

**(11) Número de Publicação: PT 532027 E**

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

C07D217/08	A	C07D221/20	B
C07D209/44	B	C07D223/16	B
A61K031/47	B	A61K031/40	B

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

**(22) Data de depósito:** 1992.09.11

**(73) Titular(es):**

MERRELL PHARMACEUTICALS INC.  
2110 EAST GALBRAITH ROAD P.O. BOX 156300 CINCINNATI, OH  
45215-6300 US

**(30) Prioridade:** 1991.09.12 US 758063  
1992.01.30 US 828075

**(72) Inventor(es):**

ALBERT ANTHONY CARR  
RONALD CHARLES BERNOTAS  
GEORGE KU  
CRAIG EUGENE THOMAS

US  
US  
US  
US

**(43) Data de publicação do pedido:**  
1993.03.17

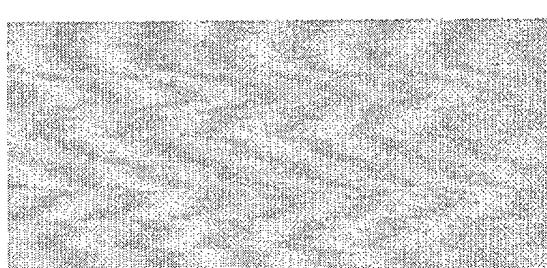
**(74) Mandatário(s):**

JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO  
RUA DO SALITRE, 195 R/C DTO 1250 LISBOA

PT

**(54) Epígrafe:** NITRONAS CÍCLICAS SUA PREPARAÇÃO E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE AS CONTÊM

**(57) Resumo:**



**Descrição****"Nitronas cílicas, sua preparação e composições farmacêuticas que as contêm"**

A presente invenção visa uma nova classe de nitronas cílicas e as composições farmacêuticas que as contêm, utilizáveis para a prevenção de lesões oxidativas dos tecidos perpetradas por radicais livres à base de oxigénio e para o tratamento de diversas doenças nas quais os radicais com oxigénio danificam ou destroem tecidos por oxidação. Um outro aspecto da presente invenção visa a sua utilização como inibidores da interleucina-1.

As moléculas que contêm electrões desemparelhados são designadas por radicais livres. Os radicais livres são extremamente reactivos. A redução parcial do oxigénio, realizada pelos sistemas biológicos dos mamíferos, produz os radicais superóxido e hidroxilo livres. Também é produzido o produto da redução de dois electrões do oxigénio, o peróxido de hidrogénio, mas este produto não contém nenhuns electrões desemparelhados. No entanto, este produto é normalmente um precursor do radical hidroxilo que é o mais reactivo dos três. O radical hidroxilo livre reage praticamente com qualquer biomolécula. Como exemplos de tais biomoléculas refere-se os ácidos nucleicos, os lípidos e as proteínas. O radical livre oxida a biomolécula, quer extraíndo o átomo de hidrogénio da biomolécula quer juntando-se ele mesmo directamente à molécula. Esta oxidação realizada pelo radical hidroxilo livre transforma a biomolécula num radical que irá reagir facilmente com o oxigénio molecular, formando assim o produto designado por radical livre peroxilo. O radical peroxilo resultante reage com outra biomolécula produzindo um radical livre que também irá ser transformado num outro radical peroxilo, conforme descrito antes. A presença inicial do radical oxigénio livre dá início à

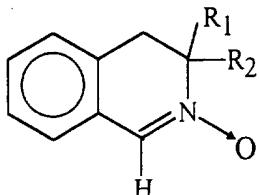
reacção em cadeia em que são oxidadas diversas biomoléculas no organismo. Ao oxidarem os lípidos, estes radicais livres podem afectar as membranas celulares, a sua permeabilidade, os canais iónicos e a função da célula. Ao oxidarem as proteínas, podem alterar as enzimas, a função muscular e os nervos. Ao oxidarem os ácidos nucleicos, podem afectar o ADN, o ARN e os seus produtos de expressão.

Pesquisas efectuadas recentemente indicaram que os níveis excessivos destes radicais livres com oxigénio estão associados às lesões teciduais que ocorrem em diversas doenças, tais como a apoplexia, o enfarte do miocárdio, a demência senil e o choque. Pesquisas efectuadas recentemente indicaram também que é possível utilizar agentes retentores do momento cinético total para interromper a cascada de reacções, descrita antes, e assim evitar ou minimizar quaisquer lesões teciduais. Os radicais livres com oxigénio e os radicais centrados no carbono reagem com o agente retentor do momento cinético total mais facilmente do que com uma biomolécula. A reacção com o agente retentor do momento cinético total irá dar origem à formação de um aducto de radicais estáveis e interromper assim a reacção em cadeia que está tipicamente associada aos radicais com oxigénio. A maior parte das lesões de tecidos resulta da reacção em cadeia iniciada pelo radical com oxigénio e não da reacção com o próprio radical com oxigénio.

O mecanismo de acção pelo qual os radicais com oxigénio provocam lesões teciduais, e bem assim a utilização de agentes retentores do momento cinético total para evitar estas lesões, foi minuciosamente descrito por Floyd em 'FASEB Journal', Vol. 4, página 2588 (1990).

O documento Pat. Abs. Jap., 12 (1988) nº 283 (C-518, 3130), descreve a síntese de nitronas. O documento WO-A-9105552 descreve nitronas monocíclicas e cíclicas. O documento US-A-3044930 descreve N-óxidos de compostos heterocíclicos que contêm átomos de azoto.

De acordo com a presente invenção, foi descoberta uma nova classe de agentes retardadores do momento cinético total, os quais podem ser descritos pela seguinte fórmula estrutural



Fórmula I

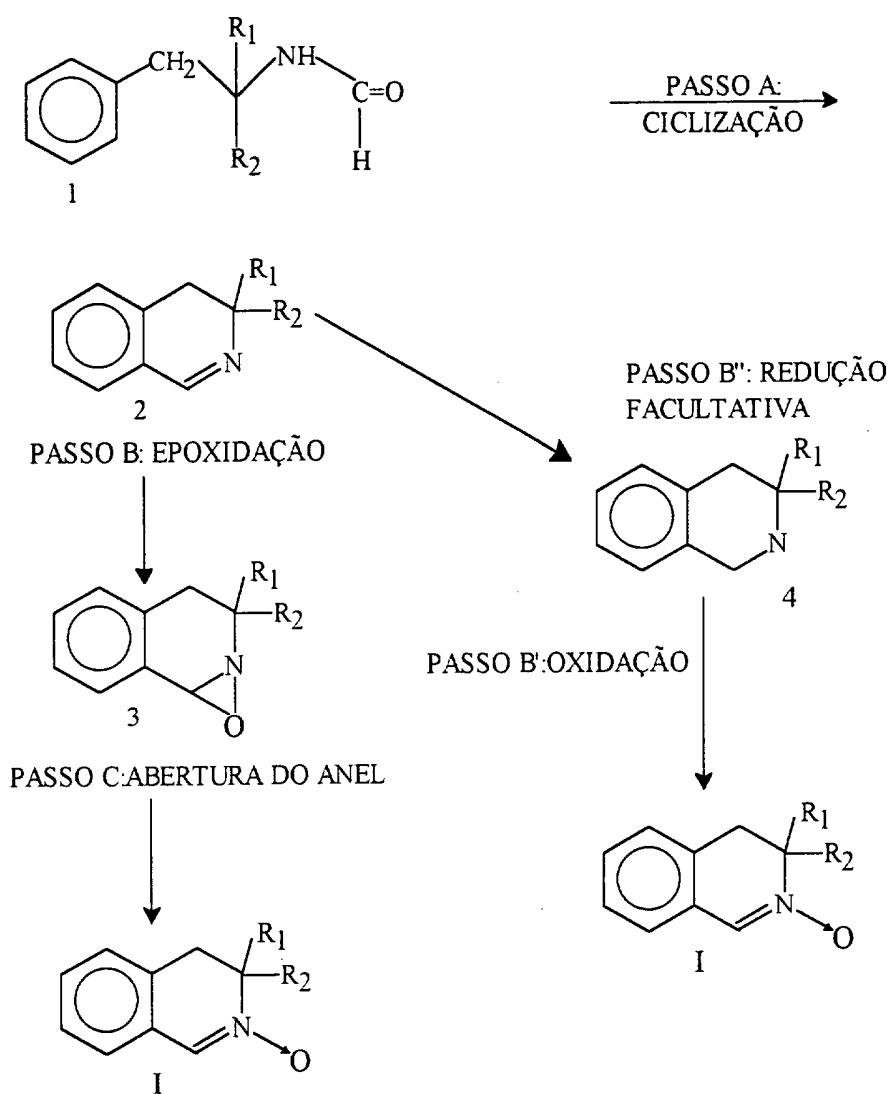
em que cada um dos símbolos  $R_1$  e  $R_2$  representa um grupo  $-CH_3$  ou então os substituintes  $R_1$  e  $R_2$  formam conjuntamente uma cadeia alquíleno( $C_2-C_7$ ).

Alguns dos compostos de fórmula estrutural I existem sob a forma de sais de adição de bases, farmaceuticamente aceitáveis. A expressão “saís de adição de bases, farmaceuticamente aceitáveis” é aplicável a quaisquer saís não tóxicos de adição de bases, orgânicas ou inorgânicas, derivados dos compostos representados pela fórmula estrutural I ou de qualquer dos seus intermediários. Como bases ilustrativas que formam saís adequados refere-se os hidróxidos de metais alcalinos ou de metais alcalino-terrosos, tais como os hidróxidos de sódio, potássio, cálcio, magnésio ou bário; a amónia e as aminas orgânicas alifáticas, alicíclicas ou aromáticas, tais como as seleccionadas entre metilamina, dimetilamina, trimetilamina e picolina.

Tal como referido antes, qualquer dos símbolos  $R_1$  e  $R_2$  pode representar um grupo  $-CH_3$ . Em alternativa, os substituintes  $R_1$  e  $R_2$  podem formar conjuntamente uma cadeia alquíleno que contenha entre 2 e 7 átomos de carbono e que pode ser representada pela fórmula geral  $-(CH_2)_X-$ , em que o símbolo X representa um inteiro entre 2 e 7. Tanto o primeiro como o último átomo de carbono da cadeia alquíleno irão estar ligados à posição 3.

É possível preparar os compostos de fórmula estrutural I utilizando técnicas convencionais conhecidas na especialidade. O Esquema I de Reacção ilustra métodos alternativos para a preparação de tais compostos.

Esquema I de Reacção



Conforme ilustrado antes, o primeiro passo do esquema de reacção consiste em submeter a fenil-alquil-formamida de estrutura 1 a uma reacção de ciclização para formar o derivado heterocíclico de estrutura 2. No passo B efectua-se a epoxidação deste derivado heterocíclico para se obter o derivado oxaziridina de estrutura 3. No passo C, o anel oxaziridina é clivado para formar o produto de fórmula estrutural I. Em alternativa, no passo B' efectua-se a oxidação do derivado heterocíclico de estrutura 2 para se obter directamente a nitrona de fórmula estrutural I. O passo B' também pode ser modificado, submetendo o heterociclo de estrutura 2 a uma reacção facultativa de redução antes de se efectuar a reacção de oxidação.

O material de partida para o esquema I de reacção é a fenil-alquil-formamida de estrutura

1. Os métodos para produzir estas fenil-alquil-formamidas são conhecidos na especialidade.

Por exemplo, veja-se Org. Syn., Vol. 44, págs. 44-47 (1964). O material de partida apropriado é tal que os símbolos  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $n$  possuam as significações pretendidas para o produto desejado de fórmula estrutural I.

A reacção de ciclização do passo A pode ser efectuada recorrendo a técnicas conhecidas na especialidade. De forma típica, faz-se contactar a fenil-alquil-formamida com um excesso de um agente de condensação, tal como o pentóxido de fósforo, num solvente aprótico, tal como o tolueno. Os reagentes são aquecidos ao refluxo durante um período compreendido entre 3 e 10 horas. Em alternativa, é possível utilizar misturas de  $\text{POCl}_3/\text{SnCl}_4$  para efectuar a mesma reacção. O derivado heterocíclico resultante de estrutura 2 pode ser isolado e purificado por diversas técnicas conhecidas na especialidade. Por exemplo, após a neutralização, é possível recuperá-lo por extracção e purificá-lo por destilação.

Em alternativa, a ciclização do passo A pode ser efectuada do modo a seguir indicado, o qual foi descrito mais pormenorizadamente por Larsen *et al.* em J. Org. Chem., Vol. 56, 1991; págs. 6034-6038. Faz-se contactar a fenil-alquil-formamida com um ligeiro excesso de cloreto de oxalilo num solvente hidrocarbonado clorado anidro, tal como o cloreto de metíleno. De forma típica, faz-se contactar os reagentes à temperatura ambiente e sob uma atmosfera inerte, durante um período compreendido entre 0,5 e 2 horas. À mistura de reacção arrefecida adiciona-se um excesso de um ácido de Lewis, de preferência  $\text{FeCl}_3$ . Agita-se os reagentes durante um período compreendido entre 6 e 24 horas. Em alternativa, também é possível utilizar outros ácidos de Lewis, tais como  $\text{TiCl}_4$ ,  $\text{SnCl}_4$  ou  $\text{AlCl}_3$ . Tipicamente, lava-se a mistura de reacção com  $\text{H}_2\text{O}$ , seca-se sobre sulfato de sódio e depois concentra-se. Faz-se

então contactar o produto impuro com um ácido mineral forte, tal como H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> em metanol, e aquece-se ao refluxo durante 6 a 12 horas. Recupera-se o produto por extracção com uma solução aquosa de um ácido e subsequente neutralização. Em alternativa, o produto intermediário impuro pode ser purificado por cromatografia, utilizando um sistema solvente adequado, tal como uma mistura a 50:50 de acetato de etilo:hexano, podendo o composto intermediário assim isolado ser convertido no derivado heterocíclico de estrutura 2 por aquecimento a temperaturas compreendidas entre 100°C e 150°C durante um período compreendido entre 0,25 e 1 hora. É possível submetê-lo a uma das reacções alternativas adiante descritas.

No passo B submete-se o derivado heterocíclico de estrutura 2 a condições utilizadas numa reacção de epoxidação convencional para produzir o derivado oxaziridina de estrutura 3. Faz-se contactar o derivado heterocíclico de estrutura 2 com um excesso de um agente oxidante, tal como o ácido 3-cloroperbenzóico ou o ácido peracético. Faz-se contactar os reagentes a temperaturas baixas, num solvente hidrocarbonado clorado, tal como o diclorometano. Efectua-se a oxidação durante um período compreendido entre 2 e 8 horas. A oxaziridina resultante pode ser recuperada e purificada por métodos conhecidos na especialidade. Por exemplo, é possível recuperá-la por concentração e purificá-la por cromatografia através de gel de sílica e/ou destilação.

No passo C produz-se o produto desejado de fórmula estrutural I por abertura do anel oxaziridina. Isto pode ser conseguido recorrendo a técnicas de clivagem conhecidas na especialidade. Um método adequado consiste em fazer contactar o derivado oxaziridina com um ácido mineral forte, tal como o ácido sulfúrico, numa solução alcoólica, durante um período compreendido entre 3 e 10 horas. De forma típica, efectua-se a reacção à temperatura ambiente, mas é possível efectuá-la sob aquecimento, se desejado. O produto pretendido de fórmula

estrutural I pode ser recuperado e purificado por técnicas conhecidas na especialidade. Por exemplo, neutraliza-se o meio de reacção, extrai-se com um solvente orgânico, tal como o éter, e submete-se as camadas orgânicas a destilação. O produto de fórmula estrutural I pode ainda ser purificado por cromatografia ou cristalização, se desejado.

Os compostos de fórmula estrutural I podem ser produzidos directamente a partir do derivado heterocíclico de estrutura 2, conforme ilustrado no passo B'. Nesta reacção faz-se contactar uma solução alcoólica do composto de estrutura 2 com uma quantidade catalítica de tungstato de sódio, na presença de um excesso de uma solução aquosa de peróxido de hidrogénio. De forma típica, efectua-se a reacção em metanol e à temperatura ambiente, durante um período compreendido entre 1 e 6 dias. Os métodos para efectuar esta reacção estão descritos mais pormenorizadamente por Murahashi *et al.* em Organic Synthesis, Vol. 70, págs. 265-271 (1991). O produto resultante pode ser recuperado e purificado conforme descrito antes no passo C.

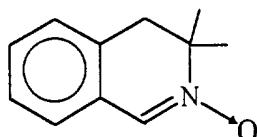
Em alternativa, os derivados heterocíclicos de estrutura 2 podem ser reduzidos por tratamento com 1,0 a 2,0 equivalentes de um agente de redução adequado, tal como o boro-hidreto de sódio. Tais reacções de redução são tipicamente realizadas num solvente alcoólico, tal como o metanol ou o etanol, à temperatura de 20°C e durante um período compreendido entre 1 e 12 horas, para se obter produtos reduzidos de estrutura 4. Estes produtos reduzidos podem ser isolados por diluição da mistura de reacção com água ou com uma solução aquosa de hidróxido de sódio e subsequente extracção com diclorometano. Se for necessário, é possível purificar os produtos reduzidos por cromatografia. Os compostos de estrutura 4 podem então ser oxidados, utilizando condições idênticas às descritas no passo B', com excepção de o tempo de reacção ser reduzido para um intervalo entre 1 e 24 horas.

125

Os exemplos seguintes ilustram melhor a sequência de reacção descrita antes.

### Exemplo I

N-óxido de 3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina



Passo A)

3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina

A uma solução mecanicamente agitada, constituída por 33,4 g (188 mmol) de N-formil- $\alpha,\alpha$ -dimetil- $\beta$ -fenetilamina em 325 mL de tolueno, à temperatura ambiente, adicionou-se 100 g (705 mmol) de pentóxido de fósforo, jоеirado a seco. Manteve-se a mistura resultante ao refluxo durante 6 horas e deixou-se em repouso de um dia para o outro à temperatura ambiente. Removeu-se o tolueno por decantação, tratou-se o resíduo com gelo e lavou-se duas vezes a solução aquosa resultante com éter. Alcalinizou-se a camada aquosa para pH 8 com uma solução de NaOH a 50% e extraiu-se três vezes com éter etílico. Lavou-se as camadas orgânicas combinadas, duas vezes com água e uma vez com salmoura, secou-se ( $MgSO_4$ ), tratou-se com carvão, filtrou-se e evaporou-se. Destilou-se o resíduo para se obter 3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina (p.e. 71°C-75°C, 0,2 mm) com o aspecto de um óleo incolor.

Passo B)

4,8b-di-hidro-3,3-dimetil-3H-oxazirino[3,2a]isoquinolina

A uma solução agitada de 1,0 g (6,3 mmol) de 3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina em 50 mL de diclorometano, à temperatura de 0°C, adicionou-se progressivamente ácido 3-cloroperbenzóico (1,5 g a 80%-85%, 7,0-7,4 mmol) ao longo de um período de 3 minutos.

258

Depois de se agitar durante 4 horas à temperatura de 0°C lavou-se a mistura duas vezes com uma solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio, secou-se ( $MgSO_4$ ), filtrou-se e concentrou-se para se obter um óleo. Submeteu-se o óleo a cromatografia através de gel de sílica (50 x 160 mm), efectuando a eluição com hexano a 20% em acetato de etilo. Combinou-se as fracções adequadas, concentrou-se e destilou-se o produto impuro para se obter um óleo incolor (p.e. 105°C, 0,1 mm).

Passo C)

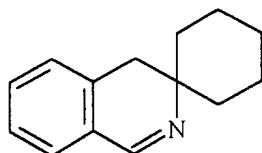
N-óxido de 3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina

A uma solução agitada de 0,657 g (3,75 mmol) de 3,3-dimetil-1,2,3,9-tetra-hidro-oxaziridina[3,2a]isoquinolina em 30 mL de metanol e 6 mL de água adicionou-se 24 mL de ácido sulfúrico com o auxílio de uma pipeta. Depois de se agitar de um dia para o outro à temperatura ambiente verteu-se a solução sobre uma solução aquosa de carbonato de sódio e extraiu-se três vezes com éter. Lavou-se as camadas orgânicas combinadas com uma solução aquosa de di-hidrogeno-fosfato de potássio, secou-se ( $MgSO_4$ ), filtrou-se e concentrou-se. Destilou-se o resíduo para se obter N-óxido de 3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina (p.e. 156°C, 0,05 mm) com o aspecto de um óleo incolor. Eventualmente, o óleo cristalizou para proporcionar um sólido, p.f. 70°C-72°C.

### Exemplo II

Passo A)

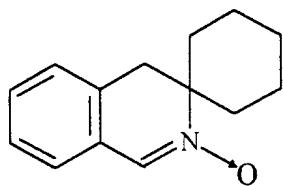
Espiro[ciclo-hexano-1,3]-3,4-di-hidro-isoquinolina



A uma solução de 1,8 g (8,3 mmol) de 1-benzil-1-formamido-ciclo-hexano em 100 mL de diclorometano, sob uma atmosfera de azoto, adicionou-se 1,1 g (9,1 mmol) de cloreto de oxalilo. Agitou-se a solução incolor limpida à temperatura ambiente durante 1 hora, depois deixou-se arrefecer para 0°C, adicionou-se de uma só vez 1,6 g (9,9 mmol) de cloreto férrico e deixou-se a mistura de reacção aquecer lentamente até à temperatura ambiente, durante 18 horas. À mistura escura adicionou-se 80 mL de uma solução aquosa de ácido clorídrico a 10% e agitou-se durante mais 2 horas à temperatura ambiente. Extraiu-se a mistura de reacção com diclorometano, secou-se a camada orgânica sobre sulfato de magnésio, filtrou-se e concentrou-se para se obter um óleo escuro e espesso, o qual se diluiu com 100 mL de uma solução a 95:5 de metanol/ácido sulfúrico e se manteve ao refluxo durante 24 horas. Deixou-se a mistura de reacção arrefecer, concentrou-se num evaporador rotativo, diluiu-se com água e extraiu-se com acetato de etilo. Lavou-se a camada orgânica com uma solução aquosa de ácido clorídrico a 10% e deitou-se fora. Alcalinizou-se as camadas aquosas acídicas combinadas, utilizando para tal uma solução concentrada de hidróxido de amónio, e extraiu-se com diclorometano. Secou-se esta camada orgânica sobre sulfato de magnésio e concentrou-se para se obter 1,4 g (7,0 mmol) de um óleo amarelo espesso. RMN-H ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,23 s(1H), 7,25 (4H), 2,70 s(2H), 1,56 m(10H).

Passo B)

N-óxido de espiro[ciclo-hexano-1,3']-3,4-di-hidro-isoquinolina

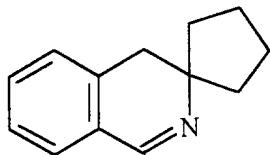


A uma solução de 1,3 g (6,5 mmol) de espiro[ciclo-hexano-1,3']-3,4-di-hidro-isoquinolina em 10 mL de etanol adicionou-se 20 mL de uma solução aquosa a 30% de peróxido de hidrogénio e 65 g (2,0 mmol) de tungstato de sódio. Depois de se agitar durante 48 horas à temperatura ambiente deixou-se a mistura de reacção arrefecer para 0°C e diluiu-se com 200 mL de uma solução aquosa de tiossulfito de sódio a 30%. Depois de se agitar durante 0,5 hora, extraiu-se a mistura com acetato de etilo. Secou-se a camada orgânica sobre sulfato de magnésio, filtrou-se e concentrou-se para se obter um sólido amarelo que foi então submetido a cromatografia através de gel de sílica (eluente: mistura a 1:1 de butanona:hexano). Deixou-se o sólido resultante recristalizar a partir de acetato de etilo e hexano para se obter 0,7 g de um sólido branco. P.f. 155°C-157°C.

### Exemplo III

Passo A)

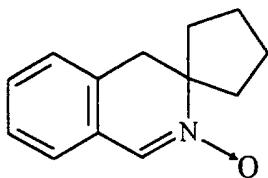
Espiro[ciclopentano -1,3']-[1H]di-hidro-isoquinolina



De um modo idêntico ao descrito no passo A do exemplo II, preparou-se 1,3 g (7,0 mmol) de produto a partir de 1,5 g (7,4 mmol) de N-(1-benzilciclopentil)-formamida.  
RMN-H ( $\text{CDCl}_3$ ) δ 8,24 s(1H), 7,30 (4H), 2,78 s(2H), 1,7 m(8H).

Passo B)

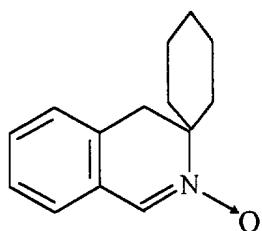
2-óxido de espiro[ciclopentano -1,3']-[1H]di-hidro-isoquinolina



De um modo idêntico ao descrito no passo B do exemplo II, preparou-se 1,6 g (8,0 mmol) de produto com um p.f. de 119°C-121°C.

#### Exemplo IV

##### A) N-óxido de espiro[ciclo-hexano-1,3']-(4'H)-isoquinolina



Preparou-se uma solução de 5,0 g (25,1 mmol) de espiro[ciclo-hexano-1,3']-(4'H)-isoquinolina em 200 mL de metanol, tratou-se com 1,90 g (50,2 mmol) de boro-hidreto de sódio e agitou-se durante 3 horas à temperatura ambiente. Concentrou-se a mistura de reacção, tratou-se com 100 mL de hidróxido de sódio 1N e extraiu-se com diclorometano. Secou-se a camada orgânica e concentrou-se para se obter 4,5 g de um óleo espesso que foi imediatamente diluído com 100 mL de metanol e tratado com 7,3 mL de peróxido de hidrogénio a 30% e uma quantidade catalítica de tungstato de sódio. Decorridas 3 horas à temperatura ambiente, concentrou-se a mistura de reacção, tratou-se com uma solução aquosa de bissulfito de sódio e extraiu-se com diclorometano. Secou-se a camada orgânica e concentrou-se para se obter um sólido que se deixou recristalizar a partir de diclorometano/ciclo-hexano, 3,51 g.  
Ponto de fusão: 152°C-155°C.

Os compostos de fórmula estrutural I são agentes retentores do momento cinético total. As composições farmacêuticas que os contêm podem ser utilizadas para tratar doenças em que os radicais livres com oxigénio ou peroxilo provocam lesões teciduais. Tais agentes evitam ou reduzem significativamente a extensão das lesões teciduais em causa.

A capacidade dos compostos para capturar radicais livres com oxigénio e radicais centrados em átomos de carbono e para evitar a oxidação de biomoléculas pode ser demonstrada por experiências *in vitro* conhecidas na especialidade. Uma dessas experiências baseia-se no facto de o lípido fosfatidilcolina de soja poder ser facilmente oxidado. Esta oxidação pode ser desencadeada por diversos agentes oxidantes, tais como  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou 2,2'-azobis-(2-amidinopropano). Um agente retentor do momento cinético total irá diminuir a velocidade a que o lípido é oxidado nesta experiência. Esta experiência foi descrita pormenorizadamente por: a) Nilsson, U.A., Olsson, L-I, Carlin, G. e Bylund-Fellenius, A-C. (1989) em 'Inhibition of lipid peroxidation by spin labels. Relationships between structure and function. J. Biol. Chem'. 264:11131-11135;

b) Aust, S.D. (1985). 'Lipid peroxidation. In Handbook of Methods for Oxygen Radical Research'. (Greenwald, R.A., ed.) CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, págs. 203-207.

Há uma outra experiência que se baseia no facto de os radicais livres hidroxilo branquearem a p-nitrosodimetilanilina. Um agente retentor do momento cinético total irá diminuir a intensidade do branqueamento em causa. Esta experiência foi descrita por: a) Bors, W., Michel, C. e Saran, M. (1979) em 'On the nature of biochemically generated hydroxyl radicals. Studies using the bleaching of p-nitrosodimethylaniline as a direct assay method. Eur. J. Biochem.' 95: 621-627.

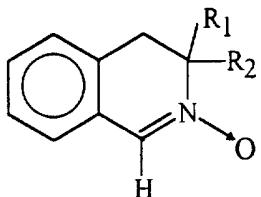
Os resultados de uma dessas experiências são apresentados mais adiante. A fosfatidil-colina (PC) de soja foi adquirida a fornecedores comerciais, tais como as empresas 'Sigma' ou

'Avanti Polar Lipids'. Dissolveu-se a PC de soja em etanol até se atingir uma concentração final de 0,563 mM. Adicionou-se 80 µL da solução de etanol/PC a 8 mL de tampão de NaCl 50 mM/Tris 10 mM, pH 7,0, sob agitação à temperatura de 37°C até se obter um lipossoma.

A capacidade de um composto para inibir a oxidação do lipossoma de PC de soja foi avaliada do modo a seguir descrito. Iniciou-se a oxidação com peróxido de hidrogénio e Fe<sup>2+</sup>. Efectuou-se a experiência à temperatura de 37°C num dispositivo vibrador metabólico. Adicionou-se ao veículo de ensaio 8 mL do lipossoma, peróxido de hidrogénio (concentração final de 50 µM), Fe<sup>2+</sup> (concentração final de 50 µM), o composto de ensaio e tampão, até se obter um volume final de 9 mL.

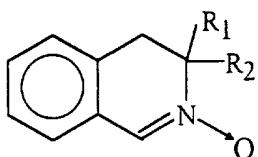
Realizou-se a oxidação sob uma atmosfera de ar durante 15 minutos. A experiência foi realizada essencialmente em conformidade com o protocolo de Augt, *supra*, que a seguir se descreve de forma resumida. Efectuou-se a remoção de aliquotas de 1 mL aos 0, 2, 4, 6, 10, 12 e 15 minutos e depois adicionou-se cada uma delas a 2 mL de uma mistura a 2:1 de ácido tiobarbitúrico a 0,67%:ácido tricloroacético a 10% em HCl 0,25 N que continha BHT a 2% para terminar a oxidação.

Aqueceu-se as amostras à temperatura de 100°C durante 20 minutos, deixou-se arrefecer e centrifugou-se. Determinou-se a absorbância do sobrenadante resultante a 532-580 nm. A quantificação do complexo de ácido tiobarbitúrico/PC oxidada foi determinada por comparação com uma curva padrão de equivalentes de malondialdeído gerados por hidrólise de 1,1,3,3-tetraetoxipropano, catalisada por ácido. Os resultados foram expressos como sendo a quantidade de composto necessário para inibir 100% da oxidação do lipossoma de soja (CI<sub>100</sub>) no período de 15 minutos. Foram obtidos os resultados a seguir indicados.

QUADRO I $\text{Cl}_{100}$  necessária para evitar a oxidação de fosfatidilcolina de soja por acção de  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ 

$\text{R}_1$	$\text{R}_2$	$\text{R}_1 + \text{R}_2$	$\text{Cl}_{100}$ (mM)
$\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$	-	1,5
-	-	$-(\text{CH}_2)_4$	0,3
-	-	$-(\text{CH}_2)_5$	0,1

Repetiu-se o procedimento descrito antes utilizando  $\text{Fe}^{2+}$ /histidina- $\text{Fe}^{3+}$  para oxidar a PC de soja. O produto histidina- $\text{Fe}^{3+}$  foi preparado como solução de reserva a 25:5 mM no sistema tampão descrito antes. O produto histidina- $\text{Fe}^{3+}$  estava presente na proveta de ensaio com uma concentração de 250:50  $\mu\text{M}$  e a oxidação foi iniciada com 50  $\mu\text{M}$  de  $\text{Fe}^{2+}$ . O protocolo de ensaio não foi alterado de nenhuma outra forma.

QUADRO II $\text{Cl}_{100}$  necessária para evitar a oxidação de fosfatidilcolina de soja por acção de  $\text{Fe}^{2+}/\text{histidina-Fe}^{3+}$ 

$\text{R}_1$	$\text{R}_2$	$\text{R}_1 + \text{R}_2$	$\text{Cl}_{100}$ (mM)
$\text{CH}_3$	$\text{CH}_3$	-	2,5
-	-	$-(\text{CH}_2)_4$	0,7
-	-	$-(\text{CH}_2)_5$	0,3

Uma das utilizações principais das composições farmacêuticas que contêm estes compostos irá ser no tratamento de apoplexias. As apoplexias estão associadas à isquémia cerebral. Inicialmente pensava-se que as lesões do SNC, que muitas vezes acompanham uma apoplexia, eram um resultado directo do facto de os tecidos ficarem privados de oxigénio. Pesquisas efectuadas recentemente demonstraram que a maior parte das lesões ocorre quando os tecidos são reoxigenados durante a reperfusão. McCord *et al.* demonstraram que os radicais livres são produzidos durante a reperfusão dos tecidos isquémicos. 'Gastroenterology', 82, 9-15 (1982). Oliver *et al.* demonstraram que uma parte significativa destas lesões ocorre por acção dos radicais livres com oxigénio e devido à sequência de oxidação que desencadeiam, 'Proc. Natl. Acad. Sci. USA', vol. 87, págs. 5144-5147, Julho de 1990. Floyd demonstrou que o agente retentor do momento cinético total  $\alpha$ -fenil-N-terc-butil-nitrona (PBN) minimiza as lesões teciduais num modelo de apoplexia realizado com gerbilos, *supra*. Neste modelo, as artérias carótidas de gerbilos são apertadas cirurgicamente e decorrido um período predeterminado retira-se o dispositivo de constrição por forma a que possa ter lugar a reperfusão dos tecidos envolventes. As lesões do SNC, que ocorrem durante a reperfusão, podem ser medidas pelo nível de oxidação proteica que ocorre no cérebro ou examinando o comportamento dos gerbilos. Os animais aos quais foi administrado o composto PNB sofreram menos lesões do SNC do que os animais de contraprova. Oliver *et al.* e Phillis *et al.* também chegaram a resultados semelhantes com o composto PNB, *supra* e 'Neuroscience Letter', 116 (1990) 315-319.

Uma vez que os compostos de fórmula estrutural I são agentes retentores do momento cinético total, é possível utilizá-los em composições farmacêuticas úteis para o tratamento de apoplexia. A eficácia dos compostos para o tratamento de apoplexias também pode ser demonstrada no modelo com gerbilos descrito antes.

O composto N-óxido de 3,4-di-hidro-3,3-dimetil-isoquinolina, que constitui o produto do exemplo I (doravante designado por composto) foi testado num modelo com gerbilos, conforme descrito antes. O procedimento exacto utilizado foi descrito por Chandler *et al.* em 'Journal of Pharmacological Methods' Vol. 14, páginas 137-146 81985). As figuras I a V resumem os resultados obtidos.

Os gerbilos que foram submetidos a isquémia cerebral revelam um padrão comportamental característico, tal como um aumento drástico da actividade locomotora. A figura I ilustra o efeito que o composto teve sobre a actividade motora de gerbilos não isquémicos. Um exame da figura I demonstra que o composto não teve qualquer efeito sobre a actividade locomotora de gerbilos não isquémicos.

A figura II ilustra os efeitos da isquémia sobre a actividade locomotora dos gerbilos. Estes dados demonstram que a isquémia aumentou significativamente a actividade locomotora dos gerbilos.

A figura III ilustra o efeito neuroprotector dos compostos. Efectuou-se o pré-tratamento dos gerbilos com o composto, 30 minutos antes do início da isquémia. Nas dosagens de 30 mg/kg e 100 mg/kg o composto diminuiu significativamente a actividade locomotora destes roedores, o que é indicativo da preservação dos tecidos neurais.

A figura IV compara a perda neural dos gerbilos isquémicos, aos quais foram administradas diversas doses de compostos, com a dos gerbilos de contraprova e a dos gerbilos não isquémicos. Estes dados demonstram que o composto salvou quantidades significativas de tecido neural, quando administrado em doses adequadas.

A figura V ilustra o efeito protector de outros compostos abrangidos pela fórmula estrutural I sobre este modelo com gerbilos. Todos os compostos foram administrados

segundo uma dosagem de 32 mg/kg. O efeito protector pode ser aumentado administrando os compostos em doses mais elevadas. O composto A representa o produto do exemplo I, o composto F representa o composto do exemplo III e o composto G representa o composto do exemplo II.

As composições farmacêuticas que contêm os compostos de fórmula estrutural I podem ser utilizadas para evitar as lesões teciduais induzidas por reperfusão em outros estados isquémicos para além da apoplexia. Os pacientes que sofrem um enfarte do miocárdio experimentam uma isquémia dos tecidos do miocárdio. Esta isquémia está muitas vezes associada à destruição das células musculares do miocárdio e a uma correspondente diminuição da contractilidade do miocárdio. Pesquisas efectuadas recentemente demonstraram também que uma parte significativa destas lesões ocorre no momento da reperfusão. Bolli *et al.* demonstraram que os radicais com oxigénio são gerados durante a reperfusão dos tecidos do miocárdio e que o composto PNB diminui a quantidade de disfunções do miocárdio que ocorrem após a reperfusão, 'Free Rad. Res. Comms.', Vol. 9, Nº 3-6, págs. 169-180. As lesões por reperfusão também podem ocorrer nos tecidos hepáticos, renais e intestinais. As lesões por reperfusão também estão associadas às chagas por compressão (chagas dos acamados) que normalmente afectam pacientes confinados a camas.

As composições farmacêuticas que contêm os compostos de fórmula estrutural I podem ser utilizadas para evitar as lesões oxidativas que acompanham tipicamente a reperfusão de tecidos isquémicos. Para que haja este efeito, é necessário que as composições sejam administradas decorridas 8 horas após o início da isquémia. Como é óbvio para os especialistas na matéria, as composições não irão corrigir as lesões teciduais que já tenham ocorrido como resultado da reperfusão. Tal como utilizado na presente memória descritiva, o termo "tratar"

refere-se à capacidade dos compostos para evitar novas lesões, retardar a velocidade de ocorrência de novas lesões ou diminuir a quantidade de lesões em causa.

Os radicais livres com oxigénio também produzem lesões teciduais noutras doenças para além da reperfusão dos tecidos isquémicos. A exposição a ambientes com elevada pressão de oxigénio ou enriquecidos em oxigénio produz radicais livres com oxigénio. Uma exposição prolongada a estes ambientes pode produzir lesões teciduais. Por exemplo, os bebés prematuros que tenham de passar períodos prolongados em respiradores sofrem frequentemente lesões permanentes nos olhos e possível cegueira devido a estes radicais com oxigénio. Os traumatismos físicos em que haja uma hemorragia excessiva nos tecidos nervosos, especialmente o cérebro e a medula espinal, são um outro exemplo de lesões originadas por radicais livres com oxigénio. Os radicais livres com oxigénio também são gerados durante a trombólise com agentes tais como estreptoquinase, TPA, etc.. Os radicais livres com oxigénio também são gerados pelos raios X e estão associados às lesões que os raios X podem provocar aos tecidos.

A geração de radicais livres por diversos processos celulares foi demonstrada durante o choque circulatório, o choque séptico e o choque tóxico. A produção excessiva de tais radicais pode ser a causa de lesões nos órgãos e da mortalidade associada a tais fenómenos. Em consequência, comprovou-se que o composto PNB aumenta significativamente a sobrevivência em diversos modelos de choque circulatório com animais (Hamburger & McCay; Circulatory Shock 29: 329-334 (1989) Novelli *et al.* Resuscitation 18 195-205 (1989). Os compostos de fórmula estrutural I também podem ser utilizados para tratar choques circulatórios, sépticos ou tóxicos.

A eficácia dos compostos de fórmula estrutural foi demonstrada num modelo de choque séptico com animais. Nesta experiência, injectou-se os ratos com endotoxina e

determinou-se uma taxa de sobrevivência do grupo de contraprova. Efectuou-se o pré-tratamento de outros grupos de ratos com um dos compostos de fórmula estrutural I em dosagens variáveis, depois administrou-se a endotoxina e comparou-se as taxas de sobrevivência. Esta experiência foi realizada do modo a seguir descrito.

Foram utilizados ratos da estirpe Sprague Dawley (massa corporal compreendida entre 215 g e 300 g) em cada grupo de ensaio. A endotoxina (30 mg/kg) foi administrada por via intraperitoneal (IP). Administrou-se um composto de ensaio ou um veículo, por via IP, 30 minutos antes da administração da endotoxina. Foram obtidos os resultados seguintes:

### QUADRO III

#### TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA DE RATOS TRATADOS COM ENDOTOXINA (AO FIM DE 72 HORAS DE EXPOSIÇÃO À ENDOTOXINA)

Composto	Dose (mg/kg)	Taxa de sobrevivência	% de Sobrevidentes
Contraprova	-	15/60	25
Exemplo I	3	4/12	33
Exemplo I	10	7/12	58
Exemplo I	30	10/12	83
Exemplo II	3	3/10	30
Exemplo II	10	19/23	91
Exemplo III	10	2/12	17
Exemplo III	30	10/11	91

A oxidação de tecidos também está associada a diversas doenças neurodegenerativas crónicas. Como exemplos de tais doenças neurodegenerativas refere-se a demência senil, a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson. A administração destes compostos a um paciente

que sofra de uma tal doença ou evita uma maior neurodegeneração ou diminui a velocidade de ocorrência de qualquer neurodegeneração futura.

Para que as propriedades terapêuticas descritas antes se manifestem, é necessário que os compostos contidos numa composição farmacêutica sejam administrados numa quantidade suficiente para reter os radicais livres com oxigénio e os radicais centrados em carbono que são gerados na zona em que haja risco de ocorrência de lesões teciduais. O intervalo de dosagem em que estes compostos revelam tal efeito pode variar bastante em função da doença particular que se pretende tratar, do paciente, do composto particular que é administrado, da via de administração e da existência de outras doenças de que padeça o paciente, etc.. De forma típica, os compostos exibem o seu efeito terapêutico num intervalo de dosagem compreendido entre cerca de 0,1 mg/kg/dia e cerca de 300 mg/kg/dia para qualquer das doenças ou estados patológicos indicados antes. A administração diária repetitiva pode ser desejável e irá variar de acordo com as condições explicitadas *supra*.

Para além de serem agentes retentores do momento cinético total, descobriu-se também que os compostos de fórmula estrutural I inibem a secreção de interleuquina 1 (IL-1). O termo ‘interleuquina 1’ (IL-1) é a designação atribuída a uma família de moléculas que têm efeitos biológicos múltiplos. O termo ‘interleuquina 1’ foi proposto em 1979; as primeiras publicações da especialidade atribuem-lhe outras designações. Murphy, *British Journal of Rheumatology*, 1985; 24 (supl. 1)M: 6-9 e Oppenheim *et al.*, *Immunology Today*, Vol. 2, 45-55 (1986). A IL-1 é segregada por macrófagos estimulados e tem diversos efeitos biológicos significativos, tais como a mediação da proliferação dos linfócitos T e efeitos pirogénicos e pró-inflamatórios.

As actividades da IL-1 estão descritas resumidamente nas duas publicações anteriores. A IL-1 foi descrita como mediadora da resposta de fase aguda em inflamações e como

possuidora de efeitos pirogénicos e pró-inflamatórios. A IL-1 induz alterações no tecido conjuntivo, tendo sido demonstrado que induz a libertação de enzimas degradativas a partir de células do mesênquima que estão presentes nos locais de erosão óssea em estados inflamatórios, tais como a artrite reumatóide. Billingham, *Brit. J. Rheumatology*, 1985:24 (supl. 1): 25-28. Dayer, *Brit. J. Rheumatology* 1985:24 (supl. 1): 21-24. A produção de proteínas de fase aguda nos hepatócitos durante a fase aguda das inflamações é mediada pela IL-1 e por outras citoquinas, tais como a IL-6. Whicher, *Brit. J. Rheumatology*, 1985:24 (supl. 1): 21-24.

A IL-1 também está implicada como mediadora numa doença inflamatória da pele, a psoríase. Camp *et al.*, *J. Immunology* 1986: 137: 3469-3474 e Ristow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987: 84: 1940-1944. É citotóxica para as células  $\beta$  produtoras de insulina no pâncreas e por isso é um factor causativo do desenvolvimento de algumas formas de diabetes *mellitus*. Bendtzen *et al.*, *Science* 1986: 232: 1545-1547 e Marx, *Science* 1988: 239: 257-258. Admite-se também que a IL-1 esteja implicada no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas ou da placa aterosclerótica. Marx, *Science* 1988: 239: 257-258. A IL-1 estimula o crescimento e a proliferação de células dos músculos lisos vasculares, um efeito que é superior na ausência ou na supressão de prostaglandinas endógenas, o que pode levar ao engrossamento das paredes celulares, tal como sucede na atherosclerosis. Libby *et al.* *Fed. Proc.* 1 de Março de 1987: Vol. 46, nº 3: 975, Abstract 3837.

Uma vez que os compostos inibem a secreção de IL-1, então podem ser utilizados em composições farmacêuticas úteis para o tratamento de diversas doenças. Estas compreendem a artrite, a psoríase, a atherosclerosis e a diabetes. A capacidade dos compostos para inibir a secreção de IL-1 pode ser demonstrada por experiências *in vitro* e *in vivo* conhecidas na

especialidade. Uma dessas experiências *in vitro* baseia-se no facto de os macrófagos segregarem IL-1 quando são expostos à endotoxina.

Os estudos *in vitro* efectuados sobre a produção de IL-1 foram facilitados por uma propriedade específica dos macrófagos, isto é, a ligação a materiais alienígenas, v.g. superfícies plásticas. Nesta experiência procedeu-se ao enriquecimento em macrófagos derivados de monócitos do sangue periférico de seres humanos, por aderência a plásticos. Dois milhões destes macrófagos foram estimulados com 20 ng de endotoxina durante 24 horas. Depois efectuou-se a colheita dos sobrenadantes das culturas e realizou-se a pesquisa dos níveis de IL-1 por meio de um ensaio de imunossorção ligada a enzimas (EISLE, o mesmo que ELISA). Repetiu-se o mesmo ensaio, com a excepção de ter sido realizado na presença do composto de ensaio. Repetiu-se o ensaio até se calcular um valor  $Cl_{50}$ . Foram obtidos os resultados a seguir indicados.

#### QUADRO IV

#### INIBIÇÃO DA LIBERTAÇÃO DE INTERLEUCINA-1 POR ACÇÃO DOS MACRÓFAGOS

#### HUMANOS

Composto	$Cl_{50}$
Exemplo I	330 $\mu M$
Exemplo III	100 $\mu M$
Exemplo II	200 $\mu M$

A capacidade dos compostos para inibir a secreção da IL-1 também pode ser demonstrada pelo ensaio *in vivo* a seguir descrito que se baseia no facto de a administração de endotoxina a murganhos originar um aumento significativo dos níveis sanguíneos de IL-1

nestes animais. Neste ensaio foram utilizados murganhos (macho) normais da estirpe Charles-Dawley com 7 semanas de idade. Injectou-se os murganhos com veículo e estabeleceu-se um nível de IL-1 de referência no sangue, por meio de um protocolo de EISLE específico para a IL-1, decorridos noventa (90) minutos após a administração. Depois administrou-se aos animais tanto a endotoxina como o veículo e determinou-se um nível de IL-1 no sangue. Finalmente administrou-se aos animais a endotoxina e o composto de ensaio e determinou-se o efeito sobre os níveis de IL-1 no sangue. Foram obtidos os resultados seguintes.

#### QUADRO V

Níveis de interleucina-1 no sangue de murganhos

Composto de ensaio	Endotoxina	IL-1 (pg/mL de soro)
Veículo	não	29,2
Nenhum	sim	58,3
Exemplo 1	sim	6,4
Exemplo III	sim	10,2
Exemplo II	sim	4,7

Uma vez que o composto inibe a libertação de IL-1, é possível administrar composições farmacêuticas que o contenham para tratar artrite, psoriase e diabetes e para a prevenção da aterosclerose. Para que os compostos manifestem as propriedades terapêuticas anteriormente descritas, é necessário administrá-los numa quantidade suficiente para inibir a secreção de interleucina-1. Esta quantidade anti-interleucina pode variar em função da doença particular que se pretende tratar, da gravidade da doença, do paciente, do composto particular administrado, da via de administração e da presença de outras doenças de que padeça o paciente. De forma típica, os compostos manifestam o seu efeito num intervalo de dosagem compreendido entre

10 mg/kg/dia e 100 mg/kg/dia para qualquer das doenças ou estados patológicos enunciados antes. A administração diária repetitiva pode ser desejável e irá variar de acordo com as condições referidas antes.

As composições farmacêuticas que contêm os compostos da presente invenção podem ser administradas por diversas vias. São eficazes se forem administradas por via oral. Também podem ser administradas por via parentérica (isto é, por via subcutânea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal ou intratecal..

As composições farmacêuticas podem ser produzidas utilizando técnicas bem conhecidas na especialidade. De forma típica, mistura-se uma quantidade protectora do composto com um veículo farmaceuticamente aceitável.

Para administração oral é possível formular os composto em preparações sólidas ou líquidas, tais como cápsulas, pílulas, comprimidos, pastilhas, produtos fundidos, pós, suspensões ou emulsões. As formas de dosagem unitária sólidas podem ser cápsulas do tipo gelatinoso convencional que contenham, por exemplo, agentes tensioactivos, lubrificantes e cargas inertes, tais como a lactose, a sacarose e o amido de milho, ou então podem ser preparações de liberação controlada.

De acordo com outra variante, os compostos de fórmula estrutural I podem ser formulados em comprimidos com bases convencionais para comprimidos, tais como lactose, sacarose e amido de milho, em combinação com aglutinantes, tais como goma de acácia, amido de milho ou gelatina, agentes desintegradores, tais como amido de batata ou ácido algínico, e um lubrificante, tal como o ácido esteárico ou o estearato de magnésio. As preparações líquidas são formuladas dissolvendo o ingrediente activo num solvente aquoso ou não aquoso, farmaceuticamente aceitável, que também pode conter agentes de suspensão, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes e agentes conservantes, conhecidos na especialidade.

Para administração parentérica, os compostos podem ser dissolvidos num veículo farmacêutico fisiologicamente aceitável e administrados sob a forma de uma solução ou suspensão. Como exemplos ilustrativos de veículos farmacêuticos adequados refere-se a água, soluções salinas, soluções de dextrose, soluções de frutose, etanol ou óleos de origem animal, vegetal ou sintética. O veículo farmacêutico também pode conter conservantes, tampões, etc., conforme é sabido na especialidade. No caso de os compostos serem administrados por via intratecal, também podem ser dissolvidos em fluido cerebrospinal, conforme é conhecido na especialidade.

As composições farmacêuticas que contêm compostos da presente invenção também podem ser administradas por via tópica. Isto pode ser conseguido preparando simplesmente uma solução do composto que se pretende administrar, de preferência utilizando um solvente sobre o qual se sabe que favorece a absorção transdérmica, tal como o etanol ou o dimetilsulfóxido (DMSO), com ou sem outros excipientes. De preferência, a administração tópica é realizada utilizando um emplastro de tipo reservatório e membrana porosa ou do tipo de matriz sólida.

Nos documentos US-A-3 742 951, US-A-3 797 494, US-A-3 996 934 e US-A-4 031 894 estão descritos alguns dispositivos trandérmicos adequados. De um modo geral, estes dispositivos possuem um elemento de suporte que define uma das suas superfícies, uma camada adesiva permeável ao agente activo, a qual define a outra superfície, e pelo menos um reservatório que contém o agente activo interposto entre as duas superfícies. Em alternativa, o agente activo pode estar contido numa diversidade de microcápsulas distribuídas ao longo da camada adesiva permeável. Em qualquer dos casos, o agente activo é libertado continuamente a partir do reservatório ou das microcápsulas através da membrana, atravessando a camada adesiva permeável ao agente, a qual está em contacto com a pele ou a mucosa do paciente. No caso

de o agente activo ser absorvido através da pele, então há um fluxo controlado e pre-determinado de agente activo que é administrado ao paciente. No caso das microcápsulas o agente encapsulante também pode actuar como membrana.

Num outro dispositivo para administração transdérmica dos compostos de acordo com a presente invenção, o composto farmaceuticamente activo está contido numa matriz a partir da qual é libertado a um ritmo gradual, constante e controlado, conforme pretendido. A matriz é permeável ao composto, libertando-o por difusão ou fluxo microporoso. A liberação regula a velocidade de administração. Um tal sistema, que não necessita de membrana, está descrito na patente de invenção norte-americana nº 3 921 636. São possíveis pelo menos dois tipos de liberação nestes sistemas. O composto farmaceuticamente eficaz dissolve-se na própria matriz e difunde-se através dela. A liberação por fluxo microporoso ocorre quando o composto farmaceuticamente eficaz é transportado através de uma fase líquida nos poros da matriz.

Embora a invenção tenha sido descrita a propósito das suas variantes específicas, faz-se observar que são possíveis outras modificações e que a presente invenção pretende cobrir quaisquer variações, utilizações ou adaptações da invenção que estejam em conformidade, de um modo geral, com os princípios da invenção, considerando-se abrangidos os possíveis afastamentos, relativamente à presente memória descritiva, que sejam ebglobados pela prática conhecida ou habitual na especialidade em que se insere a presente invenção.

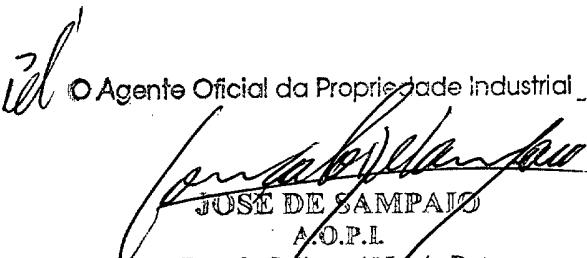
Tal como utilizado na presente invenção:

- a) o termo "paciente" designa animais de sangue quente tais como, por exemplo, cobaias, murganhos, ratos, gerbilos, gatos, coelhos, cães, macacos, chimpanzés e seres humanos;

- b) o termo "tratar" refere-se à capacidade dos compostos para mitigar, aliviar ou atenuar a progressão da doença no paciente ou quaisquer lesões teciduais associadas à doença;
- c) o termo "neurodegeneração" refere-se à morte progressiva e ao desaparecimento de uma população de células nervosas que ocorra de uma forma característica de uma dada doença e que origine lesões cerebrais ou outras lesões neuronais;
- d) o termo "choque" é utilizado para designar o choque circulatório, o choque séptico, o choque tóxico ou qualquer outra doença em que os radicais derivados de oxigénio originem uma pertusão inadequada de órgãos vitais, pelo sistema circulatório;
- e) a expressão "radical com oxigénio" deve ser entendida como designativa de radicais centrados em carbono, radicais com oxigénio ou qualquer biomolécula que contenha um electrão desemparelhado em qualquer argumentação sobre lesões teciduais.

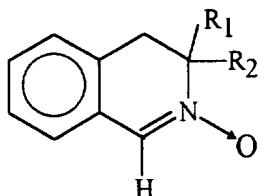
Os compostos de fórmula estrutural I também podem ser misturados com qualquer veículo inerte e podem ser utilizados em ensaios laboratoriais para determinar a concentração dos compostos no soro, na urina, etc. do paciente, conforme é sabido na especialidade. Os compostos também podem ser utilizados como ferramentas de pesquisa ao formarem aductos com o oxigénio molecular.

Lisboa, 13 de Julho de 2000

  
José de Sampaio  
A.O.P.I.  
Rua do Salitre, 195, r/c-Drt.  
1250 LISBOA

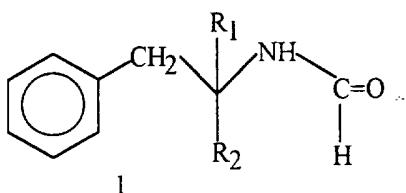
## Reivindicações

- 1.** Nitrona cíclica de fórmula estrutural:

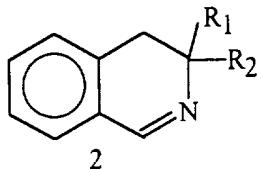


em que cada um dos símbolos  $R_1$  e  $R_2$  representa um grupo  $-CH_3$  ou então os substituintes  $R_1$  e  $R_2$  formam conjuntamente uma cadeia alquíleno( $C_2-C_7$ ).

- 2.** Composto de acordo com a reivindicação 1, em que cada um dos símbolos  $R_1$  e  $R_2$  representa um grupo  $-CH_3$ .
- 3.** Composto de acordo com a reivindicação 1, em que os substituintes  $R_1$  e  $R_2$  formam conjuntamente uma cadeia alquíleno( $C_4-C_7$ ).
- 4.** Composto de acordo com a reivindicação 1, em que os substituintes  $R_1$  e  $R_2$  considerados em conjunto formam um grupo  $(CH_2)_5$  ou  $(CH_2)_4$ .
- 5.** Processo para produzir um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 4, o qual consiste em submeter uma fenil-alquil-formamida de estrutura 1



em que os símbolos R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> possuem as significações definidas antes, a uma reacção de ciclização para formar o derivado heterocíclico de estrutura 2



que é depois submetido a um dos passos seguintes

- a) um passo de epoxidação seguido da clivagem do anel oxaziridina ou
  - b) uma reacção de oxidação para formar a nitrona de fórmula estrutural I.
6. Composição farmacêutica que incorpora um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 4, o qual está presente numa quantidade eficaz em mistura com um veículo farmaceuticamente aceitável.
7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para o tratamento de lesões oxidativas dos tecidos.
8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para o tratamento de apoplexias.
9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para o tratamento do enfarte do miocárdio.
10. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para o tratamento de doenças neurodegenerativas.

11. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para o tratamento do choque.
12. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para o tratamento de lesões teciduais associadas a um traumatismo físico em que haja hemorragias excessivas.
13. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6, útil para inibir a libertação da interleucina-1.
14. Método para a preparação de uma composição farmacêutica de acordo com uma qualquer das reivindicações 6 a 13, o qual consiste em combinar um composto de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 4 com um veículo farmaceuticamente aceitável.

Lisboa, 13 de Julho de 2000

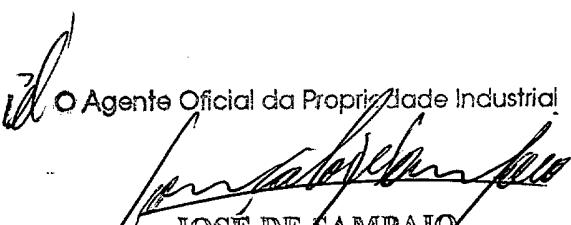
  
O Agente Oficial da Propriedade Industrial  
JOSE DE SAMPAIO  
A.O.P.I.  
Rua do Salitre, 195, 1<sup>o</sup>-Drt.  
1259 LISBOA

FIGURA I

EFEITO DO COMPOSTO SOBRE A ACTIVIDADE LOCOMOTORA EM  
GERBILOS NÃO ISQUÉMICOS

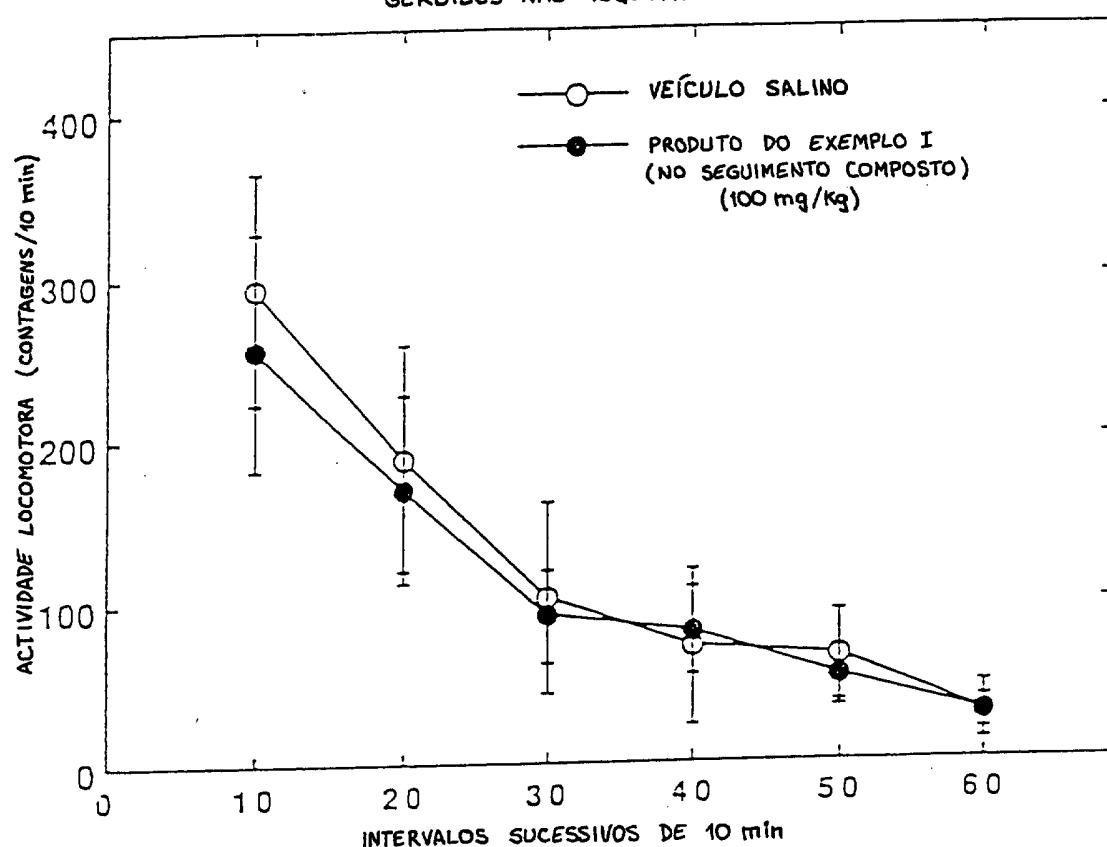


FIGURA II

EFEITO DE 5 min DE ISQUÉMIA SOBRE A ACTIVIDADE LOCOMOTORA  
EM GERBILS (AUSÊNCIA DE COMPOSTO)

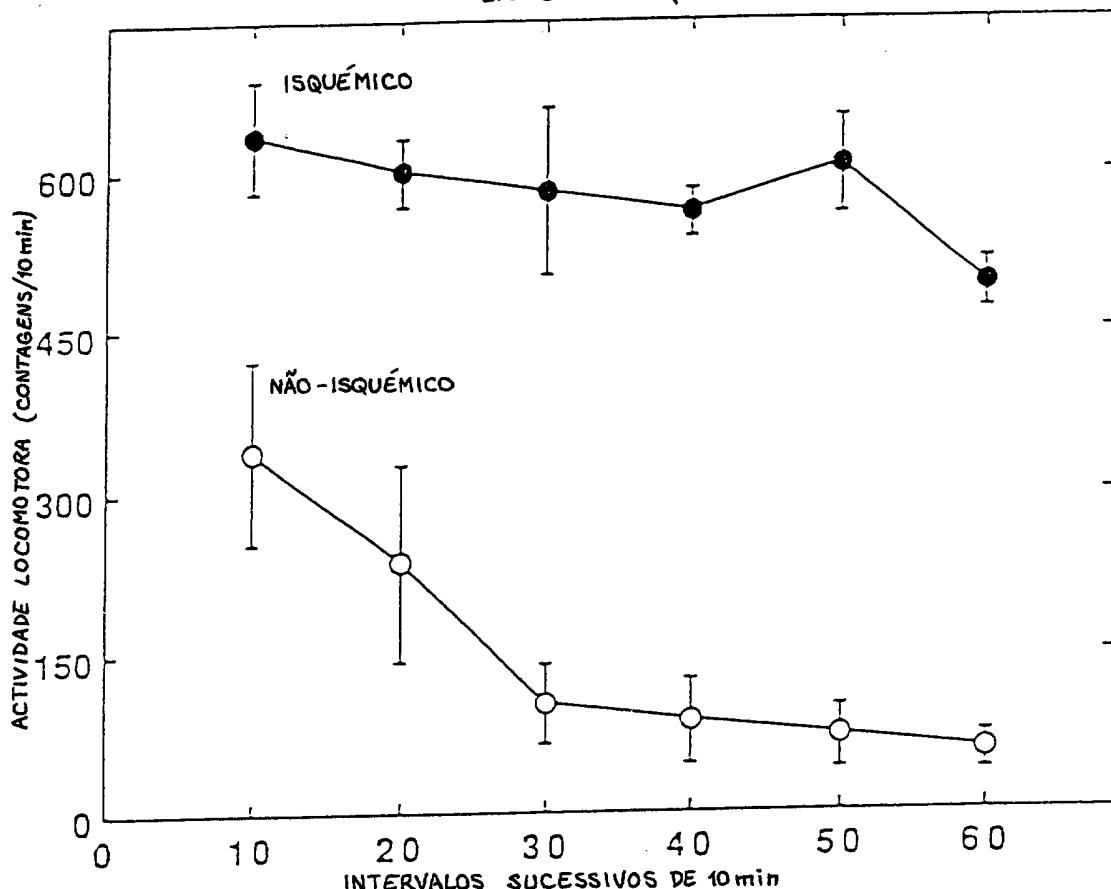
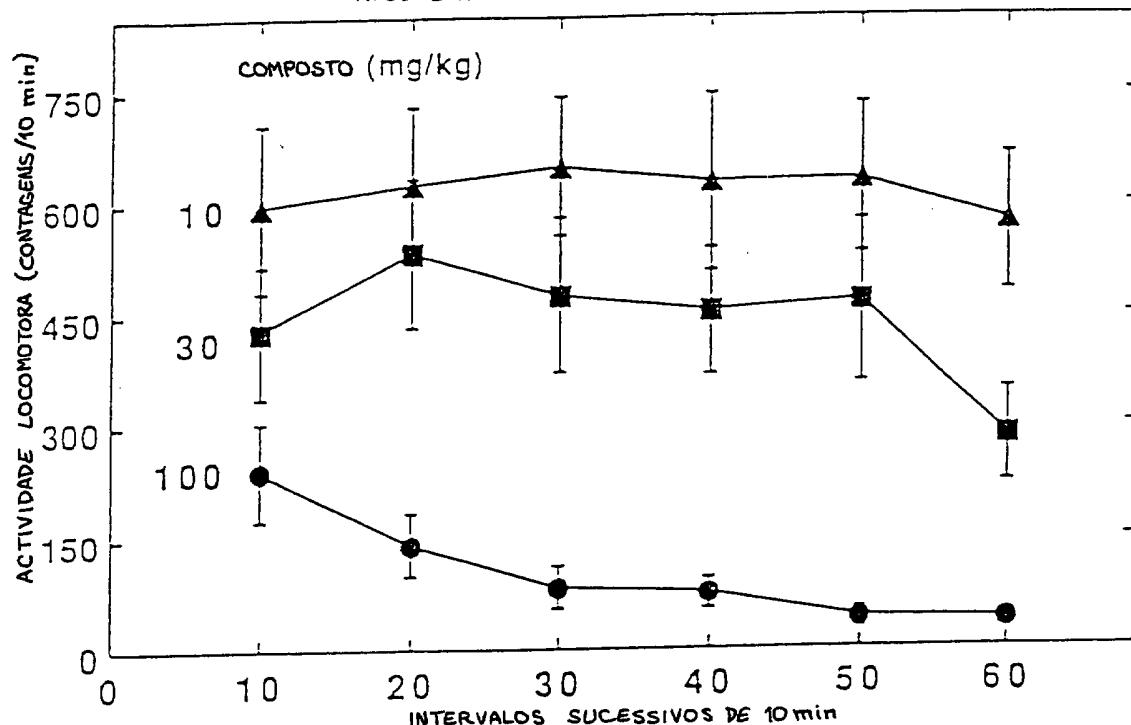


FIGURA III

EFEITO DO COMPOSTO SOBRE A ACTIVIDADE LOCOMOTORA  
APÓS 5min DE ISQUÉMIA



4 / 5

FIGURA IV

EFEITO DO COMPOSTO SOBRE A PERDA DE NÚCLEOS NEURAIS INDUZIDA POR ISQUÉMIA

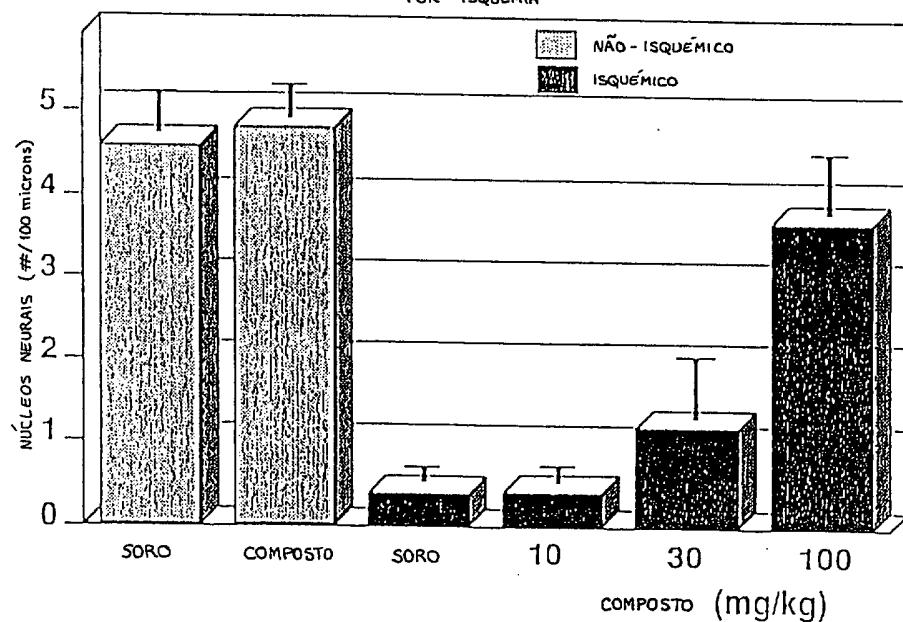


FIGURA V

EFEITO DE NITRONES CÍCLICOS SOBRE A ACTIVIDADE LOCOMOTORA  
EM GERBILOS

