

80 351

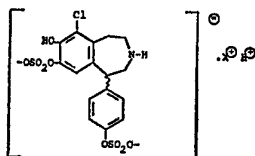
"Processo de preparação de 4',8-bis-
-hidrogeno-sulfatos de fenoldopam"

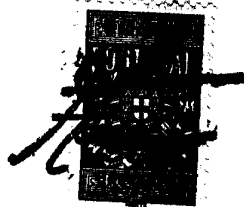
para que

SMITHKLINE BECKMAN CORPORATION, pre
tende obter privilégio de invenção
em Portugal.

R E S U M O

O processo de preparação do 4',8-bis-hidrogeno-sulfa-
to de fenoldopam, dos seus isómeros e dos sais seus derivados,
que são pro-drogas apropriadas para induzir o aumento da acti-
vidade dopaminérgica compreende a reacção do composto fenoldo-
pam com um excesso de trióxido de enxofre-piridina. As espé-
cies apropriadas preparadas segundo o processo incluem os
sais monossódicos do 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de fenoldopam
ou o seu isómero-R. Estes são preparados tratando o sal de
amónio correspondente com uma solução aquosa de carbonato ou
bicarbonato de sódio.





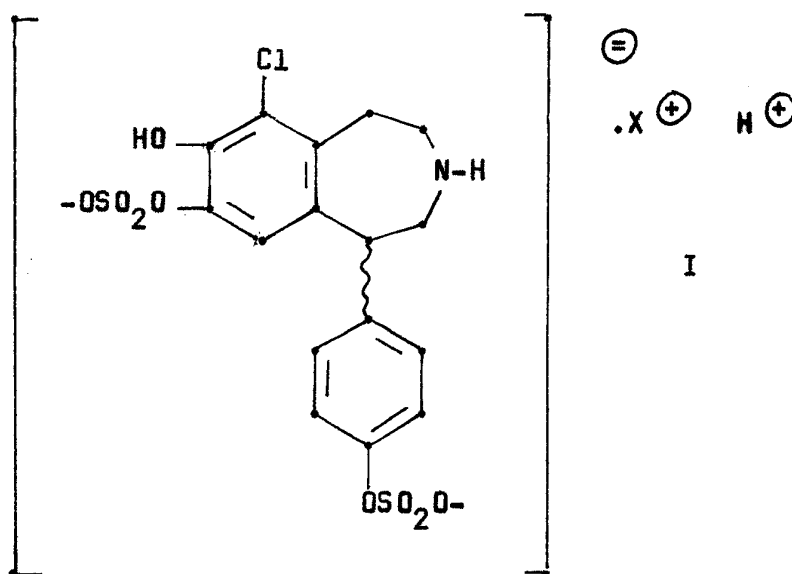
-2-

DESCRIÇÃO DO INVENTO

Esta invenção diz respeito a processos de preparação de derivados bis-sulfato do agente dopaminérgico renal, fenol dopam, e dos seus isômeros ópticos. Mais especificamente, os compostos preparados segundo esta invenção são representados por 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de 6-cloro-7,8-dihidroxi-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina, 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de R-6-cloro-7,8-dihidroxi-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina ou os seus sais farmacologicamente aceitáveis.

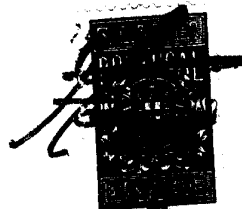
A Patente U.S. Nº. 4 388 240 descreve o processo de preparação e isolamento de três ésteres monossulfato de fenol dopam. Não é feita menção de nenhum éster dissulfato.

Os produtos preparados segundo o processo da invenção têm a fórmula de estrutura seguinte:



na qual X^+ é H^+ ou um catião farmacologicamente aceitável. Os sais de potássio, sódio ou monoamônio são os preferidos.

O sal de amônio dos compostos deste invento (fórmula I em que X^+ é NH_4^+) é preparado por O-esterificação do fenol



-3-

dopam usando um largo excesso de complexo trióxido de enxofre-piridina ($\text{Py} \cdot \text{SO}_3$) numa mistura de piridina seca e dimetilformamida. A mistura xaroposa da reacção proveniente do sulfato é purificada usando cromatografia preparativa liquida de alta eficácia sobre coluna de fase inversa C_{18} utilizando uma fase móvel de 12% metanol/88% de tampão de acetato de amónio 0,05 N. A primeira fracção eluida da coluna contém o 4',8-bis-hidrogeno-sulfato na forma de sal monoamónio. Utiliza-se no mínimo uma quantidade estequiométrica, mas usualmente de 200-800% e de preferência 500-600% em excesso, de agente de sulfatação.

O sal de amónio de fenoldopam é estável quando purificado mas, quando neutralizado, desdobra-se lentamente em ésteres de 4' e 8-monossulfato de fenoldopam e no próprio fenoldopam. O éster dissulfato dibásico livre é preparado durante a reacção de sulfatação e é convertido no seu sal relativamente estável durante a evolução da mistura de reacção. O bis-hidrogeno-sulfato original não foi isolado.

Os compostos desta invenção são apropriados especialmente para uso parenteral na forma de prodroga de acção retardada do fenoldopam ou dos seus isómeros. No protocolo renal do cão anestesiado, que é descrito detalhadamente na Patente U.S. Nº. 4 197 297, o bis-sulfato de fenoldopam, sal de amónio (fórmula 1 em que X^+ é NH_4^+) dava uma resistência vascular renal ED_{15} de 69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ durante o período de ensaio da infusão intravenosa mas foi observado um potente aumento de 100% no fluxo de sangue renal durante um longo período posterior ao ensaio. A actividade dopaminérgica renal permanece durante duas horas sem alteração significativa do ritmo cardíaco ou da pressão sanguínea.

Enquanto que o éster mono-8-sulfato de fenoldopam tinha um ED_{15} de 19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ neste ensaio, não foi observado nenhum efeito da droga no período post-droga do protocolo. Assim, o bis-sulfato foi uma prodroga mais efectiva para o fenoldopam do que para a forma de monossulfato.

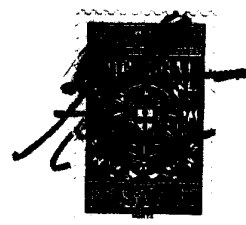
O 4',8-bis-hidrogeno-sulfato do R-isómero do fenoldopam também demonstrou um efeito biológico de longa permanência. Este composto numa infusão a 100 $\mu\text{g/kg/min.}$ durante 24 h não provocou lesões arteriais em roedores como aconteceu com o próprio fenoldopam a níveis de dosagem mais baixa.

Os sais de fórmula I são especialmente úteis para preparar produtos parentéricos que produzem efeitos biológicos semelhantes aos do composto aparentado mas durante um período mais longo. São exemplos da utilização dos compostos o tratamento da hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva ou disfunção renal grave. Os compostos deste invento são administrados por via intravenosa como infusão usando uma dose efectiva, não tóxica, seleccionada na gama de 0,02-1,5 mcg/kg/min. a um paciente humano de peso médio. Uma unidade de dosagem efectiva de 5-35 mg é administrada 1-5 vezes por dia por via intramuscular.

Prepararam-se formas farmacêuticas de dosagem unitária utilizando prolongadores da acção tais como manitol, conservantes ou tampões inertes para manter as propriedades isotónicas. Os liofilizados ou os pós dispersáveis em bolsas, ampolas de doses unitárias ou frascos multidose são formas base típicas de administração parenteral. São aplicadas por via intravenosa ou intramuscular conforme for necessário para provocar um efeito antihipertensor num paciente humano.

As unidades de dosagem oral contendo 75-500 mg de éster combinado com uma base sólida na forma de cápsulas, pastilhas ou semelhantes são preparadas pelos métodos conhecidos da arte. Administram-se 1-3 vezes por dia a pacientes necessitados de tratamento dopaminérgico mas são geralmente menos efectivos do que as formas parenterais.

Está também incluída neste invento a preparação de outros sais farmacêuticamente aceitáveis. Certos sais de metais alcalinos, de metais alcalino-terrosos ou de aminas orgânicas são também usados na arte. São preparados conforme se descreve aqui, formando o mono-sal antes da purificação. Entre



-5-

os catiões preferidos deste grupo (que é, X^{+} da fórmula 1) são sódio ou potássio. Estes são mais estáveis do que os correspondentes sais de amónio. Notar-se-á que um grupo ácido é usualmente neutralizado internamente pelo centro básico em posição 3.

O exemplo seguinte é apresentado para ilustrar esta invenção. Todas as temperaturas são Centígradas.

EXEMPLO 1

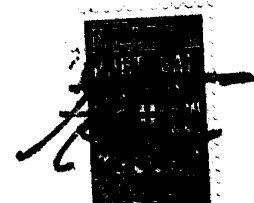
Complexo trióxido de enxofre-piridina:

Adicionou-se ácido clorossulfónico (3,0 ml, 0,0454 mol, 150 M%) a uma solução de piridina seca (9,84 ml, 0,121 mol) em dimetilformamida seca (60 ml) que foi arrefecida a -10° . A solução límpida resultante foi agitada durante 10 minutos à temperatura ambiente.

O-sulfatação do fenoldopam:

A solução recentemente preparada do complexo de piridina foi adicionada numa só vez a uma solução agitada de fenoldopam como sal metano-sulfonato (12,06 g, 0,030 mol, 100M%) em piridina seca (180 ml). A mistura foi agitada durante 0,5 horas à temperatura ambiente, depois, aquecida em banho de vapor durante 0,5 horas. A solução âmbar escuro resultante foi arrefecida durante 0,5 horas a -10° , filtrada para remover sais de piridínio, transferida para dentro de um balão de fundo redondo de 2 l, colo em l, tarado e evaporada num rotavapor Buchi. A 70° , a pressão reduzida, o complexo de piridina em excesso começou a sublimar (0,5 h) e formou-se um resíduo xaroposo. Neste ponto, as ratadeiras arrefecidas foram limpas e o resíduo xaroposo foi evaporado no rotavapor a 70° , a pressão reduzida, durante 45 minutos para remover os voláteis, obtendo-se assim 23,83 g de xarope. O xarope não deverá pesar mais do que 26,91 g - o peso teórico do conteúdo sólido total da mistura de reacção.

O xarope foi dissolvido em 90 ml de fase móvel (MP) [12% de metanol, 88% de tampão (acetato de amónio 0,05 N pH



-6-

4) 7. O balão foi friccionado para induzir a cristalização, depois deixado em repouso à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido cristalino resultante foi filtrado, lavado com 50 ml da mistura da fase móvel e seco para se obterem 6,41 g de sólido que é na sua maior parte 4'-sulfato. O filtrado e lavagens combinados (140 ml) contêm 7,0 g de O-sulfatos e traços de fenoldopam. O pH é ajustado a pH 3,4-4,0 com ácido clorídrico ou amônia aquosa quando necessário.

Cromatografia:

A mistura de reação parcialmente purificada foi novamente purificada por cromatografia líquida de alta eficácia em fase inversa, preparativa (HPLC).

HPLC preparativa

Aparelho:	JY-100 CHROMATOSPAC
Coluna:	40 mm x 45 mm
Fase sólida (SP):	Whatman, Partisil 40 ODS-3 (192 g) comprimento 37 cm (Lot #100627)
Fase móvel (MP):	12% metanol 88% tampão (0,05N NH_4OAc , pH 4)
Velocidade de fluxo:	50 ml/min
Pressão:	2,0 bar
Detector:	detector preparativo GOW-MAC 80-850 LC/LV, 280 nm
Atenuação:	AUFS 0,64

A amostra (140 ml) foi injectada a 5-10 ml/min. Depois, a velocidade do caudal foi ajustada para 50 ml/min.

A primeira fracção, contendo o éster 4',8-bis, eluída entre 18 e 26 min. ($k'=3,46$) (500 ml); 4'-SO₃ eluído entre 38 e 48 min. ($k'=6,88$) (700 ml); e a fracção contendo 7-SO₃/8-SO₃ (23:75%) mistura eluída entre 60-85 min. ($k'=11,50$) (1000-1400 ml).



Isolamento do 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de fenoldopam

O 4',8-bis-hidrogeno-sulfato foi purificado concentrando a referida fracção num rotavapor a 50° com pressão de aspiração e depois foi liofilizado. O resíduo sólido resultante após trituração com metanol cristalizou sob a forma de sal de amónio. Lavou-se o produto com metanol e secou-se ao ar obtendo-se um hidrato amoniacal de 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de fenoldopam analiticamente puro, p.f.: a 160° amolece, a 180° funde, a 185° ressolidifica, a 200°-205° decompõe-se.

Dados analíticos

As reacções de preparação e as fracções cromatográficas foram analisadas por HPLC analítica.

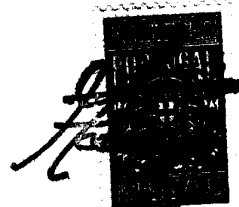
Coluna:	WHATMAN, Partisil 5 ODS-3 RAC II-10
Fase móvel:	a mesma da preparativa HPLC
Velocidade de fluxo:	2 ml/min
Pressão:	$13,8 \times 10^{-6}$ Pa
Detector:	275 nm

<u>Composto</u>	<u>Retenção (min)</u>	<u>k'</u>
4',8-diSO ₃	2,63	3,46
4'-SO ₃	3,93	5,66
7-SO ₃	6,16	9,44
8-SO ₃	6,88	10,66
fenoldopam	7,83	12,27

Anal. Calcd. para C₁₆H₁₆ClNO₉S₂·NH₃·2,5 H₂O:
C, 36,40; H, 4,58; N, 5,31. Encontrado: C, 37,00; H, 4,40;
N, 5,30.

EXEMPLO 2

Juntou-se trióxido de enxofre-piridina (23,71 g, 0,149 mol, 600 M%) todo de uma vez a uma solução agitada de metilsulfonato de R-6-cloro-7,8-dihidroxi-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina (9,98 g, 0,024 mol, 100 M%) (o isómero R do fenoldopam) numa mistura de 50 ml de dime



-8-

tilformamida seca e 100 ml de piridina seca à temperatura ambiente sob atmosfera de argon. Aqueceu-se a mistura reagente em banho de vapor durante 1/2 h e arrefeceu-se durante 1 h em banho de acetona/gelo. Removiu-se por filtração o produto sólido deliquescente separado. Evaporou-se o filtrado obtendo-se 35 g de xarope (amostra A).

Dissolveu-se este material em 40 ml de água (pH 2-3) de qual começou a cristalizar. Por diluição a 100 ml e repouso em ambiente frio durante a noite obteve-se um produto sólido que se separou e lavou cuidadosamente com água fria e metanol obtendo-se 4,52 g (39%) de bis-sulfato em bruto.

Análise das fracções de reacção:

Cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) sobre a coluna de celulose ("Partisil 5") usando 12% de metanol, 88% de tampão (0,05 N de acetato de amónio, pH 4).

I. Amostra A (xarope)

<u>Composto</u>	<u>Rf (min)</u>	<u>% [Conc.]</u>
Desconhecido 1	1,87	2,79
Desconhecido 2	2,12	10,18
4',8-bis-SO ₃ H	2,67	69,06
4'-SO ₃ H	4,27; 4,89	3,07; 2,07
7-SO ₃ H	6,37	2,68
8-SO ₃ H	7,07	10,14
Base	-	0

II. Amostra B (produto em bruto)

Desconhecido 1	-	0
Desconhecido 2	-	0
4',8-bis-SO ₃ H	2,62	86,91
4-SO ₃ H	4,80	2,0
8-SO ₃ H	6,95	11,8
Base	-	0



-9-

III. Amostra 3 (filtrado da cristalização)

Desconhecido 1	-	0
Desconhecido 2	2,08	16,73
4',8-bis-SO ₃ H	2,51	60,26
4-SO ₃ H	4,14; 4,73	5,05; 2,21
7-SO ₃ H	5,73; 6,18	1,01; 5,31
8-SO ₃ H	6,86	9,44

Purificação:

O produto em bruto (amostra B), 4,52 g, foi suspenso em solução 0,5 N de acetato de amônio (50 ml). Juntou-se água à suspensão até dissolução completa do produto sólido (~ 200 ml; pH 5). Filtrou-se a solução, evaporou-se em evaporador rotativo. O xarope resultante foi redissolvido em água e liofilizado obtendo-se o produto sob a forma de sal de amônio (4,92 g) que era 84,97% de 4,8-bissulfato com 11,37% de 8-sulfato.

Purificou-se esta amostra sobre coluna cromatográfica líquida preparativa usando uma coluna de celulose ("Partisil 40") com uma fase móvel de 12% de metanol/88% de 0,05 N acetato de amônio e usando o índice de refração como indicador. Juntaram-se as frações 11 a 21, evaporaram-se até 20 ml e liofilizaram-se obtendo-se 3,54 g de produto.

O produto foi purificado usando metanol quente (325 ml). Filtrou-se o extracto. Concentrou-se o filtrado até 40 ml num evaporador rotativo e arrefeceu-se obtendo-se 2,77 g do desejado 4',8-bis-hidrogeno-sulfato sob a forma de sal de amônio (HPLC, 100% puro).

Análise calculada para $C_{16}H_{16}ClNO_9S_2 \cdot NH_3 \cdot 0,5H_2O$:
C, 39,06; H, 4,0; N, 5,69. Encontrado: C, 39,06; H, 4,16; N, 5,56.

EXEMPLO 3

Dissolveu-se 4',8-bis-hidrogenossulfato de R-6-cloro-7,8-dihidroxil-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-



-10-

-benzazepina sob a forma de sal amoniacal (2,48 g, 0,005 mol, preparado como no exemplo 2) em 20 ml de água. Juntou-se bicarbonato de sódio (0,423 g, 0,005 mol) todo duma vez à mistura. Agitou-se a mistura durante 10 minutos a pH 4,5-5,0. Filtrou-se a solução amarelo clara e liofilizou-se o filtrado obtendo-se 2,65 g do desejado sal monossódico branco sólido. A HPLC demonstrou a presença de 100% do desejado sal bis-éster.

Recristalizou-se uma amostra de 50 mg a partir de 1 ml de metanol obtendo-se 40 mg do produto; $[\alpha]_D^{25} = + 5,71^\circ$.

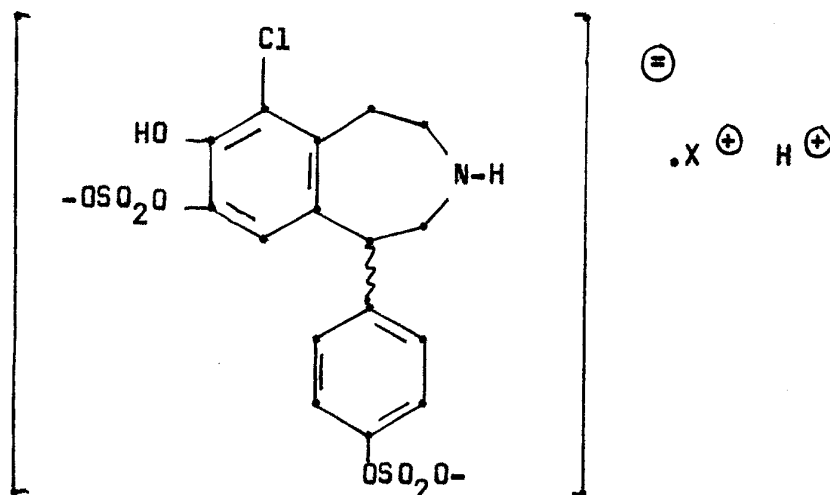
(Não cristalizado). Análise calculada para $C_{16}H_{15}ClNaO_9S_2 \cdot 2H_2O$: C, 36,68; H, 3,66; N, 2,67; Na, 4,39. Obtido: C, 36,79; H, 3,61; N, 2,84; Na, 4,33.

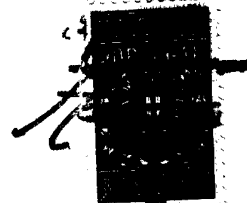
(Cristalizado). Análise calculada para $C_{16}H_{15}ClNaO_9S_2 \cdot 1-1/3 H_2O$: C, 37,54; H, 3,48; N, 2,74; Na, 4,49. Obtido: 37,51; H, 3,38; N, 2,69; Na, 4,76.

Amostras do sal de amônio do exemplo 2 e do sal de sódio do exemplo foram aquecidas a 78° e a 0,01 mm de Hg. O sal de sódio não se modificou. O sal de amônio deu 64,3% de não-modificado com 23,2% de 8-sulfato.

REIVINDICAÇÕES

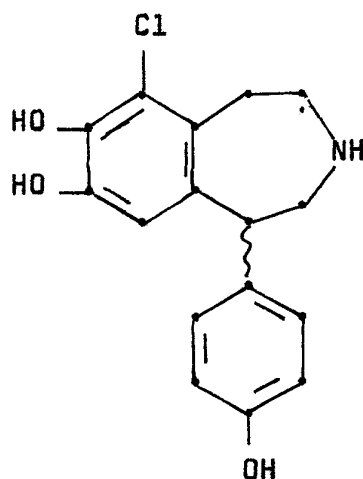
1 - Processo de preparação de um composto de fórmula:





-11-

em que $X^{\oplus}$ é $H^{\oplus}$ ou um catião farmacologicamente aceitável, compreendendo a reacção de pelo menos dois equivalentes molares de trióxido de enxofre-piridina com um composto de fórmula:



ou um sal seu derivado; e, opcionalmente, formando um sal do produto da citada reacção.

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1 em que o trióxido de enxofre-piridina é usado num excesso de 200-800% da quantidade estequiométrica.

3 - Processo de acordo com a reivindicação 1 em que o trióxido de enxofre-piridina é usado num excesso de 500-600% da quantidade estequiométrica.

4 - Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1-3 em que o meio solvente é piridina seca.

5 - Processo de acordo com a reivindicação 1 em que o produto final é o 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de 6-cloro-7,8-dihidroxi-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepina ou um sal seu derivado farmacologicamente aceitável.

6 - Processo de acordo com a reivindicação 1 em que o produto é o 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de R-6-cloro-7,8-dihidroxi-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzaze-

63 637

SKB 14206

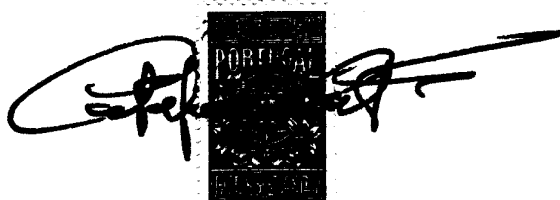
-12-

pina ou um sal seu derivado farmacêuticamente aceitável.

7 - Processo de acordo com a reivindicação 1 em que o produto é o 4',8-bis-hidrogeno-sulfato de 6-cloro-7,8-dihidroxi-1-(4'-hidroxifenil)-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepina na forma de sal monossódico.

Lisboa, 24 ABR 1985

Pela SMITHKLINE BECKMAN CORPORATION
- O AGENTE OFICIAL -

A handwritten signature in black ink is written over a rectangular stamp. The stamp has the word "PORTUGAL" at the top and some illegible text below it. The signature is a cursive, stylized name.