

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 97 765

REQUERENTE: MALESCI ISTITUTO FARMACOBIOLOGICO S.p.A., italiana,
com sede em No.22/24 Via Nicola Porpora-50144
Firenze, Itália

EPÍGRAFE: "Processo de preparação de derivados de xantina 1,7-
-substituídos, dos seus sais fisiologicamente aceitáveis e de composições farmacêuticas que os contêm"

INVENTORES: Orenzo Agostini, Carla Bacciarelli, Graziano Bonacchi, Mauro Fedi e Stefano Manzini.

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

Itália, em 24 de Maio de 1990 sob o nº 47999-A/90

PATENTE Nº 97 765

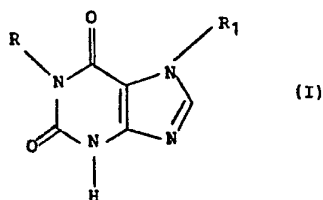
"Processo de preparação de derivados de xantina 1,7-substituídos, dos seus sais fisiologicamente aceitáveis e de composições farmacêuticas que os contêm"

para que

MALESCI ISTITUTO FARMACOBIOLOGICO S.p.A.,
pretende obter privilégio de invenção em Portugal.

R E S U M O

O presente invento refere-se ao processo de preparação de derivados de xantina, com actividade anti-asmática, de fórmula geral



na qual R é um grupo alquilo de cadeia linear ou ramificada com um a seis átomos de carbono, e

R₁ é um grupo alquilo ou hidroxialquilo de cadeia linear ou ramificada com um a seis átomos de carbono;
com a condição de R e R₁ não serem simultaneamente grupos metilo;
e dos seus sais fisiologicamente aceitáveis.

O processo compreende:

a) reagir 6-amino-1-benzil-5-bromo-2,4(1H,3H)-pirimidinadiona, em N,N-dimetilformamida, com uma alquil- ou hidroxialquil-amina primária de fórmula R₁NH₂,

b) formular as 6-amino-5-alquilamino-1-benzil-2,4(1H,3H)-pirimidinadionas, obtidas, com ácido fórmico;

c) alquilar os derivados N-formil, obtidos, com sulfatos de dialquilo em NaOH diluído ou com haletos de alquilo num solvente adequado através de salificação prévia com hidretos ou hidróxidos alcalinos;

d) desbenzilar as 3-alquil-6-amino-1-benzil-5-(N-formil-N-alquilamino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinadionas por hidrogenação catalítica à pressão atmosférica na presença de Pd/C e numa mistura solvente de amoníaco-água-álcool; e

e) ciclizar as 3-alquil-6-amino-5-(N-formil-N-alquil-amino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinadionas assim obtidas com oxicloreto fosforoso e N,N-dimetilformamida a 50-60°C; ou

a₁) nitrosar 1-alquil-4-amino-6-metoxi-pirimidina-6-(1H)-onas com a quantidade estequiométrica de nitrito de sódio e ácido clorídrico em dimetilsulfóxido a 60-70°C;

b₁) reduzir as 1-alquil-5-amino-2-metoxi-4-nitroso-pirimidina-6(1H)-onas, obtidas, por hidrogenação catalítica sob pressão $3,03 \times 10^5 - 5,05 \times 10^5$ Pa (3-5 atmosferas) numa suspensão em álcool e na presença de PtO₂;

c₁) ciclizar os derivados 1-alquil-4,5-diamina obtidos, por aquecimento sob refluxo com ácido fórmico a 98% ou por tratamento a 100°C com anidrido acético e trietilortoformato;

d₁) em seguida, alquilar as 1-alquil-2-metoxi-hipoxantinas assim obtidas, com sulfatos de alquilo em NaOH diluído ou com haletos de alquilo num solvente adequado, por salificação prévia com hidretos ou hidróxidos alcalinos ou com epóxidos de alquilo num álcool, como solvente, ou na presença de piridina; e

e₁) finalmente, se tratarem, no frio, com ácido clorídrico concentrado as 1-alquil-2-metoxi-7-alquil-hipoxantinas obtidas depois da separação dos isómeros 9-substituídos correspondentes que se formam na reacção correspondente ao passo b₁);

e, em seguida, quando adequado, se formarem os sais fisiologicamente aceitáveis dos derivados de xantina.

O invento refere-se ainda ao processo de preparação de composições farmacêuticas com actividade anti-asmática.

MEMÓRIA DESCRITIVA

Este invento refere-se a derivados de xantina 1,7- substituídos tendo actividade anti-asmática, bem como aos seus sais fisiologicamente aceitáveis, às suas composições farmacêuticas e ao processo para a sua preparação.

E conhecido desde há muito tempo que as xantinas substituídas têm actividade broncodilatadora.

Na verdade, a teofilina (1,3-dimetil-xantina) é utilizada com sucesso desde há longo tempo para o tratamento da asma brônquica, embora a sua eficiência seja limitada por efeitos laterais no sistema cardiovascular e no sistema nervoso central (Goodman e Gilman's " The Pharmacological Basis of Therapeutics", MacMillan Publishing Company, 1985).

Mais recentemente, foram realizadas investigações aprofundadas para encontrar derivados de xantina dotados de uma maior actividade e/ou com uma maior acção selectiva do que a teofilina. Por consequência, foram sintetizados muitos derivados substituídos por alquilo ou hidroxialquilo nas posições 1, 3, 7 e 8 da estrutura da xantina.

Em todos os compostos que mostrarem ser os mais interessantes como compostos broncodilatadores, a posição 3 é sempre substituída por alquilo (por exemplo, enerofilina; bamifilina; doxofilina; Merck Index, 11ª Edição, 1989) e em complemento, num estudo estrutura-actividade apresentada por Carl G.A. Persson (Carl G.A. Persson, Trends Pharmacol. Sci. 1982, 312-313) é realçado que a substituição N₃-alquilo é essencial para dar à estrutura da xantina a sua actividade broncodilatadora.

Existem poucos exemplos de derivados de xantina sem substituição N₃- na literatura científica, e, por outro lado, a própria paraxantina (1,7-dimetil-xantina) foi muito pouco investigada quanto aos seus efeitos farmacológicos até aos nossos dias (Aznan Lelo et al., J. Pharm. e Exp. Therapeutics 1989, 248,

315-319; M.J. Arnaud, C. Welsch em " Teophylline and other Methylxanthine" (The Proceedings of an International Symposium, Frankfurt/Main, Maio 29-30, 1981) Vieweg e Sohn Braunschweig R.F.T), apesar de ser o mais importante metabolito cafeina (1,3,7-trimetil-xantina) no Homem.

As propriedades e a síntese das 1,7-dialquil-xantinas foi revelada na literatura por Frederick G. Mann et al. (Frederick G. Mann et al., J. Chem. Soc. 1945, 751-60), mas os autores limitam-se a reportar que tais compostos têm uma excepcional actividade anti-tiróide.

No que respeita à sua síntese, os derivados substituídos por 1,7-dialquilo não podem ser preparados através do muito conhecido procedimento de Traube (W. Traube, Chem. Ber, 1900, 3035-3056) tal como modificado por Papesch (V. Papesch e E.F. Schroeder; J. Org. Chem. 1951, 16, 1879-1890) começando de uma ureia substituída por monoalquilo, porque as 3-alkil-xantinas são sempre obtidas por meio deste procedimento, compostos a partir dos quais as 3,7-dialquil-xantinas são facilmente preparadas através de posterior alquilação.

A preparação através da alquilação das 1-alkil-xantinas dá, por um lado, um número de problemas, porque as 1-alkil-xantinas são difíceis de sintetizar (Mah T. Schamin et al., J. Med. Chem., 1989, 32, 1231-1237), e por outro lado, através da alquilação dá uma mistura de 1,3- e 1,7-di-alkil-xantinas que não podem ser facilmente separadas.

No artigo de Frederick G. Mann acima mencionado são referidas algumas sínteses alternativas que são no entanto muito complicadas e dão rendimentos muito baixos.

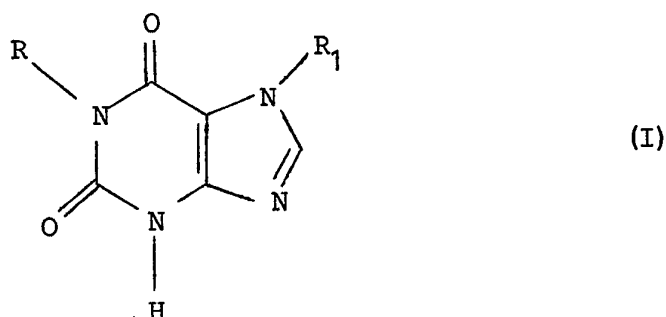
Por consequência, é possível pensar razoavelmente que o desenvolvimento limitado dos derivados da xantina substituídos em 1,7 por dialquilo é devida às enormes dificuldades na sua síntese e ao facto de os derivados substituídos N₃ terem sido

considerados até aos nossos dias os melhores compostos no que respeita à sua actividade antibronco-espásmica.

A paraxantina acima mencionada também nunca foi profundamente investigada no que respeita à sua actividade farmacobiológica (Aznon Lelo et al., cf., as referências bibliográficas aqui citadas). Contudo, nos testes laboratoriais realizados pelo próprio requerente, verificou-se que a paraxantina não apresenta nenhuma actividade antibronco-espásmica significativa.

Pelo contrário, foi surpreendentemente revelado, de acordo com o presente, que outros derivados da xantina 1,7-dialquilo- ou 1-alquilo-7-hidroxi-alquilo-substituídos mostram uma actividade broncodilatadora significativa o que está associado com os reduzidos efeitos de excitação central pelo que estes compostos podem ser empregues eficientemente como drogas anti-asmáticas.

Por consequência, o objecto específico do presente invento consiste nos derivados da xantina tendo actividade anti-asmática, com a fórmula geral (I):



na qual:

R é um grupo alquilo de cadeia linear ou ramificada de um a seis átomos de carbono, e

R₁ é um grupo alquilo ou hidroxialquilo de cadeia linear ou ramificada de um a seis átomos de carbono, com a condição de R e R₁ nunca serem simultaneamente grupos metilo.

No caso onde os grupos substituintes R e/ou R₁ tenham um átomo de carbono assimétrico, este invento inclui todas as



possíveis formas opticamente activas, bem como as misturas racêmicas dos compostos de fórmula (I).

Além disso, o objecto do presente invento consiste também nos sais fisiologicamente aceitáveis dos derivados de xantina de fórmula (I), que também podem ser utilizados no tratamento de doenças asmáticas.

As composições farmacêuticas que contêm os derivados da xantina acima mencionados ou os seus sais fisiologicamente aceitáveis pertencem também ao âmbito do invento, sendo estas composições adequadas para administração oral, rectal, parenteral, por inalação, bem como para uso tópico e útil no tratamento de asma brônquica, sendo convenientemente formulada como comprimidos, ampolas, xaropes, gotas, aerosóis, supositórios, geles, unguentos, formas de libertação sustida e outras.

Obviamente, os compostos que são estruturalmente diferentes dos de fórmula (I), mas uma vez administrados a organismos vivos são transformados em compostos de fórmula (I) e como tal utilizam os seus efeitos farmacológicos, são para ser considerados como incluídos no âmbito de protecção do presente invento.

Além disso, este invento refere-se a um processo para a preparação de compostos de fórmula (I), no qual:

a) 6-amino-1-benzil-5-bromo-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona (2) reage em N,N-dimetilformamida com uma alquil- ou hidroxialquil-amina primária de fórmula R_1NH_2 , na qual R_1 tem o mesmo significado que o definido em referência aos compostos de fórmula I;

b) as 6-amino-5-alquilamina-1-benzil-2,4-(1H,3H)-pirimidinodionas obtidas (3) são formiladas de preferência a 90°C com ácido fórmico, de preferência com 98% de concentração;

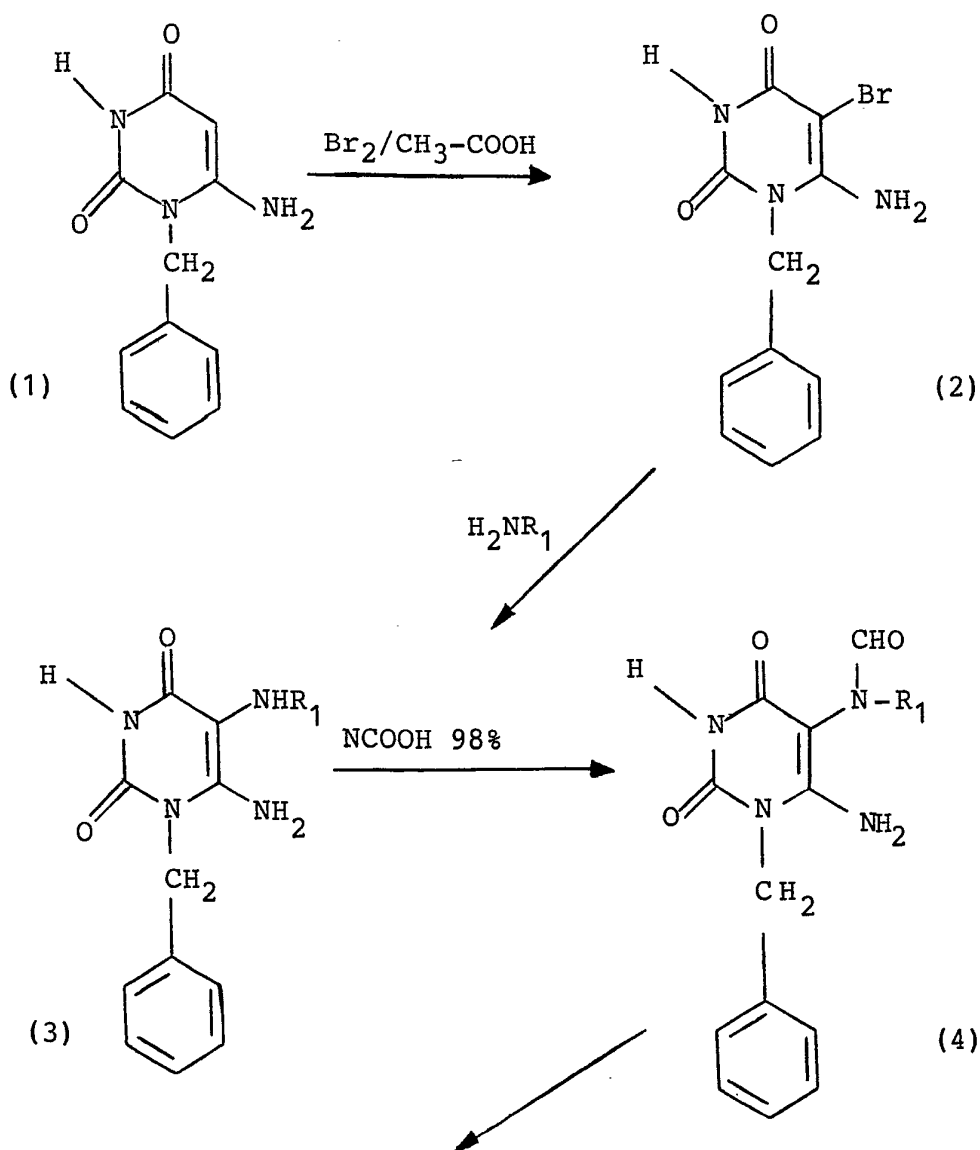
c) os derivados N-formilo resultantes (4) são alquilados com dialquilsulfatos em NaOH diluído ou com haletos de alquilo num solvente adequado, em particular em N,N-dimetilformamida através da

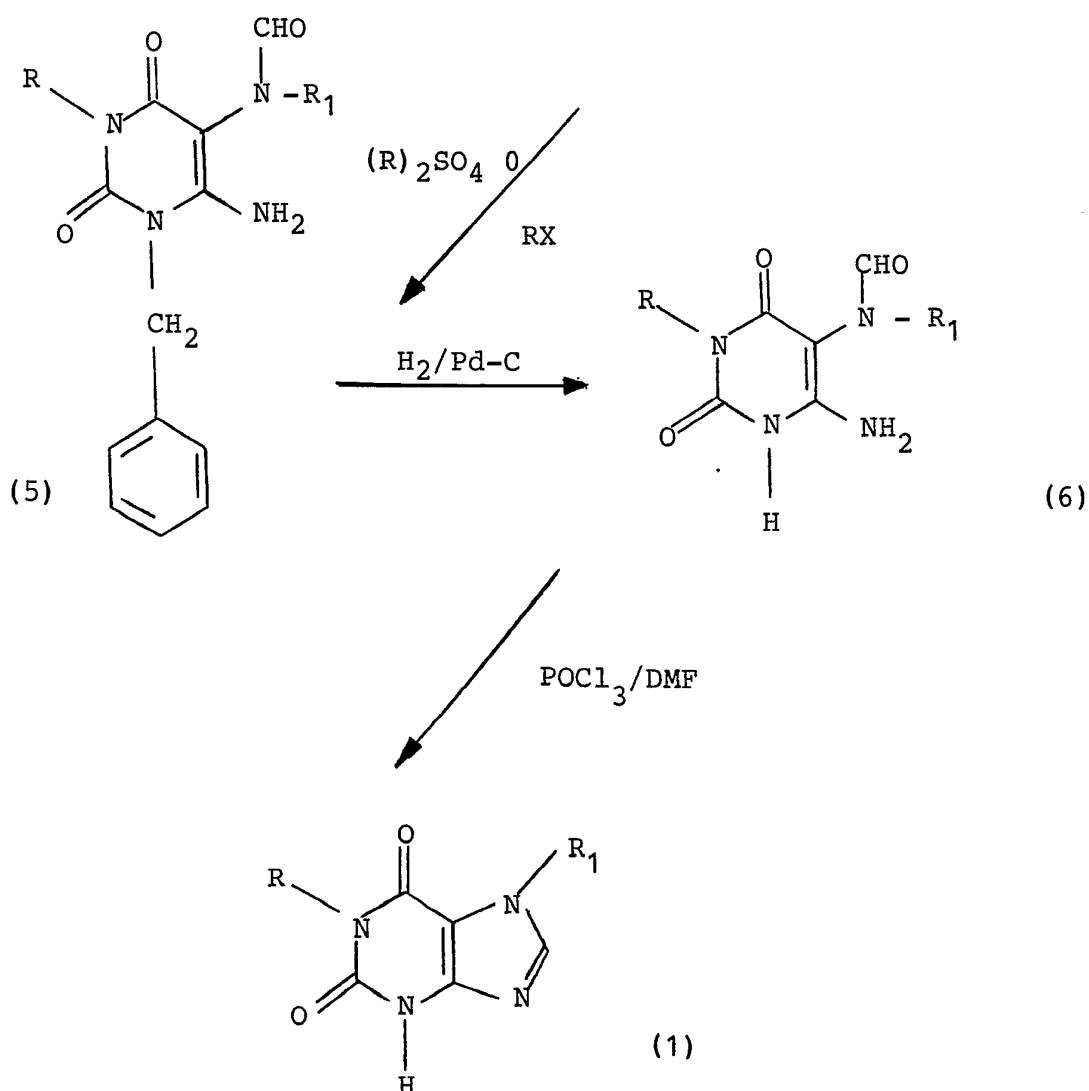
prévia formação de sais com hidretos ou hidroxidos alcalinos;

d) as 3-alkil-6-amino-1-benzil-5-(N-formil-N-alkilamino)2,4-(1H,3H)-pirimidinodionas (5) são desbenziladas por hidrogenação catalítica à pressão ambiente na presença de Pd/C e numa mistura solvente amoníaco-agua-álcool; e

e) as 3-alkil-6-amino-5-(N-formil-N-alkilamina)-2,4-(1H,3H)-pirimidinodionas assim obtidas (6) são finalmente sujeitas a cicli-zação com oxicloreto de fósforo e N,N-dimetilformamida a 50-60°C.

Esquema de Reacção A





No processo de preparação ilustrado no esquema de reacção A é utilizado o procedimento através do qual W. Hutzenlaub e W. Pfeleiderer (Liebigs Ann. Chem. 1979, 1847-1854) sintetizaram a paraxantina.

A reacção entre 6-amino-1-benzil-5-bromo-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona (2) e alquilaminas primárias a 100°C em N,N-dimetilformamida produz 6-amino-5-alquilamino-1-benzil-2,4(1H,3H)-pirimidinodionas (3) que são formiladas a 90°C com ácido fórmico a 98% (4) e depois são alquiladas com dialquilsulfatos em NaOH diluído ou com haletos de alquilo em N,N-dimetilformamida através da prévia formação de sais com hidretos e hidróxidos alcalinos por forma a produzir 3-alquil-6-amino-1-benzil-5-(N-formil-N-alquila-



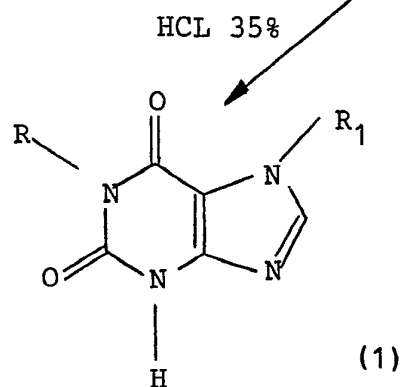
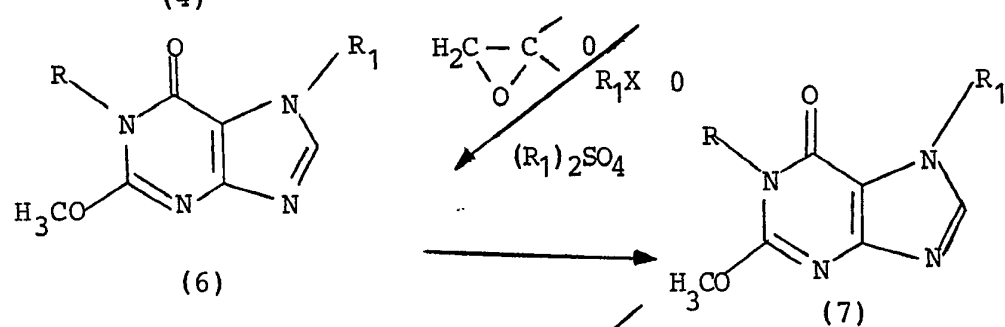
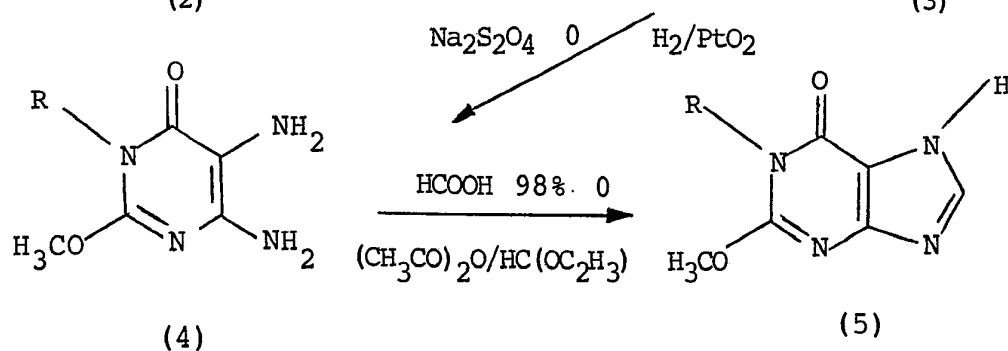
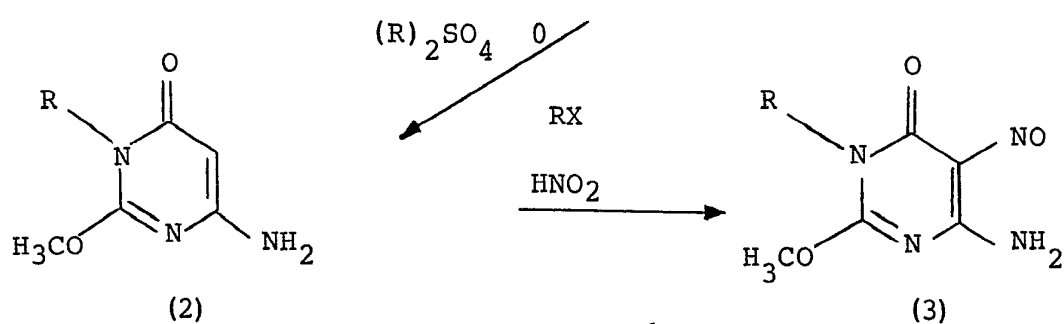
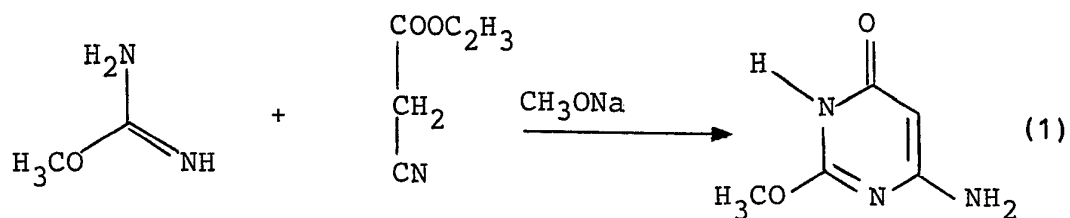
mino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinodionas (5).

Neste ponto, o processo prossegue através da reacção de desbenzilação, que é realizada através de hidrogenação catalítica, à pressão ambiente, na presença de Pd/C e numa mistura solvente amoníaco-água-álcool para obter 3-alquil-6-amino-5-(N-formil-N-alquilamino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinodionas (6) que são finalmente ciclizadas com oxiclureto de fósforo e N,N-dimetilformamida por forma a produzir 1,7-dialquilxantinas de fórmula geral (I).

É descrito um segundo processo, de acordo com o invento, para a preparação de compostos de fórmula (I), como a seguir se apresenta:

- a) 1-alquil-4-amino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-onas (2) são nitrosadas com a quantidade estequiométrica de nitrito de sódio e ácido clorídrico, processando-se a reacção em dimetilsulfóxido a 60-70°C;
- b) as 1-alquil-4-amino-2-metoxi-5-nitrosopirimidina-6(1H)-onas assim obtidas (3) são preferencialmente reduzidas através de hidrogenação catalítica sob pressão 303-505 kPa (3-5 atm) numa suspensão de álcool e na presença de PtO_2 .
- c) os derivados 1-alquil-4,5-diamino obtidos (4) são ciclizados por aquecimento sob refluxo com ácido fórmico a 98% ou por tratamento a 100°C com anidrido acético e trietilortoformato;
- d) as 1-alquil-2-metoxi-hipoxantinas assim obtidas (5) são subseqüentemente alquiladas com dialquilsulfatos em NaOH diluído ou com haletos de alquiló num solvente adequado, em particular N,N-di-metilformamida através de prévia formação de sais com hidretos ou hidróxidos alcalinos ou com de epóxidos de alquilo num meio alcoólico e na presença de piridina;
- e) as 1-alquil-2-metoxi-7-alquil-hipoxantinas (7) obtidas após a separação da mesma a partir dos correspondentes isómeros substituídos na posição 9, que podem ser formados na reacção correspondente ao passo d), são finalmente tratadas no frio, com ácido clorídrico concentrado.

Esquema de Reacção B



No processo de preparação ilustrado no esquema de reacção B, procede-se de uma forma semelhante ao procedimento de W. Pfeleiderer (Chem. Ber., 1957, 90, 2272-2276) até à obtenção das 1-alkuil-4,5-diamino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-onas (4). No processo modificado de acordo com o presente invento, as 1-alkuil-4-amino-2-metoxi-5-nitroso-pirimidina-6(1H)-onas (3) são obtidas de preferência pela reacção das 1-alkuil-4-amino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-onas correspondentes (2) a 60-70°C em dimetilsulfóxido com a quantidade estequiométrica de nitrito de sódio dissolvido na mínima quantidade de água, e então pela adição da quantidade estequiométrica de HCl concentrado.

Além disso, as 1-alkuil-4,5-diamino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-onas (4) são obtidas de preferência por hidrogenação catalítica sob pressão 303-505 kPa (3-5 atm) dos derivados nitroso correspondentes numa suspensão álcool e na presença de PtO_2 .

A reacção de ciclização não realizada de acordo com W. Pfeleiderer, pode ocorrer indiferentemente por aquecimento sob refluxo com ácido fórmico a 98% ou por tratamento a 100°C com anidrido acético e trietilortoformato.

As 1-alkuil-2-metoxi-hipoxantinas (5) são subsequentemente alkuiladas por meio de dialquilsulfato em NaOH diluído ou com haletos de alquilo em N,N-dimetilformamida através de prévia formação de sal com hidretos ou hidróxidos alcalinos, ou com epóxidos alquilo em álcool, como solvente, e na presença de piridina.

Em cada caso podem-se obter misturas isoméricas (6) de compostos alkilados nas posições 7 e 9 da estrutura da hipoxantina, sendo as referidas misturas separadas através de cristalização fraccionada ou através de HPLC preparativa ou através de cromatografia flash.

As 1-alkuil-2-metoxi-7-alkuil-hipoxantinas (7) são finalmente tratadas no frio, com HCl concentrado por forma a produzir as

1,7-dialquil-xantinas de fórmula geral I.

Os exemplos seguintes da preparação dos compostos do presente invento pretendem ilustrar o invento de uma forma não limitativa.

Preparação da 1-metil-7-isobutil-xantina
(Esquema de Reacção A)

1. Preparação da 6-amino-5-isobutilamino-1-benzil-2,4-(1H,3H)-pirimidinodiona

A uma suspensão de 50 g (0,169 moles) de 6-amino-1-benzil-5-bromo-2,4 (1H,3H)-pirimidinodiona (W. Hutzenlaub; W. Pfeleiderer, Liebigs Ann. Chem., 1979, 1847-1854) em 250 ml de N,N-dimetilformamida, são adicionados gota a gota com agitação, 50 ml (0,5 moles) de isobutilamina. A solução assim obtida é mantida a 90-100°C durante 3 horas, então, permite-se que a solução arrefeça até se obter uma grande quantidade de um precipitado que é então filtrado sob vácuo e lavado com álcool etílico e éter. São obtidos 20 g de um produto branco. p.f. 209-211°C.

Da solução reagente obtém-se um resíduo sólido após concentração até à secura, sendo o referido resíduo retomado com água e filtrado. Obtém-se assim uma quantidade adicional de 7 g de produto. p.f. 204-206°C.

2. Preparação da 6-amino-1-benzil-5-(N-formil-N-isobutilamino)-2,4 (1H,3H)-pirimidinodiona.

Uma solução de 20g (0,069 moles) de 6-amino-5-isobutilamino-1-benzil-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona em 30 ml de ácido fórmico a 98% é aquecido até 90°C durante 45 minutos, e subsequentemente é evaporado até à secura em vácuo. O sólido assim obtido é retomado com álcool etílico, filtrado em vácuo e lavado com éter. p.f. 255-258°C. Rendimento 20 g.

3. Preparação da 6-amino-1-benzil-3-metil-5-(N-formil-N-isobutilamino)-2,4 (1H,3H)-pirimidinodiona.

A uma solução de 7 g (0,022 moles) de 6-amino 1-benzil-5-(N-formil-N-isobutilamino)-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona em 45 ml de NaOH, 0,7 M são adicionados gota a gota, 3,2 ml de dimetilsulfato. Após alguns minutos começa-se a formar um precipitado, que é filtrado em vácuo e lavado com água. Rendimento 4,5 g. p.f. 174-5° C.

4. Preparação da 6-amino-3-metil-5-(N-formil-N-isobutilamino)-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona.

Uma suspensão de 2,5 g (7,7 mmoles) de 6-amino-1-benzil-3-metil-5-(N-formil-N-isobutilamino)-2,4(1H,3H)-pirimidinodiona em 70 ml de álcool metílico é hidrogenada à pressão ambiente com agitação na presença de 10 mg de Pd/C a 10%. A quantidade estequiométrica de hidrogênio é absorvida em cerca de 3 horas, então a suspensão é filtrada, a solução assim obtida é evaporada até à secura e o residuo sólido é retomado com álcool etílico, filtrado em vácuo e lavado com éter. Rendimento 1,5 g. p.f. superior a 300°C.

5. Preparação da 1-metil-7-isobutil-xantina

A uma suspensão de 1 g (4,2 mmoles) de 6-amino-3-metil-5-(N-formil-N-isobutilamino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinodiona em 5 ml de N,N-dimetilformamida, são adicionados 0,6 ml de uma solução preparada adicionando 0,9 ml de oxicloreto de fosforo a 1 ml de N,N-dimetilformamida. Após aquecimento a 60°C durante 30 minutos, a solução assim obtida é evaporada até à secura em vácuo e o residuo semi-sólido é retomado com água gelada. O sólido assim obtido é filtrado em vácuo, lavado com água e seco numa estufa a 80-100°C. Rendimento 800 mg. p.f. 222°C (H₂O).

Análise elementar (C₁₀H₁₄N₄O₂)

C calculado	54,04	C encontrado	53,98
H calculado	6,35	H encontrado	6,36
N calculado	25,21	N encontrado	25,25

Preparação da 1-metil-7-(2-metil-2-hidroxi-propil)-xantina
(Esquema de Reacção B)

1. Preparação da 1-metil-4-amino-5-nitroso-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-ona.

A uma solução de 60 g (0,39 moles) de 1-metil-4-amino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-ona (W. Pfeleiderer, Chem. Ber. 1957, 90, 2272-2276) em 900 ml de dimetilsulfóxido, são adicionados a 60°C com agitação vigorosa, 28,5 g (0,41 mmoles) de nitrito de sódio dissolvido em 60 ml de água, e depois são adicionados gota a gota 34 ml de HCl a 35%. Após alguns minutos, forma-se um precipitado de cor azul. Permite-se que a solução arrefeça em cerca de 1,5 horas até à temperatura ambiente, sendo então adicionados com agitação 2 l de água e após 1,5 horas o precipitado violeta é filtrado em vácuo e lavado com água, álcool etílico e éter. Rendimento 65 g. p.f. 125-126°C (dec.). Análise elementar ($C_6H_8N_4O_3$, H_2O) C, H, N.

2. Preparação da 1-metil-4,5-diamino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-ona.

Uma suspensão de 20,2 g (0,1 moles) de 1-metil-4-amino-5-nitroso-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-ona em 600 ml de álcool metílico é hidrogenada sob pressão 303 kPa (3 atm) e com agitação na presença de 50 mg de PtO_2 . A reacção está completa depois de cerca de 1,5 horas e a solução assim obtida é filtrada e evaporada até à secura. O resíduo sólido é cristalizado em 120 ml de água, obtendo-se assim 13 g de um composto cristalino amarelo, que é seco em vácuo em P_2O_5 e após secagem funde a 162-163°C. Análise elementar ($C_6H_{10}N_4O_2$) C, H, N.

3. Preparação da 1-metil-2-metoxi-hipoxantina.

Uma suspensão de 13 g (0,76 moles) de 1-metil-4,5-diamino-2-metoxi-pirimidina-6(1H)-ona em 100 ml de anidrido acético e 100 ml de trietilortoformato é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente e então aquecido a 120°C durante 3 horas. A solução assim obtida é evaporada até à secura, o resíduo é retomado com éter, filtrado em vácuo e cristalizado em 100 ml de água. Desta forma, são obtidos 7,5 g de um compostos com um p.f. 230-240°C.

Análise elementar ($C_7H_8N_4O_2$) C,H,N.

4. Preparação da 1-metil-2-metoxi-7-(2-metil-2-hidroxi-propil)-hipoxantina.

A uma suspensão de 7,2 g (0,04 moles de 1-metil-2-metoxi-hipoxantina em 100 ml de álcool metílico, são adicionados 0,6 ml de piridina e 6 ml de 1,2-epoxi-2-metil-propano (J. Am. Chem. Soc., 77, 1955, 5083; J. Am. Chem. Soc. 58, 1936, 2396-2402). A suspensão é refluxada durante 3 horas, ocorrendo uma completa dissolução. A solução é evaporada até à secura e o resíduo é dissolvido por aquecimento com 70 ml de álcool isopropílico. Depois de um longo período de repouso, precepitam 4 g de um composto com p.f. 180°C. Análise elementar ($C_{11}H_{16}N_4O_3$) C,H,N.

5. Preparação da 1-metil-7-(2-metil-2-hidroxi-propil)-xantina.

Uma solução de 4 g (0,016 moles) de 1-metil-2-metoxi-7-(2-metil-2-hidroxi-propil)-hipoxantina em 30 ml de HCl concentrado é mantida durante 30 horas à temperatura ambiente, sendo então concentrada até à secura sob vácuo e o resíduo sólido é cristalizado em 30 ml de H_2O .

Rendimento: 3 g; p.f. 265°C (H_2O)

Análise elementar ($C_{10}H_{14}N_4O_3$)

C calculado	50,41	C encontrado	50,46
H calculado	5,92	H encontrado	6,03
N calculado	23,52	N encontrado	23,62

De seguida, são descritos os testes farmacológicos realizados com os compostos de acordo com o presente invento, sendo estes testes referidos a testes similares realizados com teofilina e, nalguns casos, com paraxantina.

Toxicidade aguda

Ratinhos macho suíços (20 g de peso) em jejum (18 h) receberam drogas oralmente (0,2 ml/10 g de peso).

Os ratinhos foram observados durante 10 dias após a administração da droga. A morte e os sintomas foram avaliados. A DL_{50} foi obtida de acordo com Litchfield e Wilcoxon (J. Pharm. Expt. Ther. 96, 99; 1949).

DROGA	DL_{50} mg/kg
1-metil-7-isobutil-xantina	303
Teofilina	230

Actividade antibronco-espásmica in vitro

O efeito antibronco-espásmico foi avaliado nos brônquios isolados de cobaias (Manzini et al, Br. J. Pharmacol., 98, 1077; 1989). Foi produzida uma resposta broncomotora tônica estacionária por administração de carbacol (0,3 μ M) ou capsaicina (0,3 μ M, em presença de tiorfan (10 μ M) com a qual foi realizada uma curva concentração-resposta com os vários derivados da xantina. Na Tabela 1 são apresentadas as suas potências expressas como IC_{50} .

TABELA 1

Actividade antibronco-espásmica em brônquios isolados de cobaias. Os Resultados são expressos como IC_{50} μ M (95% C.L.)

	n	Carbacol	Capsaicina
Teofilina	(5)	92 (69-139)	40 (34-47)
1-metil-7-iso-			
butil-xantina	(8)	31 (29-34)	21 (19-23)
Paraxantina	(3)	135 (94-241)	82 (68-102)

Antagonismo relativamente aos efeitos broncomotores induzidos por acetilcolina e capsaicina em cobaias anestesiadas

Foram utilizadas cobaias anestesiadas. Foi administrado

D-Tubocurarina (3 mg/kg i.v.) e foi realizada ventilação mecânica (60 batidas/minuto) com uma bomba através de uma cânula traqueal. As drogas foram administradas por forma intravenosa num volume inferior a 0,5 ml/kg através de uma cânula jugular. A administração de acetilcolina (25 µg/kg) ou de capsaicina (2,5 µg/kg) suscitou um poderoso e momentâneo aumento da pressão de insuflação traqueal que se repetiu após 30 minutos. Foram administrados derivados de xantina em teste (70 µmol/kg i.v.) 15 minutos antes do segundo desafio com o agonista. A actividade anti-bronco-espásmica foi expressa como percentagem de inibição referida ao primeiro aumento da pressão de insuflação traqueal.

Os dados são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2

Efeito inibidor das xantinas administradas i.v. sobre o bronco-espasmo induzido por acetilcolina (Ach), capsaicina (caps) por antigénio (OA) em cobaias anestesiadas. As xantinas foram administradas em doses de 70 µmol/kg (Ach e Caps) e de 140 µmol/kg (OA).

Os valores são expressos como percentagem de inibição relativamente ao controlo de respostas (média ± e.p.m.). Entre parênteses é registado o número de experiências.

	Ach	Caps	OA
1-metil-7-isobutil-			
-xantina	54±5(5)	52±3(5)	86±5(5)
Teofilina	51±8(9)	51±7(8)	75±2(5)
Paraxantina	N.D.	N.D.	N.A.

N.D. - Não determinado

N.A. - Não activo

Antagonismo relativamente ao bronco-espasmo induzido por antigénio em cobaias sensibilizadas.

As cobaias (sensibilizadas 14 dias antes com 100 mg/kg s.c. mais 100 mg/kg i.p. de ovalbumina) (Herxheimer e Streseman-
-Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 125, 265; 1960) foram desafiados por um aerosol de 0,5% de ovalbumina, por um período de 10 segundos numa câmara fechada.

Num primeiro conjunto de experiências, foi registado o número de bronco-espasmos induzidos por aerossol em condições de controlo ou 1 hora depois da administração oral das substâncias em teste.

Os dados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3

Actividade antibronco-espásmica in vivo de xantinas administradas oralmente (0,55 mmol/kg) a cobaias sensibilizadas, 1 hora antes de expostas a um aerossol com ovalbumina.

Os dados (média $\pm$ e.p.m.) são expressos em número de bronco-espasmos registadas em 5 minutos.

	n	bronco-espasmos/minuto
Grupo de controlo	12	8,4 $\pm$ 0,8
1-metil-7-isobutil-xantina	9	5,0 $\pm$ 1,1*
Teofilina	6	4,6 $\pm$ 1,2*

* $p < 0,05$

Num segundo conjunto de experiências, as cobaias (sensibilizadas com 100 mg/kg s.c. mais 100 mg/kg i.p. de ovalbumina (OA) 14 dias antes) foram tratadas tal como previamente descrito, embora o bronco-espasmo fosse produzido por administração de OA por aerossol OA (0,5% durante 20 segundos). As substâncias em teste (140 μ mol/kg i.v.) foram administradas 15 minutos antes. A actividade antibronco-espásmica foi expressa como percentagem de inibição referida ao grupo de controlo. Os dados são apresentados na Tabela 2.

Efeitos no sistema nervoso central

Letalidade induzida por pentilentetrazol em ratinhos

Ratinhos macho suíços (20 g de peso corporal) em jejum (20 horas) receberam i.p. pentilentetrazol (PTZ) numa dose convulsiva que provocou a morte em cerca de 10% dos animais (60-75 mg/kg). Os ratinhos foram observados durante 1 hora após a injeção de PTZ. As drogas foram administradas oralmente (0,55 mmol/kg) num volume de 20 ml/kg, 1 hora antes do PTZ. A excitação do SNC foi avaliada como o aumento da mortalidade do PTZ. Os resultados são apresentados na Tabela 4.

Sono induzido por clordiazepóxido em ratinhos

Ratinhos macho suíços (20 g de peso corporal) esfomeados (20 horas) foram injectados com clordiazepóxido (CDO) (100 mg/kg i.p.) e foi estabelecida a duração do sono induzido. O tempo de sono foi definido como o tempo decorrido entre a perda e a recuperação do reflexo de compensação (righting reflex). As drogas foram administradas oralmente (0,55 mmol/kg) num volume de 20 ml/kg, 1 hora antes do CDO. A excitação do SNC foi avaliada como o decréscimo do tempo de sono (Tabela 4).

TABELA 4

Efeito dos derivados da xantina (0,55 mM/kg) administrados oralmente na mortalidade induzida por pentilenotetrazol(PTZ) e o sono induzido por clordiazepóxido(CDO) em ratinhos

	Teste PTZ Taxa de mortalidade (%)	Teste CDO Tempo de sono (minutos)
Controlos	10	27,1±3,5
Teofilina	80	7,8±2,2*
1-metil-7-isobutil- -xantina	20	26,1±3,3
Paraxantina	82	2,3±1,5*

*p<0,01

Este invento foi descrito com referência específica a

72 629

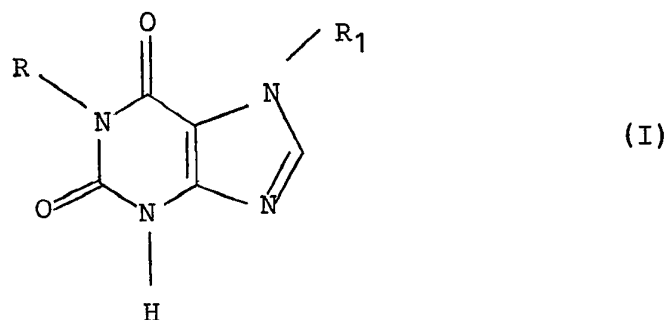
Tg.21450(CJ)

20

algumas concretizações preferidas do mesmo, mas deve ser entendido que modificações e/ou alterações podem ser introduzidas pelos especialistas na arte sem sair do âmbito do invento para o qual é reivindicado o direito de prioridade.

REIVINDICAÇÕES

12. Processo de preparação de derivados de xantina, possuindo actividade anti-asmática, de fórmula geral (I):



na qual

R é um grupo alquilo de cadeia linear ou ramificada com um a seis átomos de carbono, e

R₁ é um grupo alquilo ou hidroxialquilo de cadeia linear ou ramificada com um a seis átomos de carbono, com a condição de R e R₁ não serem simultaneamente grupos metilo, das suas formas opticamente activas e misturas racêmicas quando R e/ou R₁ tem um átomo de carbono assimétrico e dos seus sais fisiologicamente aceitáveis, caracterizado por

a) se fazer reagir 6-amino-1-benzil-5-bromo-2,4(1H,3H)-pirimidinadiona, em N,N-dimetilformamida, com uma alquil- ou hidroxialquil-amina primária de fórmula R₁NH₂, na qual R₁ tem o significado definido relativamente aos compostos de fórmula (I);

b) se formularem as 6-amino-5-alquilamino-1-benzil-2,4(1H,3H)-pirimidinadionas obtidas, com ácido fórmico;

c) se alquilarem os derivados N-formil, obtidos, com sulfatos de dialquilo em NaOH diluído ou com haletos de alquilo num solvente adequado através de salificação prévia com hidretos ou hidróxidos alcalinos;

d) se desbenzilarem as 3-alquil-6-amino-1-benzil-5-(N-formil-N-alquilamino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinadionas por hidrogenação catalítica à pressão atmosférica na presença de Pd/C e numa mistura solvente de amoníaco-água-álcool; e

e) se ciclizarem as 3-alquil-6-amino-5-(N-formil-N-alquilamino)-2,4-(1H,3H)-pirimidinadionas assim obtidas com oxicloreto fosforoso e N,N-dimetilformamida a 50-60°C; ou

a₁) se nitrosarem 1-alquil-4-amino-6-metoxi-pirimidina-6-

-(1H)-onas com a quantidade estequiométrica de nitrito de sódio e ácido clorídrico em dimetilsulfóxido a 60-70°C;

b₁) se reduzirem as 1-alquil-5-amino-2-metoxi-4-nitroso-pirimidina-6(1H)-onas obtidas, por hidrogenação catalítica sob pressão $3,03 \times 10^5 \times 5,05 \times 10^5$ Pa (3-5 atmosferas) numa suspensão em álcool e na presença de PtO₂;

c₁) se ciclizarem os derivados 1-alquil-4,5-diamina obtidos, por aquecimento sob refluxo com ácido fórmico a 98% ou por tratamento a 100°C com anidrido acético e trietilortoformato;

d₁) em seguida, se alquilar em as 1-alquil-2-metoxi-hipoxantinas assim obtidas, com sulfatos de alquilo em NaOH diluído ou com haletos de alquilo num solvente adequado, por salificação prévia com hidretos ou hidróxidos alcalinos ou com epóxidos de alquilo num álcool, como solvente, ou na presença de piridina; e

e₁) finalmente, se tratarem, no frio, com ácido clorídrico concentrado as 1-alquil-2-metoxi-7-alquil-hipoxantinas obtidas depois da separação dos isômeros 9-substituídos correspondentes que se formam na reacção correspondente ao passo b₁);

e, em seguida, quando adequado, se formarem os sais fisiologicamente aceitáveis dos derivados de xantina.

2a. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a reacção do passo a) ser levada a cabo a cerca de 100°C.

3a. Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por no passo b), a formilação ser realizada a 90°C com ácido fórmico a 98%.

4a. Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1-3 precedentes, caracterizado por a reacção de alquilação do passo c) ocorrer em N,N-dimetilformamida.

5a. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a alquilação de acordo com o passo d₁) ser levada a cabo em N,N-dimetilformamida.

6a. Processo de preparação de uma composição farmacêutica adequada para o tratamento de asma brônquica, caracterizado por

72 629

Tg.21450(CJ)

23

se associarem derivados de xantina ou os seus sais fisiologicamente aceitáveis, preparados de acordo com as reivindicações anteriores, com portadores ou diluentes adequados.

7a. Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por se formular a composição na forma de comprimido, frasco, xarope, gotas, aerossol, supositórios, geles, unguentos ou formas de libertação sustida.

Lisboa,

24. MAI 1991

Por MALESCI ISTITUTO FARMACOBIOLOGICO S.p.A.

-O AGENTE OFICIAL-

O ADJUNTO

