

**DESCRIÇÃO**  
**DA**  
**PATENTE DE INVENÇÃO**

**N.º 97.035**

**REQUERENTE:** SANOFI, sociedade anonima, francesa, industrial, em 40 Avenue george V, 75008 Paris França, e SOCIETE NATIONALE ELF AQUITAINE, francesa, industrial, em Tour Elf 2 Place de la Coupole, La Défense 6-92400 Courbevoie França

**EPÍGRAFE:** "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE 2,4-PERIMIDINODIONA"

**INVENTORES:** LAURENT FRAISSE; GERARD LE FUR; JEAN-BAPTISTE VERLHAC

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

FRANÇA, em 15 de Março de 1990, sob o No.90 03 342

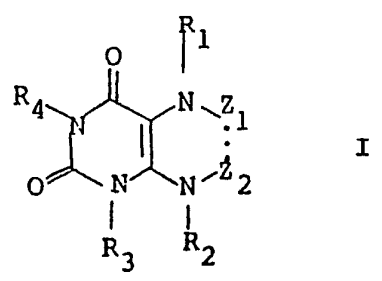
97-035

SANOFI E SOCIETE NATIONALE ELF AQUITAINE  
"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE 2,4-PIRIMIDINODIONA"  
=====

MEMÓRIA DESCRITIVA

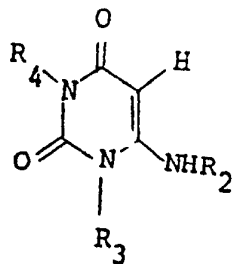
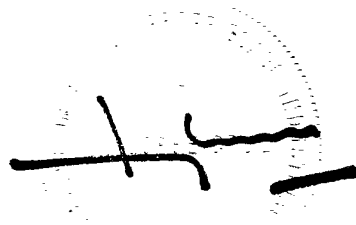
Resumo

O presente invento diz respeito a um processo para a preparação de derivados correspondendo à fórmula (I):



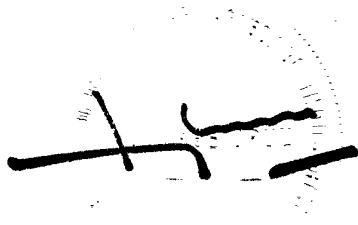
em que um dos símbolos R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> ou R<sub>4</sub> representa um grupo alquilo C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub> e os outros representam cada um H ou um grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> e Z<sub>1</sub> e Z<sub>2</sub> representam cada um H ou representam em conjunto o grupo carbonilo ou tiocarbonilo e os seus sais de adição.

O referido processo consiste, por exemplo, em se introduzir um grupo amino NR<sub>1</sub>Z<sub>1</sub> na posição 5 de um composto de fórmula:



V

por redução de um grupo NO ou NO<sub>2</sub> introduzido na posição 5.

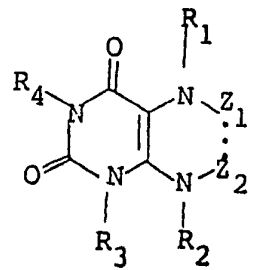


O presente invento diz respeito a derivados de pirimidiona-2,4 e aos medicamentos que os contêm.

Estes compostos apresentam nomeadamente uma actividade anti-radicaes e são inibidores de peroxidacão dos lípidos das membranas biológicas.

É sabido que o ácido úrico e alguns dos seus derivados N-metilados retêm os radicaes livres in vitro e pôs-se a hipótese, no Pro. Natl. Acad. Sci., E.U.A. 78 6858 (1981), do ácido úrico poder desempenhar, no homem, um papel protector contra a toxicidade dos radicaes oxigenados. Mas demonstrou-se que o ácido úrico não era activo senão sobre algumas destas espécies reactivas, uma vez que ele não inibe a peroxidacão dos lípidos membranários, contrariamente aos compostos do presente invento.

Estes compostos correspondem à fórmula

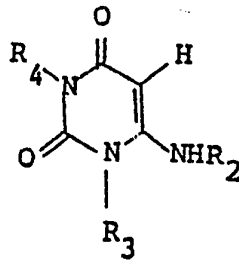


I

em que um dos símbolos R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> ou R<sub>4</sub> representa um grupo alquilo C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub> e os outros representam cada um H ou um grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> e Z<sub>1</sub> e Z<sub>2</sub> representam cada um H ou representam em conjunto o grupo carbonilo ou tiocarbonilo, entendendo-se que um dos símbolos R<sub>3</sub> ou R<sub>4</sub> é diferente de H quando R<sub>1</sub> representa n-dodecilo, assim como os sais de adicão de ácidos destes compostos com os ácidos minerais e orgânicos farmacêuticamente aceitáveis.

Os compostos de fórmula I podem ser preparados da maneira que se segue:

1) Introduce-se um grupo amina  $\text{NR}_1\text{Z}_1$  na posição 5 de um composto de fórmula



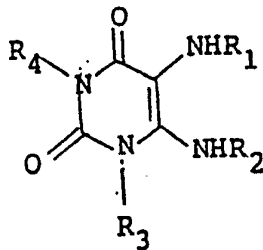
V

- quer por redução de um grupo  $\text{NO}$  ou  $\text{NO}_2$  introduzido na posição 5, respectivamente por nitroação ou nitração deste composto (V) para se obter os compostos em que  $\text{Z}_1 = \text{R}_1 = \text{H}$

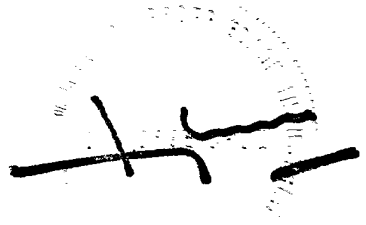
- quer por acção de  $\text{HNR}_1\text{Z}_1$  sobre o derivado bromado na posição 5, obtido por bromação deste composto (V) para se obter os compostos em que  $\text{Z}_1 = \text{H}$  e  $\text{R}_1$  representa alquilo

e eventualmente, para se obter os compostos em que  $\text{Z}_1$  e  $\text{Z}_2$  representam em conjunto o grupo carbonilo ou tiocarbonilo,

2) faz-se reagir respectivamente a ureia ou a tioureia sobre o composto de fórmula



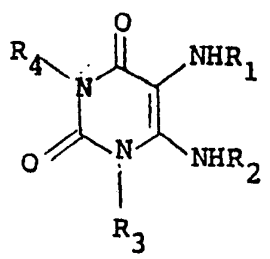
II



eventualmente por intermédio do carbonato na posição 5 quando  $R_1$  representa alquilo e  $R_2$  representa H.

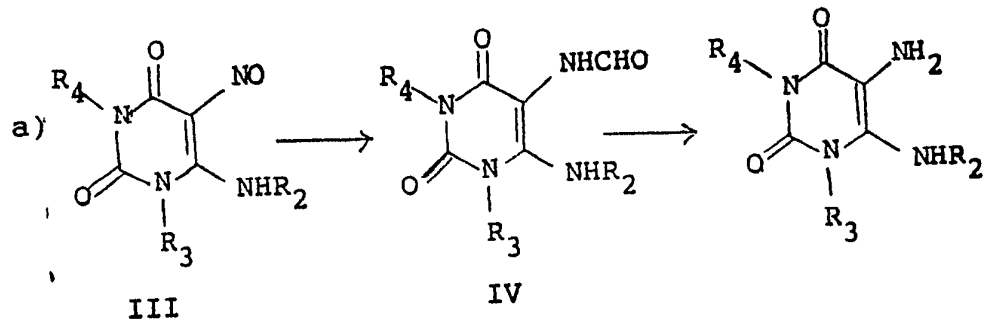
Este processo é explicado a seguir de maneira mais detalhada.

Os compostos de fórmula II



II

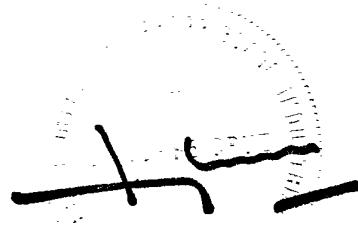
em que  $R_1$  representa H e  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  são tal como na fórmula I e podem ser preparados a partir dos derivados de fórmula III, quer por intermédio da formamida (IV) segundo o esquema de reacção (a)



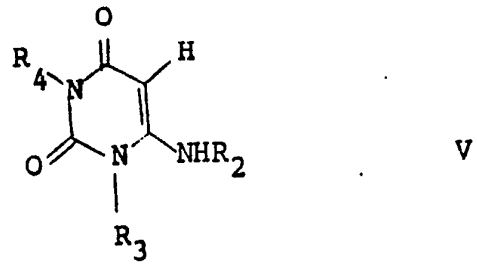
quer directamente por hidrogenação catalítica ou por acção de uma ditionite alcalina em meio aquoso ou na formamida.

A formamida (IV) é obtida, por exemplo, por acção do zinco ou de ditionite alcalina e de ácido fórmico.

Certos derivados da fórmula III são conhecidos; os outros poderão ser preparados, de maneira conhecida em si, por

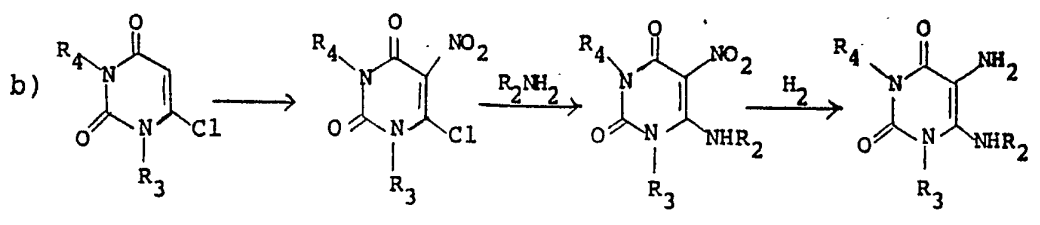


acção de um nitrito de alquilo, tal como o nitrito de isoamilo, ou de um nitrito alcalino sobre as pirimidinodionas de fórmula V



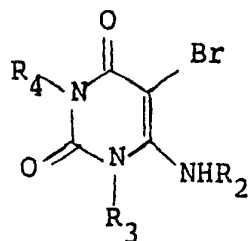
em que  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  são tal como na fórmula I.

Os compostos de fórmula II em que  $R_1$  representa H podem também ser preparados a partir de cloro-6 pirimidinodionas-2,4 de acordo com o esquema de reacção (b)



aplicando métodos clássicos, como é descrito em Liebigs Ann Chem. 677 pg 113 (1964).

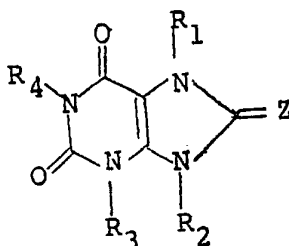
Os compostos de fórmula II em que  $R_1$  é um grupo alquilo são preparados por acção da amina  $R_1NH_2$  sobre o derivado bromado de fórmula VI



VI

em que  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  são tal como na fórmula I. O derivado (VI) é obtido por acção do bromo no ácido acético ou da bromo-succinimida numa mistura de ácido e de anidrido acético sobre o composto (V), tal como foi descrito em Liebigs Ann. Chem. pg. 1847-54 (1979); quando  $R_3$  representa H é preferível, antes de se efectuar a bromação, proteger o azoto, por exemplo por meio de um grupo benzilo, que será eliminado por hidrogenação catalítica após reacção com  $R_1NH_2$ .

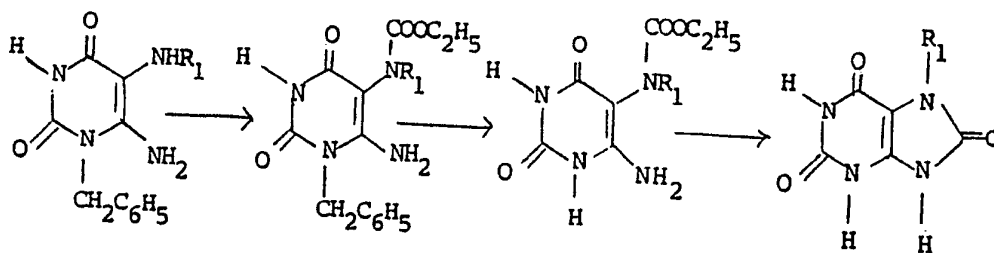
Os compostos de fórmula VII



em que  $R_1$  a  $R_4$  são tal como na fórmula I e Z é O ou S, podem ser preparados por acção da ureia ou da tioureia sobre as diaminopirimidinodionas de fórmula II, aplicando o método descrito em Liebigs Ann. Chem. pg. 2030 (1974) para os produtos em que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  = H ou  $CH_3$ .

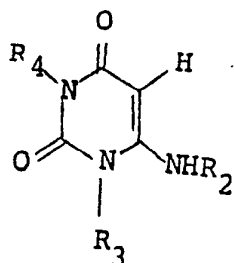
Quando  $R_1$  representa um grupo alquilo, prepara-se de preferência o composto de fórmula VII, aplicando-se um processo

descrito em Liebigs Ann. Chem. pg. 1847-54 (1979) para um composto II em que  $R_1 = CH_3$ . Para o composto em que  $R_2 = R_3 = R_4 = H$  é necessário bloquear o azoto contendo  $R_3$ , sendo o esquema da reacção o seguinte:



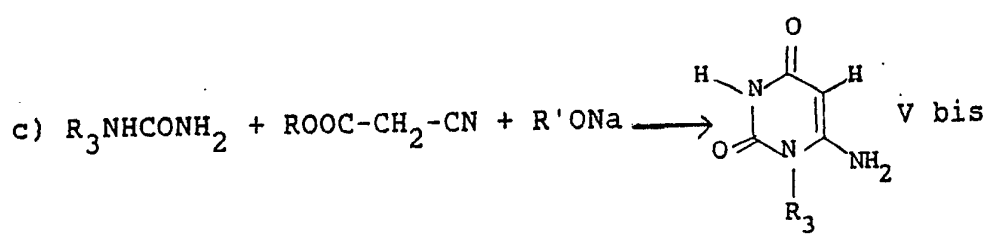
O carbamato é preparado de maneira clássica por acção de um cloroformiato de alquilo sobre o composto (II) em que  $R_2 = H$ ,  $R_3 = CH_2C_6H_5$  e  $R_4 = H$ , na presença de uma base, enquanto que a ciclização é efectuada por aquecimento prolongado em meio básico num solvente polar, por exemplo um álcool, ou sem solvente num tubo selado em presença de alcoolato de sódio, tal como se descreve em Liebigs Ann. Chem., pg. 1847 (1979).

As amino-6 pirimidinodionas de partida (V), podem ser preparadas por processos cujos princípios são conhecidos e que foram descritos nomeadamente para compostos em que  $R_2$ ,  $R_3$  ou  $R_4$ , idênticos ou diferentes, representam H ou  $CH_3$ . Assim os compostos de fórmula V



V

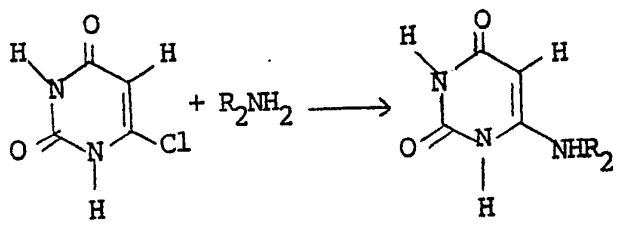
em que  $R_3$  é diferente de H e  $R_2 = R_4 = H$ , são preparados pelo processo descrito em J. Am. Chem. Soc., 63 2567 (1941), num álcool segundo o esquema de reacção (c):



em que R, R' representam um grupo alquilo  $C_1 - C_4$ .

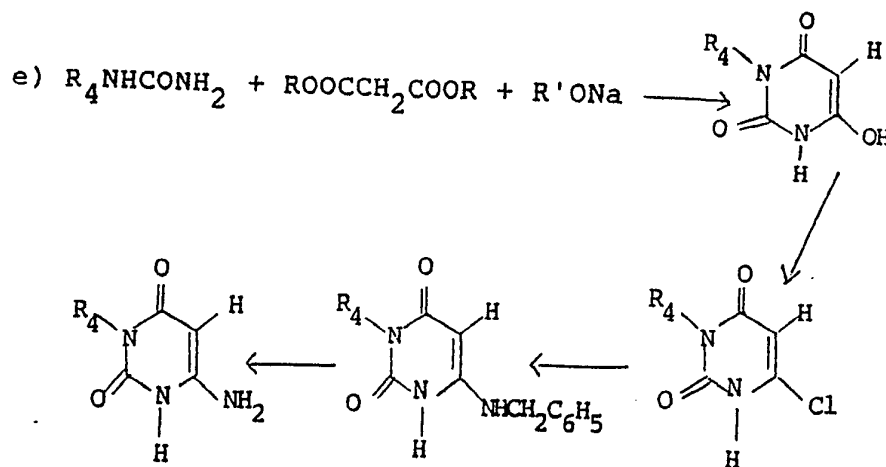
Para se obter os compostos (V) em que  $R_3$  e  $R_4$  são diferentes de H, trata-se o composto de fórmula V bis, em meio básico, com um composto  $R_4X$  em que X representa um átomo de halogéneo ou, quando  $R_4$  representa  $CH_3$ , de preferência com  $(CH_3)_2SO$ .

Os compostos de fórmula V em que  $R_3$  e  $R_4$  representam H são preparados por acção sobre a cloro-6 pirimidinodiona, composto conhecido, de  $R_2NH_2$  em meio ácido segundo o esquema de reacção (d):



tal como foi descrito, por exemplo, em J. Med. Chem. 20 pg. 1189 (1977), ou por fusão do composto (V) em que  $R_2 = R_3 = R_4 = H$  com  $R_2NH_2$  em presença de  $R_2NH_2, HCl$ .

Os compostos de fórmula V em que  $R_2$  e  $R_3$  representam H são preparados pelo processo descrito em Liebigs Ann. Chem. 531 pg. 168 (1950) de acordo com o esquema de reacção (e)



em que R e R' representam cada um um grupo alquilo em  $C_1 - C_4$ , aplicando o método descrito em Liebigs Ann. Chem. 512 pg. 158 (1958).

Os sais dos compostos de fórmula I que contém funções amina são preparados por acção de pelo menos um equivalente do ácido sobre a amina em solução; são isolados por precipitação ou por evaporação do solvente e purificados por recristalização se for caso disso.

As composições farmacêuticas e os medicamentos tendo por princípio activo pelo menos um dos compostos de fórmula I, ou um dos seus sais com um ácido farmacêuticamente aceitável, constituem um outro objecto do invento; preferem-se

particularmente os compostos em que um dos símbolos  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  ou  $R_4$  represente um grupo alquila  $C_{12} - C_{20}$ .

A presença de radicais livres em quantidade excessiva foi posta em evidência em numerosos estados patológicos e ficou agora praticamente demonstrado que as destruições dos tecidos observadas na artrite reumatóide, nas doenças auto-imunes, nas sobrecargas de ferro, nas consequências das isquémias cerebrais e cardíacas e em certas patologias oculares dependem largamente da formação de radicais livres. Pode também encarar-se a possibilidade de administrar ao ser humano compostos que inibem a formação destas espécies muito reactivas, a título preventivo ou curativo, no tratamento das doenças atrás citadas, como provavelmente também nas doenças da idade avançada em que os radicais livres têm vindo a ser associados aos fenómenos degenerativos observados.

Sabe-se que entre os radicais livres, os que são derivados do oxigénio e, particularmente o radical hidroxilo  $OH^{\cdot}$ , desempenham um papel importante; se actualmente ainda é impossível medir directamente in vivo a concentração destas radicais, sabe-se como calculá-los, estudando a neutralização de diversas radicais livres, e sobretudo a peroxidação dos lípidos membranares, cuja consequência é, in vivo, a formação de aldeídos citotóxicos e a destruição das membranas celulares provocando um aumento da sua permeabilidade.

A acção anti-radicaís de um produto  $XH$  é correntemente determinada, in vitro, pela medida da neutralização do radical difenil-1,1, picril-2 hidrazilo ( $DPPH^{\cdot}$ ), estável a  $20^{\circ}C$ , pelo produto  $XH$  na reacção  $DPPH^{\cdot} + XH \longrightarrow DPPH_2 + X^{\cdot}$

O desaparecimento do radical DPPH<sup>•</sup> foi estudado por espectrofotometria a 517 nm, comprimento de onda em que o radical absorve fortemente a radiação contrariamente à molécula de hidrazina DPPH<sub>2</sub>. Este método é descrito, nomeadamente em "Free Radical in Biology & Medicine" 3 pg. 251-257 (1978) para o ácido úrico e para os seus derivados N-metilados.

Os compostos do invento são, neste ensaio, activos em doses comparáveis às do ácido úrico.

A inibição da peroxidação lipídica devida aos radicais livres oxigenados, peroxidação particularmente importante na presença do ferro, foi determinada in vitro pela medida da quantidade de aldeído malónico formado nas suspensões de mitocôndrias colocadas em presença de um gerador de iões super-óxidos tais como o ácido di-hidroxi-fumárico.

O ácido úrico é inactivo neste ensaio, enquanto que os compostos de acordo com o invento têm uma actividade próxima da dos amino-2 esteróides descritos em "Drugs of the future", volume 14 (2), 143-152, (1989) e nomeadamente da 21-14-(3-,6-bis(diethyl-amino)-2-piridinil)-1 piperazinil]-16 $\alpha$ -metilpregna-1,4,9(11-trieno-3,20-diona (composto A).

As composições farmacêuticas de acordo com o invento compreendendo como princípio activo pelo menos um dos compostos de fórmula I ou um dos seus sais com um ácido farmacêuticamente aceitável serão administradas no tratamento preventivo ou curativo dos fenómenos degenerativos ligados à presença de radicais livres, por via oral, parentérica ou transmucosa. As doses unitárias e diárias dependerão do composto, da natureza e da gravidade da doença, do peso e do estado do paciente, bem como da via de administração; de um modo geral, por via oral, a dose

unitária será no adulto de 1 mg a 500 mg, enquanto que por via intravenosa, ela será de 0,1 a 25 mg.

Descrevem-se a seguir exemplos de compostos do invento, seu processo de preparação e os resultados obtidos aquando do estudo das suas actividades anti-radicaes e anti-lipoperoxidante, assim como as do composto de referência A anteriormente citado.

Os resultados das análises centesimais dos compostos isolados são compatíveis com as suas fórmulas brutas; os pontos de fusão indicados são instantâneos. Os espectros RMN<sup>1</sup>H foram traçados em solução no dimetilulfóxido deuterado, tendo como padrão interno o tetrametilsilano.

Descrevem-se primeiro exemplos de preparação das amino-6 pirimidinas diona-2,4 de fórmula V.

A) Alquilamino-6 pirimidinodiona-2,4

i) (Fórmula V: R<sub>2</sub> = C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H)

Mantém-se a 160°C durante 3 horas uma mistura de 7,5 g de amino-6 pirimidinodiona-2,4, de 12 g de dodecilamina e de 12 g de cloridrato de dodecilamina. O meio a reacção é então levado até à temperatura ambiente antes da introdução de 100 ml de etanol. O sólido é isolado por filtração e depois colocado em suspensão durante alguns minutos em 100 ml de uma solução aquosa de NaOH 2N. O sólido restante é isolado em ácido acético. Obtém-se assim 7 g do produto pretendido que funde a mais de 250°C.

RMN(300 MHz) δ : 0,85 (t,3H); 1,25(m,18H); 1,50(m,2H); 2,98(q,2H); 4,37(s,1H); 5,98(t,1H); 9,78(s,1H); 10,07(s,1H).

ii) Prepara-se da mesma maneira a partir de hexadecil-  
amina o derivado de fórmula V em que  $R_2 = C_{15}H_{33}$ ,  $R_3 = H$ ,  $R_4 = H$ ,  
que funde a mais de 250°C.

B) Alquil-1 amino-6 pirimidinodiona-2,4

(Fórmula V:  $R_3 = C_{12}H_{25}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_4 = H$ )

Introduz-se numa solução de etilato de sódio preparada  
com 4 g de sódio em 100 ml de etanol, 17,6 g de cianacetato de  
etilo e 35 g de dodecilureia. O meio é mantido à sua temperatura  
de refluxo durante 7 horas, em seguida introduz-se, após retorno  
à temperatura ambiente, uma solução aquosa concentrada de HCl até  
um pH ácido e depois 200 ml de água. O precipitado formado é  
isolado por filtração e recristalizado em etanol. Isolam-se  
assim 29 g do produto pretendido o qual funde a mais de 250°C.

RMN(300 MHz)  $\delta$  : 0,87 (t,3H); 1,26(m,18H); 1,52(m,2H);  
3,73(t,2H); 4,58(s,1H); 6,69(m,2H).

C) Alquil-1 alquil-3 amino-6 pirimidinodiona-2,4

(Fórmula V:  $R_3 = C_{12}H_{25}$ ,  $R_2 = H$ ,  $R_4 = CH_3$ )

Coloca-se em suspensão em 10 ml de uma solução aquosa  
de NaOH e 10 ml de etanol, 2,95 g da amino-6 dodecil-1 pirimidi-  
nodiona-2,4 preparada em B e, a 60°C, introduz-se 1,3 g de  
( $CH_3$ )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Mantém-se o aquecimento até o pH do meio ser pratica-  
mente neutro; introduz-se então uma solução aquosa de NaOH N até  
se obter um pH básico e, após arrefecimento, extrai-se a solução  
com clorofórmio. A fase orgânica, lavada com água e seca é  
levada até à secura. Obtém-se, assim, 2,35 g do produto desejado  
que funde a 74°C.

D) Alquil-3 amino-6 pirimidinodiona-2,4

(Fórmula V:  $R_2 = H$ ,  $R_3 = H$ ,  $R_4 = C_{12}H_{25}$ )

a) Introduce-se em 150 ml de uma solução de etilato de sódio preparada com 3,5 g de sódio, 35 g de dodecilureia e 24,3 g de malonato de etilo; a mistura é mantida 8 horas à sua temperatura de refluxo, antes da adição, à temperatura ambiente, de uma solução aquosa de ácido clorídrico concentrada até a um pH ácido. O precipitado é então isolado por filtração, lavado com água e depois recristalizado em etanol. Obtém-se assim 30 g de dodecil-1-pirimidinotriona-2,4,6. p.F. = 129 - 130 °C

b) Coloca-se em suspensão 30 g do produto obtido em a) em 13,5 ml de água e adiciona-se gota a gota 102 ml de  $POCl_3$ . A mistura é em seguida mantida à sua temperatura de refluxo durante uma hora, e depois o excesso de  $POCl_3$  é destilado sob pressão reduzida. O resíduo é vertido sobre gelo moído e o precipitado formado é isolado. Depois de lavagem com água e recristalização numa mistura de água-etanol, obtém-se 20,5 g de cloro-6 dodecil-3-pirimidinodiona-2,4 que funde a 156-157°C.

c) Mantém-se a 170°C durante 1 hora uma mistura de 30 g do derivado clorado obtido de acordo com b) e 150 g de benzilamina. Depois de se ter lavado outra vez o meio para a temperatura ambiente, introduz-se 100 ml de água e isola-se o precipitado surgido. Depois de se ter lavado este com metanol e com éter etílico, recupera-se 25,13 g de benzilamino-6 dodecil-3-pirimidinodiona-2,4 que funde a 191°C.

d) Coloca-se em suspensão em 400 ml de etanol absoluto 25 g do composto obtido de acordo com c) e 4 g de paládio sobre carvão a 10%, num aparelho de hidrogenação em que se mantém

durante 6 horas uma pressão de hidrogénio de 3 MPa e uma temperatura de 80°C. O catalisador é eliminado por filtração da solução ainda quente antes de se evaporar o solvente sob pressão reduzida e o sólido residual é lavado com éter etílico. Isolam-se assim 17,02 g de amino-6 dodecil-3 pirimidinodiona-2,4 que funde a 242°C.

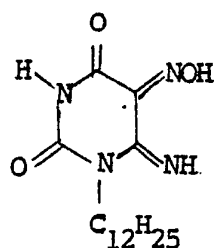
Descrever-se a seguir a preparação de compostos de fórmula III.

E) Amino-6 dodecil-1 nitroso-5 pirimidinodiona-2,4

(Fórmula III :  $R_2 = H$ ,  $R_3 = C_{12}H_{25}$ ,  $R_4 = H$ )

Introduzem-se gota a gota 5 ml de nitrito de isoamilo em 120 ml de etanol no qual se encontram em suspensão 5 g de amino-6 dodecil-1 pirimidinodiona-2,4 e, em seguida, 2 gotas de uma solução aquosa concentrada de HCl. Depois de 3 horas de agitação à temperatura ambiente, os cristais violeta que se formam são isolados e recristalizados em etanol. Obtém-se assim 4,35 g do produto desejado que funde a 205°C.

Este pode também ser representado pela forma tautomérica:



Aplicando o procedimento descrito em E, prepararam-se compostos cujas características são apresentadas no Quadro 1 que se segue:

	R <sub>2</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>4</sub>	F <sup>o</sup> C
F	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	CH <sub>3</sub>	158
G	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	H	H	168
H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H	H	173
I	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	230

EXEMPLO 1

Diamino-5,6 dodecil-1 metil-3 pirimidinodiona-2,4

(Fórmula I : Z<sub>1</sub> = Z<sub>2</sub> = H; R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>; R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>)

a) Numa solução levada até à sua temperatura de refluxo, de 4,35 g do composto do Exemplo C em 100 ml de ácido fórmico, adiciona-se em pequenas porções 4 g de zinco em pó; depois de 1 hora de refluxo, filtra-se a quente e evaporam-se os solventes do filtrado a pressão reduzida. Verte-se sobre o residuo 30 ml de CH<sub>3</sub>OH e isola-se o precipitado.

Obtém-se assim 3,65 g de amino-6 dodecil-1 formilamino-5 metil-3 pirimidinodiona-2,4 que funde a 215°C.

b) Dissolvem-se 3,63 g do composto obtido em a) em 100 ml de CH<sub>3</sub>OH, em que se introduziu ácido clorídrico gasoso

mediante um ligeiro borbulhar mantido durante 15 minutos. A solução é em seguida mantida durante 3 horas à temperatura de refluxo, depois arrefecida para 0°C. Filtra-se então o precipitado para isolar 3,21 g de monoclóridato do produto final que funde a 195°C.

Pode-se preparar a diamina tratando uma suspensão do seu cloridrato em CH<sub>3</sub>OH com uma solução aquosa concentrada de NH<sub>4</sub>OH.

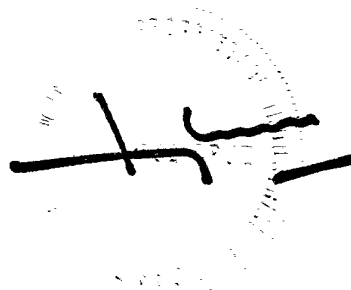
#### EXEMPLOS 2 a 8

Os compostos de fórmula I em que Z<sub>1</sub> = Z<sub>2</sub> = H, cujas características figuram no Quadro 2 que se segue, são preparados aplicando o processo do Exemplo 1.

Exemplo	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	F°C (mml)
2	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H	237
3	H	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	>250 (HCl)
4	H	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	H	H	242 (HCl)
5	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H	H	>200 (HCl)
6	H	H	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub>	H	>200 (HCl)
7	H	H	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	H	>250 (HCl)
8	H	H	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	H	>200 (HCl)

RMN EX 7 : (500 MHz) δ : 0,84(t,3H); 1,25(m,14H); 1,51(m,2H); 3,81(t,2H); 7,72(s,2H); 9,75(s,3H); 11,10(s,1H).

EX 8 : (250 MHz) δ : 0,85(t,3H); 1,25(m,10H); 1,49(m,2H); 3,80(t,2H); 7,81(s,2H); 9,46(s,3H); 11,13(s,1H).



EXEMPLOS 9 e 10

Dodecil-3 metil-1 [1H,3H,9H] purinotriona-2,6,8

(Fórmula I :  $Z_1$  e  $Z_2 = CO$ ;  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = C_{12}H_{25}$ ;  $R_4 = CH_3$ )

Mantém-se a 180°C durante 1 hora uma mistura de 800 mg do composto obtido no Exemplo 1 com 1 g de ureia. Verter-se à temperatura ambiente 20 ml de água no meio da reacção; o sólido é isolado, lavado com etanol e recristalizado no ácido acético. Isola-se assim 680 mg do produto pretendido que funde a 265°C.

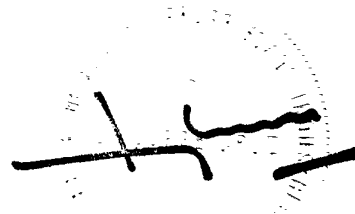
RMN (250 MHz)  $\delta$  : 0,85(t,3H); 1,24(m,18H); 1,56(m,2H); 3,19(s,3H); 3,77(t,2H); 10,79(s,1H); 11,89(s,1H).

Aplicando o mesmo procedimento com a tioureia obtém-se a octil-3[1H,3H,9H]purinodiona-2,6-tiona-8 ; F > 250°C.

RMN (90 MHz)  $\delta$  : 0,85(t,3H); 1,24(m,12H); 3,87(t,2H); 11,24(s,1H); 12,98(s,1H); 13,47(s,1H).

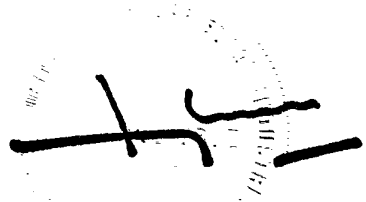
EXEMPLOS 11 e 15

Os compostos de fórmula I em que  $Z_1, Z_2$  representam C=O, cujas características figuram no Quadro 3, foram preparados aplicando o processo posto em prática no Exemplo 9.



Exemplo	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	F <sup>o</sup> C
11	H	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	>250
12	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H	H	>250
13	H	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub>	H	H	>250
14	H	H	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	H	>250
15	H	H	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	H	>250
16	H	H	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	H	>250

cujos RMN figurem no Quadro 4.



QUADRO 4

Exemplo	frequência	δ
11	300 MHz	0,86(t,3H); 1,25(m,18H); 1,52(m,2H); 3,70(t,2H); 10,77(s,1H); 11,03(s,1H); 11,83(s,1H)
12	300 MHz	0,85(t,3H); 1,25(m,18H); 1,51(m,2H); 3,63(t,2H); 10,82(s,1H); 10,86(s,1H); 12,00(s,1H)
13	250 MHz	0,84(t,3H); 1,22(m,26H); 1,51(m,2H); 3,62(t,2H); 10,78(s,1H); 10,81(s,1H); 11,98(s,1H)
14	250 MHz	0,85(t,3H); 1,22(m,18H); 1,48(m,2H); 3,73(t,2H); 10,54(s,1H); 11,35(s,1H); 12,03(s,1H)
15	250 MHz	0,85(t,3H); 1,25(m,10H); 1,53(m,2H); 3,71(t,2H); 10,76(s,1H); 11,01(s,1H); 11,85(s,1H)
16	500 MHz	0,84(t,3H); 1,25(m,14H); 1,51(m,2H); 3,81(t,2H); 10,71(s,1H); 10,98(s,1H); 11,82(s,1H)

EXEMPLO 17

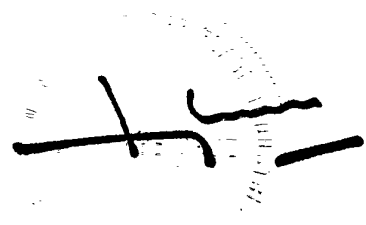
Dodecil-7 [1H,3H,9H] purinotricina-2,6,8

(Fórmula I :  $Z_1$  e  $Z_2 = CO$ ;  $R_1 = C_{12}H_{25}$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = H$ )

a) Mantém-se 3 horas à sua temperatura de refluxo uma suspensão de 5,12 g de amino-6 benzil-1 bromo-5 pirimidinodiona-2,4, 11,1 g de dodecilaмина e 100 ml de n-butanol. O solvente é em seguida eliminado sob pressão reduzida, vertendo-se em seguida 50 ml de etanol sobre o residuo e isolando-se o produto formado. Obtém-se assim 4,2 g de amino-6 benzil-1 dodecilaamina-5 pirimidinodiona-2,4 que funde a 151°C.

b) Mantém-se durante 2 horas sob agitação, à temperatura ambiente, 2 g do produto obtido de acordo com a), 1 g de  $K_2CO_3$  seco e 1 g de cloroformiato de etilo em 20 ml de dimetilformamida, antes de introduzir 200 ml de cloroformio. A fase orgânica é lavada com água de pH 5-6, e depois seca e concentrada. O residuo é cromatografado sobre uma coluna de gel de silício eluindo com uma mistura de  $CH_3OH/CHCl_3$  (5% - v/v). Isolam-se assim 1,54 g de amino-6 benzil-1 (N-dodecil-N-etoxicarbonil)amino-5 pirimidinodiona-2,4 que funde a 196°C.

c) Introduce-se num aparelho de hidrogenar 100 ml de etanol, 5 g do produto obtido de acordo com b), 10 ml de uma solução aquosa concentrada de  $NH_4OH$  e 0,3 g de paládio sobre carbono a 10%. A hidrogenação é efectuada à pressão ordinária e a 50°C. Quando a quantidade teórica de hidrogénio foi consumida adicionam-se 400 ml de etanol à temperatura de cerca de 50°C e filtra-se o catalisador a cerca de essa temperatura. O solvente é eliminado até deixar um volume residual de 20 ml. O precipitado que aparece aquando do arrefecimento é isolado. Obtém-se



assim 3,84 g de amino-6 (N-dodecil N-etoxicarbonil)-amino-5 pirimidinodiona-2,4 que funde a mais de 250°C.

d) Introduce-se 3,5 g do produto obtido de acordo com c) em 100 ml de uma solução de etilato de sódio, preparada com 2,3 g de sódio e mantém-se a solução durante 4 dias à sua temperatura de refluxo. O solvente é então destilado e o resíduo colocado em suspensão em 20 ml de água. A fase aquosa é acidificada por adição de uma solução aquosa concentrada de ácido clorídrico antes da filtração do precipitado formado.

Este é recristalizado em ácido acético. Obtém-se assim 1,56 g de purinotriona pretendida que funde a mais de 280°C.

RNN (300 MHz)  $\delta$  : 0,86(t,3H); 1,27(m,18H); 1,53(m,2H); 3,78(t,2H); 10,43(s,1H); 11,28(s,2H).

EXEMPLO 18

Amino-6 dodecilamino-5 pirimidinodiona-2,4

(Fórmula I :  $Z_1$  e  $Z_2 = H$ ;  $R_1 = C_{12}H_{25}$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = H$ )

Coloca-se 1 g do composto obtido no Exemplo 17 a) em solução em 50 ml de etanol. Adicionam-se 100 mg de Pd/C a 10% e efectua-se uma hidrogenação com  $H_2$  a 50°C sob pressão atmosférica, até ter sido consumida a quantidade teórica de hidrogénio. O catalisador é separado por filtração a quente e o solvente é eliminado sob pressão reduzida até a um volume de cerca de 15 ml. O precipitado formado é recristalizado em etanol. Isolam-se assim 510 mg do produto pretendido que funde a mais de 250°C

RMN (500 MHz)  $\delta$  : 0,86(t,3H); 1,27(m,18H); 1,48(m,2H);  
2,62(t,2H); 3,32(m,1H); 5,67(s,2H); 9,80(s,1H); 10,09(s,1H).

#### EXEMPLO 19

Amino-5 octadecilamino-6 metil-3 pirimidinodiona-2,4

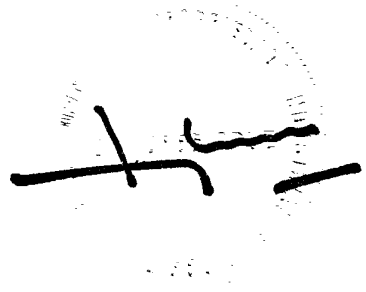
(Fórmula I :  $Z_1$  e  $Z_2 = H$ ;  $R_1 = H$ ;  $R_2 = C_{18}H_{37}$ ;  $R_3 = H$ ;  $R_4 = CH_3$ )

a) Introduz-se por fracções 2,05 g de cloro-6 metil-3 nitro-5 pirimidinodiona-2,4 resultante da nitração da cloro-6 metil-3 pirimidinodiona-2,4 de acordo com um processo descrito em Liebigs Ann. Chem. 577 (1964), numa solução de 3 g de octadecilamina e de 1 g de trietilamina em 20 ml de etanol. A solução é mantida 20 minutos à sua temperatura de refluxo e depois neutralizada através da adição de ácido acético. O precipitado formado é lavado com água e recristalizado em etanol.

Isolam-se assim 2,11 g de octadecilamino-6 metil-3 nitro-5 pirimidinodiona-2,4 que funde a 130°C.

O produto assim obtido é dissolvido em 50 ml de ácido fórmico e introduz-se o meio em pequenas porções de 2 g de zinco em pó; depois de 1 hora de refluxo filtra-se a quente e evaporam-se os solventes do filtrado sob pressão reduzida. O resíduo é cristalizado com 15 ml de metanol. Obtém-se assim 1,8 g de formamido-5 octadecilamino-6 metil-3 pirimidinodiona-2,4 que funde a 196°C.

c) A formamida atrás obida é tratada com HCl em metanol como no Exemplo 1-b).



Obtém-se deste modo o cloridrato do produto pretendido que funde a 187°C.

RMN (250 MHz)  $\delta$  : 0,89(t,3H); 1,27(m,30H); 1,55(m,2H); 3,15(s,3H); 3,32(m,2H); 7,66(s,1H); 10,40(s,3H).

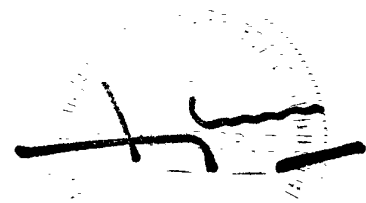
A actividade anti-radicaes destes compostos foi determinada do modo que se segue: introduz-se em 970  $\mu$ l de uma mistura de metanol e de uma solução aquosa tamponada com TRIS (trometamina), HCl (10 mM-pH 7,4) à razão de 1 volume de metanol por 2 de tampão, 20  $\mu$ l de uma solução de DFPH 1 mM e 10  $\mu$ l de uma solução do produto a testar em dimetilsulfóxido. A mistura é mantida 20 minutos a 20°C antes de se determinar a densidade óptica a 517 nm relativamente a uma mistura testemunha para a qual o produto a testar não foi introduzido em dimetilsulfóxido.

A percentagem P de retenção do radical livre é definida como uma relação das densidades ópticas D

$$P = \frac{D(\text{produto}) - D(\text{testemunha})}{D(\text{testemunha})} \times 100$$

A concentração eficaz 50 ( $CE_{50}$ ), aquela para a qual P = 50, é calculada na base dos resultados das medidas efectuadas com 4 concentrações diferentes numa gama de 10 em redor da  $CE_{50}$ .

No Quadro 5 figuram as  $CE_{50}$  para compostos de acordo com o invento, bem como para o ácido úrico e seus derivados N-metilados e para o produto A.



QUADRO 5

PRODUTO	CE <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	PRODUTO	CE <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
ácido úrico	4,5	exemplo 11	5,2
ácido úrico CH <sub>3</sub> -1	4,5	12	6,2
CH <sub>3</sub> -8	3,2	13	4,5
CH <sub>3</sub> -7	20	14	3,2
CH <sub>3</sub> -9	5,2		
A	4	15	4
exemplo 1	5	16	3,4
2	7	17	27
3	5,5	18	4,5
4	6,4	19	6,2
5	6,4		
6	6,5		
7	5,6		
8	6,5		
9	2,7		
10	6,5		

A actividade inibidora da peroxidacão dos lípidos membranários dos compostos foi determinada do modo que se segue:

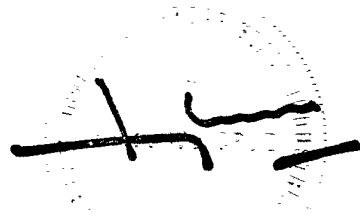
a) Preparacão das mitocôndrias

Extrai-se um coração de boi imediatamente após o abate do animal e arrefere-se o mesmo a 4°C, temperatura à qual serão efectuadas todas as operações seguintes. O coração é

lavado com uma solução aquosa tampão de pH 7,4 (TRIS, HCl 10 mM, EDTA 2 mM, KCl 20 mM) e em seguida os tecidos conjuntivos e as gorduras são eliminados. O músculo é então picado e esse material picado é suspenso numa solução aquosa tampão de pH 7,4 (TRIS, HCl 10 mM, sacarose 250 mM, EDTA 1 mM) à razão de 700 g de músculo por 3 litros. O pH da suspensão é reajustado para 7,4, regularmente, antes de se isolar para filtração sobre uma gaze o material picado. Esse material é seguidamente colocado de novo em suspensão em 3 litros do segundo tampão e a suspensão é moída antes de ser centrifugada durante 20 minutos a 1000 g, sendo depois o sobrenadante centrifugado 15 minutos a 17000 g. O resíduo da centrifugação é lavado várias vezes com uma solução tampão de pH 7,4 (TRIS, HCl 15 mM, sacarose 250 mM) com separação por centrifugação da solução de lavagem, preparando-se finalmente uma solução homogênea de mitocôndrias nesse mesmo tampão de 50 mg de proteínas/ml que será conservada congelada em gotículas, em azoto líquido. Após a descongelação os controles respiratórios realizados através da medida das velocidades de consumo de oxigénio em presença ou não de ADP para os substratos succinato e glutamato/malato, são 80% dos obtidos antes da congelação, vários meses após a preparação das mitocôndrias.

#### b) Lipoperoxidação

Dispersa-se a 4°C uma fracção de mitocôndrias desconge-  
ladas numa solução aquosa tamponada de pH 7,4 (TRIS, HCl 30mM  
contendo KCl 140 mM), para se obter uma concentração de proteínas  
de 0,37 mg/ml; introduz-se em 960 µl dessa suspensão 10 µl duma  
solução de ácido di-hidroxi-fumárico 100 mM cujo pH foi ajustado  
para um pH de 7,4, 2 µl duma solução do produto a testar em  
solução em dimetilsulfóxido (DMSO) e 30 µl de uma solução de  
 $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  1 mM, conservada ao abrigo do oxigénio e da luz.



A amostra testemunha contém o DMSO sem o produto a testar enquanto que o placebo não contém nem ácido difumárico, nem ferro.

Após uma primeira retirada de uma porção de 100 µl, as amostras são mantidas a 37°C sob ligeira agitação e as retiradas de 100 µl são efectuadas passados 20 e 40 minutos.

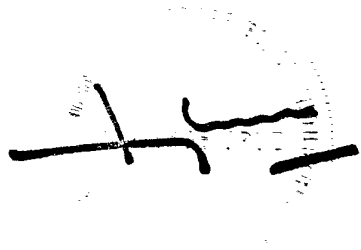
Cada retirada de produto é introduzida imediatamente em 1,5 ml de uma solução de ácido tricloroacético a 13,5% (p/v) e de ácido tiobarbitúrico a 0,33% (p/v) numa solução aquosa de ácido clorídrico 0,85 N e os recipientes são fechados e depois levados até 100°C durante 15 minutos, antes de serem arrefecidos até à temperatura ambiente no espaço de 5 minutos. Adiciona-se então 1 ml de uma solução aquosa de ácido tricloroacético a 70% (p/v) antes de se efectuar a medição espectrométrica, com um comprimento de onda de excitação de 515 nm e de emissão de 553 nm.

Uma gama padrão de malonaldeído bis-(diethylacetal) diluído numa solução aquosa de HCl 0,1 N permite calcular a que concentração de aldeído corresponde cada intensidade de fluorescência  $I$ .

Nas condições experimentais determinou-se

$$I = 1,39 \\ C \text{ (nmole)} = \frac{\quad}{35,5}$$

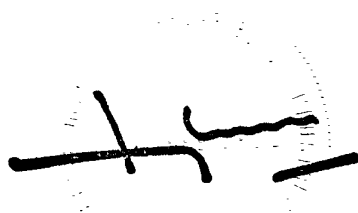
e, por consequência, a percentagem de inibição de peroxidação  $I$  pode ser calculada pela fórmula



$$I = \frac{(i - 1,89)\text{testemunha} - (i - 1,89)\text{ensaio}}{(i - 1,89)\text{testemunha} - (i - 1,89)\text{placebo}} \times 100$$

A concentração inibindo 50% do sinal  $CI_{50}$ , isto é, aquela para a qual  $I = 50$ , é calculada depois das medidas efectuadas com 4 concentrações diferentes do produto a testar numa gama de 10 em redor da  $CI_{50}$ .

Os resultados obtidos são indicados no Quadro 6. O ácido úrico não inibe a formação de malonaldeído a uma concentração inferior a 100  $\mu\text{M}$ ; os seus derivados N-metilados são pouco activos; para o mais activo  $I = 35$  à concentração de 100  $\mu\text{M}$ .

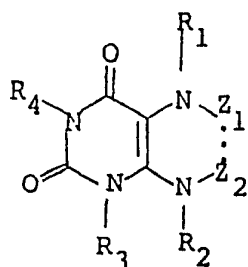


QUADRO 6

exemplo	CI <sub>50</sub> (µM)	exemplo	CI <sub>50</sub> (µM)
A	0,7	11	1,25
1	0,24	12	0,3
2	0,27	13	0,9
3	0,26	14	1,6
4	0,9		
5	0,3	15	28
6	3,5	16	3,7
7	0,28	17	1,6
8	0,62	18	0,57
9	0,85	19	20
10	25		

Reivindicações

18 - Processo para a preparação de um composto de fórmula:

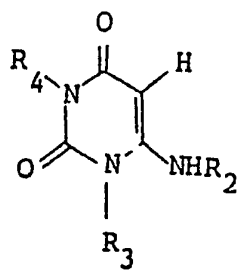


I

em que um dos símbolos R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> ou R<sub>4</sub> representa um grupo alquilo C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub> e os outros representam cada um H ou um grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> e Z<sub>1</sub> e Z<sub>2</sub> representam cada um H ou representam em conjunto o grupo carbonilo ou tiocarbonilo, entendendo-se que quando R<sub>1</sub> representa o grupo n-dodecilo, um dos símbolos R<sub>3</sub> ou R<sub>4</sub> é diferente de H,

e os seus sais de adição, com um ácido farmacêuticamente aceitável, caracterizado por:

1) se introduzir um grupo amino NR<sub>1</sub>Z<sub>1</sub> na posição 5 de um composto de fórmula:

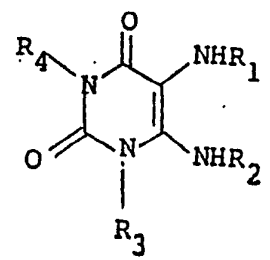


V

- quer por redução de um grupo NO ou NO<sub>2</sub> introduzido na posição 5 respectivamente por nitrosação ou nitração do referido composto (V) para se obter os compostos em que Z<sub>1</sub> = R<sub>1</sub> = H

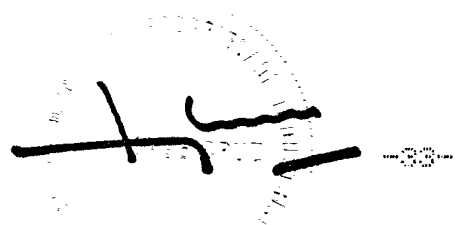
- quer por acção de NHR<sub>1</sub>Z<sub>1</sub> sobre o derivado bromado na posição 5, obtido por bromação do referido composto (V) para se obter os compostos em que Z<sub>1</sub> = H e R<sub>1</sub> representa alquilo e eventualmente, para se obter os compostos em que Z<sub>1</sub> e Z<sub>2</sub> representam em conjunto o grupo carbonilo ou tiocarbonilo,

2) se fazer reagir respectivamente a ureia ou a tioureia sobre o composto de fórmula:



II

eventualmente por intermédio do carbamato na posição 5 quando R<sub>1</sub> representa alquilo e R<sub>2</sub> representa H.



2a - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por, além disso, se salificar os compostos de fórmula I em que  $Z_1$  e  $Z_2$  representam H, por acção de um ácido farmacologicamente aceitável.

3a - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por um dos símbolos  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  ou  $R_4$  representar um grupo alquilo  $C_{12}-C_{20}$ .

4a - Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, para se preparar um composto de fórmula I em que  $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $R_1$  representam H, caracterizado por se fazer reagir um reagente de nitrosação sobre o composto de fórmula V e por se reduzir por hidrogenação catalítica o composto obtido.

5a - Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, para se preparar um composto de fórmula I em que  $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $R_1$  representam H, caracterizado por se fazer reagir um reagente de nitrosação sobre o composto de fórmula V e por se reduzir o derivado nitroso obtido por intermédio de uma formamida.

6a - Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, para se preparar um composto de fórmula I em que  $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $R_1$  representam H, caracterizado por se efectuar uma nitração do composto de fórmula V seguida de uma redução do composto obtido.

7a - Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, para se preparar um composto de fórmula I em que  $Z_1$ ,  $Z_2$  representam H e  $R_1$  um grupo alquilo, caracterizado por se efectuar uma bromação do composto de fórmula V e por se fazer reagir uma amina de fórmula  $H_2NR_1$  sobre o composto obtido.