

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 100.199

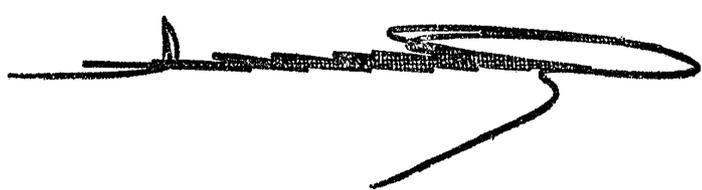
REQUERENTE: THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, britânica,
industrial e comercial, com sede em Unicorn
House, 160 Euston Road, London NW1 2BP,
Inglaterra

EPÍGRAFE: "COMBINAÇÃO ANTIVIRAL DE NUCLEÓSIDOS E PROCESSO
PARA A SUA PREPARAÇÃO"

INVENTORES: George Robert Painter III e Phillip Allen
Furman

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

Grã-Bretanha em 6 de Março de 1991, sob o n.º. 9 104 740.7.



Descrição referente à patente de invenção de THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, britânica, industrial e comercial, com sede em Unicorn House, 160 Euston Road, London NW1 2BP, Inglaterra, (inventores: George Robert Painter III e Phillip Allen Furman, residentes nos Estados Unidos da America), para, "COMBINAÇÃO ANTIVIRAL DE NUCLEÓSIDOS E PROCESSO PARA A SUA PREPARAÇÃO"

DESCRIÇÃO

A presente invenção refere-se a combinações antivirais sinérgicas de derivados de nucleósidos, às formulações farmacêuticas contendo as referidas combinações e à sua utilização na terapia médica, particularmente no tratamento de infecções por vírus, especialmente infecções causadas por retrovírus.

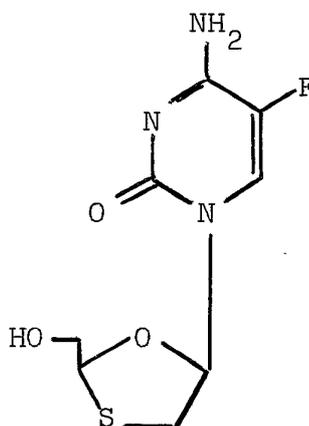
O síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) é uma doença imunossupressiva ou imunodestrutiva que predispõe os pacientes a infecções ocasionais fatais. Tipicamente a SIDA está associada a uma perda progressiva de células T, especialmente o subconjunto auxiliar-indutor que transporta o marcador de superfície OKT⁴.

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi isolado de forma reproductível a partir de pacientes com SIDA ou com os sintomas que frequentemente precedem a SIDA. O HIV é citopático e parece infectar e destruir preferencialmente as células T que transportam o marcador OKT⁴. É agora reconhecido genericamente que o HIV é o agente etiológico da SIDA.

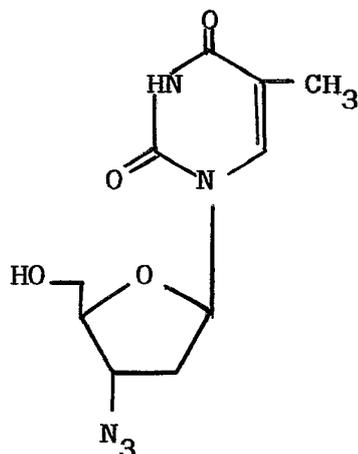
Desde a descoberta de que o HIV é o agente etiológico da SIDA, têm feitas numerosas propostas para agentes quimioterapêuticos anti-HIV que possam ser eficazes no tratamento dos doentes de SIDA. Assim por exemplo, a Especificação de Patente Europeia 0 382 526 descreve 1,3-oxatiolanos substituídos anti-HIV. A Especificação da Patente Americana 4 724 232 e a Especificação Europeia 0 196 185 descrevem a 3'-azido-3'-desoxitimidina (que tem o nome aprovado zidovudina) e a sua utilização no tratamento da SIDA.

Descobrimos agora que a 1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluor-citosina, em combinação com a 3'-azido-3'-desoxitimidina (Zidovudina), resulta numa potenciação surpreendentemente grande da actividade anti-HIV dos compostos. A utilização de 1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluorcitosina em conjunção com a zidovudina produz um aumento sinérgico de actividade anti-HIV, em comparação com as actividades anti-HIV dos compostos tomados individualmente.

De acordo com a primeira característica da presente invenção revela-se uma combinação de (a) 1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluorcitosina de fórmula (I):



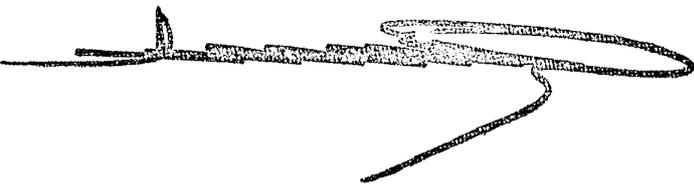
ou de um seu derivado fisiologicamente funcional, e (b) 3'-azido-3'-desoxitimidina (ZIDOVUDINA) de fórmula (II):



ou de um seu derivado fisiologicamente funcional, sendo os componentes (a) e (b) da combinação empregues em conjunto de modo que seja obtido um efeito antiviral sinérgico. O termo "efeito antiviral sinérgico" é aqui utilizado para identificar um efeito antiviral que é superior ao efeito puramente aditivo previsível dos componentes individuais (a) e (b) da combinação.

Note-se que o composto de fórmula (I) contém dois centros quirálicos e por conseguinte existe na forma de dois pares de isómeros ópticos (isto é, enantiómeros) e as suas misturas, incluindo as misturas racémicas. Assim, o composto de fórmula (I) pode ser ou um isómero cis ou um isómero trans, ou uma mistura dos mesmos. Cada isómero cis e trans pode existir como um de dois enantiómeros, ou a sua mistura, incluindo misturas racémicas. Todos estes isómeros e as suas misturas, incluindo as misturas racémicas estão dentro do âmbito da invenção, que também inclui as formas tautoméricas dos compostos de fórmula (I) e (II). São preferidos os isómeros cis do composto de fórmula (I).

Por "derivado fisiologicamente funcional" entende-se um sal, éster ou sal de um éster farmacologicamente aceitáveis, dos compostos de fórmulas (I) e (II), uma amida farmaceuticamente aceitável do composto de fórmula (I) ou qualquer



outro composto que por administração ao paciente seja capaz de fornecer (directa ou indirectamente) o referido composto de fórmula (I) ou um metabolito activo ou resíduo do mesmo.

Os ésteres preferidos de acordo com a invenção incluem ésteres de ácidos carboxílicos nos quais a parte não carbonilo do grupo éster é escolhida de radicais alquilo de cadeia linear ou ramificada, por exemplo n-propilo, t-butilo, n-butilo, alcoxialquilo (por exemplo metoximetilo), arilalquilo (por exemplo benzilo), ariloxialquilo (por exemplo fenoximetilo) e arilo (por exemplo fenilo); ésteres sulfonatos tais como de alquil ou arilalquilsulfonilo (por exemplo metanossulfonilo); ésteres de aminoácidos (por exemplo L-valilo ou L-isoleucilo); ésteres de ácidos dicarboxílicos (por exemplo hemi-succinato); e ésteres mono, di ou trifosfato. Os ésteres fosfatos podem ser posteriormente esterificados por exemplo por um álcool com um a 20 átomos de carbono ou um seu derivado reactivo, ou por um 2,3-diacil-glicerol com 6 a 24 átomos de carbono na parte acilo.

Qualquer fracção alquilo presente nestes ésteres contém vantajosamente 1 a 18 átomos de carbono, particularmente 1 a 4 átomos de carbono. Qualquer fracção arilo presente nestes ésteres compreende vantajosamente um grupo fenilo eventualmente substituído, por exemplo por halogéneo, alquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi com 1 a 4 átomos de carbono ou nitro.

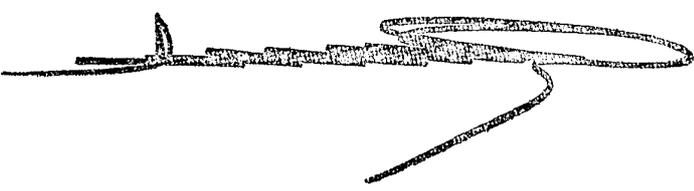
As amidas farmacêuticamente aceitáveis do composto de fórmula (I) mencionadas acima incluem os derivados nos quais o grupo amino da citosina está presente na forma de uma amida, por exemplo -NHCOR em que R representa um grupo alquilo com 1 a 6 átomos de carbono ou arilo (por exemplo fenilo eventualmente substituído por halogéneo, alquilo com 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi com 1 a 4 átomos de carbono, nitro ou hidroxilo).



Os exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis de acordo com a presente invenção incluem sais básicos, por exemplo derivados de uma base apropriada, tal como sais de metais alcalinos (por exemplo sódio), de metais alcalinoterrosos (por exemplo magnésio), de amônio e de NX_4^+ (em que X representa alquilo com 1 a 4 átomos de carbono). Os sais de adição de ácido farmacologicamente aceitáveis incluem sais de ácidos carboxílicos orgânicos, tais como os ácidos acético, láctico, tartárico, málico, isetiônico, lactobiónico e succínico; de ácidos sulfônicos tais como os ácidos metanossulfônico, etanossulfônico, benzenossulfônico e p-toluenossulfônico, e de ácidos inorgânicos tais como ácidos clorídrico, sulfúrico, fosfórico e sulfâmico.

Os exemplos de infecções virais e estados clínicos associados que podem ser tratados ou prevenidos de acordo com a invenção, incluem infecções retrovirais humanas, tais como pelos vírus de imunodeficiência humana (HIV), por exemplo HIV-1 ou HIV-2, e por vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV), por exemplo por HTLV-I ou HTLV-II. As combinações da presente invenção são particularmente úteis para o tratamento de SIDA e estados clínicos relacionados, tais como o complexo relacionado com SIDA (ARC), linfadenopatia generalizada progressiva (PGL), estados neurológicos associados com SIDA, tais como esclerose múltipla ou paraparesis tropical, estados de anticorpo positivo anti-HIV e HIV-positivo, tais como trombocitopénica púrpura. As combinações da presente invenção também podem ser utilizadas no tratamento de psoríase. As combinações da presente invenção provaram ser particularmente aplicáveis ao tratamento de infecções assintomáticas ou doenças causadas por retrovírus humanos, ou associadas a estes.

De acordo com a segunda característica da invenção revelam-se combinações como foram descritas acima, para utilização em terapia médica, particularmente para o tratamento ou a profilaxia de qualquer das infecções virais ou estados mencionados anteriormente, especialmente infecções por HIV, incluindo a SIDA.



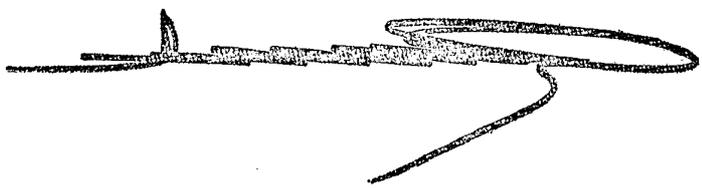
A presente invenção inclui adicionalmente um processo para a preparação das combinações anteriormente descritas, o qual compreende associarem-se os componentes (a) e (b) da combinação num medicamento de modo a proporcionar um efeito antiviral sinérgico.

Num outro aspecto da presente invenção revela-se a utilização de uma combinação de acordo com a presente invenção na manufactura de um medicamento para o tratamento de qualquer das infecções virais ou estados anteriormente descritos.

A presente invenção revela adicionalmente um método para o tratamento ou a profilaxia de infecções virais (especialmente infecções por HIV) num mamífero (incluindo o homem), o qual compreende a administração ao referido mamífero de uma quantidade eficaz de uma combinação tal como foi descrita anteriormente. Nota-se que de acordo com a presente invenção os componentes (a) e (b) da combinação podem ser administrados simultaneamente ou em sequência. Neste último caso, todavia, os componentes são administrados dentro de um intervalo de tempo suficientemente curto para assegurar que seja obtido um efeito antiviral sinérgico.

A presente invenção também revela um método de potenciação num mamífero (incluindo o homem) tendo uma infecção viral, das actividades antivirais dos componentes (a) e (b) da combinação, o qual compreende a administração ao referido mamífero de uma quantidade sinérgicamente eficaz do componente (a) simultaneamente, imediatamente antes ou imediatamente depois relativamente à administração do componente (b).

Uma vantagem da combinação da presente invenção é o facto de ela possibilitar atingir-se uma eficácia antiviral ampliada para uma dose particular de um dos componentes antivirais (comparado com o componente usado isoladamente), aumentando assim o índice terapéutico do componente. Assim, por exemplo, a combinação pode ser usada para tratar estados que de



outro modo requeririam doses relativamente maiores do componente antiviral, às quais podem ocorrer problemas de toxicidade. As doses menores da combinação podem proporcionar uma maior conveniência para o paciente e uma tolerância acrescida.

As combinações da presente invenção podem ser administradas a um mamífero de uma forma convencional. Tal como se indicou acima, os componentes (a) e (b) podem ser administrados simultaneamente (por exemplo numa formulação farmacéutica unitária) ou separadamente (por exemplo em formulações farmacéuticas separadas). Em geral as combinações podem ser administradas por via tópica, oral, rectal ou parentérica (por exemplo, intravenosa, subcutânea ou intramuscular). É de notar que a via pode variar por exemplo com a gravidade do estado a tratar e a identidade do paciente.

Note-se que embora haja geralmente uma relação óptima dos componentes para assegurar a máxima potenciação, mesmo uma quantidade visivelmente menor de um componente será suficiente para potenciar de alguma medida o efeito do outro, e assim qualquer relação dos dois componentes potenciadores possuirá ainda o efeito sinérgico requerido. Todavia, o sinérgismo máximo é geralmente observado quando os dois componentes estão presentes de acordo com relações particulares.

Assim, as relações molares óptimas de zidovudina para 1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluorocitosina, ou os seus respectivos derivados fisiologicamente funcionais, para utilização de acordo com a presente invenção, estão compreendidas desde 1:1 até 1:600, de preferência de 1:10 até 1:250 e muito preferivelmente 1:25.

Adiante os componentes da combinação podem ser designados por "ingredientes activos".

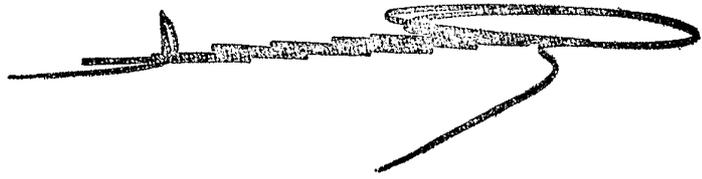
A dose da combinação dependerá do estado do paciente tratado e de outros factores clínicos, tais como o peso e o estado do paciente e a via de administração dos componentes das combinações. Os exemplos de intervalos de doses e de



relações de componentes são os seguintes:

em geral uma dose conveniente da combinação da presente invenção, com base no peso total dos componentes (a) e (b), situa-se num intervalo de 3 a 120 mg por Kg de peso corporal do paciente e por dia, de preferência no intervalo de 6 a 90 mg por Kg de peso corporal e por dia, e muito preferivelmente no intervalo de 15 a 60 mg por Kg de peso corporal e por dia. A dose desejável é de preferência apresentada como 2, 3, 4, 5, 6 ou mais subdoses administradas a intervalos apropriados ao longo do dia. Estas subdoses podem ser administradas na forma de unidades de dosagem, por exemplo contendo 10 a 1500 mg, de preferência 20 a 1000 mg e muito preferivelmente 50 a 700 mg dos ingredientes activos por forma de unidade de dosagem.

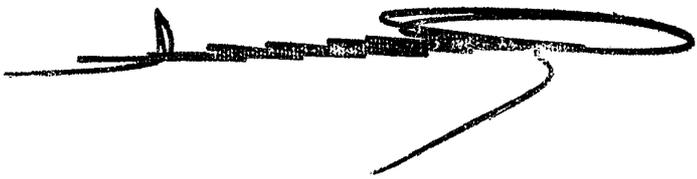
Embora seja possível que os ingredientes activos sejam administrados isoladamente, é preferível que os mesmos se apresentem na forma de formulações farmacêuticas. As formulações farmacêuticas da presente invenção compreendem uma combinação de acordo com a invenção em conjunto com uma ou mais substâncias veiculares ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis, e eventualmente outros agentes terapêuticos. Quando os componentes individuais da combinação são administrados separadamente, são geralmente apresentados, cada um, na forma de uma formulação farmacêutica. As referências adiante a formulações, excepto quando indicado o contrário, referem-se a formulações contendo quer a combinação quer um dos seus componentes. As formulações incluem formas apropriadas para administração oral, rectal, nasal, tópica (incluindo transcutânea, bucal e sub-lingual), vaginal ou parentérica (incluindo subcutânea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). As formulações podem apresentar-se convenientemente numa forma de unidade de dosagem e podem ser preparadas por qualquer método bem conhecido na técnica farmacêutica. Estes métodos incluem um passo de se associarem os ingredientes activos e a substância veicular que contém um ou mais ingredientes acessórios.



Em geral as formulações são preparadas associando íntima e uniformemente os ingredientes activos com substâncias veiculares líquidas ou substâncias veiculares sólidas finamente divididas, ou ambas, e depois se necessário conformando o produto.

As formulações da presente invenção apropriadas para administração oral podem apresentar-se na forma de unidades discretas, tais como cápsulas, pastilhas ou comprimidos, contendo cada um uma quantidade pré-determinada do ingrediente activo; ou na forma de um pó ou granulado; ou na forma de uma solução ou suspensão num líquido aquoso ou não aquoso; ou na forma de uma emulsão líquida óleo em água, ou emulsão líquida água em óleo. O ingrediente activo pode também apresentar-se como uma pílula grande, electuário ou pasta.

Um comprimido pode ser preparado por compressão ou moldagem, eventualmente com um ou mais ingredientes acessórios. Os comprimidos obtidos por compressão podem ser preparados comprimindo numa máquina apropriada os ingredientes activos numa forma solta, tal como um pó ou grânulos, eventualmente misturado com um aglutinante (por exemplo povidona, gelatina hidroxipropilmetil-celulose), lubrificante, diluente inerte, conservante, desintegrante (por exemplo glicolato de amido de sódio, povidona reticulada, carboximetilcelulose de sódio reticulada), um agente tensioactivo ou um dispersante. Os comprimidos moldados podem ser produzidos moldando numa máquina apropriada uma mistura do composto em pó humedecido com uma substância veicular líquida inerte. Os comprimidos podem eventualmente ser revestidos, ou dotados de um entalhe ou podem ser formulados de modo a proporcionarem uma libertação lenta ou controlada dos ingredientes activos contidos, utilizando por exemplo hidroxipropilmetil-celulose em proporções variáveis de modo a proporcionar o perfil de libertação pretendido. Os comprimidos podem eventualmente ser dotados de um revestimento entérico, para proporcionar a libertação numa parte do intestino e não no estômago.

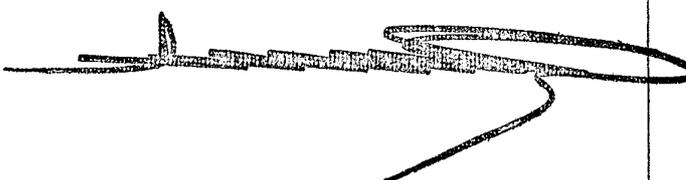


As formulações apropriadas para administração tópica na boca incluem pastilhas compreendendo o ingrediente activo numa base aromatizada, geralmente sacarose e goma de acácia ou tragacanto; pastilhas compreendendo o ingrediente activo numa base inerte, tal como gelatina e glicerina, ou sacarose e acácia; e solutos para lavagem bucal compreendendo o ingrediente activo numa substância veicular líquida apropriada. As formulações para administração rectal podem apresentar-se na forma de um supositório com uma base apropriada compreendendo por exemplo manteiga de cacau ou um salicilato.

A administração tópica também pode ter lugar por meio de um dispositivo iontoforético transcutâneo.

As formulações apropriadas para administração vaginal podem apresentar-se na forma de pessários, tampões, cremes, geles pastosos, espumas ou formulações em "spray" contendo, adicionalmente ao ingrediente activo, substâncias veiculares já conhecidas na técnica como apropriadas.

As formulações apropriadas para administração parentérica incluem soluções para injeção, esterilizadas, isotónicas, tanto aquosas como não aquosas, que podem conter antioxidantes, tampões, agentes bacteriostatos e solutos que tornam a formulação isotónica ao sangue do paciente em vista; e suspensões esterilizadas tanto aquosas como não aquosas, que podem incluir agentes de suspensão e agentes espessantes; e liposomas ou outros sistemas microgranulares, que são destinados a compatibilizar os compostos com os componentes sanguíneos de um ou mais órgãos. As formulações podem apresentar-se na forma de uma unidade de dosagem ou em recipientes fechados de múltiplas doses, por exemplo ampolas e frascos, e podem ser armazenados na forma liofilizada, requerendo apenas a adição de uma substância veicular líquida esterilizada, por exemplo água para injeções imediatamente antes da utilização. As soluções e suspensões para injeção extemporânea podem ser preparadas a partir de pós, grânulos e comprimidos esterilizados do tipo descrita anteriormente.



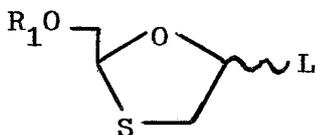
As formulações em unidade de dosagem preferidas são as que contêm uma dose diária ou uma subdose diária, tal como já foi indicada anteriormente, ou uma fracção apropriada da referida dose, de um ingrediente activo.

Note-se que adicionalmente aos ingredientes mencionados particularmente acima, as formulações da presente invenção podem incluir outros agentes convencionais na técnica, tendo em vista o tipo de formulação em causa, por exemplo as apropriadas para administração oral podem incluir ainda outros agentes tais como edulcorantes, espessantes e aromatizantes.

Os compostos da combinação de acordo com a presente invenção podem ser preparados de forma convencional. A zidovudina pode ser preparada, por exemplo, como é descrito na Patente Americana 4 724 232, aqui incorporada para referência. A zidovudina também pode ser obtida comercialmente da Chemical Co., milwaukee, WI 53 233, Estados Unidos.

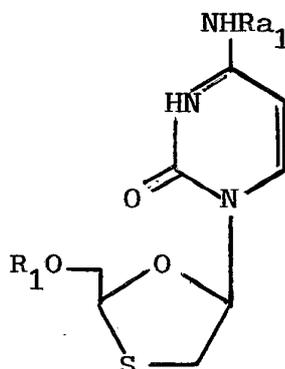
A 1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluor-citosina pode ser preparada, por exemplo, do seguinte modo:

- a) fazendo reagir um composto de 5-fluor-citosina eventualmente bloqueado com uma 1,3-oxatiolano de fórmula (IIIA)



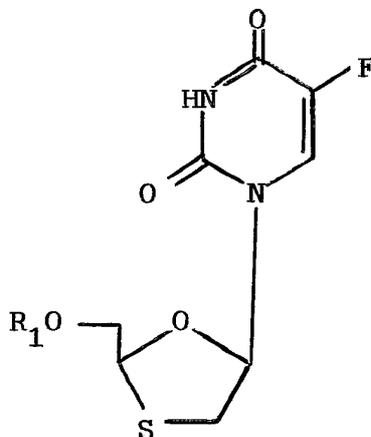
na qual R_1 representa hidrogénio ou um grupo de bloqueio de hidroxí e L representa um grupo dissociável; ou

- b) fazendo reagir um composto de fórmula (IIIB)



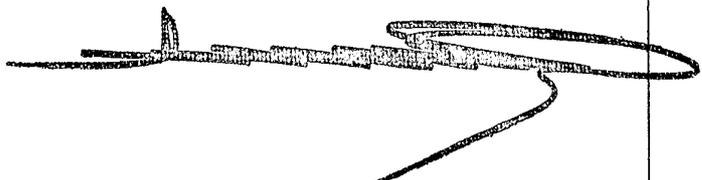
(na qual R_1 é definido como anteriormente e R_1^a é um grupo de bloqueio de amino) com um agente de fluoração que serve para introduzir um átomo de fluor na posição 5 do anel citosina; ou

c) fazendo reagir um composto de fórmula (IIIC):



(na qual R_1 é definido como anteriormente) com um agente que serve para converter o grupo oxo na posição 4 do anel uracilo num grupo amino; e sendo os restantes grupos de bloqueio removidos, de modo a produzir-se o produto pretendido.

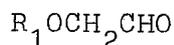
Relativamente ao processo a) o grupo de bloqueio de hidroxí inclui grupos de bloqueio tais como acilo (por exemplo acetilo), arilacilo (por exemplo, benzoilo ou benzoilo



substituído) tritilo ou monometoxitritilo, benzilo ou benzilo substituído, trialquilsililo (por exemplo dimetil-t-butil-sililo) ou difenilmetilsililo. O composto de 5-fluor-citosina pode estar eventualmente bloqueado por grupos sililo, por exemplo trimetil-sililo. Estes grupos podem ser removidos de forma convencional. O grupo dissociável L é um grupo dissociável típico dos que são conhecidos na técnica da química dos nucleósidos, por exemplo halogéneos, tais como cloro ou bromo, alcoxi tais como metoxi ou etoxi, ou acilo, tais como acetilo ou benzoilo.

A reacção no processo a) pode ser realizada num dissolvente orgânico (por exemplo 1,2-dicloroetano ou acetone nitrilo) na presença de um ácido de Lewis, tal como cloreto estânico ou triflato de trimetilsililo.

Os compostos de fórmula IIIA podem ser obtidos a partir de um 2-hidroxiacetaldeído convenientemente protegido, de fórmula IV



na qual R_1 é definido como anteriormente, tal como é descrito em Can. J. Research, 8, 129 (1933) e a Especificação de patente Europeia O 382 526. A reacção de compostos de fórmula IV com um mercaptoacetal de fórmula $HSCH_2CH(OR)_2$, na qual R representa alcoxi com 1 a 4 átomos de carbono, tal como $HSCH_2CH(OC_2H_5)_2$, conhecido na técnica (Chem. Ber. 85:924-932, (1952)) conduz a compostos de fórmulas IIIA em que L representa OR (alcoxi) por exemplo metoxi ou etoxi.

Como alternativa os compostos de fórmula IIIA na qual L representa alcoxi, podem ser convertidos em compostos de fórmula IIIA na qual L representa halogéneo ou acilo, por métodos conhecidos na técnica da química dos carboidratos.

Os compostos de fórmula IV podem ser preparados a partir de 1,2-O-isopropilideno-glicerol por introdução de R_1 (por exemplo sililo trissubstituído, benzilo ou tritilo)

e remoção do grupo isopropilideno com um ácido fraco (por exemplo ácido fórmico ou ácido acético aquosos) ou brometo de zinco em acetonitrilo, seguido por oxidação do grupo álcool com perio datos aquosos.

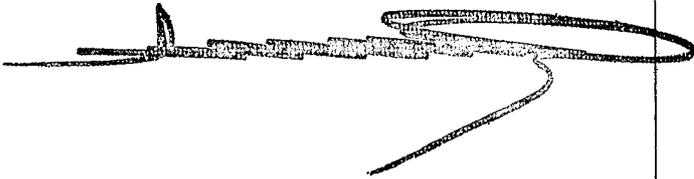
No que se refere ao processo b), o substituinte 5-fluor pode ser introduzido por métodos conhecidos na técnica (M.J. Robins, et al., in Nucleic Acid Chemistry. Parte 2, L.B. Townsend and R.S. Tipson, editores, J. Wiley and sons, New York, 895-900 (1978) e referências ali contidas; R. Duschin sky in Nucleic Acid Chemistry, Parte 1, L.B. Townsend and R.S. Tipson, editores, J. Wiley and Sons, New York, 43-46, (1978) e referências ali contidas). O agente de fluoração pode ser por exemplo hipofluorito de trimetilo em fluor-triclorometano.

No que se refere ao processo c) o composto de fórmula (IIIC) é preferivelmente tratado com 1,2,4-triazol, preferivelmente em conjunto com diclorofosfato de 4-clorofenilo para formar o correspondente composto de 4-(1,2,4-triazolilo) que é depois convertido no composto desejado de 4-amino (citidi na) por reação por exemplo com metanol.

Os produtos de partida de fórmulas IIIB e IIIC podem ser preparados por exemplo por reação de uma base apropriada (eventualmente bloqueada) com um composto de fórmula IIIA de forma análoga à descrita no processo a). Os compostos 5-fluoracilo e 5-fluorcitosina são obtidos comercialmente de Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI 53233, USA.

A separação dos isómeros (+)-cis e (+)-trans de fórmula (I), por exemplo numa forma bloqueada, pode ser realizada por cromatografia através de sílica-gel com mistu ras de dissolventes orgânicos tais como acetato de etilo/metanol, acetato de etilo/hexano ou diclorometano/metanol. Qualquer grupo de bloqueio pode ser depois removido utilizando o reagente apropriado para cada grupo.

Os ésteres dos compostos componentes de fórmulas I e II podem ser preparados de forma convencional por re-



acção com um agente de esterificação apropriado, tal como um halogeneto de acilo ou anidrido. Os compostos de fórmulas I e II ou os seus ésteres podem ser convertidos nos sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos por tratamento com uma base apropriada. Um éster ou sal do composto componente pode ser convertido num composto de origem por hidrólise.

As amidas farmacêuticamente aceitáveis do composto de fórmula (I) podem ser preparadas por exemplo por reacção com um agente de acilação apropriado, por exemplo, um halogeneto de acilo ou um anidrido que serve para acilar os grupos (5'-OH e 4-NH₂). O grupo acilo pode depois ser removido selectivamente de um ou do outro dos grupos 5'-OH e 4-NH₂. Por exemplo, o tratamento do composto diacilado em condições ácidas por exemplo com um ácido de Lewis, tal como o brometo de zinco em metanol, remove o grupo 4N-acilo conduzindo ao correspondente éster em 5'-OH, enquanto que o tratamento do composto diacilado em condições alcalinas, por exemplo com metóxido de sódio, remove o grupo acilo de 5'-OH, conduzindo à correspondente 4N-amida. Os grupos acilo também podem ser removidos selectivamente por tratamento com enzimas de esterase ou lipase existentes comercialmente, por exemplo esterase de fígado de porco ou lipase pancreática, ou por tratamento de acordo com métodos descritos na Memória da Patente Americana nº 5 071 983. O composto de fórmula (I) pode ser convertido num seu sal farmacêuticamente aceitável de forma convencional, por exemplo por tratamento com uma base apropriada.

Os exemplos adiante são destinados apenas a fins ilustrativos e não podem ser tomados como limitando o âmbito da patente invenção por qualquer forma. "Ingrediente activo" refere-se a uma mistura dos componentes zidovudina e cis-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluor-citosina na relação molar de 1:25.

Exemplo 1

Formulações de comprimidos

As formulações A, B e C adiante são preparadas por granulação por via húmida dos ingredientes com uma povidona, seguida por adição de estearato de magnésio e compressão.

Formulação A

| | <u>mg/comprimido</u> |
|-----------------------------|----------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| lactose B.P. | 210 |
| povidona B.P. | 15 |
| glicolato de amido de sódio | 20 |
| estearato de magnésio | 5 |
| | <hr/> |
| | 500 |

Formulação B

| | <u>mg/comprimido</u> |
|-----------------------------|----------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| lactose | 150 |
| Avicel PH 101 | 60 |
| povidona B.P. | 15 |
| glicolato de amido de sódio | 20 |
| estearato de magnésio | 5 |
| | <hr/> |
| | 500 |

Formulação C

| | <u>mg/comprimido</u> |
|--------------------|----------------------|
| ingrediente activo | 100 |
| lactose | 200 |

| | |
|-----------------------|-------|
| amido | 50 |
| povidona | 5 |
| esrearate de magnésio | 4 |
| | <hr/> |
| | 359 |

As formulações seguintes D e E são preparadas por compressão directa dos ingredientes misturados. A lactose na formulação E é do tipo para compressão directa (Dairy Crest- "Zeparox").

Formulação D

| | <u>mg/comprimido</u> |
|------------------------------|----------------------|
| Ingrediente activo | 250 |
| amido pré-gelatinizado NF 15 | 150 |
| | <hr/> |
| | 400 |

Formulação E

| | <u>mg/comprimido</u> |
|--------------------|----------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| lactose | 150 |
| Avicel | 100 |
| | <hr/> |
| | 500 |

Formulação F (formulação de libertação controlada)

A formulação é preparada por granulação em húmido dos ingredientes com uma solução de povidona, seguida pela adição de estearato de magnésio e compressão.

| | <u>MG/comprimido</u> |
|--------------------------------------------------------|----------------------|
| ingrediente activo | 500 |
| hidroxipropil-metil-celulose (Methocel K4M Premium) | 112 |
| lactose B.P. | 53 |
| povidona B.P. | 28 |
| esterato de magnésio | 7 |
| | <hr/> 700 |

A libertação da substância activa tem lugar ao longo de um periodo de cerca de 6 a 8 horas e está completa passadas 12 horas.

Exemplo 2

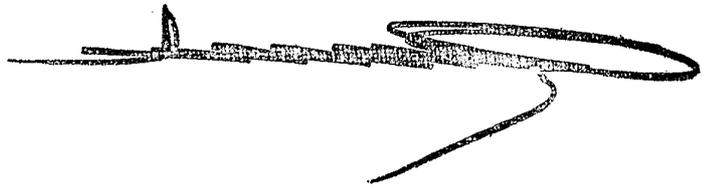
Formulações de cápsulas

Formulação A

Prepara-se uma formulação para cápsulas misturando os ingredientes da formulação D no exemplo 1 acima e embalando numa cápsula de gelatina dura de duas partes. A formulação B (adiante é preparada de forma idêntica.

Formulação B

| | <u>mg/cápsulas</u> |
|-----------------------------|--------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| lactose B.P. | 143 |
| glicolato de amido de sódio | 25 |
| estearato de magnésio | 2 |
| | <hr/> 420 |



Formulação C

| | <u>mg/cápsulas</u> |
|--------------------|--------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| Macrogel 4000 B.P. | 350 |
| | <hr/> |
| | 600 |

As cápsulas da formulação C são preparadas por fusão do Macrogel 4000 B.P., dispersão do ingrediente activo na massa fundida e embalagem desta numa cápsula de gelatina dura de duas peças.

Formulação D

| | <u>mg/cápsula</u> |
|--------------------|-------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| lecitina | 100 |
| óleo de amendoim | 100 |
| | <hr/> |
| | 450 |

As cápsulas da formulação D são preparadas dispersando o ingrediente activo na lecitina e no óleo de amendoim e embalando a dispersão em cápsulas de gelatina mole elástica.

Formulação E (cápsulas de libertação controlada)

A formulação para cápsulas de libertação controlada adiante é preparada promovendo a extrusão dos ingredientes a, b e c utilizando uma extrusora, seguida por esferulação do extrudido e secagem. Os grânulos secos são depois revestidos com uma membrana de libertação controlada (d) e embalados numa cápsula de gelatina dura de duas peças.



| | <u>mg/cápsula</u> |
|------------------------------|-------------------|
| (a) ingrediente activo | 250 |
| (b) celulose microcristalina | 125 |
| (c) lactose B.P. | 125 |
| (d) etilcelulose | 13 |
| | <hr/> |
| | 513 |

Exemplo 3

Formulação injectável

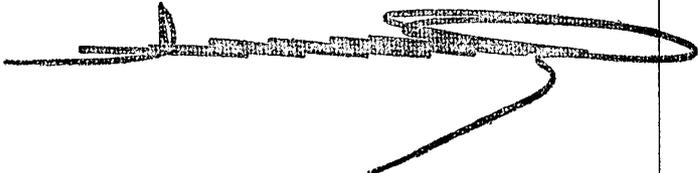
Formulação A

| | <u>mg</u> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| ingrediente activo | 200 |
| solução de ácido clorídrico 0,1 M, ou solução de hidróxido de sódio, 0,1 M q.b. para pH 4,0 a 7,0 | |
| água esterilizada | q.b. para 10 ml. |

O ingrediente activo é dissolvido na maior parte da água (35-40°C) e o pH é ajustado a um valor entre 4,0 e 7,0 com o ácido clorídrico ou com o hidróxido de sódio conforme apropriado. A mistura é depois completada até ao volume pretendido com água e é filtrada através de um filtro microporoso de esterilização para um frasco de vidro escuro (âmbar) de 10 ml esterilizado (tipo 1) que é fechado com uma tampa esterilizada e um selo inviolável.

Formulação B

| | |
|---------------------------------------------------------------------------|--------|
| ingrediente activo | 125 mg |
| tampão de fosfato, pH 7, isento de pirogénios, esterilizado, q.b. para | 25 ml |



Exemplo 4

Injecção intramuscular

| | | |
|--------------------|-----------|---------|
| ingrediente activo | | 0,20 g |
| álcool benzílico | | 0,10 g |
| glicofurol 75 | | 1,45 g |
| álcool benzílico | q.b. para | 3,00 ml |

O ingrediente activo é dissolvido no glicofurol. O álcool benzílico é adicionado em seguida e é dissolvido, adicionando-se água até ao volume de 3 ml. A mistura é depois filtrada através de um filtro microporoso de esterilização e é embalada em frascos de vidro escuro (âmbar) de 3 ml, esterilizados (tipo 1).

Exemplo 5

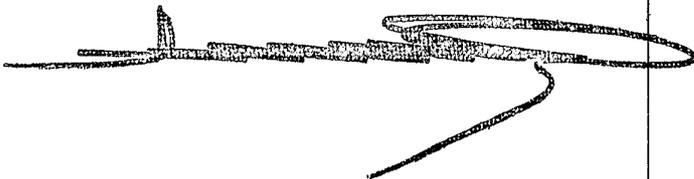
Xarope

| | | |
|-----------------------------------|-----------|-----------|
| ingrediente activo | | 0,25 g |
| solução de sorbitol | | 1,50 g |
| glicerina | | 2,00 g |
| benzoato de sódio | | 0,005 g |
| aromatizante, pêssego 17.42.316 9 | | 0,0125 ml |
| água purificada | q.b. para | 5,00 ml |

O ingrediente activo é dissolvido numa mistura de glicerina e a maior parte da água pura. Adiciona-se então à solução uma solução aquosa de benzoato de sódio, seguindo-se a adição da solução de sorbitol e finalmente o aromatizante. O volume é completado com água pura e mistura-se bem.

Exemplo 6

-
-
-



Supositório

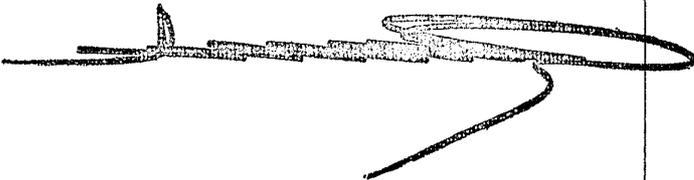
| | <u>mg/cápsula supositório</u> |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| gordura sólida, B.P. (Witepsol H15 - Dynamit Nobel) | 1770 |
| | <hr/> |
| | 2020 |

Uma quinta parte do Witepsol H15 é fundido num recipiente com uma manga térmica de vapor, a 45°C no máximo. O ingrediente activo é passado através de um crivo de 200µM e é adicionado à base fundida, por mistura, utilizando um misturador Silverson equipado com uma cabeça cortante, até se obter uma dispersão macia. Mantendo-se a mistura a 45°C adiciona-se o restante do Witepsol H15 à suspensão e agita-se para assegurar uma mistura homogénea. A suspensão global é passada através de um filtro de malha de aço inoxidável de 250 µM, mantendo-se constantemente a agitação, e deixa-se arrefecer a 40°C. A uma temperatura de 38 a 40°C embalam-se porções de 2,02 g da mistura em moldes de plástico apropriados, de 2 ml. Deixam-se arrefecer os supositórios até à temperatura ambiente.

Exemplo 7

pessários

| | <u>mg/pessário</u> |
|-----------------------|--------------------|
| ingrediente activo | 250 |
| dextrose anidra | 380 |
| fécula de batata | 363 |
| estearato de magnésio | 7 |
| | <hr/> |
| | 1000 |



Os ingredientes acima são misturados directamente e os pessários são preparados por compressão directa da mistura resultante.

Exemplo 8 : Preparação de 1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluor-citosina

MÉTODO A: (+)-cis e (+)-trans-2-benzoiloximetil-5-(N₄-acetil-citosino-1-il)-1,3-oxatiolano são preparados e separados nos isómeros (+)-cis e (+)-trans tal como é descrito na Memória da Patente Europeia (EP) O 382 526. O isómero (+)-cis é fluorado com hipofluorito de trifluormetilo em fluor-triclorometano (CCl₃F) e clorofórmio a -78°C, de acordo com o método de Robins et al., Nucleid Acid Chemistry, parte 2, 895-900, 1978. Os grupos N₄-acetilo e 2-benzoilo são removidos com dimetilamina em etanol e o produto, (+)-cis-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluorcitosina, é isolado.

MÉTODO B: (+)-cis e (+)-trans-2-benzoiloximetil-5-(uracil-1-il)-1,3-oxatiolano são preparados como é descrito na Especificação EP O 382 526. Depois da remoção de grupos de bloqueio, nomeadamente do grupo 2-hidroxilo, com amónia metanólica saturada, separam-se os isómeros através de sílica-gel utilizando acetato de etilo/metanol como eluente (EP O 382 526). Faz-se reagir o isómero (+)-cis com anidrido acético em piridina à temperatura ambiente, obtendo-se o 2-acetato. O dissolvente é removido em vácuo a < 30°C. O 2-acetato é depois dissolvido em clorofórmio e lavado com bicarbonato de sódio em solução aquosa. A fase orgânica é separada e seca, e evapora-se o clorofórmio em vácuo. O (+)-cis-2-acetiloximetil-5-(uracil-1-il)-1,3-oxatiolano é fluorado como se descreve acima (método A) pelo método de Robins et al. A conversão da base de 5-



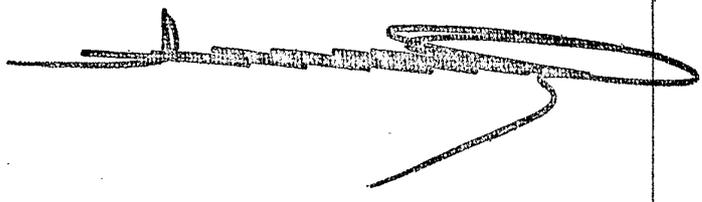
-F-uracilo na base de 5-F-citosina é realizada por preparação do derivado de 4-(1,2,4-triazol-1-ilo) de acordo com os métodos de C.B. Reese, J. Chem. Soc., Perkins I, 1171, (1984) e W. L. Sung, Nucleic Acids Res. 9:6139, (1981), usando 1,2,4-triazol e 2 equivalentes de diclorofosfato de 4-clorofenilo em piridina anidra à temperatura ambiente. Esta conversão é seguida pela reacção com metanol previamente saturado com amónia a 0°C, e o 2-acetato é hidrolisado obtendo-se (+)-cis-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluorocitosina.

Actividade antiviral

As combinações de acordo com a invenção foram ensaiadas quanto à actividade anti-HIV num ensaio de células MT4 infectadas por HIV, tal como é descrito em Averett, D. R., J. Virol. Methods, 23, 263-276 (1989). As células foram expostas ao HIV durante 1 hora antes da adição do componentes antivirais. Os componentes foram ensaiados em diluições em série de 2,5 vezes. Passados 5 dias de incubação a 37°C determinou-se o número de células. Calculou-se a inibição do efeito citopático induzido por HIV, e determinou-se o sinergismo por gráficos FIC, como é descrito por Elion, Singer, e Hitchings, J. Biol. Chem. 208, 477 (1954).

As concentrações inibidoras fraccionárias (FIC) da zidovudina e de cis-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluor-citosina foram calculadas de acordo com o método de Elion et al, obra citada (quadro 1).

Estes valores podem ser representados graficamente num gráfico a partir do qual se pode determinar que a combinação de cis-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluorocitosina e zidovudina é fortemente sinérgica.



QUADRO 1

Cálculo da concentração inibidora
fraccionária (FIC)

70% de Inibição

| Zidovudina (μM) | Composto 1* (μM) | FIC Zidovudina | FIC Composto 1 |
|---------------------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|
| 0,004 | 2.5 | 0.018 | 0.48 |
| 0.01 | 2.0 | 0.045 | 0.38 |
| 0.0256 | 1.6 | 0.12 | 0.31 |
| 0.06 | 1.4 | 0.27 | 0.26 |
| 0.22 | - | | |
| - | 5.2 | | |

* O composto 1 é a cis-1-(2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il)-5-fluor-citosina.



REIVINDICAÇÕES

- 1ª -

Combinação farmacêutica caracterizada por compreender os componentes:

- (a) 1-[2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il]-5-fluorcitosina ou um seu derivado fisiologicamente aceitável, e
- (b) 3'-azido-desoxitimidina ou um seu derivado fisiologicamente aceitável,

sendo os componentes (a) e (b) da combinação empregues numa relação na qual se obtém um efeito sinérgico anti-HIV.

- 2ª -

Combinação farmacêutica de acordo com a reivindicação 1 caracterizada por o componente (a) ser cis-1-[2-(hidroximetil)-1,3-oxatiolano-5-il]-5-fluorcitosina e o componente (b) ser 3'-azido-3'-desoxitimidina.

- 3ª -

Combinação farmacêutica de acordo com as reivindicações 1 ou 2 caracterizada por os componentes serem em empregues numa relação molar compreendida no intervalo desde 600:1 a 1:1 do componente (a) para o componente (b).

- 4ª -

Combinação farmacêutica de acordo com a reivindicação 3 caracterizada por os componentes serem empregues numa relação molar situada num intervalo desde 250:1 a 10:1 do componente (a) para o componente (b).



- 5ª -

Combinação farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações anteriores para utilização em terapia humana.

- 6ª -

Combinação farmacêutica de acordo com a reivindicação 5 para utilização no tratamento ou profilaxia de infecções causadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).

- 7ª -

Utilização de uma combinação farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 para a preparação de um medicamento para utilização no tratamento ou na profilaxia de infecções causadas por HIV.

- 8ª -

Processo para a preparação de uma combinação farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 caracterizado por compreender combinarem-se os referidos componentes (a) e (b) da combinação de modo a produzir um efeito antiviral sinérgico.

- 9ª -

Formulação farmacêutica caracterizada por compreender uma combinação farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 em combinação com uma ou mais substâncias veiculares ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

- 27 -

- 10ª -

Formulação farmacéutica de acordo com a rei
vindicação 9 caracterizada por se apresentar na forma de um com
primido ou de uma cápsula.

- 11ª -

Processo para o tratamento ou a profilaxia
de infecções causadas por HIV num paciente humano caracterizado
por compreender a administração ao referido paciente humano de
uma quantidade eficaz de uma combinação tal como foi definida
em qualquer das reivindicações 1 a 6.

A requerente reivindica a prioridade do pe-
dido britânico apresentado em 6 de Março de 1991, sob o nº.
9 104 740.7.

Lisboa, 5 de Março de 1992
© AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL





R E S U M O

"COMBINAÇÃO ANTIVIRAL DE NUCLEÓSIDOS E PROCESSO PARA A SUA PREPARAÇÃO"

A invenção refere-se a uma combinação farmacéutica que compreende os componentes:

- (a) 1-[2-(hidroximetil)1,3-oxatiolano-5-il]-5-fluorocitosina ou um seu derivado fisiologicamente aceitável, e
- (b) 3'-azido-3'-desoxitimidina ou um seu derivado fisiologicamente aceitável,

sendo os componentes (a) e (b) da combinação empregues numa relação na qual se obtém um efeito sinérgico anti-HIV.