

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

**N.º 101.027**

**REQUERENTE:** SANDOZ-S.A., suíça, industrial, com sede em  
CH-4002 Basel, Suíça

**EPÍGRAFE:** "PEPTÍDEOS, PROCESSO PARA A SUA PREPARAÇÃO  
E SUA UTILIZAÇÃO COMO COMPOSTOS FARMACÊUTICOS"

**INVENTORES:** RICHARD HENG, TREVOR GLYN PAYNE, LASZLO  
RÉVÉSZ e BEAT WEIDMANN, residentes na Suíça

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

Reino Unido, em 4 de Novembro de 1991, sob o no.9123326

104627



"PEPTÍDEOS, PROCESSO PARA A SUA PREPARAÇÃO E SUA UTILIZAÇÃO COMO COMPOSTOS FARMACÊUTICOS"

=====

MEMÓRIA DESCRITIVA

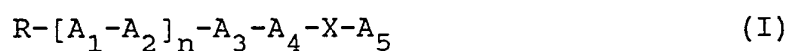
Resumo

O presente invento diz respeito a di-, tri- e tetrapeptídeos em que o último  $\alpha$ -aminoácido se baseia em ácido aspártico e liga-se a um resíduo  $A_5$  o qual é H;  $CF_3$ ;  $-Z_1-Z_2-Y_2$  em que  $Z_1$  e  $Z_2$  são independentemente uma ligação directa ou um resíduo de  $\alpha$ -aminoácido e  $Y_2$  é  $NH_2$ , alquilamino  $C_{1-4}$ , di-(alquil $C_{1-4}$ )amino ou um radical heterocíclico ligado por um azoto a  $Z_2$ ;  $-CH_2-X_1-Y_3$  em que  $X_1$  é O ou S e  $Y_3$  é heteroarilo;  $-CH_2-Y_3$ ; fenilo substituído; fenoximetileno ou feniltiometileno substituído no anel; piridiloximetileno substituído no anel; ou um radical  $-CH_2-X_1-CO-Y_4$  em que  $X_1$  é O ou S e  $Y_4$  é trialquilmétilo ou fenilo substituído ou piridilo, na forma livre ou na forma de sal; bem como a processos para a sua preparação. Estes compostos têm actividade farmacológica, por exemplo propriedades inibidoras da libertação de IL-1 $\beta$ .

*[Handwritten signature]*

O presente invento está relacionado com peptídeos tendo utilidade farmacêutica, processos para a sua produção, composições farmacêuticas contendo-os e sua utilização como fármacos.

Mais particularmente o presente invento proporciona um composto da fórmula I



em que

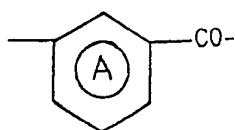
R é hidrogénio, um grupo protector amina ou benziloxi facultativamente substituído no anel

n é 0 ou 1,

A<sub>1</sub> é Val, Leu, Ala, Ile ou trimetilsilil-Ala

A<sub>2</sub> é Fen ou Tir,

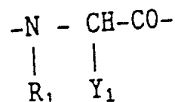
A<sub>3</sub> é uma ligação directa, Val, Leu, Ala, Ile, trimetilsilil-Ala ou um radical divalente da fórmula (a)



(a)

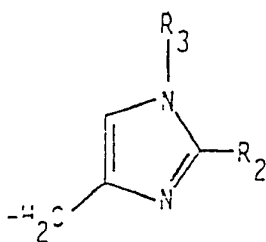
em que o anel A é facultativamente substituído por hidroxilo ou alcóxido C<sub>1-4</sub>,

A<sub>4</sub> é uma ligação directa ou um radical divalente da fórmula (b)



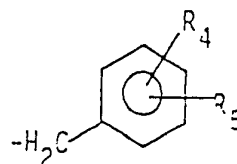
(b)

em que  $\text{R}_1$  é hidrogénio ou alquilo  $\text{C}_{1-4}$  e  $\text{Y}_1$  é o resíduo ligado ao átomo de carbono  $\alpha$  do  $\alpha$ -aminoácido e  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})_2$ , imidazol-2-il-metilo, benzimidazol-2-il-metilo, 1H-1,2,4-triazol-3-il-metilo, pirazol-3-il-metilo, indazol-3-il-metilo ou um radical da fórmula (c) ou (d) facultativamente protegidos



(c)

ou



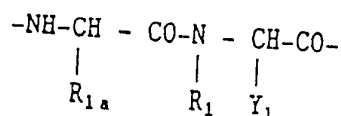
(d)

em que

$\text{R}_2$  e  $\text{R}_3$  são independentemente hidrogénio, halogénio, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ,  $\text{CF}_3$  ou tritilo, quando muito  $\text{R}_2$  ou  $\text{R}_3$  é H e

$\text{R}_4$  e  $\text{R}_5$  são independentemente hidrogénio, alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , hidroxilo, alcoxilo  $\text{C}_{1-4}$ ,  $\text{CF}_3$ , fenilo ou halogénio, quando muito  $\text{R}_4$  ou  $\text{R}_5$  é H,

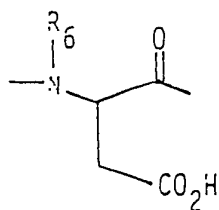
ou  $\text{A}_3$  e  $\text{A}_4$  formam em conjunto um radical da fórmula (aa)



(aa)

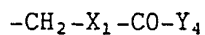
em que  $Y_1$  é como definido atrás e  $R_1$  e  $R_{1a}$  formam em conjunto  $-(CH_2)_m$  em que  $m$  é 2, 3, 4 ou 5 e

- 1)  $X$  é um radical divalente da fórmula ( $e_1$ )

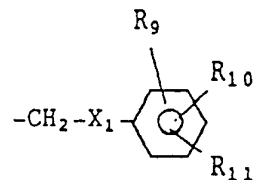


( $e_1$ )

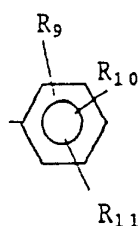
em que  $R_6$  é H ou alquilo  $C_{1-4}$ ,  
e  $A_5$  é hidrogénio;  $CF_3$ ; um radical  $-Z_1-Z_2-Y_2$  em que  $Z_1$  e  $Z_2$  são independentemente uma ligação directa ou um resíduo de  $\alpha$ -aminoácido e  $Y_2$  é  $NH_2$ , alquilamino  $C_{1-4}$ , di- $(C_{1-4}$ -alquil)amino ou um radical heterocíclico ligado por um azoto a  $Z_2$ ; um radical  $-CH_2-X_1-Y_3$  em que  $X_1$  é O ou S e  $Y_3$  é heteroarilo; um radical  $-CH_2-Y_3$ ; ou um radical da fórmula (k) a (m)



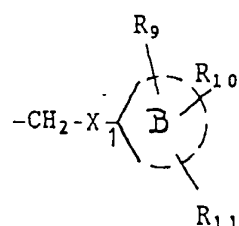
(k)



(l)



(m)



(o)

em que

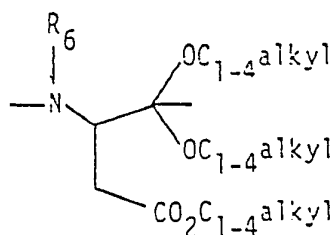
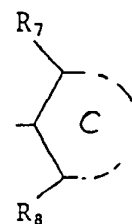
$\text{Y}_4$  é tri-(alquil  $\text{C}_{1-4}$ )metilo ou um resíduo

anel B é piridilo,

anel C é fenilo ou piridilo,

$\text{R}_7$  e  $\text{R}_8$  são independentemente alquilo  $\text{C}_{1-4}$ , alcoxilo  $\text{C}_{1-4}$ ,  $\text{CF}_3$ , halogênio, azoto ou ciano e  $\text{R}_9$ ,  $\text{R}_{10}$  e  $\text{R}_{11}$  são independentemente azoto, ciano,  $\text{CF}_3$ , carbamoilo,  $\text{CO}_2\text{R}_{12}$ ,  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CN}$  ou  $-\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{R}_{12}$  em que  $\text{R}_{12}$  é alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ,

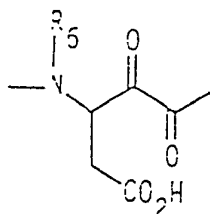
X sendo também um radical divalente da fórmula (e<sub>2</sub>)



(e<sub>2</sub>)

quando  $A_5$  é H ou

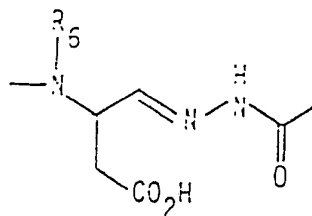
(2) X é um radical divalente da fórmula (f)



(f)

e  $A_5$  é  $-Z_1-Z_2-Y_2$  ou um radical da fórmula (k) a (o) como definido atrás ou  $OR_{13}$  ou  $NR_{14}R_{15}$  em que  $R_{13}$  é alquilo  $C_{1-12}$  facultativamente substituído por OH ou interrompido por O e  $R_{14}$  e  $R_{15}$  são independentemente independentemente hidrogénio, alquilo  $C_{1-12}$ , cicloalquilo  $C_{5-7}$  ou benzilo, ou

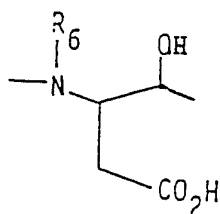
3) X é um radical divalente da fórmula (g)



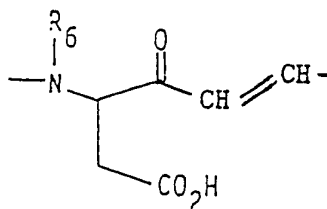
(g)

e  $A_5$  é  $-Z_1-Z_2-Y_2$  como definido atrás ou

4) X é um radical divalente da fórmula (h) ou (j)



(h)



(j)

~~Handwritten signature~~

e  $A_5$  é um radical da fórmula (k) a (o),  $-\text{CH}_2-\text{Y}_3$  ou  $-\text{CH}_2-\text{X}_1-\text{Y}_3$  como definido atrás,

com a condição de apenas  $A_3$  ou  $A_4$  poder ser uma ligação directa quando  $n$  é 0 e  $A_3$  ou  $A_4$  não ser uma ligação directa quando  $n$  é 1, e seus ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis, na forma livre, na forma de sal ou na forma de complexos.

Exemplos de grupos protectores  $R$  estão descritos e.g. em "Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene, J. Wiley & Sons NY (1981), 219-287, por exemplo acilo como seja acetilo, metoxissuccinilo, hidroxissuccinilo ou benzoilo facultativamente substituído no anel fenilo com e.g. p-metoxicarbonilo, p-metoxilo ou p-nitro; alcoxicarbonilo como seja t-butiloxicarbonilo; arilmetoxicarbonilo como seja 9-fluorofenilmetoxicarbonilo ou benziloxicarbonilo facultativamente substituídos no anel fenilo com p-metoxilo, p-nitro, p-cloro ou m-fenilo; arilmetilo como seja benzilo facultativamente substituído no anel com p-metoxilo, p-nitro ou p-cloro; ou arilsulfonilo como seja fenilssulfonilo facultativamente substituído no anel com p-metilo ou p-metoxilo ou naftilsulfonilo facultativamente substituído no anel com e.g. amina ou di(alquil  $\text{C}_{1-4}$ )amina.

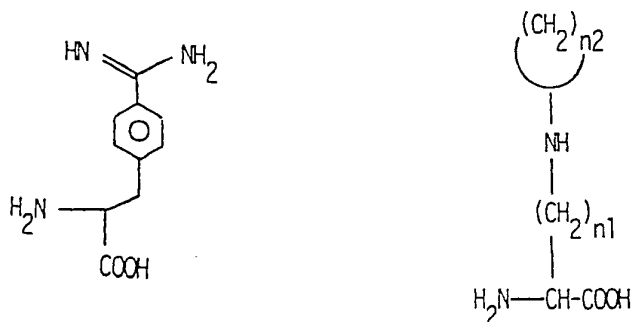
Quando  $R$  é benziloxilo, é preferencialmente benziloxilo substituído com hidroxilo ou alcoxilo  $\text{C}_{1-4}$ . Preferencialmente  $R$  é benziloxilo não substituído.

Halogénio é preferencialmente fluor ou cloro.

Quando  $A_3$  é um radical substituído da fórmula (a) é preferencialmente substituído por alcoxilo  $\text{C}_{1-4}$ , preferencialmente para  $-\text{C}=\text{O}$ .



Por  $\alpha$ -aminoácido pretende-se significar um  $\alpha$ -aminoácido natural ou comercial ou não natural ou um seu isómero óptico. Um  $\alpha$ -aminoácido não natural é um  $\alpha$ -aminoácido que não é incorporado numa proteína sob a direcção de mRNA, e.g.  $\beta$ -Nal, um fluoro- $\alpha$ -aminoácido como seja fluoroalanina, trimetilsilil-Ala ou um  $\alpha$ -aminoácido como seja



em que  $n_1$  é um inteiro entre 1 e 6 e  $n_2$  é um inteiro entre 1 e 12.

Os grupos protectores que podem estar presentes em  $Y_1$  são grupos que protegem a função de O, S ou N nos grupos amina das cadeias laterais de um  $\alpha$ -aminoácido. Os grupos protectores de N são e.g. como descritos atrás para R ou alquilo  $C_{3-5}$  como seja isopropilo, formilo, um resíduo de açúcar como seja 1-deso-fructosilo ou  $\alpha$ -glucosil(1-4)-desoxifructosilo, di-hidroxi-alquilo  $C_{3-6}$  como seja di-hidroxipropilo, cicloalquilo  $C_{5-7}$  como seja ciclo-hexilo ou tropinilo. grupos protectores de O e S para as funções hidroxilo e tiol são conhecidos e podem ser e.g. metilo, t-butilo ou benzilo.

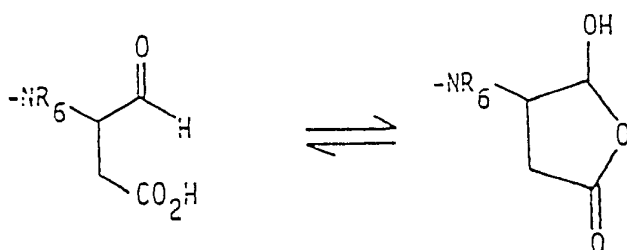
Quando  $Y_2$  é um radical heterocíclico, ele pode ser e.g. um anel de 5 ou 6 membros, e.g. piperidino ou pirrolidinilo.

Exemplos de heteroarilo como  $Y_3$  incluem e.g. radicais heteroacíclicos insaturados de 5, 6 ou 7 membros, compreendendo pelo menos um azoto e facultativamente ainda heteroátomos tais como N, O ou S. De preferência  $Y_3$  é heteroarilo compreendendo entre 1 e 4 átomos de azoto, e.g. piridilo, triazolilo, tetrazolilo, triazin-dionilo.

No anel B do radical (o), o átomo de azoto pode estar em o, m ou para. Quando o anel C no radical (k) é piridilo ele pode ser 3-, 4- ou 5-piridilo.

Os radicais ( $e_1$ ), ( $e_2$ ), (f), (g) e (j) derivam de Asp e compreendem um átomo de carbono assimétrico e o radical (h) compreende dois átomos de carbono assimétricos e portanto conduzem a isomerismo óptico. Será compreendido que o presente invento inclui todas as formas isoméricas individuais e diastereoisómeros assim como misturas, e.g. racematos, a menos que de outra forma seja estabelecido.

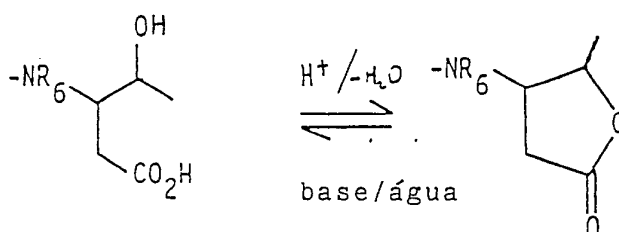
O radical da fórmula ( $e_1$ ) ligado a  $A_5$  que é hidrogénio pode existir na forma cíclica e não cíclica e.g. como se segue:



Deve-se entender que sempre que ocorrem formas tautoméricas, o presente invento engloba formas de lactol e de ácido oxo-carboxílico, i.e. se bem que os compostos da fórmula I em que X é um radical da fórmula ( $e_1$ ) sejam definidos por conveniência

por referência apenas à forma de ácido oxo-carboxílico, o invento não deve ser compreendido como sendo de alguma forma limitado pela nomenclatura particular ou representação gráfica empregue. Considerações semelhantes aplicam-se em relação aos materiais de partida que apresentam tautomerismo do ácido lactol/oxo-carboxílico como aqui descrito a seguir.

As mesmas considerações aplicam-se ao radical da fórmula (h) o qual pode existir na forma linear e na forma cíclica como se segue:



e a compostos da fórmula I compreendendo um radical da fórmula (h) e aos correspondentes materiais de partida.

Pelo termo "ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis" pretende-se significar ésteres e amidas que são hidrolisáveis em condições fisiológicas para dar alcoóis ou aminas que são elas próprias fisiologicamente aceitáveis, i.e. que não são tóxicas nos níveis de dosagem pretendidos.

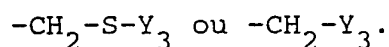
Tais ésteres ou amidas são obtidos por esterificação ou amidação, respectivamente de um composto da fórmula I em que X é um radical portador de um grupo carboxilo. Tais ésteres incluem ésteres com um álcool alifático ou alicíclico ou poliol tendo 1 a 12 átomos de carbono. Tais amidas incluem amidas com aminas alifáticas, e.g. alquilamina  $C_{1-4}$ , alcóxi $C_{1-4}$ alquilamina $C_{1-4}$  como seja  $\beta$ -metoxi-etilamina ou anilina.

Os compostos da fórmula I podem existir e.g. na forma livre, forma de sal de adição ácida ou na forma de complexos. Os sais de adição ácida podem ser formados com e.g. ácidos orgânicos, ácidos poliméricos e ácidos inorgânicos. Tais formas de sal de adição de ácido incluem e.g. os hidrocloreto e acetatos. As formas de sal podem também incluir os obtidos com o grupo carboxílico presente em compostos da fórmula I, e.g. sais de metais alcalinos tais como sais de sódio ou potássio ou sais de amónio substituídos ou não substituídos. Os complexos são e.g. formados a partir de compostos da fórmula I quando da adição de substâncias orgânicas, e.g. sais inorgânicos ou hidróxidos tais como sais de Ca e Zn, e/ou uma adição de substâncias orgânicas poliméricas.

Nos compostos da fórmula I, as significâncias são preferidas individualmente ou em qualquer combinação ou subcombinação:

1. R é um grupo protector amina ou benziloxi, preferencialmente um grupo protector de amina. R é preferencialmente benziloxi quando  $n$  é 0 e  $A_3$  é um radical da fórmula (a).
2.  $A_3$  e  $A_4$  não são uma ligação directa.
3.  $n$  é 0.
4.  $A_3$  é um radical da fórmula (a) quando  $n$  é 0.
5.  $A_3$  é uma ligação directa, Val, Leu, Ala, Ile ou trimetilsilil-Ala.
6.  $R_1$  é hidrogénio ou metilo, preferencialmente hidrogénio.

7.  $Y_1$  é o resíduo que se liga ao átomo de carbono  $\alpha$  de um  $\alpha$ -aminoácido seleccionado entre Ala, Leu, His, Fen, Met, Trp, trimetilsilil-Ala e Arg, Orn e Lis facultativamente protegidos na cadeia lateral, ou  $Y_1$  é um radical da fórmula (c).
8.  $A_3$  e  $A_4$  podem também formar em conjunto um radical da fórmula (aa) quando  $n$  é 0.
9.  $m$  é 2 ou 3.
10.  $X$  é um radical da fórmula ( $e_1$ ) e  $A_5$  é diferente de H.
11.  $X$  é um radical da fórmula (g).
12.  $X$  é um radical da fórmula (h) ou (j).
13.  $R_6$  é hidrogénio ou metilo, preferencialmente hidrogénio.
14.  $Z_1$  em  $A_5$  é o resíduo de um  $\alpha$ -aminoácido natural, preferencialmente de um  $\alpha$ -aminoácido aromático/heterocíclico, particularmente Pro.
15.  $Z_2$  em  $A_5$  é o resíduo de um  $\alpha$ -aminoácido natural, preferencialmente um  $\alpha$ -aminoácido alifático, particularmente um  $\alpha$ -aminoácido alifático sem outro grupo funcional, mais preferencialmente Val.
16.  $X$  é um radical da fórmula ( $e_1$ ) facultativamente esterificado ou amidado e  $A_5$  é um radical da fórmula (k), (l) ou (o).
17.  $X$  é um radical da fórmula ( $e_1$ ), (h) ou (j) facultativamente esterificado ou amidado e  $A_5$  é  $-\text{CH}_2-\text{X}_1-\text{Y}_3$ , preferencialmente



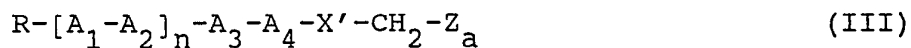
18. X é um radical da fórmula (h) ou (j) facultativamente esterificado ou amidado e  $\text{A}_5$  é (k).
19. X é um radical da fórmula (j) facultativamente esterificado ou amidado e  $\text{A}_5$  é um radical da fórmula (m).
20. Radical da fórmula (m) é mono-substituído, preferencialmente em para, mais preferencialmente é 4-nitrofenilo.
21. Todos os resíduos de  $\alpha$ -aminoácidos presentes excepto X têm a configuração L. X tem a configuração D ou L.
22. O carbono assimétrico em (h) portador do grupo OH tem a configuração S. Preferencialmente o carbono assimétrico em (j) portador de  $\text{R}_6$  tem a configuração R.

Numa série de realizações específicas, o presente invento também proporciona um composto da fórmula I em que  $n$  é 0,  $\text{A}_3$  é uma ligação directa, Val, Leu, Ala, Ile ou trimetilsilil-Ala,  $\text{A}_4$  é como definido atrás, ou  $\text{A}_3$  e  $\text{A}_4$  formam em conjunto um radical da fórmula  $(e_1)$  ou  $(e_2)$  como definido atrás e

- i) X é um radical da fórmula  $(e_1)$  ou  $(e_2)$  como definido atrás e  $\text{A}_5$  é H ou
- ii) X é um radical da fórmula  $(e_1)$  ou (f) e  $\text{A}_5$  é  $-\text{Z}_1-\text{Z}_2-\text{Y}_2$  como definido atrás ou um radical da fórmula (k), (l) ou (m) em que  $\text{X}_1$  é O,
- iii) X é um radical da fórmula (g) e  $\text{A}_5$  é  $-\text{Z}_1-\text{Z}_2-\text{Y}_2$  ou
- iv) X é um radical da fórmula (j) e  $\text{A}_5$  é um radical da fórmula (k), (l) ou (m) em que  $\text{X}_1$  é O.

O presente invento também proporciona um processo para a produção de um composto da fórmula I, processo esse que se caracteriza por:

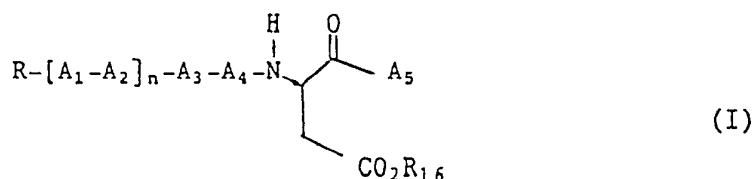
- a) remoção de pelo menos um grupo protector de um composto da fórmula I na forma protegida ou adição de um grupo protector R ao grupo N-terminal de um composto da fórmula I; ou
- b) conversão de um composto da fórmula I num outro composto da fórmula I; ou
- c) acoplagem através de uma ligação amida de dois fragmentos peptídicos, cada um dos quais contem pelo menos um aminoácido na forma protegida ou desprotegida e um fragmento peptídico contendo um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) a (j) como definido atrás, os fragmentos peptídicos sendo tais que se obtem um peptídeo protegido ou desprotegido tendo a sequência de acordo com a fórmula I atrás e se necessário, remoção do grupo ou grupos protectores de um composto da fórmula I na forma protegida; ou
- d) para a produção de um composto da fórmula I em que X é um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) ou (h) e A<sub>5</sub> é um radical da fórmula (k), (l) ou (o) ou -CH<sub>2</sub>-X<sub>1</sub>-Y<sub>3</sub>, reacção de um composto da fórmula III



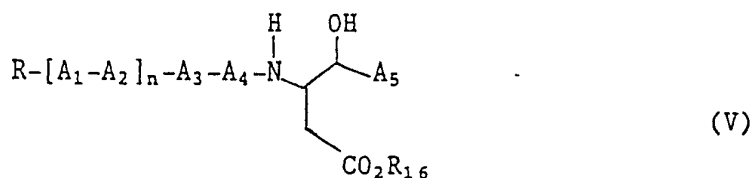
em que R, A<sub>1</sub> a A<sub>4</sub> e n são como definidos atrás, X' é um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) ou (h) e Z<sub>a</sub> é um grupo migrante, e.g. halogénio,

com um correspondente fenol, tiofenol ou  $HX_1$ -piridina ou um ácido da fórmula  $HX_1-CO-Y_4$  ou um seu derivado funcional ou  $HX_1-Y_3$ ; ou

e) para a produção de um composto da fórmula I



em que R,  $A_1$  a  $A_5$  e n são como definidos atrás e  $R_{16}$  é um resíduo  $C_{1-12}$  alifático ou alicíclico, oxidação de um composto da fórmula V



em que R,  $A_1$  a  $A_5$ , n e  $R_{16}$  são como definidos atrás

e recuperação de um composto da fórmula I assim obtido na forma livre ou de sal ou na forma de um complexo.

Os processos (a) a (e) atrás podem ser realizados de acordo com técnicas convencionais conhecidas.

A remoção de um grupo protector no passo (a) do processo pode também incluir a remoção de R no grupo terminal N de um composto da fórmula I. Por exemplo, quando R é



benziloxicarbonilo, este grupo pode ser removido por hidrogenação na presença de um catalisador e.g. Pd.

De acordo com o passo (b) do processo por exemplo, para a produção de um composto da fórmula I em que X compreende um grupo carboxilo, pode ser hidrolisado um composto da fórmula I em que X compreende um grupo carboxilo esterificado ou amidado. Tal hidrólise pode ser efectuada por tratamento com uma base adequada ou por hidrólise ácida, por exemplo na presença de ácido trifluoroacético.

Ainda, de acordo com o passo (b) do processo para a produção de um composto da fórmula I em que X compreende um grupo carboxilo esterificado ou amidado, pode ser esterificado (trans) ou amidado um composto da fórmula I em que X compreende um grupo carboxilo ou um grupo carboxilado esterificado. Tal formação de éster ou amidação pode ser realizada usando qualquer uma das técnicas conhecidas, por exemplo conversão do grupo carboxilo num grupo reactivo funcional, e.g. um haleto ou anidrido correspondente, ou usando um composto da fórmula I em que X é um radical da fórmula (h) na forma de lactona e reacção de tal grupo com o álcool ou amina seleccionado.

De acordo com uma realização do passo (b) do processo, para a produção de um composto da fórmula I em que X é um radical da fórmula (g), um composto da fórmula I em que X é um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) ou (e<sub>2</sub>) e A<sub>5</sub> é H pode reagir com um composto da fórmula II



em que  $A_5$  é como definido atrás. Este processo pode ser realizado em analogia com as técnicas conhecidas usadas na preparação de semicarbazonas.

Um composto com a fórmula I em que X é um radical da fórmula ( $e_1$ ) pode também ser convertido de acordo com técnicas conhecidas num composto com a fórmula I em que X é um radical da fórmula ( $e_2$ ) e vice-versa.

O passo (c) do processo pode ser realizado por técnicas conhecidas da química de peptídeos. Por fragmento peptídico compreendendo um radical da fórmula ( $e_1$ ) a (j) pretende-se significar o próprio radical portador de um grupo protector na fracção  $-NR_6-$  e um extremo adequado, e.g.  $A_5$  ou  $CH_2-Z_a$  no outro lado.

O passo (d) do processo pode ser convenientemente efectuado usando um reagente de Dess-Martin, e.g. na presença de uma base ou de um sal de prata que precipita com halogénios ou de acordo com os processos de oxidação de Swern.

Sempre que pretendido, nestas reacções, podem ser usados grupos protectores para grupos funcionais que não participem na reacção.

Estes podem ser por exemplo grupos protectores de amina, grupos protectores de carboxilo, grupos acetal, etc. Quando completada a reacção pretendida, os grupos protectores podem ser então removidos.

Cada um dos processos atrás pode ser realizado usando materiais de partida na forma de um ou outro dos isómeros ópticos individuais ou na forma de misturas [relacionadas com os carbonos

assimétricos presentes nos radicais das fórmulas ( $e_1$ ) a (j) como X ou em tal precursor de radical]. Por conveniência os materiais de partida são usados com enantiômeros S ou R para produzir um composto da fórmula I em que o carbono assimétrico nos radicais das fórmulas ( $e_1$ ) a (j) tem a configuração S ou R, respectivamente.

Os materiais de partida usados nos passos (d) ou (e) do processo podem ser preparados por analogia com o passo (c) do processo. Uma vez que a produção dos materiais de partida não particularmente descrita, os compostos são conhecidos ou podem ser preparados de forma análoga a métodos conhecidos praticados neste campo.

Os exemplos que se seguem servem para ilustrar o invento. Todas as temperaturas são em °C.

Foram usadas as abreviaturas que se seguem:

THF	=	tetra-hidrofurano
TFA	=	ácido trifluoroacético
MeOH	=	metanol
EtOAc	=	acetato de etilo
DCC	=	diciclo-hexilcarbodiimida
HOBT	=	hidroxibenzotriazole
Z	=	benziloxicarbonilo
t.a.	=	temperatura ambiente
Fmoc	=	9-fluorenilmétoxicarbonilo
a	=	amorfo

EXEMPLO 1:      Z-Val-Met-Asp(OH)-H

O éster do aldeído dimetilacetal- $\beta$ -tert.butílico do ácido Z-Val-Met-aspartico (1,17 g) foi ressuspense em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (150 ml), e adicionado TFA (15 ml) e água (1 ml) e agitado durante 2,5 horas à t.a.. O solvente foi evaporado, adicionado duas vezes e novamente evaporado. O resíduo cristalino foi dissolvido em água (60 ml) com aquecimento, decantado para retirar algum do material não dissolvido e cristalizado a 5°C, dando a primeira colheita do produto: p.f. 117°C. Todos os licores mãe foram colhidos e cromatografados ( $\text{SiO}_2$ , acetona/hexano/EtOAc 60/40/0,5) para dar uma segunda colheita de produto, cristalizando quando da titulação com água.

EXEMPLO 2:      Semicarbazona Z-Val-Met-Asp(OH)-H

O composto do Exemplo 1 (0,27 g, 0,55 mmol) em MeOH (2 ml) foi combinado com semicarbazida, HCl (0,6 ml de uma solução 1 molar), e em seguida adicionadas 5 gotas de piridina. O produto cristaliza após 10 minutos à t.a.: p.f. 233-235°C.

EXEMPLO 3:      Z-Val-Met-Asp(OH)-H semicarbazonil-Pro  
-Val-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)

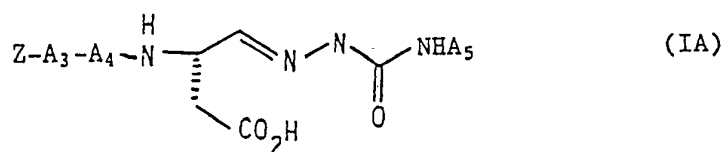
O composto do Exemplo 1 (0,48 g, 1 mmol) foi dissolvido numa mistura de MeOH (2 ml) água (0,5 ml) e 3 gotas de piridina. N-(hidrazinocarbonil)-Pro-Val-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0,3 g, 1 mmol) foi dissolvido em MeOH (1 ml), água (2 ml) e 3 gotas de HCl 2N. Ambas as soluções foram combinadas e aquecidas durante 2 minutos a 40-50°C. O produto cristaliza quando do arrefecimento: p.f. 118-120°C.

Repetindo o processo do exemplo 1, usando os correspondentes materiais de partida, podem ser preparados os compostos que se seguem:

EXEMPLO 4:      Z-ValFen-Asp(OH)-H

EXEMPLO 5:      Z-Val-His-Asp(OH)-H

Repetindo o processo do Exemplo 2 ou 3 respectivamente, usando os correspondentes materiais de partida, podem ser preparados os compostos que se seguem da fórmula IA



em que A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub> e A<sub>5</sub> são como definidos atrás

Exemplo	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	p.f. °C
6	Val	Fen	H	a
7	Val	His	H	150
8	Val	Fen	Pro-Val-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	126-129
9	Val	His	Pro-Val-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
10	Ala-Tir-Val	Fen	H	205

EXEMPLO 11: Ácido (3S)-3-(Z-valil-fenilalanil)amino-5-(2,6-dimetilbenzoiloxi)-4-oxo pentanóico

O éster tert.-butílico do ácido (3S,4RS)-3-(Z-Val-His)-amino-4-hidroxi-5-(2,6-dimetilbenzoiloxi) pentanóico (0,6 mmol) foi tratado com o reagente de Dess-Martin (0,77 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 ml) durante 45 minutos e filtrado. Adicionou-se então acetona e NaOH 0,5 N e a acetona foi evaporada. O material cristalino residual foi lavado com H<sub>2</sub>O acidificação com ácido tartárico a 10% e extraído com EtOAc. Os extractos combinados de EtOAc deram após evaporação o éster t. butílico do produto como cristais amarelos. Estes foram dissolvidos em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 ml), adicionou-se TFA (4 ml) e a mistura foi agitada à t.a. durante 15 minutos. A mistura foi evaporada até secagem e cromatografada (SiO<sub>2</sub>, acetona/hexano/EtOAc 60/40/1) dando o produto na forma de cristais ligeiramente corados.

EXEMPLO 12: (Z-Valil-alanil)-(3R,4S)-3-amino-4-hidroxi-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)

O éster etílico do ácido (Z-valil-alanil)-3R,4S)-3-amino-4,5-di-hidroxi pentanóico e 4-dimetilaminopiridina foram dissolvidos em piridina e adicionado cloreto de 2,6-diclorobenzoílo gota a gota. A mistura de reacção foi agitada durante a

noite à temperatura ambiente, depois adicionados gelo e água e a mistura foi extraída com AcOEt. A fase orgânica foi lavada com água, depois com solução de NaCl, seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrada, evaporada e o produto bruto foi cromatografado para dar o composto do título.

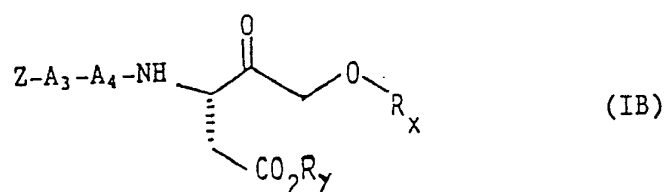
O derivado (3R,4S) do composto do título pode ser preparado como se segue:

Z-Val-Ala-OH (0,26 mmol), DCC (53 mg, 0,26 mmol) e HOBT. $\text{H}_2\text{O}$  (39mg, 0,26 mmol) foram dissolvidos em THF/DMF (2 ml/2ml) e agitados durante 5 minutos, antes de se adicionar o éster tert.butílico do ácido (3S,4RS)-3-amino-4-hidroxi-5(2,6-dimetilbenzoiloxi)-pentanóico (87 mg, 0,26 mmol) em THF (2 ml). A mistura de reacção foi agitada durante a noite à t.a., evaporada e cromatografada ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc/MeOH/ $\text{NH}_3$  95/5/0,5) para dar o composto do título (3R,4S).

EXEMPLO 13: Éster etílico do ácido(Z-valil-alanil)-  
(3R)-3 amino-4-oxo-5-(2,6-  
diclorobenzoiloxi)pentanóico

A uma solução de cloreto de oxalilo em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a  $-50^\circ\text{C}$  adicionou-se gota a gota dimetilsulfóxido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Após 15 minutos uma solução do composto do Exemplo 12 em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi adicionada gota e a mistura de reacção agitada durante 1 hora a  $-48^\circ\text{C}$ . Adicionou-se trietilamina e a agitação continuou durante 3 horas à temperatura ambiente. Adicionou-se então água e a mistura de reacção foi extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . A fase orgânica foi lavada com solução de  $\text{NaHCO}_3$  e solução de NaCl, seou-se sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrou-se e evaporou-se. O resíduo foi cromatografado dando o composto do título.

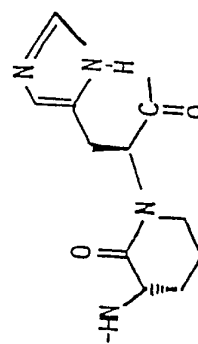
Repetindo o processo dos Exemplos 1-3 e 11-13, usando os correspondentes materiais de partida, podem ser preparados os compostos da fórmula IB

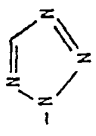
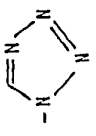


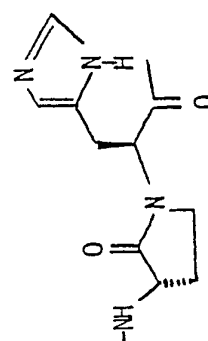
em que  $\text{A}_3$ ,  $\text{A}_4$ ,  $\text{R}_x$  e  $\text{R}_y$  são como definidos abaixo.



EXEMPL.	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	R <sub>y</sub>	R <sub>x</sub>	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> ou P.F.	c(MeOH) °C (2)
14	Val	Phe	H	2,6-diMe-benzoilo		
15	Val	His	H	2,6-diMe-benzoilo		
16	Val	His	H	p-NO <sub>2</sub> -fenil		
17	Val	His	H	H	a (2)	
		(1-tritil)				
18	Val	His	H	2,6-diCl-benzoilo		
19	Val	His	H	2,6-diCF <sub>3</sub> -benzoilo		
20	Val	His	H	2,6-diNO <sub>2</sub> -benzoilo		
21	Val	His	H	2,6-diCF <sub>3</sub> -benzoilo		
		(2-CF <sub>3</sub> )				
22	Val	Trp	H	2,6-diCF <sub>3</sub> -benzoilo		
23	TriMe-silil-Ala	His	H	2,6-diCl-benzoilo		
24			H	2,6-diCl-benzoilo		



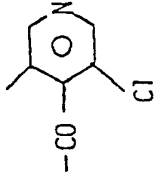
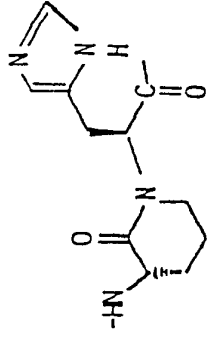
EXEMPLO	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	R <sub>y</sub>	R <sub>x</sub>	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> ou P.F., °C (2)	c(MeOH)
25	Ala-Tyr-Val	Phe	H	H	a (2)	
26	D-Val	His	H	2,6-diCl-benzoi lo	-39,2°	1,21
27	Val	Arg	H	2,6-diCl-benzoi lo		
28	Val	His	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoi lo	-26,7°	1,02
29	Val	His	H		-18,0°	0,97
30	Val	His	H		-19,0°	0,96



2,6-diCl-benzoi lo

31

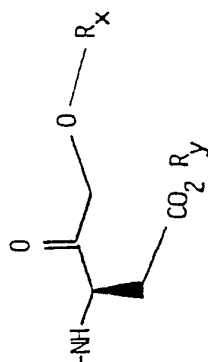
EXEMPL	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	R <sub>y</sub>	R <sub>x</sub>	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> ou P.F.	c(MeOH) °C (2)
32	Val	Orn	H	2,6-diCl-benzoilo		
33	Val	Lys	H	2,6-diCl-benzoilo		
34	Val	Ala	H	2,6-diCl-benzoilo		
35	Val	His	H	Pivaloyl		
36	Val	His	i.C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
37	Val	His	n.C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
38	Val	His	benzil	2,6-diCl-benzoilo		
39	Val	His	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	2,6-diCl-benzoilo		
40	Val	Ala	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
41	Val	Leu	H	2,6-diCl-benzoilo		
42	Val	His	H	2,6-diF-benzoilo		
43	Val	His	H	2,6-diCl-benzoilo		
		(2-CF <sub>3</sub> )				
44	Val	His	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Pivaloyl		
45	Val	His	H	2,6-diCl-benzoilo		
46	Val	Lys	H	2,6-diCl-benzoilo		
		(N <sup>e</sup> -iC <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )				
47	Val	Lys	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
		(N <sup>e</sup> -iC <sub>3</sub> H <sub>7</sub> )				
48	Val	Ala	H	2,6-diCl-benzoilo		
49	Val	Ala	t.C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	2,6-diCl-benzoilo		

EXEMPLO	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	R <sub>y</sub>	R <sub>x</sub>	[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> ou M.P.	c(MeOH) °C (2)
50	Val	Ala	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
51	Val	Ala	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Cl 		
52	TriMe-silil l-Ala	His	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
53			C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
54	Val	Ala	i.C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>			
55	TriMe-silil-Ala	Ala	t.C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	2,6-diCl-benzoilo		
56	TriMe-silil-Ala	Ala	H	2,6-diCl-benzoilo		

- 27 -

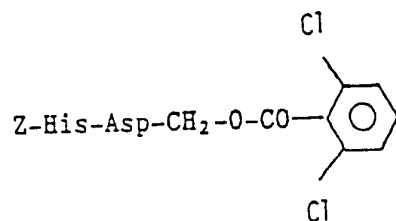
EXEMPLO	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	R <sub>y</sub>	R <sub>x</sub>	[α] <sup>20</sup> ou p.p.f.	c(MeOH) °C (2)
57	TriMe-silil Ala	Ala	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2,6-diCl-benzoil		

Os compostos têm a configuração que se segue na fracção aspartilo:



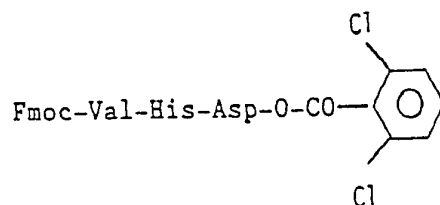
Os compostos têm a configuração R,S na fracção aspartilo

EXEMPLO 58:

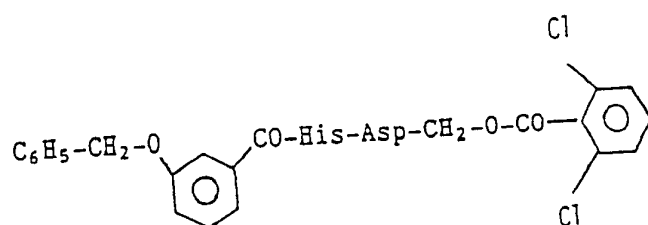


$$[\alpha]_D^{20} = -20,3^\circ \quad c=1 \text{ em MeOH}$$

EXEMPLO 59:

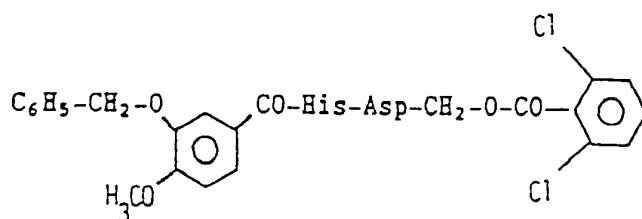


EXEMPLO 60:

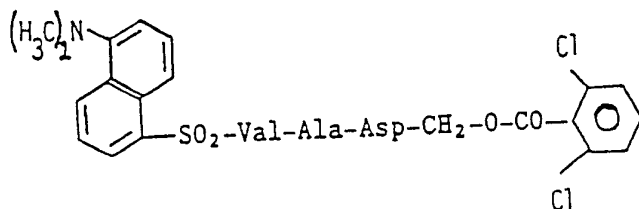


$$[\alpha]_D^{20} = -21,5^\circ \text{C} \quad c=1,07 \text{ MeOH}$$

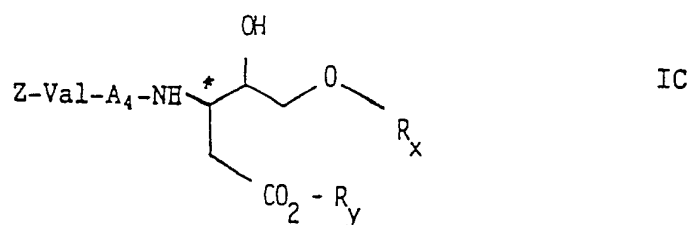
EXEMPLO 61:



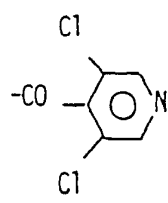
EXEMPLO 62:



Repetindo o processo dos Exemplos 1-3 e 12-13 e usando os correspondentes materiais de partida, podem ser preparados os compostos que se seguem da fórmula IC



em que  $\text{A}_3$ ,  $\text{R}_x$  e  $\text{R}_y$  são como definidos abaixo

EXEMPLO	A <sub>4</sub>	R <sub>y</sub>	R <sub>x</sub>	*
63	Ala	H	2,6-diCl-benzoil	R,S
64	Ala	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		R
65	Ala	t.C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	2,6-diCl-benzoil	R,S
66	Ala	-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -OCH <sub>3</sub>	2,6-diCl-benzoil	R,S

EXEMPLO 67: Ácido (3RS)-3-(Z-valil-fenilalanil)amino-4-oxo-6(p-nitrofenil)-trans-hex-5-enóico tert.butilo

O éster tert.butil-5-dietilfosfonato do ácido (3RS)-3-(Z-valil-fenilalanil)amino-4-oxo-pentanóico (0,2 g, 0,29 mM) foi dissolvido em THF (15 ml) a 5°C. Adicionou-se NaH (25 mg, 0,59 mM) e a mistura foi agitada durante 10 minutos. Adicionou-se p-Nitrobenzaldeído (0,18 g, 1,1 mM) em THF (2 ml) a 0°C e a mistura de reacção foi agitada durante 45 minutos a esta temperatura. A mistura de reacção foi vertida sobre ácido tartárico a 5%, extraído com acetato de etilo, as fases orgânicas secas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, evaporadas e o produto purificado por cromatografia dando o composto do título.



EXEMPLO 68: Éster dimetilacetal- $\beta$ -metílico do aldeído  
Z-Val-Fen-aspártico

Z-Val-Fen-Asp(OH)-H (0,8 g) foi dissolvido em MeOH (25 ml) contendo 8% HCl, deixado à temperatura ambiente durante a noite, evaporado até secagem e os cristais residuais lavados com éter, dando o composto do título na forma de cristais brancos. P.f.: 168-171°C.

O materiais de partida podem ser preparados como se segue:

EXEMPLO 69: éster tert.butílico do ácido (3S)-3-  
(fluorenilmetoxicarbonil)amino-5-iodo-4-  
oxobutanóico

Trietilamina (1,3 ml, 9,6 mmoles) seguido de etilclorofórmio (0,92 ml, 9,6 mmoles) foram adicionados ao éster tert.-butílico do ácido (3S)-3-(fluorenilmetoxicarbonil)amino-3-carboxi-butanóico (3,5 g, 8,5 mmoles) em THF (60 ml) a -10°C. Após 10 minutos, a solução de diazometano em éter foi adicionada lentamente e a mistura de reacção agitada durante 45 minutos a 0-5°C. Adicionou-se HCl em éter (2N) a 5-10°C até cessar a libertação de gás. A mistura de reacção foi evaporada até secagem, ressuspensa em acetona (50 ml) adicionado NaI (4 g) e agitada durante 1 hora à t.a. Adicionou-se éter (150 ml), a mistura de reacção foi filtrada e evaporada. O resíduo foi cromatografado (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/hexano), dando o composto do título na forma de cristais ligeiramente amarelos.

EXEMPLO 70: (Éster tert.butílico do ácido

(3S)-3-(fluorenilmetoxycarbonil)amino-  
-5(2,6-dimetilbenzoiloxi)-4-oxopenta-  
noico

Éster tert.butílico do ácido 3S-3-(fluorenilmetoxi-carbonil)amino-5(2,6-dimetilbenzoiloxi)-4-oxo-butanóico (1 g, 1,8 mmoles), ácido 2,6-dimetilbenzóico (0,5 g, 3,3 mmoles) e AgOAc (0,6 g, 3,6 mmoles) foram dissolvidos em acetona (25 ml) e sujeito a refluxo durante 1 hr. Após filtração e evaporação o produto bruto foi cromatografado (SiO<sub>2</sub>, éter/hexano 3/7) dando o composto do título.

EXEMPLO 71: Éster tert.butílico do ácido

(3S)-3-fluorenilmetoxycarbonil)amino  
-5(4-nitrofenoxi)-4-oxopentanóico

Éster tert.butílico do ácido 3S-3-(fluorenilmetoxycar-bonil)amino-5-iodo-4-oxo-butanóico (1 g, 1,8 mmoles), p-nitrofe-nol (0,5 g, 3,7 mmoles) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0,38 g, 2,8 mmoles) foram sujeitos a refluxo em acetona (6 ml) durante 30 minutos, adicionado CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e a fase orgânica lavada com NaHCO<sub>3</sub> 2N. As fases orgânicas foram secas, evaporadas e cromatografadas (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/hexano 2/8), dando o composto do título na forma de um óleo amarelo.

EXEMPLO 72: Éster etílico do ácido (Z-valil-alanil)-

(3R,4S)-3-amino-4,5-di-hidroxpentanóico

- a) (3R,4S)-3-Benzilamino-4,5-(isopropilidenedioxi) pentanoato de etilo (Y. Yamada, Tetrahedron Letters 1983, 24, 3009) e 10% Pd/C em etanol foram agitados à temperatura ambiente durante 30 minutos

em atmosfera de  $H_2$ . Filtração e evaporação da mistura de reacção dá (3R,4S)-3-amino-4,5-(isopropilidenedioxi)pentanoato de etilo que é usado sem qualquer outra purificação.

- b) Z-Val-Ala-OH foi dissolvido em THF,  $HOBT \cdot H_2O$  e DCC foram adicionados a  $5^\circ C$ . Após agitação durante 20 minutos a  $5^\circ C$ , adicionou-se diisopropilidenedioxi)pentanoato em THF. A mistura de reacção foi agitada durante a noite à temperatura ambiente, filtrada, evaporada e cromatografada para dar o éster etílico do ácido (Z-valil-alanil)-(3R,4S)-3-amino-4,5-(isopropilidenedioxi)pentanóico.
- c) O composto 74 b) foi dissolvido em  $AcOH/H_2O$  (75/25) e agitado a  $40^\circ C$  durante 4 horas. Após evaporação, adicionou-se água e a mistura foi extraída com  $AcOEt$ . Os extractos combinados foram lavados com água, solução de  $NaHCO_3$ , solução de  $NaCl$ , secos sobre  $Na_2SO_4$ , filtrados e evaporados, dando o composto do título.

Os compostos da fórmula I, os seus ésteres e amidas hidrolisáveis e fisicamente aceitáveis (daqui em diante referidos como compostos do invento) apresentam actividade farmacêutica e são portanto úteis como fármacos.

Em particular, os compostos do invento inibem a secreção de IL-1 $\beta$  como indicado no teste in vitro que se segue usando células THP-1 e métodos de testes in vivo.

- a) 900  $\mu l$  de células THP-1 ( $0,5 \times 10^6$  células) juntamente com

100 U de gama-interferão/0,9 ml de meio RPMI 1640 (contendo 2 mM L-glutamina e 5% de soro fetal de vitela inativado pelo calor) foram pipetados para placas de cultura de tecidos de 24 cavidades. 100  $\mu$ l do composto a ser testado foram então adicionados. Após 3 horas a 37°C em 5% CO<sub>2</sub>/95% de ar, adicionou-se 10  $\mu$ l de lipopolissacárido a 500  $\mu$ g/ml e a incubação continuou durante mais 40 horas. Foram também incluídas testemunhas adequadas (com ou sem estímulo, solvente). Os meios foram então removidos e clarificados por centrifugação a 1000 g durante 10 min. Adicionou-se 1,0 ml de digitonina a 0,01% às cavidades para lisar as células que são descoladas raspando com uma raspador de borracha e deixados a 4°C durante 10 minutos. As medições de lactato-desidrogenase foram então realizadas imediatamente e as amostras guardadas a -20°C até serem feitas outras determinações. Os ensaios são: IL-1 $\beta$  (meio e lisado), IL-6 (meio), TNF- $\alpha$  (meio), PGE<sub>2</sub> (meio e lisado), lactato-desidrogenase (LDH) e DNA (lisados). Os ensaios de IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  foram determinados usando kits de ELISA comerciais (Cistron), PGE<sub>2</sub> foi medido usando uma RIA convencional e o DNA determinado fluorimetricamente usando DAPI.

Neste teste, os compostos do invento inibem selectivamente a libertação de IL-1 $\beta$  em concentrações entre cerca de 0,01 e 100  $\mu$ M. Pelo contrário os níveis de IL-6, TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub> e permanecem substancialmente não afectados e os compostos são não tóxicos, uma vez que a libertação de LDH não é afectada. Por exemplo foi determinado que os compostos dos exemplos 40 e 50 têm um valor de IC<sub>50</sub> (concentração do composto que inibe em 50% a libertação de IL-1 $\beta$ ) de 1 e 0,1  $\mu$ M respectivamente.

b) Febre causada por LPS

Uma suspensão de LPS. (Sigma, N° L-5886; 100 µg/5ml de solução de glucose/Kg s.c.) foi injectada em ratos macho Tuttlingen SD (150-160g). 2 horas mais tarde mediu-se a temperatura do corpo usando uma sonda rectal ligada a um teletermómetro ELLAB. Após 4 horas o composto a testar foi administrado p.o. 2 horas mais tarde (6 horas após a administração de PLS) a temperatura foi novamente medida. O aumento de temperatura apresentado pelas testemunhas não tratadas é considerado como 100% e no grupo tratado é expresso como uma percentagem deste valor. A ED<sub>50</sub> é a dose causadora de uma inibição de 50% do aumento de temperatura determinado nos ratos testemunha. Neste teste os compostos do invento inibem o aumento de temperatura causado por LPS quando administrados numa dosagem na gama entre 0,001 e 0,1 mg/Kg p.o. Foi por exemplo determinado que os compostos dos exemplos 40 e 50 têm um valor de ED<sub>50</sub> de 0,01 mg/Kg p.o. e o composto do exemplo 51 um valor de ED<sub>50</sub> de 0,05 mg/Kg p.o.

c) Edema da pata induzido por carragenano no rato

Para cada grupo usou-se 5 ratos machos OFA, peso 150-170 g. O composto a testar foi administrado oralmente como uma suspensão em soro fisiológico/0,5% tragacanta 1 hora antes da injeção de carragenano. O carragenano (0,1 ml de uma suspensão a 1% em soro fisiológico) é dado por injeção subplantar numa pata traseira. O inchaço da pata foi medido com um antiflogómetro segundo Kemper & Amelm. Uma medida testemunha foi tirada imediatamente após a injeção e o inchaço foi medido após 3 e 5 horas. O valor médio da leitura das 3 e 5 horas é determinado após dedução da leitura da testemunha. Os

valores obtidos a partir dos animais tratados são expressos como percentagem do valor obtido a partir de testemunhas não tratadas. O  $ED_{50}$  é a dose causadora de uma inibição de 50% do inchaço induzido pelo carragenano após 3 horas. Neste teste os compostos do invento inibem significativamente o inchaço induzido pelo carragenano quando administrados p.o. numa dosagem na gama entre 0,02 e 5 mg/Kg. Determinou-se por exemplo que o composto dos exemplos 40 e 50 têm um valor de  $ED_{50}$  de 0,2 e 1 mg/Kg p.o. respectivamente.

Os compostos do invento são portanto úteis para o tratamento de perturbações com uma etiologia associada ou ou devida à libertação excessiva de IL-1 $\beta$ , e.g. numa larga variedade de estados inflamatórios e doenças, por exemplo deficiência de cálcio nos tecidos, processos degenerativos nos ossos e cartilagens, e.g. artrite reumatóide e osteoartrite, doenças inflamatórias dos intestinos, doenças irritativas dos intestinos, choque séptico, psoríase, asma, síndrome da distrofia respiratória em adultos, diabetes tipo I, osteoporose de origem vária incluindo e.g. osteoporose climatérica ou pós-menopausa assim como osteoporose devida a idade avançada, imobilização ou trauma, arteriosclerose e doença de Alzheimer.

Para as utilizações atrás referidas a dosagem necessária variará dependendo do modo de administração, do estado particular a ser tratado e do efeito pretendido. No entanto, em geral podem ser conseguidos resultados satisfatórios com dosagens diárias entre cerca de 0,001 e cerca de 100 mg/Kg, preferencialmente entre 0,001 e cerca de 10 mg/Kg de peso. As dosagens diárias para mamíferos maiores, por exemplo humanos, são da ordem de entre cerca de 0,1 mg e cerca de 1g/dia, por conveniência administradas de uma só vez, em dosagens divididas 2 a 4x/dia ou na forma de libertação controlada.

Os compostos dos Exemplos 50 e 51 são os preferidos.

De acordo com o que foi dito o presente invento também proporciona:

- a) Um método para o tratamento de perturbações com uma etiologia associada ou devida à libertação excessiva de IL-1 $\beta$ , e.g. como indicado atrás num indivíduo necessitado, método esse que se caracteriza pela administração ao referido indivíduo de uma quantidade eficaz de um composto da fórmula I, um seu éster ou amida fisiologicamente hidrolisável e aceitável ou um seu sal farmacologicamente aceitável;
- b) Um composto da fórmula I, um seu éster ou amida fisiologicamente hidrolisável e aceitável ou um seu sal farmacologicamente aceitável para usar como fármaco, por exemplo para utilizar como um agente por exemplo no método descrito atrás.

Os compostos do invento podem ser administrados por qualquer via convencional, em particular por via nasal, entérica, preferencialmente oralmente, e.g. na forma de comprimidos ou cápsulas ou parenteralmente e.g. na forma de soluções injectáveis ou suspensões ou na forma de supositórios. As formas unitárias de dosagem contêm por exemplo entre cerca de 25  $\mu$ g e 500 mg de um composto do invento.

Os compostos do invento podem ser administrados na forma livre ou na forma de sal farmacologicamente aceitável. Tais sais podem ser preparados de forma convencional e apresentam a mesma ordem de actividade dos compostos livres.

Ainda o presente invento também proporciona:

- c) Uma composição farmacêutica compreendendo um composto da fórmula I, um seu éster ou amida fisiologicamente hidrolisável e aceitável, como aqui descrito anteriormente, juntamente com um diluente ou veículo farmacêuticamente aceitável. Tais composições podem ser produzidas de forma convencional. Eles podem compreender até 99,9% por peso de ingrediente activo.

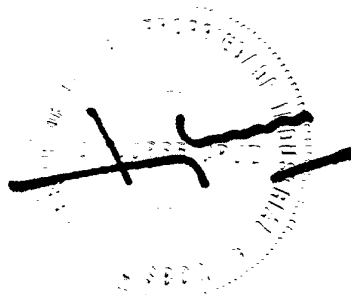
Lisboa, 2 de Novembro de 1992



**J. PEREIRA DA CRUZ**  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VICTOR GORDON, 10 - A 3.ª  
1200 LISBOA

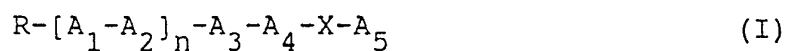


401027



# REIVINDICAÇÕES

1ª. - Composto, caracterizado por apresentar a fórmula (I)



em que

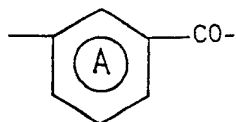
R é hidrogénio, um grupo protector amina ou benziloxi facultativamente substituído no anel

n é 0 ou 1,

A<sub>1</sub> é Val, Leu, Ala, Ile ou trimetilsilil-Ala

A<sub>2</sub> é Fen ou Tir,

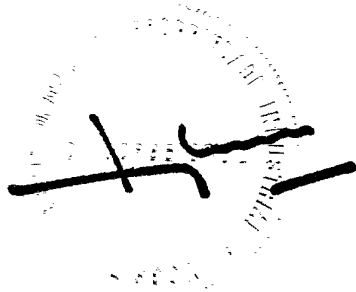
A<sub>3</sub> é uma ligação directa, Val, Leu, Ala, Ile, trimetilsilil-Ala ou um radical divalente da fórmula (a)



(a)

em que

o anel A é facultativamente substituído por hidroxilo ou alcóxido C<sub>1-4</sub>,



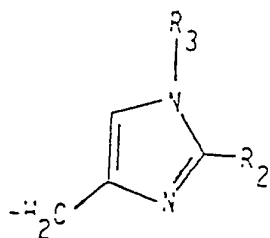
A<sub>4</sub> é uma ligação directa ou um radical divalente da fórmula (b)



em que

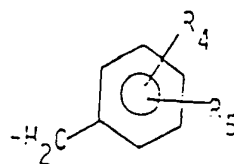
R<sub>1</sub> é hidrogénio ou alquilo C<sub>1-4</sub>, e

Y<sub>1</sub> é o resíduo ligado ao átomo de carbono α do α-aminoácido e -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, imidazol-2-il-metilo, benzimidazol-2-il-metilo, 1H-1,2,4-triazol-3-il-metilo, pirazol-3-il-metilo, indazol-3-il-metilo, facultativamente substituídos, ou um radical da fórmula (c) ou (d)



(c)

ou



(d)

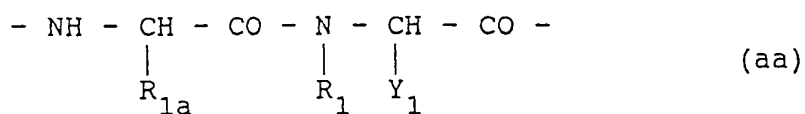
em que

R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> são independentemente hidrogénio, halogénio, alquilo C<sub>1-4</sub>, CF<sub>3</sub> ou tritilo, quando muito R<sub>2</sub> ou R<sub>3</sub> é H e

R<sub>4</sub> e R<sub>5</sub> são independentemente hidrogénio, alquilo C<sub>1-4</sub>, hidroxilo, alcóxido C<sub>1-4</sub>, CF<sub>3</sub>,

fenilo ou halogénio, quando muito  $R_4$  ou  $R_5$  é H,

ou  $A_3$  e  $A_4$  formam, em conjunto, um radical com a fórmula (aa)

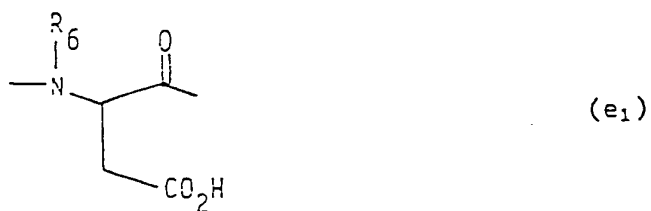


em que

$Y_1$  é como definido anteriormente e

$R_1$  e  $R_{1a}$  formam, em conjunto,  $-(\text{CH}_2)_m$  em que  $m$  é 2, 3, 4 ou 5, e

i) X é um radical divalente da fórmula ( $e_1$ )



em que

$R_6$  é H ou alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ,

e  $A_5$  é hidrogénio;  $\text{CF}_3$ ; um radical  $-\text{Z}_1-\text{Z}_2-\text{Y}_2$

em que

$Z_1$  e  $Z_2$  são, cada um, independentemente, uma ligação directa ou um resíduo de  $\alpha$ -aminoácido, e

$Y_2$  é  $NH_2$ , alquilamino  $C_{1-4}$ , di- $(C_{1-4}$ -alquili)amino ou um radical heterocíclico ligado por um azoto a  $Z_2$ ; um radical  $-CH_2-X_1-Y_3$

em que

$X_1$  é O ou S e

$Y_3$  é heteroarilo;

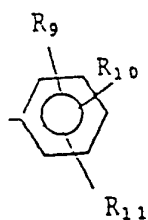
um radical  $-CH_2-Y_3$ ; ou um radical da fórmula (k) a (m)



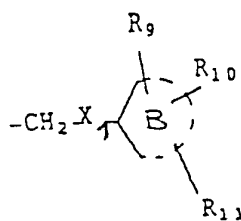
(1)

(k)

ou



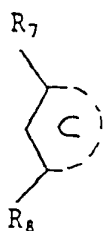
(m)



(o)

em que

$Y_4$  é tri-(alquil  $C_{1-4}$ )metilo ou um resíduo



o anel B é piridilo,

o anel C é fenilo ou piridilo,

$R_7$  e  $R_8$  são, cada um, independentemente, alquilo  $C_{1-4}$ , alcóxido  $C_{1-4}$ ,  $CF_3$ , halogênio, azoto ou ciano, e

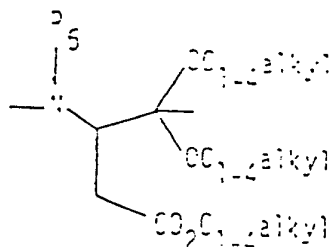
$R_9$ ,  $R_{10}$  e  $R_{11}$  são, cada um, independentemente, azoto, ciano,  $CF_3$ , carbamilo,  $CO_2R_{12}$ ,  $-CH=CH-CN$  ou  $-CH=CHCO_2R_{12}$

em que

$R_{12}$  é alquilo  $C_{1-6}$ ,

sendo

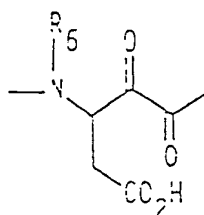
X também um radical divalente de fórmula  $(e_2)$



(e<sub>2</sub>)

quando A<sub>5</sub> é H ou

(ii) X é um radical divalente da fórmula (f)



(f)

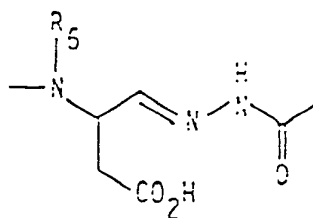
e A<sub>5</sub> é -Z<sub>1</sub>-Z<sub>2</sub>-Y<sub>2</sub> ou um radical da fórmula (k) a (o) como anteriormente definido ou OR<sub>13</sub> ou NR<sub>14</sub>R<sub>15</sub>

em que

R<sub>13</sub> é alquilo C<sub>1-12</sub> facultativamente substituído por OH ou interrompido por O e

R<sub>14</sub> e R<sup>15</sup> são, cada um, independentemente, hidrogénio, alquilo C<sub>1-12</sub>, cicloalquilo C<sub>5-7</sub> ou benzilo, ou

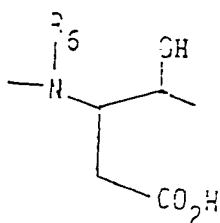
iii) X é um radical divalente da fórmula (g)



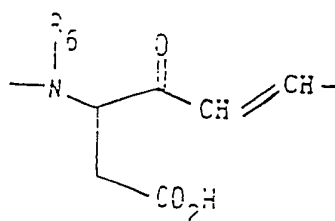
(g)

e  $A_5$  é  $-Z_1-Z_2-Y_2$  como anteriormente definido ou

iv) X é um radical divalente da fórmula (h) ou (j)



(h)



(j)

e  $A_5$  é um radical da fórmula (k) a (o),  $-CH_2-Y_3$  ou  $-CH_2-X_1-Y_3$  como anteriormente definido,

com as condição de apenas  $A_3$  ou  $A_4$  poder ser uma ligação directa quando  $n$  é 0 e  $A_3$  ou  $A_4$  não ser uma ligação quando  $n$  é 1;

e seus ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis,

na forma livre, na forma de sal ou na forma de complexos.

2ª. - Composto da fórmula (I), de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por  $n$  ser 0,  $A_3$  ser uma ligação directa,

Val, Leu, Ala, Ile ou trimetilsilil-Ala,  $A_4$  ser conforme definido na reivindicação 1 ou  $A_3$  e  $A_4$  formarem em conjunto um radical da fórmula (aa) como definido na reivindicação 1 e

- i) X ser um radical da fórmula ( $e_1$ ) ou ( $e_2$ ) como definido na reivindicação 1 e  $A_5$  ser H, ou
- ii) X ser um radical da fórmula ( $e_1$ ) ou (f) e  $A_5$  ser  $-Z_1-Z_2-Y_2$  como definido na reivindicação 1 ou um radical da fórmula (k), (l) ou (m) como definido na reivindicação 1 em que  $X_1$  é 0, ou
- iii) X ser um radical de fórmula (g) e  $A_5$  ser  $-Z_1-Z_2-Y_2$  como definido na reivindicação 1, ou
- iv) X ser um radical da fórmula (j) e  $A_5$  ser um radical da fórmula (k), (l) ou (m) como definido na reivindicação 1 em que  $X_1$  é 0.

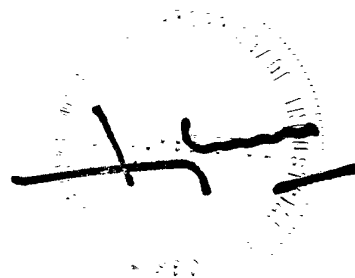
e seus ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis,

na forma livre, na forma de sal ou na forma de complexos.

3ª. - Composto da fórmula (I), de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por n ser 0 e  $A_3$  e  $A_4$  não serem uma ligação directa e seus ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis, na forma livre, na forma de sal ou na forma de complexos.

4ª. - Composto da fórmula (I), de acordo com a reivindicação 1 ou 3, caracterizado por  $Y_1$  ser o resíduo que se liga ao átomo de carbono  $\alpha$  de um  $\alpha$ -aminoácido seleccionado entre Ala, Leu, His, Fen, Met, Trp, trimetilsilil-Ala e facultativamente Arg, Orn e Lis protegidos na cadeia lateral, ou um radical da





fórmula (c) e seus ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis, na forma livres, na forma de sal ou na forma de complexos.

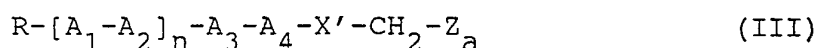
5ª. - Composto da fórmula (I), de acordo com a reivindicação 1, 3 ou 4, caracterizado por X ser um radical de fórmula ( $e_1$ ), (h) ou (j), sendo  $A_5$  diferente de H quando X é ( $e_1$ ) e seus ésteres ou amidas fisiologicamente hidrolisáveis, na forma livre, na forma de sais ou na forma de complexos.

6ª. - Composto, caracterizado por ser seleccionado de entre éster etílico do ácido benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R-3-amino-oxo-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)pentanóico, éster etílico do ácido benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R,S-3-amino-oxo-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)pentanóico, éster etílico do ácido benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R-3-amino-oxo-5-(2,6-dicloro-piridil-4-carboniloxi)pentanóico, ácido (benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R,S-3-amino-oxo-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)pentanóico, éster isopropílico do ácido (benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R,S-3-amino-oxo-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)pentanóico, éster t.-butílico do ácido (benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R,S-3-amino-oxo-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)pentanóico e ácido benziloxycarbonil-valil-alanil)-3R-3-amino-oxo-5-(2,6-diclorobenzoiloxi)pentanóico na forma livre, na forma de sal ou na forma de complexos.

7ª. - Processo para a produção de um composto da fórmula (I) e de seus ésteres e amidas fisiologicamente hidrolisáveis e aceitáveis, caracterizado por compreender:

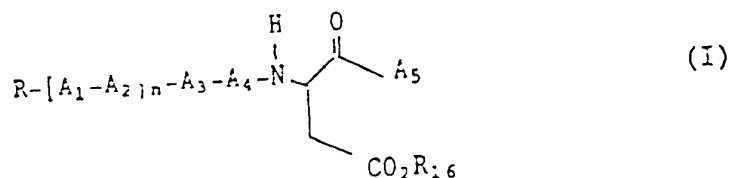
- a) a remoção de pelo menos um grupo protector de um composto da fórmula (I) na forma protegida ou adição de um grupo protector R como definido na reivindicação 1 no grupo N-terminal de um composto da fórmula (I); ou

- b) a conversão de um composto da fórmula I num outro composto da fórmula (I); ou
- c) o acoplamento de dois fragmentos peptídicos por uma ligação amida, cada um dos quais contem pelo menos um aminoácido na forma protegida ou desprotegida e um fragmento peptídico contendo um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) a (j) como definido na reivindicação 1, sendo os fragmentos peptídicos tais que se obtém um peptídeo protegido ou desprotegido tendo a sequência de acordo com a fórmula I atrás e, caso seja necessário, a remoção do grupo ou grupos protectores de um composto da fórmula I na forma protegida; ou
- d) para a produção de um composto da fórmula I em que X é um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) ou (h) e A<sub>5</sub> é um radical da fórmula (k), (l) ou (o) ou -CH<sub>2</sub>-X<sub>1</sub>-Y<sub>3</sub> como definido na reivindicação 1, a reacção de um composto da fórmula (III)

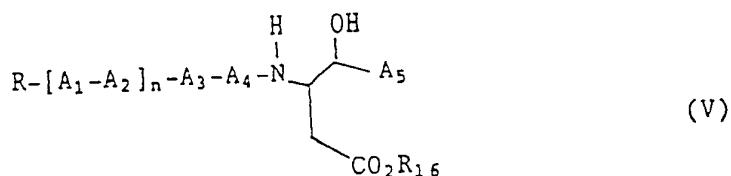


em que R, A<sub>1</sub> a A<sub>4</sub> e n são como definido na reivindicação 1, X' é um radical da fórmula (e<sub>1</sub>) ou (h) como definido na reivindicação 1, e Z<sub>a</sub> é um grupo separável, com um correspondente fenol, tiofenol ou HX<sub>1</sub>-piridina ou um ácido da fórmula HX<sub>1</sub>-CO-Y<sub>4</sub> ou um seu derivado funcional ou HX<sub>1</sub>-Y<sub>3</sub>, em que X<sub>1</sub>, Y<sub>3</sub> e Y<sub>4</sub> são como definidos na reivindicação 1; ou

- e) para a produção de um composto da fórmula (I)



em que R, A<sub>1</sub> a A<sub>5</sub> e n são como definidos na reivindicação 1 e R<sub>16</sub> é um resíduo C<sub>1-12</sub> alifático ou alicíclico, a oxidação de um composto da fórmula V



em que R, A<sub>1</sub> a A<sub>5</sub>, n e R<sub>16</sub> são como anteriormente definidos, e a recuperação de um composto da fórmula I ou de um seu éster ou amida fisiologicamente hidrolisável e aceitável assim obtido na forma livre ou de sal ou na forma de um complexo.

8ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado por se destinar a ser utilizado como composto farmacêutico.

9ª. - Composição farmacêutica, caracterizada por compreender um composto da fórmula (I), como definido na reivindicação 1, ou um seu éster ou amida fisiologicamente hidrolisável e aceitável, na forma livre ou na forma de sal fisiologicamente aceitável, juntamente com um diluente ou veículo farmacêuticamente aceitável.

10ª. - Método para o tratamento de perturbações com uma etiologia associada ou caracterizada pela libertação excessiva de IL-1 $\beta$ , num indivíduo necessitado, método esse que se caracteriza pela administração ao referido indivíduo de uma quantidade eficaz de um composto da fórmula I como definido na reivindicação 1, um seu éster ou amida fisiologicamente hidrolisável e aceitável, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável.

Lisboa, 2 de Novembro de 1992



**J. PEREIRA DA CRUZ**  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VICTOR CORDON, 10-A 3.ª  
1200 LISBOA