ml de água e 200 ml de solução aquosa saturada de cloreto de amónio. As camadas aquosas foram contra-extraídas com 50 ml de  $CH_2Cl_2$  e a camada orgânica combinada foi lavada com 100 ml de salmoura e foi seca ( $MgSO_4$ ) e evaporada *in vacuo* para dar 18,4 g (94%) de metanossulfonato de 3-[2-[(metilssulfônico)oxi]etoxi]-4-trifenilmetoxi)-1-butanol como um sólido branco.

## Preparação 2

### (S)-Tritil Glicidol

Dissolveu-se cloreto de tritilo (2866 g, 10,3 mol) em 7 L de  $CH_2Cl_2$  sob  $N_2$ . Adicionou-se trietilamina (1189 g, 1638 ml, 11,8 mol), e em seguida



adicionou-se (R) -(+)-glicidol (795,0 g, 10,6 mol) utilizando-se 1 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como uma enxaguadela. Aqueceu-se a solução reaccional até a um refluxo brando (42°C) durante 3-4 horas. Arrefeceu-se a reacção até à temperatura ambiente e em seguida adicionou-se 3 L de salmoura. A camada orgânica foi seca (600 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e evaporada *in vacuo* para dar o composto do título como um óleo que foi recristalizado a partir do etanol para dar 2354 g (70%) do composto do título como um sólido.

### Preparação 3

#### Metanossulfonato de (S)-3-[2-[(metilssulfonil)oxi]etoxi]-4-(trifenilmethoxy)-1-butanol

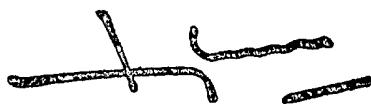
Arrefeceu-se uma solução de THF 1 M de brometo de vinilmagnésio (5,76 L, 5,76 mol, 1,96 eq.) até -20°C sob N<sub>2</sub> e adicionou-se uma quantidade catalítica de iodeto de cobre (28,2 g, 0,148 mol, 0,05 eq.). Agitou-se a mistura resultante a -20°C durante 5 minutos, e em seguida adicionou-se gota a gota durante 1,5 horas uma solução de (S)-Tritil-glicidol (929,0 g, 2,94 mol) em 3,2 L de THF seco a -20°C. Agitou-se a mistura reaccional durante 1 hora a -20°C. Temperou-se a reacção por arrefecimento da mistura reaccional até -30°C e adicionou-se lentamente 5 L de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio. A camada orgânica foi então extraída duas vezes com 1 L de uma solução a 10% em peso/volume de ácido etilenodiaminotetraacético, sal dissódico dihidratado (EDTA) para se removerem quaisquer metais. A camada orgânica foi lavada com 2 L de salmoura, seca (MgSO<sub>4</sub>) e evaporada *in vacuo* para dar 1061 g (96%) de (S)-1-O-trifenilmethyl-4-hidroxipentanol como um óleo.

Suspendeu-se uma suspensão a 60% de hidreto de sódio em óleo mineral (268,9 g, 6,72 mol, 1,5 eq.) em 2,8 L de THF seco sob N<sub>2</sub> e adicionou-se



uma solução de (S)-1-0-trifenilmetil-4-hidroxipentanol (1543 g, 4,48 mol) em 5,6 L de THF seco à temperatura ambiente. Agitou-se a mistura resultante à temperatura ambiente durante 1,5 horas e em seguida adicionou-se durante 20 minutos 770 ml (8,89 mol, 2,0 eq.) de brometo de alilo recentemente destilado. Aqueceu-se a reacção a 45°C durante 1-2 horas. Arrefeceu-se a mistura reacional para 15°-20°C e adicionou-se lentamente 2 L de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio para temperar o excesso de base. Diluiu-se a mistura resultante com 1 L de acetato de etilo e 1 L de água e isolou-se a camada orgânica. A camada aquosa foi contra-extraída com 500 ml de acetato de etilo e as camadas orgânicas combinadas foram secas ( $\text{MgSO}_4$ ) e evaporadas *in vacuo* para darem 1867 g (98%) de (S)-1,1',1"-[[[2-(2-propeniloxi)-4-pentenil]oxi] metilidino]tris[benzeno] como um óleo amarelo.

Dissolveu-se (S)-1,1',1"-[[[2-(2-propeniloxi)-4-pentenil]oxi] metilidino]tris[benzeno] (1281 g, 3,33 mol) numa solução de 4 L de álcool metílico anídrico e 3,6 L de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e arrefeceu-se para  $-50^\circ$  a  $-40^\circ\text{C}$  enquanto se borbulhava  $\text{N}_2$  através da solução reacional viscosa. Adicionou-se indicador Sudan III à reacção e borbulhou-se ozono através da mistura reacional a  $-50^\circ$  a  $-35^\circ\text{C}$  durante 13 horas até a reacção mudar de cor de pêssego para uma cor verde claro /amarelo. Deixou-se a mistura reacional resultante aquecer até  $0^\circ\text{C}$  sob  $\text{N}_2$  e em seguida adicionou-se lentamente durante 40 minutos para uma solução de borohidreto de sódio (754 g, 19,9 mol, 6 eq.) em 2,5 L de etanol/2,5 L de água enquanto se mantinha a temperatura da reacção abaixo dos  $30^\circ\text{C}$ . Deixou-se então a reacção a agitar à temperatura ambiente durante a noite. A reacção pode ser monitorizada por HPLC. Arrefeceu-se a mistura reacional até  $10^\circ$ - $15^\circ\text{C}$  e adicionou-se lentamente para 4 L de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio a  $< 20^\circ\text{C}$ . A mistura reacional temperada foi em seguida filtrada e os sólidos lavados com 3 L de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . A camada orgânica foi isolada e foi lavada com 3 L de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio e as camadas



aquosas foram contra-extraídas com 1 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A camada orgânica combinada foi seca (MgSO<sub>4</sub>) e evaporada *in vacuo* para dar 1361 g (>100%) de (S)-3-(2-hidroxietoxi)-4-(trifenilmetoxi)-1-butanol como um óleo.

Dissolveu-se (S)-3-(2-hidroxietoxi)-4-(trifenilmetoxi)-1-butanol (500 g, 1,27 mol) em 4,8 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, arrefeceu-se até 0°C sob N<sub>2</sub> e adicionou-se trietilamina (386,4 g, 532 ml, 3,81 mol, 3,0 eq.). Adicionou-se em seguida cloreto de metanossulfônico (396,3 g, 268 ml, 3,46 mol, 2,7 eq.) gota a gota durante 30 minutos a < 5°C. Agitou-se a mistura reacional resultante a 0 até 5°C durante 1-2 horas e monitorizou-se por HPLC. Diluiu-se a mistura reacional com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> adicional e lavou-se duas vezes com 2 L de água e 2 L de uma solução aquosa saturada de cloreto de amônio. As camadas aquosas foram contra-extraídas com 1 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e a camada orgânica combinada foi seca (MgSO<sub>4</sub>) e evaporada *in vacuo* para dar um sólido bruto que foi recristalizado a partir de heptano/acetato de etilo 1/1 para dar 615 g (88%) de metanossulfonato de (S)-3-[2-[(metilssulfônico)oxi]etoxi]-4-(trifenilmetoxi)-1-butanol em três porções como um sólido. RMN. MS.

#### Preparação 4

#### (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-(hidroximetil)-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H] [1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3(2H)-diona

Dissolveu-se 2,3-bis-(1H-indol-3-il)-N-metilmaleimida (114,7 g, 0,336 mol) e metanossulfonato de (S)-3-[2-[(metilssulfônico)oxi]etoxi]-4-(trifenilmetoxi)-1-butanol (220,0 g, 0,401 mol, 1,2 eq.) em 4,3 L de DMF. Esta solução de reagentes foi então lentamente adicionada durante 70 horas (aproximadamente 1 ml/min) a uma pasta a 50°C de carbonato de césio (437,8 g, 1,34 mol, 4,0 eq.) em 7 L de DMF. Após 70-72 horas, arrefeceu-se e filtrou-se a reacção e



removeu-se o DMF *in vacuo* para dar um resíduo que foi dissolvido em 4,6 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A camada orgânica foi extraída com 1,15 L de HCl aquoso 1N e em seguida com 4,6 L de salmoura. As camadas aquosas combinadas foram contra-extraídas com 1,1 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A camada orgânica combinada foi seca (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e filtrada. A maior parte do solvente foi removido *in vacuo* e a solução resultante foi filtrada através de 2 kg de gel de sílica utilizando 4-5 galões de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> adicional para se remover o material da linha de base. O solvente foi removido *in vacuo* e o sólido resultante de cor púrpura foi triturado em 7 volumes de acetona nitrilo (com base no peso de (S)-10,11,14,15-tetrahidro-2-metil-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3(2H)-diona bruta) para dar 150,2 g (57%) de (S)-10,11,14,15-tetrahidro-2-metil-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3(2H)-diona após secagem (89% pura por HPLC *vs.* padrão).

Suspendeu-se (S)-10,11,14,15-tetrahidro-2-metil-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3(2H)-diona (32,7 g, 46,9 mmol) em 1,6 L de etanol e 1,6 L de KOH aquoso 10 N. Aqueceu-se a mistura resultante até a um refluxo brando (78°C) durante 19 horas. A maior parte dos sólidos dissolveu-se ao atingir o refluxo. Arrefeceu-se a solução reacional para 10°C a 15°C e adicionou-se lentamente HCl aquoso 10 N (1,2 L) a <15°C para ajustar a acidez para pH=1. Após acidificação desenvolveu-se uma pasta vermelha. A mistura reacional foi diluída com 500 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e foi agitada durante 20 minutos e filtrada para se remover a maior parte dos sais. Os sais foram lavados com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> adicional (1,5 L) e o filtrado foi extraído duas vezes com 1 L de água. As camadas aquosas combinadas foram contra-extraídas com 1 L de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e a camada orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>). O solvente foi removido *in vacuo* para dar 36,0 g (>100%) de (S)-

10,11,14,15-tetrahidro-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimeteno-13H-dibenzo[E,K]furo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3-diona como um sólido púrpura (80% puro por área de HPLC).

Dissolveu-se (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimeteno-13H-dibenzo[E,K]furo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3-diona (36,0 g, supor 46,9 mmol) em 320 ml de DMF seco sob N<sub>2</sub> e tratou-se com uma solução pré-misturada de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano (99 ml, 75,7 g, 0,469 mol, 10 eq.) e metanol (9,5 ml, 7,51 g, 0,235 mol.,5 eq.). Aqueceu-se a solução resultante a 45°C durante 7 horas. A reacção pode ser monitorizada por HPLC. A maior parte do DMF foi removido *in vacuo* e o resíduo resultante foi extraído para 200 ml de acetato de etilo e lavado com 200 ml de água e duas vezes com 100 ml de uma solução aquosa de LiCl a 5%. As camadas aquosas foram contra-extraídas com 100 ml de acetato de etilo. A camada orgânica combinada foi lavada com 200 ml de uma solução aquosa saturada de cloreto de amónio. A camada orgânica combinada foi seca (MgSO<sub>4</sub>) e evaporada *in vacuo* para dar 35,9 g (>100%) da (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimeteno-1H; 13H-dibenzo[E,K] pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona bruta como um sólido púrpura.

Dissolveu-se (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[(trifenilmetoxi)metil]-4,9:16,21-dimet-eno-1H; 13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona (34,0, supor 46,8 mmol) em 350 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e arrefeceu-se até -25°C sob N<sub>2</sub>. Borbulhou-se HCl gasoso anídrico na solução reacional durante aproximadamente 1-2 minutos a <0°C. Deixou-se a pasta resultante aquecer até à temperatura ambiente e agitou-se durante 1 hora. A reacção pode ser monitorizada por HPLC. A pasta foi filtrada e os sólidos foram

lavados com 200 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . O sólido foi seco num forno de vácuo a 50°C para dar 18,6 g (90%) de (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-(hidroximetil)-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona como um sólido púrpura (93% puro por área de HPLC).

### Exemplo 1

(S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[bromo(metil)]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H] [1,4,13]oxadiazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona

Deitou-se bromo (2,0 equiv.) e piridina (0,1 equiv.) para cloreto de metíleno (10 vols.) e arrefeceu-se a solução até -5°C. Titulou-se o bromo com trifenilfosfito (2,0 equiv.). A solução mudou de amarelo para transparente quando todo o bromo foi consumido. Num segundo reactor carregou-se (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[hidroxi(metil)]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxa-diazaciclohexadecino-1,3(2H)-diona (1,0 equiv.) em cloreto de metíleno (10 vols.). Arrefeceu-se a pasta até -5°C. Adicionou-se em seguida a solução de dibrometo de trifenilfosfito à pasta de pirrolodiona, deixou-se a reacção aquecer até à temperatura ambiente e agitou-se durante 12-16 horas até estar completa (< 0,4% de Composto III por HPLC). Concentrou-se a pasta sob vácuo à temperatura ambiente durante 2 horas, em seguida temperou-se com 1 volume de água desionizada e agitou-se durante 15 minutos. Deitou-se tolueno (40 vols.) para a pasta reaccional para precipitar o produto. Após agitação a 10°C durante 1 hora, o produto foi isolado por filtração e lavado duas vezes com tolueno (5 vols.), com água desionizada (5 vols.) e fez-se uma enxaguadela final com 5 volumes de tolueno. O brometo do título foi seco num secador de vácuo a 50°C. Rendimentos de 85-90% (impurezas 1-2%).



Para reduzir adicionalmente o nível de impurezas, o produto é novamente empastado num sistema de solvente tal como acetona:água, metanol:água, isopropanol:água ou acetato de etilo. Preferencialmente o produto é novamente empastado em THF:água a uma razão de 1:1 até 5:1 (THF:água).

### Exemplo 2

(S)-13-[(Dimetilamino)metil]-10,11,14,15-tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo-[3,4-H][1,4,13]oxadiazza-ciclohexadecino-1,3(2H)-diona

A uma solução de (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[bromo(metil)]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxa-diazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona (1,0 equiv.) em *N,N*-dimetilformamida (17 vol.) adicionou-se dimetilamina (10,73 kg, 12 equiv.). O vaso reacional foi selado e aquecido a 45°C durante 9 horas. Em seguida arrefeceu-se a reacção até à temperatura ambiente e agitou-se durante 12-16 horas. Adicionou-se NaOH (12N, 1,1 equiv.) à reacção para se formar a base livre. Agitou-se a solução durante mais 2 horas. Após a remoção da *N,N*-dimetilformamida *in vacuo* para 5-7 vols., adicionou-se MeOH (30 vols.) a 60°C durante 1 hora à reacção, também a 60°C. A reacção foi então arrefecida até à temperatura ambiente e agitada durante a noite, em seguida arrefecida adicionalmente até 0-10°C. O produto foi isolado por filtração e lavado com MeOH (3 vols.). O material foi seco num secador de vácuo a 50°C até um peso constante. Rendimentos de 85-92%. Outros solventes que têm sido empregues nesta reacção são THF/água e dimetilacetamida, devido à baixa solubilidade do material de partida e dos produtos a reacção deveria ser

realizada num solvente polar aprótico. Têm sido examinadas outras bases (ver abaixo) para libertar o sal de HBr *in situ* mas as bases mais eficazes foram NaOH 6 N, NaOH e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 12 N.

### Exemplo 3

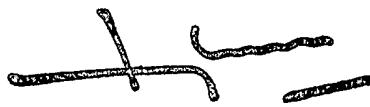
(S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[iodo(metil)]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxa-diazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona

Deitou-se (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[metanossulfoniloxi]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxa-diazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona (1,0 g, 1,94 mmol) em 20 ml de *N,N*-dimetilformamida seca (20 vol.). Adicionou-se iodeto de sódio (3,0 g, 19,4 mmol, 10,0 equiv.) à solução e a reacção foi agitada e aquecida a 50°C durante 36 horas. Ao se arrefecer a reacção para a temperatura ambiente o produto foi isolado por adição de água (50 ml, 50 vol.). O produto precipitou como um sólido púrpura que foi recristalizado a partir de THF:H<sub>2</sub>O 5:1 para dar 0,87 g (81%) do composto do título.

### Exemplo 4

(S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[p-toluenossulfoniloxi(metil)]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxa-diazaciclohexadecino-1,3 (2H)-diona

Deitou-se (S)-10,11,14,15-tetrahidro-13-[hidroximetil]-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H][1,4,13]oxa-diazaciclohexadecino-

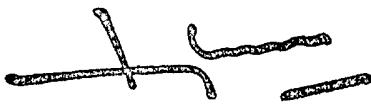


1,3 (2H)-diona (1,0 g, 2,27 mmol) em 20 ml de diclorometano (20 vol.). Adicionou-se anidrido toluenossulfónico (2,22 g, 6,80 mmol, 3,0 equiv.) e piridina (0,72 g, 9,08 mmol, 4,0 equiv.) à solução e a reacção foi agitada e aquecida até ao refluxo a 42°C durante 2 horas. Arrefeceu-se a reacção até à temperatura ambiente e diluiu-se com 40 ml de diclorometano. A fase orgânica foi lavada com 50 ml de ácido clorídrico 1 N e 50 ml de salmoura. As camadas aquosas foram contra-extraídas com 30 ml de diclorometano e os orgânicos combinados sofreram permuta de solvente de cloreto de metileno para etanol. O produto precipitou como um sólido púrpura e foi filtrado para dar 1,25 g (rendimento de 93%) do composto do título.

#### Exemplo 5

(S)-13-[Monometilamino)metil]-10,11,14,15-tetrahidro-4,9:16,21-  
-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H] [1,4,13]-  
oxadiaza-ciclohexadecino-1,3 (2H)-diona

Dissolveu-se metilamina (37,1 g, 1,19 mol, 20 eq.) em 600 ml de *N,N*-dimetilacetamida, mantendo-se a temperatura abaixo dos 23°C. Adicionou-se à solução o composto do Exemplo 1 (30 g, 0,0595 mol). Agitou-se a reacção à temperatura ambiente durante 24 horas num vaso selado. Adicionou-se trietilamina (8,3 ml, 0,0595 mol, 1 eq.) para limpar o HBr formado na reacção, agitou-se a reacção durante 30 minutos adicionais, em seguida arrefeceu-se para 4°C e adicionou-se lentamente água (450 ml) enquanto se mantinha a temperatura reacional abaixo dos 25°C. Em consequência da adição de água desenvolveu-se uma pasta, que foi agitada durante 1 hora e filtrada utilizando-se 200 ml de água adicional para lavar o sólido filtrado. O sólido foi seco num forno de vácuo a 50°C para dar 25,03 g (93%) do composto do título.



### Exemplo 6

Monoclorídato de (S)-13-[(pirrolidino)metil]-10,11,14,15-tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H] [1,4,13]oxadiaza-ciclohexadecino-1,3 (2H)-diona

Deitou-se o composto do Exemplo 1 (1,0 g, 1,0 equiv.) em 5 ml de *N,N*-dimetilacetamida e adicionou-se pirrolidina (1,6 ml, 10 equiv.). Aqueceu-se a reacção a 45°C durante 9 horas e em seguida arrefeceu-se até à temperatura ambiente. Adicionou-se NaOH 12N (0,17 ml, 1,0 equiv.) à pasta vermelha e agitou-se a mistura à temperatura ambiente durante 2 horas para se proporcionar uma solução vermelha. O solvente foi removido *in vacuo* e o óleo diluído com cloreto de metíleno (100 ml) e lavado com cloreto de amónio saturado (100 ml) e solução de LiCl a 5% (2×100 ml). A remoção do cloreto de metíleno *in vacuo* proporcionou um óleo, a partir do qual o composto do título precipitou como um sólido vermelho após adição de metil *t*-butiléter. O sólido foi isolado por filtração e seco num forno de vácuo a 50°C durante a noite para proporcionar 0,8 g (81%) de produto.

### Exemplo 7

(S)-13-[benzilaminometil]-10,11,14,15-tetrahidro-4,9:16,21-dimeteno-1H,13H-dibenzo[E,K]pirrolo[3,4-H] [1,4,13]oxadiaza-ciclohexadecino-1,3 (2H)-diona

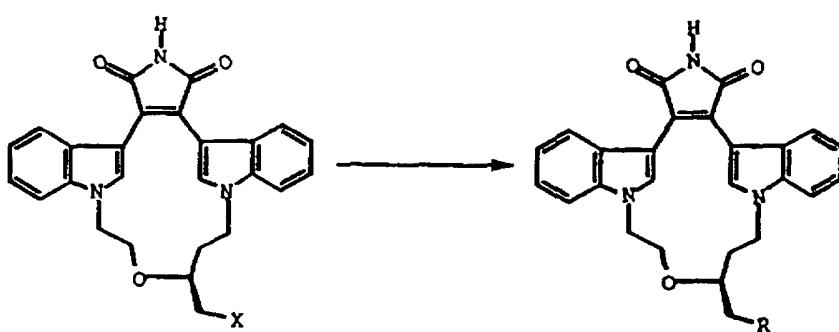
Deitou-se o composto do Exemplo 1 em 20 vol. de *N,N*-dimetilacetamida e adicionou-se benzilamina (6,0 eq.) numa porção. Agitou-se e aqueceu-se a reacção a 80°C durante 24 horas num vaso selado. Arrefeceu-se a reacção até à temperatura ambiente e adicionou-se trietilamina (1 eq.) para limpar



o HBr e agitou-se a reacção durante 30 minutos adicionais. Adicionou-se acetato de etilo e lavou-se a camada orgânica com uma solução saturada de cloreto de sódio. A solução sofreu permuta de solvente de acetato de etilo para etanol, originando uma pasta vermelha que foi filtrada para dar o composto do título como um sólido vermelho com 79% de rendimento.

### Exemplo 8

#### Estudo Cinético



X = I (Composto A)

R = NHCH<sub>3</sub> (Composto F)

X = Br (Composto B)

R = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Composto G)

X = Cl (Composto C)

R = NHBn (Composto H)

X = OMs (Composto D)

X = OTs (Composto E)

Preparou-se uma solução 2 molar de dimetilamina em N,N-dimetilacetamida (DMA) para ser usada nos estudos cinéticos. Os Compostos A (0,25 g, 0,45 mmol), B (0,229 g, 0,45 mmol), C (0,209 g, 0,45 mmol), D (0,236 g, 0,45 mmol) e E (0,271 g, 0,45 mmol) foram cada um dissolvidos em DMA (~20 ml/g, 4-6 ml) e adicionou-se uma solução 2 molar de dimetilamina em DMA (4,5 ml, 9,0 mmol, 20 eq.) a cada reacção. As soluções reaccionais foram



cobertas, agitadas a 23°C e retiraram-se amostras para análise por HPLC ao longo do tempo. Utilizou-se uma coluna Zorbax SB-CN de 4,6 mm × 25 cm com uma fase móvel de água isocrática tamponada com THF/ácido trifluoroacético a 0,1% 50/50 a 1 ml/min e um detector de UV fixado em 233 nm ( $R_t$  Composto A = 10,4 min.,  $R_t$  Composto B = 9,3 min.,  $R_t$  Composto C = 9,0 min.,  $R_t$  Composto D = 6,2 min.,  $R_t$  Composto E = 10,6 min.). As concentrações reacionais foram determinadas a partir de um factor de resposta que foi obtido para cada composto a partir da equação de linha de uma curva de calibração com três pontos (concentrações de 0,1 mg/ml, 0,05 mg/ml e 0,025 mg/ml vs. áreas de resposta correspondentes). As amostras reacionais (0,1 ml) foram diluídas para 25 ml num balão volumétrico antes da análise de HPLC e as concentrações (mg/ml) foram convertidas em concentrações molares (mmol/ml). O log natural da concentração de dimetilamina dividido pelas concentrações dos compostos A, B, C, D, ou E foi representado vs. tempo. O declive da linha obtida a partir de cada representação foi dividido pela diferença entre a concentração inicial de amina e as concentrações iniciais de composto para se obterem as constantes de velocidade de segunda ordem (unidades de L M<sup>-1</sup> Hr<sup>-1</sup>). Os resultados estão apresentados na Tabela I.

#### Exemplo 9

##### Estudos de Velocidade Competitiva de Mesilato vs. Brometo com Dimetilamina, Metilamina e Benzilamina

Preparou-se uma solução 2 molar de metilamina e dimetilamina em N,N-dimetilacetamida (DMA) para se utilizar nos estudos cinéticos. Combinaram-se os Compostos D (1,03 g, 1,98 mmol) e B (1,00 g, 1,98 mmol) em N,N-dimetilacetamida (20 ml/g para as reacções de metilamina e dimetilamina e 36 ml/g para a reacção de benzilamina) e adicionou-se uma solução 2 molar de

metilamina em DMA (19,8 ml, 39,7 mmol, 20 eq.) ou uma solução 2 molar de dimetilamina em DMA (19,8 ml, 39,7 mmol, 20 eq.) ou benzilamina (4,25 g, 39,7 mmol, 20 eq.). As soluções da reacção foram encapsuladas, agitadas a 23°C e retiraram-se amostras para análise por HPLC ao longo do tempo. Utilizou-se uma coluna Zorbax SB-CN de 4,6 mm × 25 cm com uma fase móvel de água isocrática tamponada com THF/ácido trifluoroacético 0,1% 45/55 a 1 ml/min e um detector de UV fixado em 233 nm ( $R_t$  Composto D = 11,4 min.,  $R_t$  Composto B = 19,9 min.). As concentrações reaccionais foram determinadas a partir de um factor resposta que foi obtido para os compostos B e D a partir da equação de linha de uma curva de calibração com três pontos (concentrações de 0,1 mg/ml, 0,05 mg/ml e 0,025 mg/ml vs. áreas de resposta correspondentes). As amostras reaccionais (0,1 ml) foram diluídas para 25 ml num balão volumétrico antes da análise de HPLC e as concentrações (mg/ml) foram convertidas em concentrações molares (mmol/ml). O log natural das concentrações de amina dividido pelas concentrações de composto foi representado vs. tempo. O declive da linha obtida a partir de cada representação foi dividido pela diferença entre a concentração inicial de amina e as concentrações iniciais de composto para se obterem as constantes de velocidade de segunda ordem (unidades de  $L\ M^{-1}\ Hr^{-1}$ ). Os derivados de metilamino e de benzilamino foram preparados directamente a partir do intermediário de brometo reivindicado num rendimento elevado. O intermediário mesilato falhou na produção directa de derivado de metilamino e benzilamino num rendimento elevado.

Conforme anteriormente referido, os compostos da presente invenção são adicionalmente activos como inibidores selectivos da Proteína Quinase C. A actividade dos compostos foi determinada pelos seguintes ensaios: Calcium Calmodulin Dependent Protein Kinase, Casein Protein Kinase II, cAMP-Dependent Protein Kinase Catalytic Subunit e Protein-Tyrosine Kinase, descritos em Heath *et al.*, EP 0 657 458, publicada a 14 de Junho, 1995, aqui

incorporada por referência. Os compostos reivindicados são activos e selectivos à isozima nestes ensaios tendo um valor de  $IC_{50}$  inferior a  $10 \mu M$ .

Compostos com esta actividade farmacológica demonstrada são úteis no tratamento de condições nas quais a proteína quinase C tem demonstrado um papel na patologia. Condições reconhecidas na técnica incluem: diabetes mellitus e suas complicações (particularmente complicações diabéticas microvasculares, retinopatia, nefropatia e neuropatia), isquemia, inflamação, desordens do sistema nervoso central, doença cardiovascular, doença de Alzheimer, doença dermatológica e cancro.

Os compostos de Fórmula II são preferencialmente formulados antes da administração. Assim, ainda outra concretização da presente invenção é uma formulação farmacêutica compreendendo um composto de Fórmula II e um ou mais veículos, diluentes ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

As presentes formulações farmacêuticas são preparadas por procedimentos conhecidos utilizando-se ingredientes bem conhecidos e facilmente disponíveis. Na síntese das composições da presente invenção, o ingrediente activo será usualmente misturado com um veículo, ou diluído por um veículo, ou colocado dentro de um veículo que pode estar na forma de uma cápsula, saché, papel ou outro recipiente. Quando o veículo serve como um diluente, ele pode ser um material sólido, semi-sólido ou líquido que actua como um veículo, excipiente ou meio para o ingrediente activo. Assim, as composições podem estar na forma de comprimidos, pílulas, pós, rebuçados, saquinhos, hóstias, elixires, suspensões, emulsões, soluções, xaropes, aerossol (como um sólido ou num meio líquido), cápsulas de gelatina macias e rijas, supositórios, soluções injectáveis assépticas e pós embalados assépticos.

Alguns exemplos de veículos, excipientes e diluentes apropriados incluem lactose, dextrose, sacarose, sorbitol, manitol, amidos, goma acácia, fosfato de cálcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de cálcio, celulose microcristalina, polivinilpirrolidona, celulose, água, xarope, metil celulose, metil e propilhidroxibenzoatos, talco, estearato de magnésio e óleo mineral. As formulações podem adicionalmente incluir agentes lubrificantes, agentes humificadores, agentes emulsionadores e de suspensão, agentes conservantes, agentes adoçantes ou agentes aromatizantes. As composições da invenção podem ser formuladas de forma a proporcionarem libertação rápida, sustida ou retardada do ingrediente activo após administração no paciente.

Uma quantidade farmaceuticamente eficaz do composto representa uma quantidade capaz de inibir a actividade da PKC em mamíferos. Uma dose diária típica conterá desde cerca de 0,01 mg/kg até cerca de 20 mg/kg de composto activo. Doses preferidas serão cerca de 0,01 até cerca de 10 mg/kg. As composições são preferencialmente formuladas numa forma de dosagem unitária, cada dosagem contendo desde cerca de 1 até cerca de 500 mg, mais usualmente cerca de 5 até cerca de 300 mg, do ingrediente activo. Contudo, será compreendido que a dosagem terapêutica administrada será determinada pelo médico à luz das circunstâncias relevantes incluindo a condição a ser tratada, a escolha do composto a ser administrado e a via de administração escolhida, e por isso não se pretende que as gamas de dosagem anteriores limitem, em qualquer caso, o âmbito da invenção. O termo "forma de dosagem unitária" refere-se a unidades fisicamente discretas apropriadas como dosagens unitárias para sujeitos humanos e outros mamíferos, contendo cada unidade uma quantidade pré-determinada de material activo calculada para produzir o efeito terapêutico desejado, em associação com um veículo farmaceuticamente apropriado.

Os seguintes exemplos de formulação são apenas ilustrativos e não



se pretende que limitem de forma alguma o âmbito da invenção.

Formulação 1

Cápsulas de gelatina ríjas são preparadas utilizando-se os seguintes ingredientes:

	<b>Quantidade</b> <b>(mg/cápsula)</b>
Agente activo	5
amido, seco	185
estearato de magnésio	<u>10</u>
Total	200 mg

Os ingredientes anteriores são misturados e colocados dentro de cápsulas de gelatina ríjas em quantidades de 200 mg.

Formulação 2

Um comprimido é preparado utilizando-se os ingredientes abaixo:

	<b>Quantidade</b> <b>(mg/cápsula)</b>
Agente activo	20
celulose, microcristalina	400
dióxido de silício, micronizado	10
ácido esteárico	<u>5</u>
Total	435mg



Os componentes são combinados e comprimidos para formarem comprimidos cada um pesando 435 mg.

### Formulação 3

Comprimidos, cada um contendo 10 mg de ingrediente activo, são feitos da seguinte forma:

	<b>Quantidade</b> <b>(mg/cápsula)</b>
Agente activo	10 mg
amido	45 mg
celulose microcristalina	35 mg
polivinilpirrolidona (como solução a 10% em água)	4 mg
carboximetilamido sódico	4,5 mg
estearato de magnésio	0,5 mg
talco	1 mg
Total	100 mg

O ingrediente activo, o amido e a celulose são passados através de um peneiro de malha U.S. No. 45 e são minuciosamente misturados. A solução de polivinilpirrolidona é misturada com os pós resultantes que são então passados através de um peneiro de malha U.S. No. 14. Os grânulos assim produzidos são secos a 50°C e passados através de um peneiro de malha U.S. No. 18. O carboximetilamido sódico, o estearato de magnésio e o talco, previamente passados através de um peneiro de malha U.S. No. 60, são em seguida adicionados aos grânulos que, após mistura, são comprimidos numa máquina de pastilhação para originarem comprimidos cada um pesando 100 mg.

Formulação 4

Cápsulas, cada uma contendo 40 mg de medicamento, são feitas da seguinte forma:

	<b>Quantidade</b> <b>(mg/cápsula)</b>
Agente activo	40 mg
amido	59 mg
celulose microcristalina	59 mg
estearato de magnésio	<u>2 mg</u>
Total	200mg

O ingrediente activo, a celulose, o amido e o estearato de magnésio são misturados, passados através de um peneiro de malha U.S. No. 45, e colocados dentro de cápsulas de gelatina rijas em quantidades de 200 mg.

Os princípios, concretizações e modos de operação preferidos da presente invenção têm sido descritos na especificação anterior. A invenção que se pretende aqui proteger, todavia, não é para ser analisada como estando limitada às formas particulares reveladas, uma vez que elas devem ser consideradas como ilustrativas em vez de restritivas. Podem ser feitas variações e alterações por aqueles que são especialistas na técnica sem se afastarem do espírito da invenção.

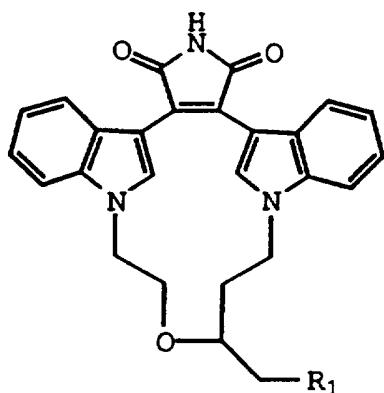
Lisboa, 2 de Junho de 2000



JORGE CRUZ  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VÍCTOR CORDON, 14  
1200 LISBOA

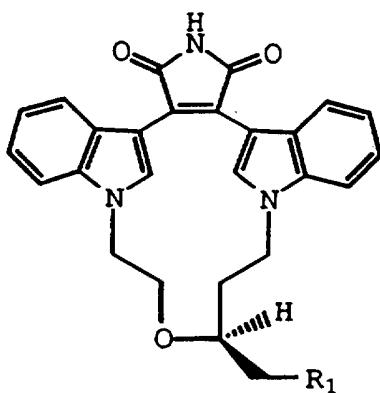
REIVINDICAÇÕES

1. Um composto com a Fórmula:



em que  $R_1$  é Br, I, ou O-tosilo.

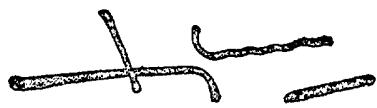
2. Um composto da Reivindicação 1 com a Fórmula:



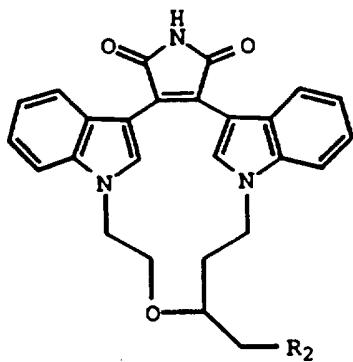
3. Um composto da Reivindicação 1 ou 2, em que  $R_1$  é Br ou I.

4. Uma formulação farmacêutica compreendendo um composto de qualquer das Reivindicações de 1 a 3, e um ou mais veículos, diluentes ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

5. Um processo para se preparar uma bisindolilmaleimida com



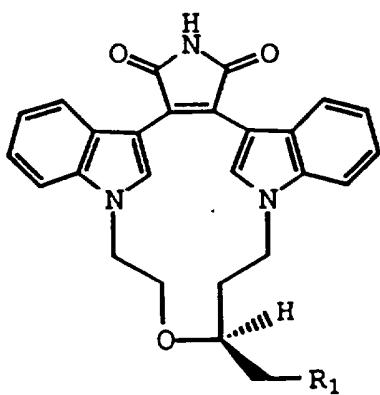
pontes N,N' amino substituída com a Fórmula:



em que  $R_2$  é  $-N(CF_3)(CH_3)$ ,  $-NH(CF_3)$  ou  $-NR_3R_4$  onde  $R_3$  e  $R_4$  são independentemente hidrogénio, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, fenilo, benzilo ou então combinam-se com o azoto ao qual eles estão ligados para formarem um anel de 5 ou 6 membros saturado ou insaturado;

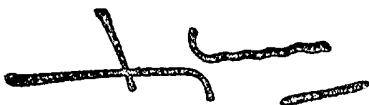
que compreende a reacção de um composto de qualquer das Reivindicações de 1 a 3, com uma amina num solvente não reactivo, polar.

6. Um processo da Reivindicação 5, em que o composto é

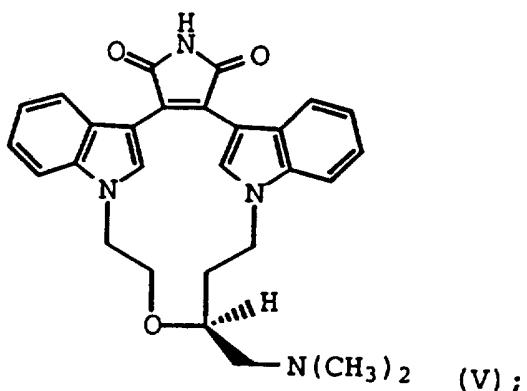


e  $R_1$  é Br ou I.

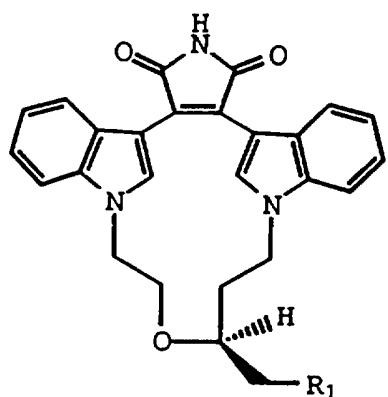
7. Um processo da Reivindicação 6, em que a amina é HN(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ou H<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>).



8. Um processo de preparação de uma bisindolilmaleimida com pontes N,N' com a Fórmula (V):

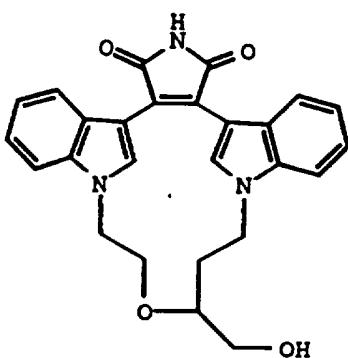


que compreende a reacção de um composto de fórmula:



em que  $R_1$  é Br ou I; com  $HN(CH_3)_2$  num solvente não reactivo, polar.

9. O processo de preparação de um composto de qualquer uma das Reivindicações de 1 a 3, que compreende a conversão de um composto com a Fórmula:



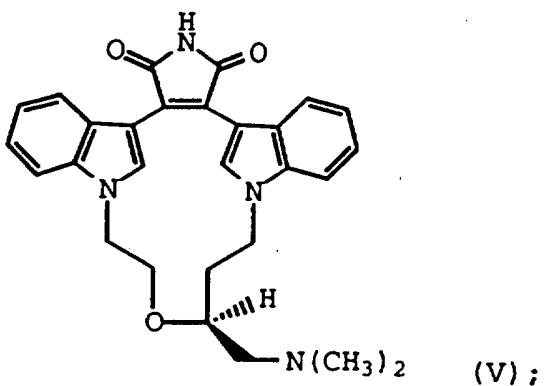


num composto de qualquer uma das Reivindicações de 1 a 3.

10. O processo da Reivindicação 9, em que o processo é levado a cabo na presença de  $\text{PX}_3$ ,  $(\text{fenil})_3\text{PX}_2$  ou  $(\text{fenoxy})_3\text{PX}_2$  onde X é bromo ou iodo.

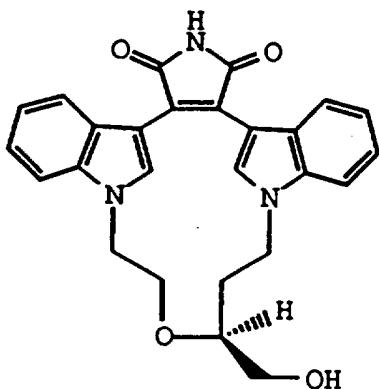
11. O processo da Reivindicação 10, em que o processo é levado a cabo na presença de  $(\text{fenoxy})_3\text{PBr}_2$ .

12. O processo de preparação de um composto com a Fórmula (V):

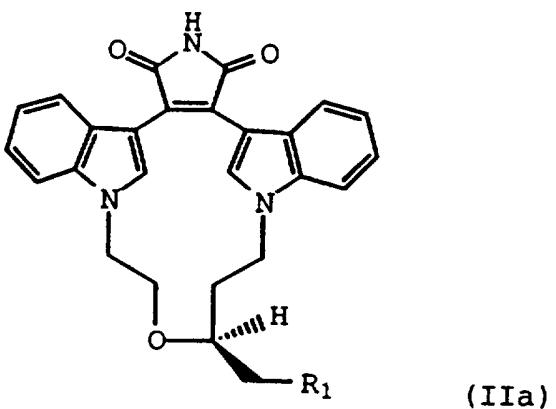


que compreende:

a) A reacção de um composto com a Fórmula (IIIa):



com  $\text{PX}_3$ ,  $(\text{fenil})_3\text{PX}_2$  ou  $(\text{fenoxi})_3\text{PX}_2$  onde X é bromo ou iodo; para se formar um composto com a Fórmula (IIa):



em que  $R_1$  é Br ou I; e

(b) A reacção de um composto de fórmula (IIa) com  $\text{HN}(\text{CH}_3)_2$  num solvente não reactivo, polar.

13. O processo da Reivindicação 12, em que  $R_1$  é Br.

14. O processo da Reivindicação 13, que comprehende adicionalmente a reacção do composto de Fórmula (V) com  $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$ .

Lisboa, 2 de Junho de 2000

JORGE CRUZ  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VICTOR CORDON, 14  
1200 LISBOA