

[Handwritten signature]

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 100 765

REQUERENTE: LABORATORI GUIDOTTI S.p.A., italiana, com
sede em Via Trieste, 40 - 56126 Pisa, Itália

EPÍGRAFE: "Derivados de amônio quaternário de (-) e (+)
10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil-10H-feno-
tiazina, composições farmacêuticas que os con-
têm e processo para a sua preparação"

INVENTORES: Raffaello Giorgi, Alessandro Subissi e Luigi
Turbanti

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

Itália em 7 de Agosto de 1991 sob o n.º MI 91 A 002225

74201

GUI.1

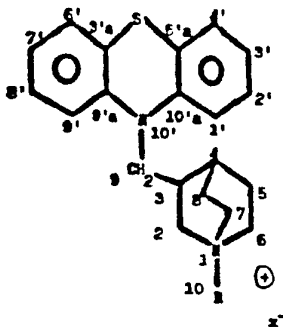


PATENTE N° 100 765

"Derivados de amônio quaternário de (-) e (+) 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10H-fenotiazina, composições farmacêuticas que os contêm e processo para a sua preparação"

RESUMO

O presente invento refere-se a enantiomorfos dextro-rotatórios (+) e levo-rotatórios (-) de derivados de amônio quaternário de 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10H-fenotiazina com a seguinte fórmula geral



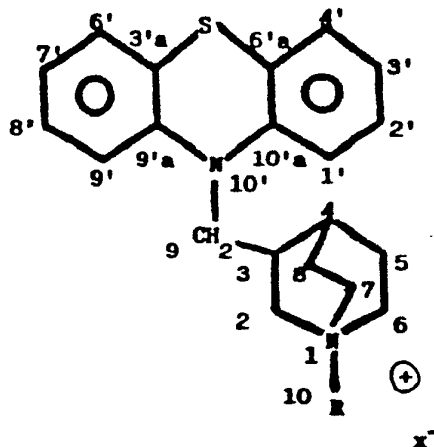
na qual

R = alquilo C₁₋₄, ciclopropilo

X = halogéneo, dimetilsulfato, ácido p-toluenossulfônico, bem como à preparação dos mesmos e a composições farmacêuticas que os contêm.

MEMÓRIA DESCRITIVACampo do Invento

Este invento refere-se a enantiomorfos dextro-rotatórios (+) e levo-rotatórios (-) de derivados de amônio quaternário de 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10-H-fenotiazina com a seguinte fórmula geral (I)



na qual

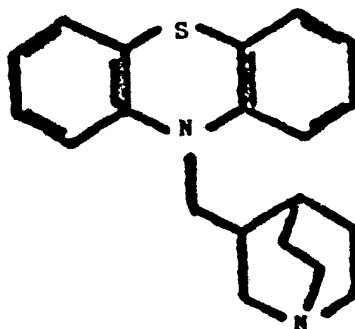
R = alquilo C₁₋₄, ciclopropilo

X = halogéneo, dimetilsulfato, ácido p-toluenossulfónico, bem como às composições farmacêuticas que os contêm.

Estado da Arte

O composto 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10-H-fenotiazina (internacionalmente conhecido como mequitazina) como na seguinte fórmula (A)

(A)



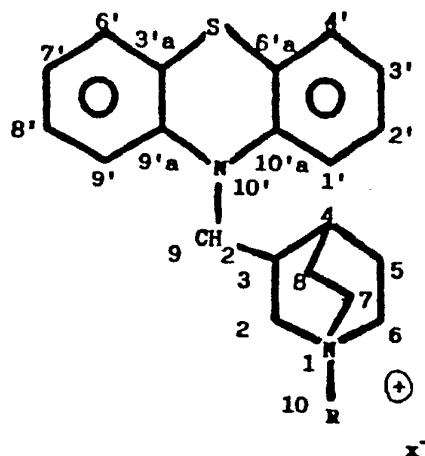
é reconhecido pela literatura (ver, p. ex., FR-A-2 034 605) e as suas propriedades anti-histamínicas estão aí descritas. Na

patente EP-A-159 059, o requerente descreveu derivados quaternários do composto definido pela fórmula (A), na forma de modificações racémicas, dotadas com uma significativa actividade antibroncospástica.

Descrição Detalhada do Invento

Os derivados quaternários de mequitazina (tal como, por outro lado, a própria mequitazina), exibem um átomo de carbono assimétrico (posição 3 do 1-azabicyclo[2.2.2]octano). Cada derivado quaternário racémico consiste portanto em dois enantiomorfos (+) e (-) numa razão de 50:50. Verificou-se surpreendentemente que os enantiomorfos dos derivados quaternários de mequitazina como definidos pela fórmula (I)

(I)



na qual

R = alquilo C₁₋₄, ciclopropilo

X = halogéneo, dimetilsulfato, ácido p-toluenossulfónico

exibem diferentes propriedades que tornam cada um deles particularmente adequados para tratamentos respectivamente diferentes.

De acordo com o presente invento, alquilo C₁₋₄ significa: metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, t-butilo.

De acordo com o presente invento, halogéneo significa: iodo, bromo, cloro.

Em particular, verificou-se que enquanto ambos os



enantiomorfos definidos como pela fórmula geral (I) são igualmente eficazes em relação à acetilcolina - uma propriedade só por si bastante surpreendente -, o enantiomorfo dextro-rotatório (+) é significativamente mais eficaz em relação à histamina do que o respectivo enantiomorfo levo-rotatório (-). Além disto, verificou-se que o enantiomorfo dextro-rotatório é menos tóxico do que o levo-rotatório.

O enantiomorfo dextro-rotatório é portanto aqui proposto como um agente particularmente adequado para o tratamento de doenças broncoconstritivas e alérgicas (em particular asma bronquial e rinite) e de todas as patologias envolvendo histamina - um dos principais mediadores tanto da broncoconstricção asmática como da resposta anormal da membrana mucosa do nariz no caso de rinite alérgica -, ou acetilcolina - a qual controla tanto o tono do sistema respiratório como a secreção da membrana mucosa do nariz. Como se sabe, os mediadores de facto envolvidos pela broncoconstricção asmática e pela rinite são muitos, dependendo a extensão do seu envolvimento do tipo e progresso da doença bem como do paciente. O facto de o enantiomorfo dextro-rotatório exhibir ambas as actividades a concentrações quase sobreponíveis torna-o particularmente interessante como um instrumento para o tratamento destas doenças.

Na preparação dos enantiomorfos definidos como pelo invento, resolve-se a mistura racémica de mequitazina (A) nos dois enantiomorfos respectivos dextro e levo-rotatório pelas técnicas de separação cromatográficas usuais baseadas na utilização de fases quirais. Em particular podem-se utilizar colunas cromatográficas preparativas de celulose, sendo os eluentes hexano/álcool etílico (94/6), hexano/álcool metílico (98/2), hexano/álcool etílico/TEA (98/0,8/1,2). Os enantiomorfos assim obtidos são então quaternizados com reagentes, como descrito nos exemplos que aqui se seguem, dados como indicação, não como limitação.

Os enantiomorfos definidos como pelo invento resultam particularmente úteis na preparação de composições farmacêuticas

para uso tópico (principalmente por inalação e administração intranasal) ou para administração oral. Um tipo de formulações farmacêuticas adequado para a administração do ingrediente activo de acordo com o invento é conduzido no exemplo 3 que aqui se segue, como modo de indicação, não de limitação.

EXEMPLO 1

Iodeto de (-)-1-metil-3-(10-H-fenotiazina-10-il-metil)-1-azonia-biciclo[2.2.2]octano [(I) R = CH₃; X = I⁻]

Suspendeu-se 35 g (0,1 mole) do enantiomorfo (-) de mequitazina obtido por separação cromatográfica preparativa em coluna de fase quiral a partir da mistura racémica de mequitazina, em 200 ml de acetonitrilo. Manteve-se a suspensão em agitação durante 10 minutos até à homogeneização. Adiciona-se 50 ml (0,2 ml) de iodeto de metilo; aquece-se a solução assim obtida a 50°C e mantém-se a esta temperatura durante 16 horas. Deixa-se arrefecer a mistura reaccional até 20°C, depois a 0-4°C e mantém-se a esta temperatura durante 48 horas. Filtram-se os cristais sólidos sob vácuo, lavam-se no filtro com éter etílico, depois secam-se em vácuo a 50°C até peso constante.

Obtém-se 42 g do produto desejado (rendimento de 90%) na forma de cristais sólidos de cor creme possuindo as seguintes propriedades físico-químicas:

HPLC em coluna Nucleosil C₁₈[®] 150 x 4,6
 eluente: MeOH/CH₃CN/NH₄H₂PO₄ a 0,425% = 43/25/32
 caudal: 0,5 ml/min λ = 254 nm
 injeção: 4 μl em álcool metílico
 pico unitário à temperatura ambiente: 6,4
 p.f.: 142-144°C
 [α]_D²⁰ : -21,3° (1% de CH₃OH concentr.)
 Análise elementar para C₂₁H₂₆IN₂S

	C	H	I	N	S
calculado:	54,31	5,59	27,35	6,03	6,89
determinado:	54,06	5,60	27,20	5,94	6,80

74201

GUI.1

-6-

^1H RMN (CDCl_3): 7,21-6,84 (2m, 8H, [1',2',3',4',6',7',8',9']); 4,27-3,93 (m, 2H, [9]); 9,93-3,46 (m, 6H, [2,6,7]); 3,21 (s, 3H, [10]); 2,71 (m, 1H, [3]); 2,30 (d, 1H, [4]); 1,99-1,77 (2m, 4H, [5,8])

^{13}C RMN (CDCl_3): 144,62 (C-9'a, C-10'a); 127,77 (C-1', C-4', C-6', C-9'); 126,97 (C-4'a, C-5'a); 123,26 (C-2', C-8'); 116,25 (C-3', C-7'); 60,49 (C-9); 57,38 (C-6); 57,21 (C-7); 52,54 (C-3); 48,30 (C-2); 32,06 (C-10); 24,87 (C-8); 20,90 (C-4); 19,57 (C-5).

Ensaiou-se a pureza óptica do produto em base livre por HPLC com coluna de fase quiral

coluna CHIRACEL O.D.®
eluyente hexano/álcool etílico = 94/6
caudal 0,5 ml/min. $\lambda = 254$ nm
injecção 4 μ l em hexano/álcool etílico
pico 98% à temperatura ambiente 15,03

EXEMPLO 2

Iodeto de (+)-1-metil-3-(10-H-fenotiazina-10-il-metil)-1-azoniabicyclo[2.2.2]octano [(I) R = CH_3 ; X = I^-]

Suspendeu-se 28 g (0,08 mole) do enantiomorfo (+) de mequitazina obtido por separação cromatográfica preparativa em coluna de fase quiral a partir da mistura racémica de mequitazina, em 160 ml de acetonitrilo. Manteve-se a suspensão em agitação durante 10 minutos até à homogeneização. Adiciona-se 40 ml (0,64 ml) de iodeto de metilo; aquece-se a solução assim obtida a 50°C e mantem-se a esta temperatura durante 16 horas. Deixa-se arrefecer a mistura reaccional até 20°C, depois a 0-4°C e mantem-se a esta temperatura durante 48 horas. Filtram-se os cristais sólidos sob vácuo, lavam-se no filtro com éter etílico, depois secam-se em vácuo a 50°C até peso constante.

Obtém-se 35 g do produto desejado (rendimento de 94%) na forma de cristais sólidos de cor creme possuindo as seguintes propriedades físico-químicas:

74201

GUI.1

-7-

^1H RMN; ^{13}C RMN; como para o exemplo 1

HPLC como para o exemplo 1

HPLC de fase quiral: pico à temperatura ambiente 16,73 (97%)

p.f.: 142-145°C

$[\alpha]_D^{20}$: +21° (1% de CH_3OH concentr.)

Análise elementar para $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{IN}_2\text{S}$

	C	H	I	N	S
calculado:	54,31	5,59	27,35	6,03	6,89
determinado:	54,00	5,62	27,18	5,96	6,82

Testes in vitro

EXEMPLO 3

Colocou-se uma formulação farmacêutica consistindo em ingrediente activo [composto (+) ou (-) definido como pela fórmula (I)] 100 mg
trioleato de sorbitano (Arlacel 85[®]) 20 mg
Freon 11[®] 3380 mg
Freon 12-114[®] (65:35) 10500 mg
numa válvula de medição tipo cilindro pequeno.

A preparação anterior permite a administração de doses medida simples de 50 a 200 μg de ingrediente activo.

Testes de actividade

Estudaram-se comparativamente os enantiomorfos dos exemplos 1 e 2 para determinar as suas propriedades farmacológicas, com especial atenção aos seguintes aspectos: agonismo para acetilcolina e histamina, sobre traqueias isoladas de porquinhos da índia, inibição de broncoconstricção em porquinhos da índia induzida por acetilcolina e histamina (processo de Konzett-Roessler), toxicidade aguda em ratinhos.

Os resultados demonstraram que ambos os enantiomorfos são antagonistas competitivos de acetilcolina e histamina sobre a traqueia de porquinhos da índia. De qualquer modo, enquanto ambos os enantiomorfos são igualmente eficazes em relação à acetilcolina (pA_2 7,96 e 7,81 para os enantiomorfos levo-rotatório e dextro-rotatório, respectivamente), o enantiomorfo

dextro-rotatório (+) (pA_2 8,05) é significativamente mais eficaz do que o enantiomorfo levo-rotatório (-) (pA_2 7,09) em relação à histamina. Os resultados in vitro foram confirmados pelos testes in vivo, os quais demonstraram que os dois enantiomorfos são igualmente eficazes na inibição de broncoconstrição a partir de acetilcolina, enquanto que o enantiomorfo dextro-rotatório (+) é significativamente mais eficaz do que o enantiomorfo levo-rotatório (-) na inibição de broncoconstrição a partir da histamina (ED50: 63 e 239 nmole kg^{-1} , respectivamente).

Testes toxicológicos

Os testes de toxicidade aguda em relação à administração i.v. a ratinhos mostraram que o enantiomorfo dextro-rotatório (+) [LD50 e limites fiduciais a 95%: 3,65 (3,45-3,86) mg kg^{-1}] é significativamente menos tóxico do que o enantiomorfo levo-rotatório (-) [2,68 (2,61-2,74) mg kg^{-1}].

TABELA 1

Testes in vitro

Antagonismo para acetilcolina e histamina, sobre traqueias isoladas de porquinhos da índia

	Acetilcolina	Histamina
	pA ₂	
Enantiomorfo levo-rotatório (-)		
[Exemplo 1]	7,96	7,09
Enantiomorfo dextro-rotatório (+)		
[Exemplo 2]	7,81	8,05

Testes in vivo

Inibição de broncospasmos em porquinhos da índia a partir de acetilcolina e histamina

	Acetilcolina	Histamina
	ED ₅₀ (nmole kg ⁻¹)	
Enantiomorfo levo-rotatório (-)		
[Exemplo 1]	65	239
Enantiomorfo dextro-rotatório (+)		
[Exemplo 2]	71	63

Toxicidade aguda em ratinhos

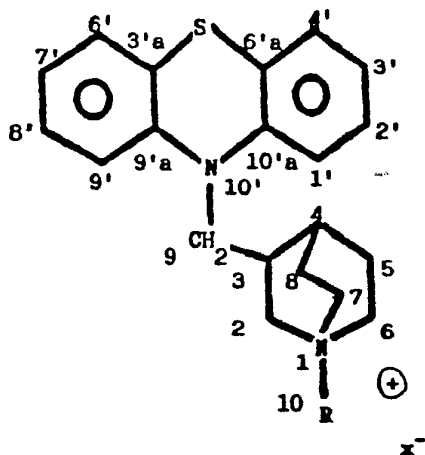
LD50 (mg kg⁻¹ e limites fiduciais a 95%)

Enantiomorfo levo-rotatório (-)	
[Exemplo 1]	2,68 (2,61-2,74)
Enantiomorfo dextro-rotatório (+)	
[Exemplo 2]	3,65 (3,45-3,86)

REIVINDICAÇÕES

1 - Derivados de amónio quaternário de (-) 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10H-fenotiazina caracterizados por possuírem a seguinte fórmula geral (I)

(I)



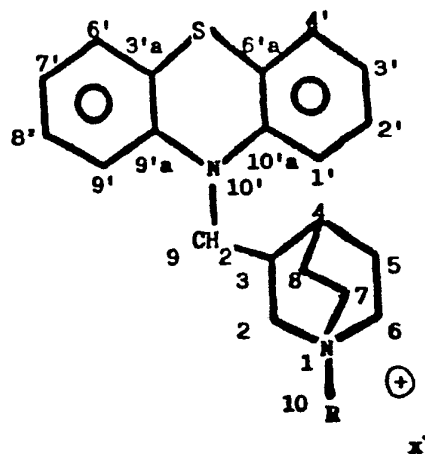
na qual

R = alquilo C₁₋₄, ciclopropilo

X = halogéneo, dimetilsulfato, ácido p-toluenossulfónico.

2 - Derivados de amónio quaternário de (+) 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10H-fenotiazina caracterizados por possuírem a seguinte fórmula geral (I)

(I)



na qual R e X são definidos como na reivindicação 1.

3 - Enantiomorfos de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizados por $R = CH_3$ e $X = I$.

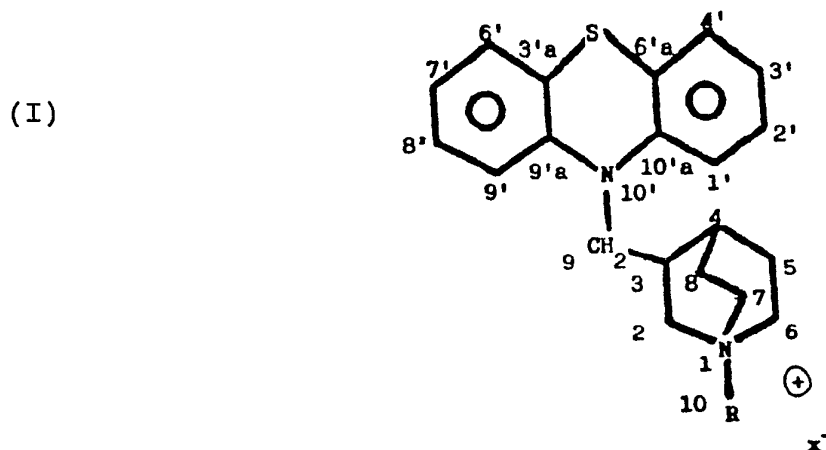
4 - Enantiomorfos de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizados por $R = CH_3$ e $X = Cl$.

5 - Enantiomorfos de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizados por $R = CH_3$ e $X = Br$.

6 - Enantiomorfos de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizados por $R = CH_3$ e $X = \text{dimetilsulfato}$.

7 - Enantiomorfos de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizados por $R = CH_3$ e $X = \text{ácido p-toluenossulfónico}$.

8 - Processo de preparação de derivados de amónio quaternário de (-) e (+) 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10H-fenotiazina possuindo a seguinte fórmula geral (I)



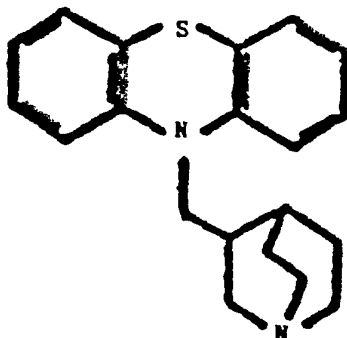
na qual

$R = \text{alquilo } C_{1-4}, \text{ ciclopropilo}$

$X = \text{halogéneo, dimetilsulfato, ácido p-toluenossulfónico, caracterizado por a mistura racémica de mequitazina (A)}$

(Segue fórmula)

(A)



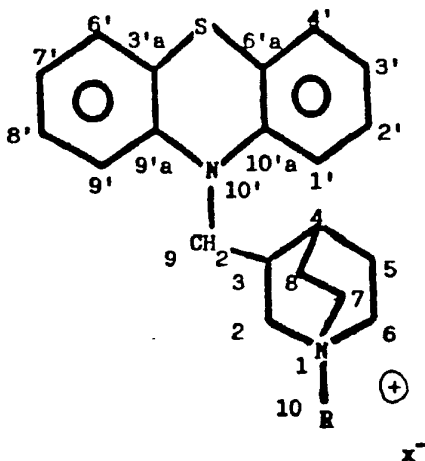
ser resolvida nos dois enantiomorfos dextro- e levo-rotatórios respectivos, por técnicas de separação cromatográficas utilizando fases quirais, e por se quaternizarem os enantiomorfos assim obtidos com os reagentes adequados.

9 - Composições farmacêuticas caracterizadas por conterem um enantiomorfo dextro-rotatório (+) de acordo com as reivindicações 2-7, como ingrediente activo.

10 - Composições farmacêuticas caracterizadas por conterem um enantiomorfo levo-rotatório (-) de acordo com as reivindicações 1, 3-7, como ingrediente activo.

11 - Processo de preparação de uma composição farmacêutica de acordo com as reivindicações 9 e 10, caracterizado por se misturar uma quantidade farmacêuticamente eficaz de um derivado de amónio quaternário de (-) ou (+) 10-(1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il-metil)-10H-fenotiazina, de fórmula (I)

(I)



74201

GUI.1

-13-

na qual

R = alquilo C₁₋₄, ciclopropilo

X = halogéneo, dimetilsulfato, ácido p-toluenossulfónico,
com os transportadores adequados para a preparação de
composições úteis para uso tópico ou administração oral.

12 - Composições de acordo com a reivindicação 9, para uso
no tratamento de asma bronquial e rinite.

13 - Composições de acordo com a reivindicação 10 para uso
no tratamento de asma bronquial e rinite.

14 - Uso do enantiomorfo dextro-rotatório (+) de acordo com
as reivindicações 2-7 para o fabrico de um medicamento para uso
no tratamento de asma bronquial e rinite.

15 - Uso do enantiomorfo levo-rotatório (-) de acordo com
as reivindicações 1, 3-7 para o fabrico de um medicamento para
uso no tratamento de asma bronquial e rinite.

Lisboa, 7 AGO. 1992

Por LABORATORI GUIDOTTI S.p.A.

=O AGENTE OFICIAL=

O ADJUNTO

Antonio Fissarabed