



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0617918-5 A2**

(22) Data de Depósito: 24/10/2006
(43) Data da Publicação: 09/08/2011
(RPI 2118)



(51) *Int.Cl.:*
C07D 333/24 2006.01
C07H 3/02 2006.01
C07C 323/65 2006.01
A61K 31/381 2006.01
A61P 29/00 2006.01
A61P 25/00 2006.01
C07C 323/60 2006.01

(54) Título: **DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS
CONTENDO UM GRUPAMENTO DI-SULFANILA,
MEDICAMENTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E
USO**

(30) Prioridade Unionista: 25/10/2005 FR 05 10862, 05/05/2006
FR 06 04030, 05/05/2006 FR 06 04030

(73) Titular(es): Pharmaleads

(72) Inventor(es): Bernard Roques, Marie Claude Fournie-Zaluski

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2006067711 de 24/10/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/048787 de 03/05/2007

(57) Resumo: DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS CONTENDO UM GRUPAMENTO DI-SULFANILA, MEDICAMENTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO. A invenção tem por objeto novos compostos de fórmula (I) $H_2N-CH(R_1)-CH_2-S-S-CH_2-CH(R_2)-CONH-R_5$ na qual R_1 representa uma cadeia hidrocarbonada, um radical metileno substituído por um hetero ciclo com 5 ou 6 átomos; R_2 representa um radical fenila ou benzila, um hetero cicloaromático com 5 ou 6 átomos, um grupo metileno substituído por um hetero ciclo com 5 ou 6 átomos; R_5 representa seja um radical $CH(R_3)-COOR_4$ no qual R_3 representa um hidrogênio, um grupamento OH ou OR, uma cadeia hidrocarbonada saturada, um radical fenila ou benzila, e OR_4 representa um éster hidrófilo; seja um hetero ciclo com 5 ou 6 cadeias compreendendo vários heteroátomos, escolhidos no grupo constituído pelo nitrogênio, pelo enxofre e pelo oxigênio dos quais pelo menos 2 átomos de nitrogênio, esse hetero ciclo podendo ser substituído por um radical alquila em C1-C6, fenila ou benzila. A invenção refere-se também à utilização a título de medicamento desses compostos e uma composição farmacêutica compreendendo esses compostos e um excipiente farmacêuticamente apropriado. A invenção refere-se enfim à utilização em associação de pelo menos um derivado de canabinóides, para potencializar o efeito analgésico e antidepressivo dos novos compostos de fórmula (I) e/ou da morfina ou de um de seus derivados.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS CONTENDO UM GRUPAMENTO DI-SULFANILA, MEDICAMENTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO**".

A invenção refere-se aos novos inibidores mistos da neprilisina e da amino peptidase N.

Sabe-se que os peptídeos opióides naturais ou encefalinas - (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met ou Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu) - são essencialmente degradados por duas metalo peptidases com zinco, a neprilisina (EC 3.4.24.11) que cliva a ligação Gly-3-Phe4 (Nature 276 (1978) 523) e amino peptidase N (EC 3.4.11.2) que corta a ligação Tyr1-Gly2 desses peptídeos (Eur. J. Pharmacol 117 (1985) 233; revista em Pharmacological review., 1993, 45, 87-146). São conhecidos inibidores mistos dessas duas enzimas que, protegendo completamente as encefalinas endógenas de sua degradação enzimática, revelam as atividades farmacológicas, em particular analgésicas e antidepressivas, encefalinas. Os inibidores mistos, descritos na técnica anterior, dessas duas atividades enzimáticas, são compostos com função hidroxamate (FR 2 518 088 e FR 2 605 004), compostos aminofosfínicos (FR 2 755 135 e FR 2 777 780) e derivados de aminoácidos (FR 2 651 229). Os compostos descritos nesses pedidos de patente apresentam uma excelente atividade *in vitro* e *in vivo* após administração por via intracerebroventricular; isto foi particularmente demonstrado no caso dos hidroxamatos (Eur. J. Pharmacol., 102, (1984), 525-528; Eur. J. Pharmacol., 165, (1989), 199-207; Eur. J. Pharmacol., 192, (1991), 253-262), para os quais uma atividade significativa pôde também ser demonstrado após administração intravenosa (iv) em um modelo de rato artrítico (Brain Research, 497, (1989), 94-101). No caso dos derivados fosfínicos e dos derivados aminoácidos, uma boa atividade *in vivo* foi demonstrada após administração por via intravenosa, quando as moléculas estudadas foram solubilizadas em uma mistura de óleo, de etanol e de água (J. Med. Chem., 43, (2000), 1398-1408; J. Med Chem., 44, (2001), 3523-3530; J. Pharm. Exp. Ther., 261, (1992), 181-190). Todavia, mesmo se um dos compostos pertencentes à série dos derivados de aminoácidos se mostrou relativamente solúvel na água (Pain, 73, (1997),

383-391), nenhuma das moléculas anteriormente descritas não possuem uma solubilidade em fase aquosa e uma biodisponibilidade suficiente para ser administrada por via oral e apresentar respostas analgésicas interessantes em doses suficientemente fracas no animal para serem transpostas no
5 homem. Da mesma forma, nenhuma das moléculas anteriormente citadas permite uma administração intravenosa, já que exigem nos testes em animais uma solubilização em misturas incompatíveis com a administração por essa via no homem.

Um dos objetivos da invenção é de fornecer novos compostos
10 hidrosolúveis capazes de inibir conjuntamente as duas atividades enzimáticas responsáveis pela degradação das encefalinas e manifestar suas propriedades farmacológicas após colocação em solução em um soluto aquoso e injeção intravenosa, subcutânea, percutânea, intratecal, intra-articular e por via oral ou nasal.

15 Foi também admitido que a barreira hematoencefálica é mais facilmente vencida por moléculas hidrófobas e não polares. Todavia, de forma inesperada, as moléculas hidrófilas que foram sintetizadas apresentam respostas potentes em testes centrais, indicando a existência de uma boa capacidade para atingir as estruturas cerebrais e alguns são as vias de ad-
20 ministração (com exceção da via local). Um outro objeto da invenção é de fornecer novos compostos que apresentam propriedades das substâncias morfínicas, em particular a analgesia, os efeitos benéficos sobre o comportamento (diminuição da componente emocional da dor e respostas antidepressivas) e efeitos periféricos (antidiarréico, antitussígeno, antiinflamatório)
25 sem ter os inconvenientes maiores (tolerância, dependências física e psíquica, depressão respiratória, constipação, náusea).

Além disso, as dores inflamatórias e neurogênicas, cuja componente periférica é importante, são reduzidas até mesmo eliminadas pelos compostos da invenção administrados por via oral e, portanto, sem que es-
30 tes sejam levados a atingir o sistema nervoso central. Esse resultado, muito interessante, mas inesperado, foi formalmente demonstrado por utilização de um antagonista incapaz de entrar no cérebro. Isto reduz totalmente todos os

efeitos devido ao estímulo dos receptores opióides cerebrais pelos compostos da invenção, sem alterar os efeitos analgésicos dos compostos sobre essas dores, em particular neurogênico.

A invenção tem mais particularmente por objeto compostos correspondentes à seguinte fórmula (I):



na qual:

R₁ representa:

- uma cadeia hidrocarbonada, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, comportando de 1 a 6 átomos de carbonos, eventualmente substituída por:
 - um radical OR, SR ou S(O)R, em cada um desses radicais R representa um hidrogênio, uma cadeia hidrocarbonada, linear ou ramificada, de 1 a 4 átomos de carbono, um radical fenila ou benzila;
 - um radical fenila ou benzila;
 - um radical fenila ou benzila eventualmente substituído por:
 - 1 a 5 halogênios, notadamente o flúor;
 - um radical OR, SR ou S(O)R, em cada um desses radicais R tendo a mesma significação que anteriormente;
 - um radical metileno substituído por um heterociclo com 5 ou 6 átomos, aromático ou saturado, possuindo como heteroátomo, um átomo de nitrogênio ou de enxofre, eventualmente oxidado sob a forma de N-óxido ou de S-óxido;

R₂ representa:

- um radical fenila ou benzila, eventualmente substituído por:
 - 1 a 5 átomos de halogênios notadamente o flúor;
 - um radical OR ou SR, em cada um desses radicais R tendo a mesma significação que anteriormente;
 - um grupamento amino eventualmente mono- ou di- substituído por um grupamento alifático, cíclico ou linear, de 1 a 6 átomos de carbonos;
 - um cicloaromático com 5 ou 6 átomos;
 - um heterocicloaromático com 5 ou 6 átomos, o heteroátomo sendo um oxigênio, um nitrogênio ou um enxofre;

- um grupo metileno substituído por um heterociclo com cinco ou 6 átomos, aromático ou saturado, heteroátomo sendo um oxigênio, um nitrogênio ou um enxofre, os átomos de nitrogênio e de enxofre podendo ser oxidados sob a forma de N-óxido ou de S-óxido.

5 R_5 representa:

a) um radical $CH(R_3)-COOR_4$ no qual

R_3 representa:

- um hidrogênio;

- um grupamento OH ou OR, R tendo a mesma significação que

10 anteriormente;

- uma cadeia hidrocarbonada saturada (alquila), linear ou ramificada, comportando de 1 a 6 átomos de carbono, eventualmente substituído por um radical OR ou SR, em cada um desses radicais R tem a mesma significação que anteriormente;

15 - um radical fenila ou benzila, eventualmente substituído por:

- 1 a 5 halogênios notadamente o flúor;

- um radical OR ou SR, R tendo a mesma definição que anteriormente; e

OR_4 representa:

20 - um radical glicolato OCH_2COOR' ou lactato $OCH(CH_3)COOR'$, em cada um desses radicais R' representa;

- uma cadeia hidrocarbonada saturada (alquila) de 1 a 6 átomos de carbono, linear ou ramificada, eventualmente substituída por um grupamento alcóxi em C1 a C3, de preferência um grupo alquila em C1-C4 eventualmente substituído por um grupo metóxi;

25

- um grupamento cicloalquila de C5 a C8, de preferência um grupo cicloalquila em C5-C6;

- um grupamento fenila, benzila, heteroarila, alquil-heteroarila;

- um grupamento $OCH(R'')O(CO)OR'$ ou $OCH(R'')O(CO)R'$, em

30 cada um desses radicais R' tem a mesma significação que anteriormente e R'' representa;

- um átomo de hidrogênio;

- uma cadeia alquila em C1-C6, linear ou ramificada, eventualmente substituída por um grupamento alcóxi de C1 a C3, de preferência um grupo alquila em C1-C4 eventualmente substituído por um grupo metóxi;

5 - um grupo cicloalquila de C5 a C8, de preferência um grupo cicloalquila em C5-C6;

- um grupamento fenila, benzila, heteroarila, alquil heteroarila;

- um radical triglicerídeo $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OCOR}')_2$ ou $\text{OCH}_2\text{-CH}(\text{OCOR}')\text{-CH}_2\text{OCOR}'$, em cada um desses radicais R' tendo a mesma significação que anteriormente;

10 - um radical glicosídeo, tal como D-glicose, β -D-glicopirranose, α -ou β -galactopirranose;

- um radical sulfonato $\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{SO}_2)\text{CH}_3$;

- um radical $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$;

15 b) um heterociclo, com 5 ou 6 cadeias, compreendendo vários heteroátomos, escolhidos no grupo constituído pelo nitrogênio, pelo enxofre e pelo oxigênio, dos quais 2 átomos de nitrogênio, esse heterociclo podendo ser substituído por um radical alquila em C1-C6, fenila ou benzila, assim como os sais de adição desses compostos (I) com os ácidos minerais ou orgânicos farmacêuticamente aceitáveis.

20 A invenção tendo também por objeto os sais de adição dos compostos de fórmula (I), obtidos com ácidos orgânicos ou minerais farmacologicamente aceitáveis, tais como os fosfatos, o cloridrato, o acetato, o metano-sulfonato, o borato, o lactato, o fumarato, o succinato, o hemi-succinato, o citrato, o tartarato, o hemi-tartarato, o maleato, o ascorbato, o
25 hemi-fumarato, o hexanoato, o heptanoato, o hipurato, o hidrocínamate, o fenilglioxilato e o nicotinato.

No âmbito da presente invenção, a expressão "cadeia hidrocarbonada" designa alcanos, alcenos ou alcinos. Em particular, a expressão "cadeia hidrocarbonada saturada" designa radicais alquilas, comportando de
30 1 a 6 átomos de carbono (C1-C6) ou de 1 a 4 átomos de carbono (C1-C4), lineares ou ramificados. Como exemplo de radicais alquilas comportando de 1 a 4 átomos de carbonos, podem-se citar os radicais metila, etila, propila,

butila, isopropila, 1-metil-etila, 1-metil-propila, 2-metil-propila. Como exemplo de radicais alquilas, comportando de 1 a 6 átomos de carbonos, podem-se além disso citar os radicais pentila, hexila, 1-metil-butila, 1-metil-pentil 2-metil-butila, 2-metil-pentila, 3-metil-butila, 3-metil-pentila, 4-metil-pentila ou 1-etil-propila, 1-etil-butila, 2-etil-butila. A expressão “cadeia hidrocarbonada insaturada” designa radicais alcenila (pelo menos uma dupla ligação), por exemplo vinila, alila ou análogo, ou alcinila (pelo menos uma tripla ligação), comportando de 2 a 6 átomos de carbono, ou de 2 a 4 átomos de carbono, lineares ou ramificados.

10 O termo “halogênio” utilizado no caso designa um cloro, um bromo, um iodo e um flúor.

Como exemplo de núcleos heterocíclicos com 5 ou 6 átomos, aromáticos ou saturados, possuindo como heteroátomo um átomo de nitrogênio ou de enxofre, podem-se citar, mas sem limitação, os seguintes radicais: tienila, pirrolila, imidazolila, pirazolila, isotiazolila, piridila, pirazinila, pirimidinila, piridasinila, pirrolidinila, pirrolinila, imidazolidinila, pirazolidinila, pirazolinila, piperidila, piperazinila, tiadiazolila, os átomos de nitrogênio e de enxofre sendo eventualmente oxidados sob a forma de N-óxido ou de S-óxido.

20 Como exemplo de novos heterocíclicos com 5 ou 6 átomos, aromáticos ou saturados, possuindo como heteroátomo ou átomo de oxigênio, podem-se citar, mas sem limitação, os seguintes radicais: furila, piranila, isoxazolila, morfolinila, furazanila, oxazolila, oxazolidinila, oxazolinila.

O radical R_1 representa vantajosamente um radical alquila tendo de 1 a 4 átomos de carbono, eventualmente substituído por um radical OR, SR ou S(O)R, em cada um desses radicais R tem a mesma significação que anteriormente. R_1 representa ainda mais vantajosamente um radical alquila tendo de 1 a 4 átomos de carbono substituído por um radical SR, R tendo a mesma significação que anteriormente, em particular R representa uma cadeia hidrocarbonada saturada, linear ou ramificada, de 1 a 4 átomos de carbono.

O radical R_2 representa vantajosamente:

- um radical benzila ou fenila;
- um radical metileno substituído por um heterociclo com 5 ou 6 átomos, aromático ou saturado, possuindo como heteroátomo, um átomo de nitrogênio ou de enxofre, eventualmente oxidado sob a forma de N-óxido ou de S-óxido;

Em particular, o radical R_2 representa um radical benzila ou um radical metileno substituído por um heterociclo com 5 a 6 átomos, aromático ou saturado, possuindo como heteroátomo, um átomo de nitrogênio ou de enxofre, eventualmente oxidado sob a forma de N-óxido ou de S-óxido, ainda mais vantajosamente um radical benzila ou um radical metileno substituído por um radical tio fenila (tienila).

O radical R_5 é um radical que permite aumentar o caráter hidrófilo do conjunto da molécula que, em outros termos, é uma molécula antes de tudo hidrófoba.

De acordo com uma primeira variante da invenção, o radical R_5 representa um radical $CH(R_3)-COOR_4$.

Nessa primeira variante, o radical R_3 representa vantajosamente um átomo de hidrogênio ou um radical alquila tendo de 1 a 6 átomos de carbono, ainda mais vantajosamente 1 a 4 átomos de carbono, eventualmente substituído por um radical OR ou SR, em cada um desses radicais R tendo a mesma significação que anteriormente. O radical R_3 representa ainda mais vantajosamente um átomo de hidrogênio ou um radical alquila, tendo de 1 a 6 átomos de carbono, ainda mais vantajosamente 1 a 4 átomos de carbono, substituído por um radical OH ou SH.

O radical OR_4 representa vantajosamente:

- um radical glicolato OCH_2COOR' , R' tendo a mesma significação que anteriormente (em particular R' representa um grupo alquila em C1-C4, eventualmente substituído por um grupo metóxi ou um grupo cicloalquila em C5-C6);

- um radical $OCH(R'')O(CO)OR'$ ou $OCH(R'')O(CO)R'$, R' e R'' tendo a mesma significação que anteriormente (em particular R' e/ou R'' representa um grupo alquila em C1-C4 eventualmente substituído por um gru-

po metóxi ou um grupo cicloalquila em C5-C6 ou R" representa um átomo de hidrogênio);

- um radical triglicerídeo $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OCOR}')_2$ ou $\text{OCH}_2\text{-CH}(\text{OCOR}')\text{-CH}_2\text{OCOR}'$, em cada um desses radicais R' tendo a mesma
- 5 significação que anteriormente;
- um radical glicosídeo tal como D-glicose;
- um radical sulfonato $\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{SO}_2)\text{CH}_3$;
- um radical $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$.

Em particular, o radical OR_4 representa um grupamento O-
 10 $\text{CH}(\text{R}'')\text{O}(\text{CO})\text{OR}'$ ou $\text{OCH}(\text{R}'')(\text{CO})\text{R}'$ o radical R' representando uma cadeia alquila em C1-C4 (em particular o radical etila) e o radical R" representando um radical metila, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, ciclohexila ou fenila.

De acordo uma segunda variante da invenção, o radical R_5 re-
 15 apresenta um heterociclo, com 5 ou 6 cadeias, compreendendo vários hete-
 roátomos, escolhidos no grupo constituído pelo nitrogênio, pelo enxofre e
 pelo oxigênio, dos quais 2 átomos de nitrogênio, esse heterociclo podendo
 ser substituído por um radical alquila em C1-C6 ou um radical fenila ou ben-
 zila.

Nessa segunda variante, o heterociclo é vantajosamente um he-
 20 terociclo com 5 cadeias, compreendendo 2 átomos de nitrogênio, eventual-
 mente substituído por uma cadeia alquila em C1-C4 em particular 2-etil-
 1,3,4-tiadiazol.

A invenção refere-se em particular aos seguintes compostos:

- 1-(2-(1-(2,3-diacetoxipropoxycarbonil)-etilcarbamoil)-3-tiofen-3-il
- 25 propildisulfanilmetil)-3-metil sulfanil propil amina;
- 1-(2-(1-(2-metano-sulfonil etóxi carbonil)-etil carbamoil) -3-tiofen-
 3-il propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina;
- 1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi etóxi cabonil))-etil carbamoil) -3-
 tiofen- 3-il-propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amina;
- 30 1-(2-(1-etóxi carbonil metil ilóxi carbonil etil carbamoil) -3-tiofen-
 3-il-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amina
- 1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi etóxi cabonil)-2-hidróxi propil carba-

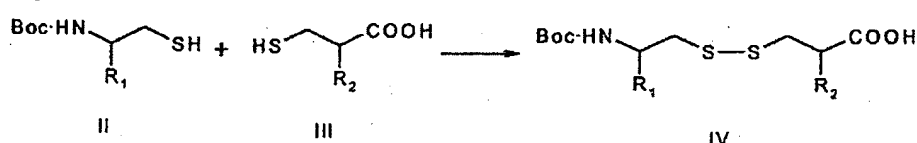
- moil) -3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amona;
 1-(2-(1-(2-acetóxi-1-acetóxi metil etóxi carbonil)-etil carbamoil) -
 3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amina;
 1-(2-(1-(2-hidróxi -1-hidróxi metil etoxo carbonil)-etil carbamoil) -
 5 3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amina;
 1-(2-(1-(3,4,5,6-tetra hidróxi tetra hidro piran-2-il metóxi carbonil)
 -etil carbamoil)-3-tiofen-3-il-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil ami-
 na
 1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi-etóxi carbonil)-2-hidróxi propil car-
 10 bamoil) -3-fenil propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina;
 1-(2-(1-(2-acetóxi -1-acetóxi metil-etóxi carbonil)-2-hidróxi propil
 carbamoil)-3-fenil propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina;
 1-(2-((1-etóxi carbonil óxi-etóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil -
 propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina
 15 3-(2-amino- 4-metil sulfanil-butyl di sulfanil)-2-benzil-N-(5-etil-
 (1,3,4) -tiadiazol-2-il)-propionamida
 1-(2-((1-etóxi carbonil óxi-2-metil-propóxi carbonil metil)-
 carbamoil) -3-fenil -propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina
 1-(2-((ciclohexil -etóxi carbonil óxi-metóxi carbonil metil)-
 20 carbamoil) -3-fenil -propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina
 1-(2-((etóxi carbonil óxi-fenil-metóxi carbonil metil)-carbamoil) -3-
 fenil -propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina
 3-metil sulfanil-1- (3-fenil-2-((1-propionil óxi-etóxi carbonil metil) -
 carbamoil) -propil di sulfanil metil)-propil amina
 25 1-(2-((2-metil-1-propionil óxi-propóxi carbonil metil)-carbamoil)-
 carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil-propil- amina
 1-(2-((ciclohexil-propionil óxi-metóxi carbonil metil) -carbamoil) -
 3-fenil -propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amina
 3-metil sulfanil-1-(3-fenil-2-((fenil-propionil óxi-metóxi carbonil
 30 metil)-carbamoil)-propil di sulfanil metil)-propil amina;

Os compostos de fórmula (I) têm potencialmente de 2 a 9 cen-
 tros de assimetria. Os radicais R₁, R₂ e R₃ serão introduzidos de forma a se-

rem obtidos encadeamentos opticamente puros correspondendo a uma estereoquímica reconhecida pelas atividades enzimáticas. Os radicais R_4 poderão eventualmente conter um centro de assimetria não resoluto.

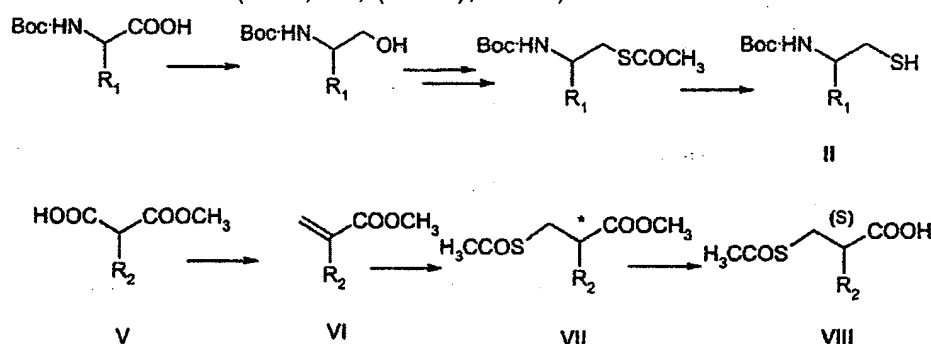
Os compostos de fórmula (I) são obtidos:

- 5 1º por condensação de um beta-amino-tiol protegido sobre a função amina por um grupamento t-butilóxi carbonila (Boc) (II) com um ácido mercapto alcanóico (III) por meio de um cloreto de metóxi carbonil sulfonila em solução no THF (tetra-hidro furano), levando ao IV.



- 10 O Boc beta-amino tiol (II) é preparado a partir de Boc aminoácido comercial correspondente, de configuração absoluta S com retenção de configuração, segundo um processo bem conhecido do técnico (J. Med. Chem., 35, (1992) 1259).

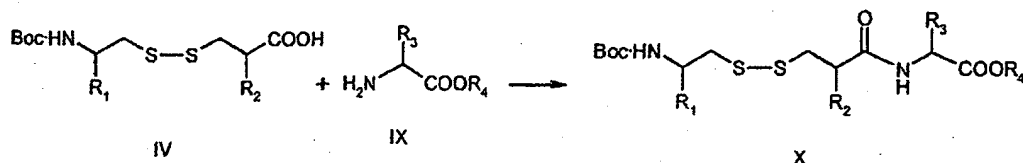
- 15 O ácido mercapto alcanóico III é obtido a partir do mono éster metílico do malonato correspondente V, que, segundo um processo bem conhecido do técnico (Ber., 57, (1924), 1116) é transformado em acrilato VI.



- 20 A adição de ácido tio acético, ao acrilato VI, leva ao derivado VII racêmico (Biochemistry, 16, (1977), 5484). Uma resolução por alfa-quimotripsina permite isolar o acetil tio ácido VIII opticamente para (Bioorg. Med. Chem. Let., 3, (1993), 2681). A hidrólise alcalina do tio éster leva ao composto III;

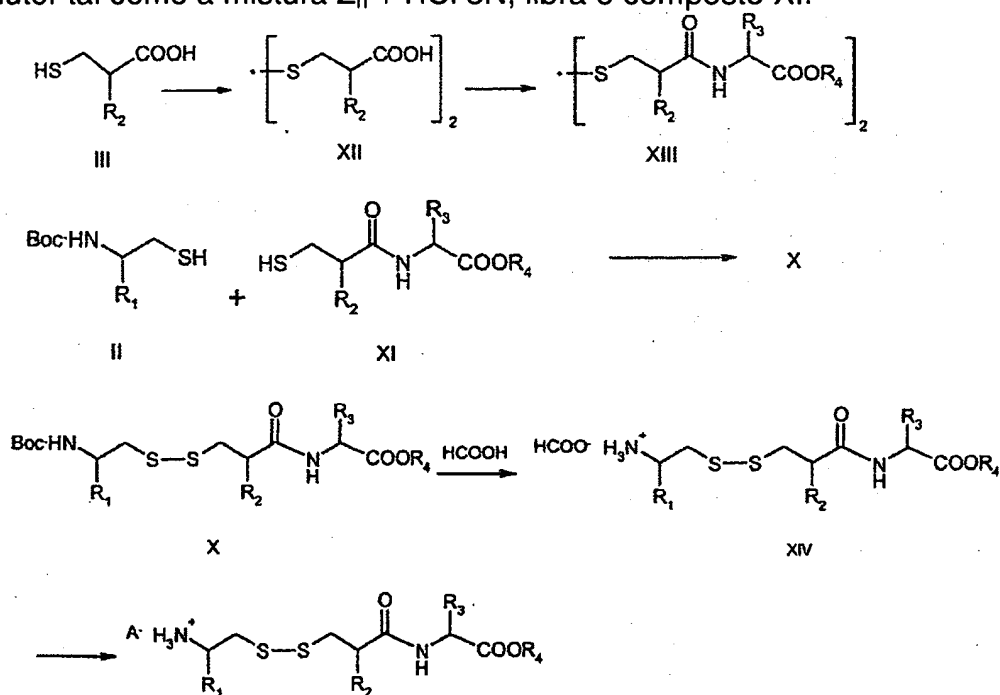
2º os compostos de fórmula (I), nos quais o radical R_5 representa um radical $\text{CH}(\text{R}_3)\text{-COOR}_4$, podem ser obtidos pelas vias de síntese a seguir:

2.1º o di-sulfeto dissimétrico IV é acoplado, nas condições clássicas do acoplamento peptídico com o amino éster IX, levando ao inibidor protegido X.



De acordo com um método alternativo, os compostos podem ser obtidos por condensação, por meio do cloreto de metóxi carbonil sulfenila, de um Boc-β-amino tiol II com um mercapto acil amino éster de fórmula XI.

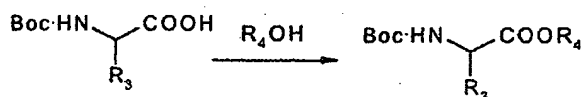
O mercapto acil amino éster XI é preparado a partir do composto III. Este é oxidado por uma solução etanólica de iodo em di-sulfeto XII. O composto XII é acoplado nas condições clássicas do acoplamento peptídico com o amino éster IX, levando a XIII. O tratamento de XIII por um agente redutor tal como a mistura $\text{Zn} + \text{HCl } 3\text{N}$, libera o composto XI.



O corte do grupamento N-terminal Boc de X é realizado por ação do ácido fórmico, liberando XIV. A mudança de contra-íon de XIV é obtida de forma quantitativa por tratamento por um equivalente de NaHCO_3 0,1M, extração em meio orgânico (EtOAc) do composto possuindo uma função amina livre, depois adição de um equivalente do ácido orgânico ou mineral escolhido.

do para levar a I.

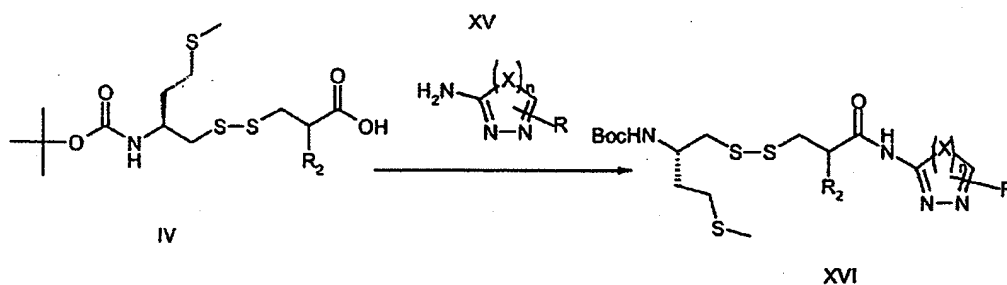
- 2.2º O amino éster IX é obtido por condensação de um Boc amino
no ácido XII com o álcool R_4OH , depois desproteção pelo ácido trifluoro acé-
tico (TFA) e neutralização pela soda. Se o álcool R_4OH for um álcool primá-
rio, o acoplamento com XII será feito nas condições clássicas (hidro cloreto
de 1-[3-(dimetil amino)propil]-3-etil carbodiimida (EDCI), 1-hidróxi benzo tria-
zol hidrato (HOBt) ou éster ativado). Se o álcool R_4OH é um álcool secundá-
rio, a condensação é feita por intermédio de uma reação de Mitsunobu (sín-
tese (1981) 1-28), utilizando a mistura di etil azo di carboxilato/tri fenil fosfina
(DEAD/Pphe₃).



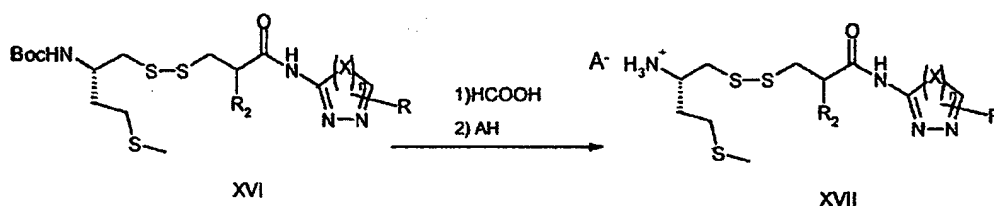
Os álcoois R_4OH são na maior parte dos casos dos compostos comerciais. Quando R_4OH é um álcool levando a um éster "cascata", este é sintetizado a partir dos métodos descritos em uma literatura.

- 2Bis Os compostos de fórmula (I), nos quais o radical R_5 repre-
senta um radical hetero ciclo, tal como definido anteriormente, podem ser
obtidos pelas seguintes vias de síntese.

2Bis.1

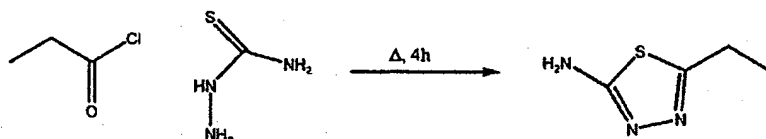


- O di-sulfeto dissimétrico IV é acoplado nas condições clássicas
do acoplamento peptídico com hetero ciclo aminado XV para levar a XVI. A
desproteção do grupamento Boc é feita como anteriormente, levando ao de-
rivado XVII.



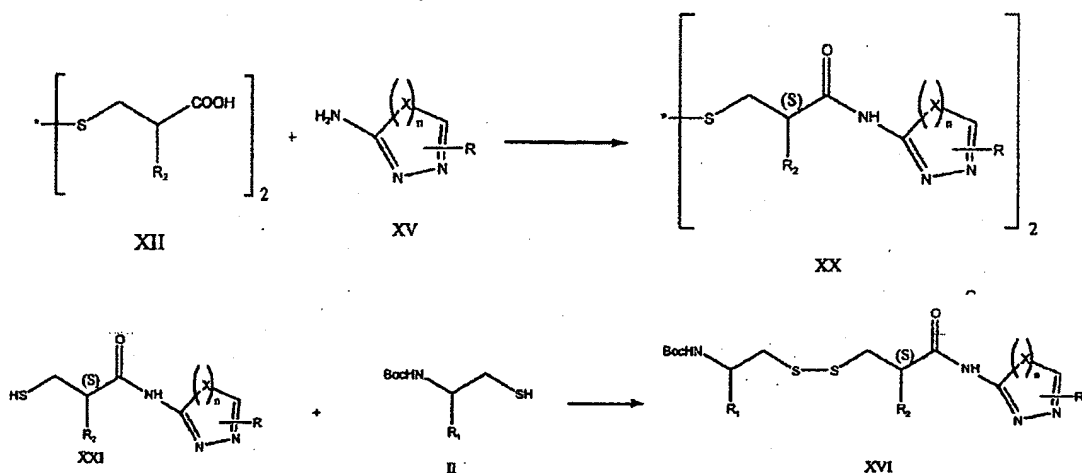
O hetero ciclo aminado XV é sintetizado segundo os métodos descritos os métodos descritos na literatura.

Por exemplo, o 2-amino-5-etil-(1,3,4) tiadiazol XV é obtido conforme descrito (Takatori et al. Yakugaku Zasshi 79, 1959, 913) por condensação do tio-semicarbazida XVIII e do cloreto de propionila XIX.



2Bis 2

De acordo com um método alternativo, os compostos de fórmula (I), nos quais o radical R_5 representa um hetero ciclo, podem ser obtidos por condensação do hetero ciclo XV sobre o composto XII, levando a XX. Após corte da ponte di-sulfeto, conforme descrito anteriormente, o compostos XXI obtido é condensado sobre II para levar ao XVI.



A invenção tem também por objeto, as composições farmacêuticas, contendo a título de princípio ativo pelo menos um dos compostos de fórmula geral (I) ou um de seus sais ou hidratos de seus sais, em combinação com um ou vários suportes inertes ou outros veículos farmacêuticamente aceitáveis. Esses compostos apresentam as propriedades das substâncias morfínicas, em particular a analgesia, aí compreendidos em seus componentes periféricos (inflamatórios, neurogênicos), os efeitos benéficos sobre o comportamento, em particular em caso de depressão e/ou de ansiedade, sem ter os inconvenientes maiores (tolerância/dependência, depressão respiratória, constipação). Assim, ao encontro dos agonistas opióides exó-

genos interagindo com os receptores delta, os inibidores mistos, de acordo com a invenção, têm efeitos antidepressivos, sem provocar risco de acionamento de crises epileptiformes ou de convulsões e agem rapidamente (Bamonde A. et al. 1992, Jukiewicz E.M. et al., 2005). Esses compostos são capazes de passar a barreira hematoencefálica. A principal aplicação dos compostos, de acordo com a invenção, está, portanto, no domínio da analgesia, dos antidepressivos e dos ansiolíticos.

As composições farmacêuticas, de acordo com a invenção, podem ser, a título de exemplo, composições administráveis por via oral, nasal (administração por aerossol), sublingual (administração por difusão perlinguável), retal, parenteral intravenosa e percutânea. A título de exemplo de composições administráveis por via oral, podem-se citar os comprimidos, as 5 geléias, os granulados, as microesferas, os pós e as soluções ou suspensões orais. O radical R_5 confere uma hidrofília suficiente aos compostos, de acordo com a invenção, que são assim solúveis na água e os solventes hidrófilos em presença ou não de diversos tensoativos. Em particular, eles são 10 solúveis nos solventes do tipo álcool/polissorbato/água, em particular etanol/Tween® /água e manitol/água com o auxílio de ciclo dextrinas apropriadas à administração no homem, que são freqüentemente utilizados para a administração por via intravenosa. As composições, de acordo com a invenção, podem, portanto, ser administradas por via intravenosa. Elas podem 15 também ser administradas por via oral ou nasal, em particular via um aerossol ou por difusão perlingual ou no meio de um preparado galênico apropriado (micro emulsões). Da mesma forma, essas composições podem ser utilizadas para administrações transdérmicas. Essas composições podem ser utilizadas em particular como analgésico maior, como a antálgico potente 20 nas dores inflamatórias e neurogênicas, e como antidepressivo.

É muito interessante constatar que as composições, de acordo com a invenção, podem ser administradas seja sob a forma de aerossóis (microemulsões) por via oral ou nasal, seja por via intravenosa. Essas vias de administração permitem assim uma administração da composição, de 25 acordo com a invenção, por uma via não digestiva. Isto é particularmente

interessante, quando a composição compreende compostos complementares, que podem apresentar efeitos não desejados sobre o sistema digestivo (em particular o intestino), tais como, por exemplo, derivados de canabinóides. Isto permite também aumentar a biodisponibilidade cerebral dos compostos ou associações.

Um outro objetivo da invenção é a utilização a título de medicamento dos compostos, tais como definidos anteriormente ou obtidos por um processo, tal como definido anteriormente.

Foi, além disso, constatado, de maneira surpreendente, que a associação dos novos compostos, de acordo com a presente invenção com derivados canabinóides leva a efeitos analgésicos ainda mais consideráveis (superiores à soma de cada um dos efeitos que podem ser observados para cada composto, isto é para os compostos segundo a invenção ou para os derivados canabinóides).

Até 1954, a *cannabis* foi considerada como uma planta medicinal, apresentando propriedades múltiplas: analgésicas, antiespasmódicas, anticonvulsivas, antiinflamatórias, antivômitos, bronco diladoras, vaso diladoras, relaxantes e sonoríferas. Recentemente propriedades antiproliferativas e antineurodegenerativas foram colocadas em evidência.

Alguns efeitos nefastos da *cannabis*, ligados mais freqüentemente a uma superdosagem, foram descritos: crises de ansiedade para pessoas deprimidas e alucinações, quando o produto é ingerido pela bebida (chá) ou pelo alimento (doces).

Os efeitos da *cannabis* se explicam por sua ação sobre os receptores canabinóides. Esses receptores estão presentes em numerosas estruturas cerebrais e uma molécula endógena que se liga naturalmente a isso, a anandamida, foi identificada.

Dos tipos de receptores foram caracterizados os receptores CB1 que são encontrados ao mesmo tempo no sistema nervoso central e na periferia e os receptores CB2 que são essencialmente periféricos. Os receptores CB1 parecem implicados na modulação da liberação neuronal dos neurotransmissores excitadores ou inibidores no cérebro. O papel dos receptores

CB2 é menos claro, mas parece que intervêm na modulação do sistema imunitário.

As moléculas endógenas que se ligam aos receptores CB1 e CB2, denominadas (endocanabinóides), tais como a anandamida, interagem com os receptores canabinóides no cérebro e na periferia, induzindo diversos efeitos farmacológicos.

O composto psicotrópico o mais abundante presente na cannabis (*cannabis sativa*) é o Δ^9 tetra-hidro canabinol (Δ^9 THC).

O Δ^9 THC induz numerosas respostas farmacológicas, tais como a analgesia, uma hipotermia, uma atividade locomotora reduzida e uma parte da vigília e da atenção devido a interações com os receptores CB1 presentes no cérebro. Determinadas dessas propriedades têm aplicações terapêuticas interessantes para o tratamento da dor ou do glaucoma, também para atenuar as náuseas e para estimular o apetite de paciente tratados com compostos antitumorais e antivirais que apresentam severos efeitos secundários. O Δ^9 THC, e mais geralmente os agonistas do receptor CB1 são também capazes de reduzir os efeitos dolorosos associados às crises de esclerose em placa, reduzindo a evolução da doença. Isto leva todavia ao desenvolvimento do SATIVEX que é um preparado diretamente oriundo da planta (*cannabis sativa*) e que contém uma mistura em partes iguais de Δ^9 THC e de canabidiol (outra substância presente na planta). Esse preparado está atualmente no fim de uma exploração clínica. Todavia, as doses administradas por via orobucal são elevadas e efeitos secundários foram observados (*Current Opinion in Investigational Drugs* 2004, 5, 748).

Uma outra particularidade do sistema endocanabinóides endógeno (anandamida) refere-se ao modo de síntese e de secreção desse neurotransmissor particular. Formada por via enzimática a partir dos fosfolípidos das membranas dos *organelles*, a anandamida é secretada por um transportador a partir de neurônio pós - sináptico para interagir com os receptores CB1 situados sobre uma terminação pré-sináptica (neurotransmissão retrógrada) (Piomelli et al, TIS, 2000, 21, 218-224).

Todavia, vários efeitos comportamentais, tais como uma perda

da vigilância e da atenção, uma sedação, uma ataxia, distúrbios da visão, uma taquicardia, hipotermias e distúrbios complementares, tais como alucinações, uma ansiedade, um ataque de pânico e distúrbios da memória produzidos por uma exposição crônica aos canabinóides naturais ou sintéticos, limitam sua utilização clínica (revista em E. A. Carlini, *The good and the bad effects of (-) trans-delta-9-tetra-hidrocanabinol Δ^9 THC* em seres humanos, Toxicon, 2004, 44, 461-467). Além disso, no homem, os efeitos analgésicos do Δ^9 THC são obtidos com doses muito elevadas próximas das doses que dão os efeitos indesejáveis citados mais acima (Campbell F.A. et al., *Are cannabinoids an effective and safe treatment option in the management of pain? A quantitative systemic review*, Br. Med. J., 2001, 323, 12-16).

Foi constatado, de maneira surpreendente, que a coadministração (simultânea ou aferida no tempo) de pequenas doses de derivados de canabinóides (em particular, o Δ^9 THC) permite potencializar o efeito analgésico e o efeito antidepressivo dos derivados, de acordo com a invenção (fórmula (I)) sem induzir, de maneira significativa, os efeitos nefastos desses canabinóides que por via intravenosa aparecem a partir dos 4-5 mg/kg (sedação).

No sentido da presente invenção entende-se pela expressão “teores muito baixos em canabinóides dos teores em canabinóides inferiores àqueles que induzem esses efeitos secundários indesejáveis.

No sentido da presente invenção, entendem-se pela expressão “canabinóides” o Δ^9 THC dos agonistas do receptor CB1 sintéticos ou dos inibidores da degradação da anandamida. Os canabinóides introduzidos nas composições, de acordo com a invenção, são de preferência o Δ^9 THC.

A invenção tem também por objeto uma composição farmacêutica, compreendendo pelo menos um composto de fórmula (I), tal como definido anteriormente, pelo menos um derivado de canabinóides, em particular o Δ^9 THC, ou um protetor de seu metabolismo (revista Piomelli et al, TIPS, 2000) e um excipiente farmacêuticamente apropriado, em particular um excipiente apropriado para uma administração por via oral, nasal, intravenosa ou transcutânea.

A invenção refere-se também à utilização de pelo menos um derivado de canabinóides em particular o Δ^9 THC, em uma composição farmacêutica para potencializar o efeito analgésico e/ou antidepressivo dos compostos de fórmula (I), tais como definidos anteriormente.

5 A invenção refere-se também à utilização de uma combinação de pelo menos um composto de fórmula (I), tal como definido anteriormente e de pelo menos um derivado de canabinóides, em particular o Δ^9 THC, para o preparo de um medicamento destinado ao tratamento da depressão e da dor.

10 Um outro objeto da invenção é uma composição farmacêutica, compreendendo:

I) pelo menos um composto de fórmula (I), tal como definido anteriormente;

15 II) pelo menos um derivado de canabinóides;
como produtos de combinação para uma utilização simultânea, separada ou aferida no tempo.

Da mesma forma, a invenção tem também por objeto a utilização de uma composição farmacêutica, compreendendo:

20 I) pelo menos um composto de fórmula (I), tal como definido anteriormente;

II) pelo menos um derivado de canabinóides;
como produtos de combinação para uma utilização simultânea, separada ou aferida no tempo, para a fabricação de um medicamento destinado ao tratamento da depressão e da dor no âmbito da presente invenção, o termo dor designa os diferentes tipos de dor, tais como a dor aguda, a dor inflamatória e a dor neurogênica, aí compreendida a dor associada à esclerose em placa. Os compostos, de acordo com a invenção, eventualmente em associação com um derivado de canabinóides são também apropriados para o tratamento do glaucoma.

30 A invenção tem também por objeto a associação dos novos compostos, de acordo com a invenção, com a morfina ou um de seus derivados. Com efeito, a morfina é também capaz de potencializar o efeito anal-

gésico induzido pelos compostos, de acordo com a invenção.

A invenção tem, portanto, por objeto uma composição farmacêutica, compreendendo pelo menos um composto de fórmula (I), tal como definido anteriormente, a morfina ou um de seus derivados e um excipiente farmacêuticamente apropriado, em particular um excipiente apropriado para uma administração por via oral, nasal, intravenosa ou transcutânea. A composição pode, além disso, compreender pelo menos um derivado de canabinóides, em particular o Δ^9 THC, ou um protetor de seu metabolismo.

Essa composição pode ser utilizada como medicamento, notadamente no tratamento da depressão e da dor. Os diferentes compostos podem ser utilizados como produtos de combinação para uma utilização simultânea, separada ou aferida no tempo.

É a boa solubilidade aquosa dos compostos da invenção, segundo a fórmula (I), que facilita amplamente a constituição de preparado (microemulsões, solução em presença de tensoativo ...) apropriado à utilização em terapêutica pelas via intravenosa, nasal, pulmonar (aerossol) ou transcutânea.

A dose eficaz de um composto da invenção varia em função de numerosos parâmetros, tais como, por exemplo, a via de administração escolhida, o peso, a idade, o sexo, o estado de avanço da patologia a tratar e a sensibilidade do indivíduo a tratar. Em consequência, a posologia ótima deverá ser determinada, em função dos parâmetros considerados pertinentes, pelo especialista na matéria.

A invenção será ainda ilustrada sem de modo nenhum ser limitada pelos exemplos a seguir. A lista dos compostos preparados, segundo o exemplo 12, é dada na tabela 1. Para todos os compostos descritos nesses exemplos.

- R_1 representa o radical $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$.
- $\text{CH}_2-(\text{C}:\text{CH}.\text{S}.\text{CH}:\text{CH})$ representa O radical tiofen-3-il metila.
- $\text{C}:\text{CH}.\text{CH}:\text{CH}-\text{CH}:\text{CH}$ representa o radical fenila.
- C_6H_{11} representa o radical ciclohexila.

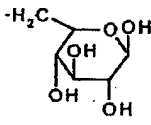
Exemplo	R ₂	R ₃	R ₄
12a	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH ₂ -C(OCOCH ₃)(CH ₂ OCOCH ₃)
12b	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₂ -SO ₂ -CH ₃
12c	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12d	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH ₂ -CO-O-C ₂ H ₅
12e	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH(OH)CH ₃	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12f	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH(CH ₂ OCOCH ₃) ₂
12g	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	-CH(CH ₂ OH) ₂
12h	-CH ₂ -(C:CH.S.CH:CH)	-CH ₃	
12i	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-CH(OH)CH ₃	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12j	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-CH(OH)CH ₃	-CH(CH ₂ OCOCH ₃) ₂
12k	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH ₃)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12l	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH(CH ₃) ₂)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12m	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C ₆ H ₁₁)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12n	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C:CH.CH:CH-CH:CH)-O-CO-O-C ₂ H ₅
12o	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH ₃)-O-CO-C ₂ H ₅
12p	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(CH(CH ₃) ₂)-O-CO-C ₂ H ₅
12q	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C ₆ H ₁₁)-O-CO-C ₂ H ₅
12r	-C:CH.CH:CH-CH:CH	-H	-CH(C:CH.CH:CH-CH:CH)-O-CO-C ₂ H ₅

Tabela 1: Radicais dos exemplos 12a a 12r

Legenda das figuras:

5 Figura 1: curva dose/resposta da analgesia induzida pela morfina ou pelo composto 15 injetado por via intravenosa no rato (teste da placa quente 52 °C); em abscissas dose em mg/kg e em ordenadas % analgesia.

O traço negro (traço superior) corresponde aos resultados obtidos pela morfina, o traço cinza (traço inferior) corresponde aos resultados obtidos para o composto 15.

10

Figura 2:

A) Resposta antinociceptiva induzida pelo composto 15 injetado per os 20 minutos antes do teste da placa quente (52 °C, latência do salto,

segundo) nos ratos OF1 machos ($n = 10$); em abscissas dose de composto 15 em mg/kg e em ordenadas % analgesia.

B) Cinética do efeito do composto 15 após administração *per os* ($n = 10-17$); em abscissas tempo (minutos) e em ordenadas % analgesia.

5 Figura 3: Resposta antinociceptiva induzida pela associação do composto 15 e do Δ^9 -tetra-hidro canabinol. Placa quente (52 ± 1 °C), latência do salto, rato OF1 machos. Cuff-off: 240 segundos * * * $p < 0,001$ *versus* controle, ###, $p < 0,001$ *versus* composto 15 e Δ^9 -THC. ANOVA + Newman-Keuls.

10 Em abscissas doses de composto 15 (0,4 mg/kg), de THC (0,375 mg/kg) e composto 15/THC (0,4 e 0,38 mg/kg) e em ordenada % analgesia.

Exemplo 1: Síntese do Boc-Metioninetioli (composto 1)

15 Esse composto é preparado seguindo o protocolo descrito em J. Med. Chem., 35, 1992, 2473. Sólido branco: p.f.: 37 °C; Rf (ciclohexano (CHex), acetato de etila (AcOEt) = 1,1) 0,73; $\alpha_D^{20°C}$; -21,1° ($c = 1,0$ CHCl₃).

Exemplo 2: Síntese de ácido (2S)-2-mercaptop metil-3-fenil propanóico (composto 2)

20 Etapa 1. O éster metílico do ácido 2-acetil tio metil-3-fenil propanóico, obtido por ação do ácido tio acético sobre o éster metílico do acrilato correspondente, preparado de acordo (Ber., 57, 1924, 1116), é tratado pelo α -quimiotripsina, de acordo com o protocolo geral descrito em (Bioor. Chem., 3,1993,2681).

25 Rendimento: 71,4%; excesso enantiomérico (ee): 88% $\alpha_D^{20°C}$: -42,7°.

Etapa 2. Ácido (2S)-mercaptop metil-3-fenil propanóico.

30 O composto da etapa 1 é dissolvido em metanol (MeOH) desgasificado a 0 °C. São acrescentados sob atmosfera inerte 3 equivalentes (eq.) de soda (NaOH) 1N. A mistura é agitada durante 30 minutos à temperatura ambiente (TA). A mistura é acidificada por acréscimo de ácido clorídrico (HCl) 6N (25 ml) e MeOH é evaporado sob pressão reduzida. A fase aquosa é extraída por 2x125 ml AcOEt. A fase orgânica é lavada por uma so-

lução de cloreto de sódio saturado (NaCl sat.) depois secada sobre sulfato de sódio (Na_2SO_4) e evaporada a seco. Obtém-se um óleo amarelo.

Rendimento 100%. HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% tri-fluoro acetato TFA) 60-40 4,96 minutos.

5 Exemplo 3: Síntese do ácido (2RS) 2-mercaptometil-3-tiofen-3-il propanóico (composto 3)

Etapa 1: Uma mistura de di metil malonato (392 mmols, 45 ml, 1 eq), tiofen-3-il aldeído (0,357 mmol), piperidina (1,87 ml; 0,05 eq) e ácido benzóico (4,58 g; 0,05 eq) é levado durante 12 horas ao refluxo com o auxílio de um Dean-Stark em 270 ml de tolueno. A fase orgânica é lavada por 10 2x140 ml de HCl 1N, 2x140 ml de carbonato de sódio (NaHCO_3) 10% e 140 ml de NaCl saturada. A fase orgânica é secada sobre Na_2SO_4 e evaporada a seco. Obtém-se um óleo.

Rendimento 100%. HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 15 60-40: 5,97 minutos.

Etapa 2. O composto da etapa 1 (340mmols) é solubilizado em MeOH (540 ml). A mistura é resfriada a 0 °C e boro-hidreto de sódio (NaBH_4) é acrescentado pouco a pouco. A mistura é agitada durante 15 minutos à temperatura ambiente. A reação é parada por acréscimo de 450 ml HCl 1N. 20 O metanol é evaporado e a mistura reacional é extraída por 2x500 ml de clorofórmio (CHCl_3). A fase orgânica é lavada por NaCl saturado, depois secado sobre Na_2SO_4 e evaporado a seco. Obtém-se um óleo.

Peso P=64,1 g. Rendimento 82,4%.

HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 60-40: 5,91 minutos. 25

Etapa 3. O composto precedente (30 mmols) é dissolvido em MeOH (27 ml). A mistura é resfriada a 0 °C e uma solução de potassa KOH (1,71 g 30,6 mmols) em MeOH (365 ml) é acrescentado pouco a pouco. A mistura é agitada 48 horas em 4 °C. O metanol é evaporado e o sólido obtido é triturado em éter etílico Et_2O . O sólido obtido é filtrado, lavado e secado 30 P=25,5 g. Rendimento 71,0%. HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 60-40: 3,79 minutos.

Etapa 4. O composto precedente (21,9 mmols) é dissolvido no THF (30 ml). A di etil amina Et_2NH (3,0 ml; 2 eq) e formaldeído a 37% (3,7 ml; 1,5 eq) são acrescentados. A mistura é levada ao refluxo à noite. O THF é evaporado e a mistura é retomada em 90 ml AcOEt. A fase orgânica é lavada por 3x30 ml HCl 1N, NaCl saturado, depois secada sobre Na_2SO_4 e evaporada a seco. Obtém-se um óleo incolor.

P=13,1 g. Rendimento 72,0%.

HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 50-50: 14,75 minutos.

Etapa 5. O composto precedente (72 mmols) é levado a 80 °C durante 5 horas em ácido tio acético CH_3COSH (10 ml, 144 mmols, 2 eq). O ácido tio acético é evaporado sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada várias vezes com ciclohexano. Obtém-se um óleo alaranjado. P=18,6 g. Rendimento 100%.

HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 50-50: 17,16 minutos.

Etapa 6. O composto da etapa 5 é dissolvido em MeOH desgasificado a 0 °C. São acrescentados sob atmosfera inerte 3 eq. de NaOH 1N. A mistura é agitada durante 30 minutos à T.A. A mistura é acidificada por acréscimo de HCl 6N (25 ml) e MeOH é evaporada sob pressão reduzida. A fase aquosa é extraída por 2x125 ml AcOEt. A fase orgânica é lavada com NaCl saturada, depois secada sobre Na_2SO_4 e evaporada a seco. Obtém-se um óleo amarelo.

Rendimento 100%. HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 50-50 6,80 minutos.

Exemplo 4: Síntese de ácido (2S)-2-mercaptometil-3-tiofen-3-ilpropanóico (composto 4)

Etapa 1. O éster metílico do ácido 2-acetil tio metil-3-tiofen-3-ilpropanóico, descrito na etapa 5 da síntese do composto 3, é tratado pelo α -quimiotripsina, conforme descrito na síntese de 2 (etapa 1). Rendimento 87,3%.

HPLC Kromasil C18 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (0,5% TFA) 50-50 7,37 minu-

tos. ee=76%

Etapa 2. O ácido (2S) acetil tio metil-3-tiofen-3-il propanóico, obtido na etapa 1, é tratado como descrito na etapa 2 do composto 2.

Rendimento 97,0%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50-50 6,80 minutos

Exemplo 5: Síntese de ácido 2((2S)-benzil 3((2S)2t. butil óxi carbonil amino-4-metil sulfanil-butyl di sulfanil)-propanóico (composto 5)

Uma mistura de 23 ml MeOH e 23 ml THF é resfriada a 0 °C sob nitrogênio e o cloro-sulfonil cloreto (1,3 ml, 15,25 mmols, 1,09 eq) é acrescentada. A mistura é agitada durante 15 minutos a 0 °C para dar o metóxi carbonil sulfenila cloreto. Depois, o composto 1 (14,86 mmols, 1,06 eq) em 16 ml THF/MeOH é acrescentado em uma única vez. A mistura é levada à temperatura ambiente e é agitada durante 30 minutos. A solução precedente é acrescentada gota a gota a uma solução do composto 2 (14,02 mmols, 1 eq) em 100 ml de CHCl₃ degaseificado em presença de Et₃N (1 eq). A solução é agitada durante 1 hora à temperatura ambiente. O solvente é evaporado sob pressão reduzida. A mistura é retomada em di cloro metano CH₂Cl₂. A fase orgânica é lavada: ácido cítrico 10%, NaCl saturado, depois secada sobre Na₂SO₄ para dar um produto bruto, que é cromatografado sobre sílica com uma mistura ciclohexano (CHex)/AcOEt 8/2, depois 6/4 como purificador. P=4,1g Rendimento 65,9%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 70-30: 8,20 minutos

Exemplo 6: Síntese de ácido 3-((2S)2t. butil óxi carbonil amino-4-metil sulfanil-butyl di sulfanil)-(2S)2-tiofen-3-il metil-propanóico (composto 6)

Seguindo-se o protocolo descrito para a síntese de 5 e substituindo-se o composto 2 pelo composto 3, obtém-se o composto 6.

Rendimento 77,0%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 70-30: 7,36 minutos

Exemplo 7: Síntese de ácido 3-(2S)2t. butil óxi carbonil amino-4-metil sulfanil-butyl di sulfanil)-(2S)2-tiofen-3-il metil-propanóico (composto 7)

Seguindo-se o protocolo descrito para a síntese de 5 e substituindo-se o composto 2 pelo composto 4, obtém-se o composto 7.

Rendimento 77% HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 70-30: 7,36 minutos

Exemplo 8: Síntese dos ésteres de alanina

Composto 8a: alanina 2-metil sulfonil etil éster, TFA.

5 Uma solução de 1 eq de BocAlaOH, HOBt (1,2 eq, 879 mg), EDCI (1,2 eq, 1,93 g), Et₃N (tri etil amina) (3 eq, 2,9 ml) em 10 ml CH₂Cl₂ é agitado 12 horas à temperatura ambiente em presença de 1,2 eq. de 2-metil sulfonil etanol em solução no CH₂Cl₂. O solvente é evaporado sob pressão reduzida. A mistura reacional é retomada em AcOEt/H₂O. A fase orgânica é
10 lavada por ácido cítrico 10% (2x15 ml), NaCl saturada, secada sobre Na₂SO₄ e evaporada sob pressão reduzida para dar um produto bruto que é cromatografado sobre sílica com uma mistura CHex/AcOEt 8/2 como purificador para dar 989 mg de produto.

Rendimento: 61,8% Rf (CHex/AcOEt: 6/4): 0,49.

15 435 mg (1,488 mmols) desse produto são solubilizados a frio em 2,5 ml de CH₂Cl₂ e 1,2 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. Os solventes são evaporados sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclohexano. O produto é precipitado a frio em Et₂O.

20 Composto 8b: alanina 2,3-di acetóxi propil éster.

Uma solução de 1,026 g (5,428 mmols, 1 eq) de BocAlaOH, HOBt (1,2 eq, 879 mg), EDCI (1,2 eq, 1,93 g), Et₃N (3 eq, 2,9 ml) em 10 ml CH₂Cl₂ é agitada durante 12 horas à temperatura ambiente em presença de 2,3-di acetóxi propanol (preparado segundo Jensen, Topics in Lipid Chemistry, 1972, 3, 1) em CH₂Cl₂. O solvente é evaporado sob pressão reduzida. A
25 mistura reacional é retomada em AcOEt/H₂O. A fase orgânica é lavada por ácido cítrico 10% (2x15 ml), NaHCO₃ 10% (2x15 ml), NaCl saturada, secada sobre Na₂SO₄ e evaporada sob pressão reduzida para dar 1,62 g de um produto bruto. A mistura é cromatografada sobre sílica com uma mistura
30 CHex/AcOEt 8/2 como purificador para dar 1,29 g de produto.

Rendimento: 68,7% HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 70-30: 4,25 minutos.

Esse produto é solubilizado a frio em 6 ml de CH_2Cl_2 e 6 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. Os solventes são evaporados sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclohexano. O produto 8b é precipitado a frio em Et_2O .

5 P=1,33g. Rendimento: 100% Rf (CHex, EtOAc: 6,4): 0,14.

Composto 8c: alanina 1,3-di acetóxi-2-propil éster, TFA

1,23 g de 1,3-di acetil-2-propanol (preparado segundo Bentley e McCrae, J. Chem, 1971, 35, 2082) (7 mmols, 1,1 eq) é solubilizado em 50 ml de Et_2O . São acrescentados em seguida o di etil azo di carboxilato (DE-AD)(1,2 eq, 1,1 ml), BocAlanina (5,83 mmols, 1 eq) seguido pela tri fenil fosfina (PPh_3) (1,2 eq, 1,83 g) e a mistura é agitada durante a noite à temperatura ambiente. O solvente é evaporado sob pressão reduzida. A mistura é cromatografada sobre sílica com uma mistura Heptano/AcOEt 8/2 uma noite para dar 2,14 g de produto. Rendimento: 84,6%. Rf (Hept/AcOEt: 6/4): 0,42.

15 2,0 g (4,7 mmols) desse produto é solubilizado a frio em 6,5 ml de CH_2Cl_2 e 6,5 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. Os solventes são evaporados sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclohexano. Cromatografada sobre sílica com uma mistura $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ 9/1/0,5 como purificador para dar 1,16 do composto 8c.

Rendimento: 65% Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$: 9/1/0,5): 0,22.

Composto 8d: Alanina 1,3 (t. butil di metil silil) hidróxi-2-propil éster.

25 A di hidróxi acetona (2 g 11,10 mmols) é dissolvida em 50 ml de di metil formamida (DMF), o cloreto de terc-butil di metil silil (tBuDMSCl) (4,8 eq, 8,03 g) e o imidasol (10eq, 7,56 g) são acrescentados e a mistura é agitada durante 12 horas a 20 °C. A mistura é evaporada a seco, retomada em 150 ml AcOEt. A fase orgânica é lavada pela água H_2O (2x50 ml), HCl 10% (2x50 ml), NaCl saturada, depois secada sobre Na_2SO_4 e evaporada sob pressão reduzida para dar 20,1 g de produto bruto. A mistura é cromatografada sobre sílica com CHex/AcOEt 8/2 como purificador para dar 5,96 g de produto. Rendimento: 84,5% Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$: 9/1/0,5): 0,24.

Esse produto (8,82 g, 27,73 mmols) é dissolvida em THF (74 ml) e H₂O (4,8 ml). A mistura é resfriada a 5 °C e NaBH₄ (965 mg, 1 eq) é acrescentada pouco a pouco. A mistura é agitada durante 30 minutos a 5 °C. O excesso de NaBH₄ é destruído por adição de ácido acético (1 ml). O THF é evaporado sob pressão reduzida para dar 8,24 g de produto. Rendimento: 93,0%.

2,93 g desse composto (9,07 mmols, 1,1 eq) são solubilizados em 60 ml de Et₂O. A mistura é agitada à temperatura ambiente e DEAD (1,2 eq, 1,56 ml), Bocácido aminado (8,25 mmols, 1 eq) são acrescentados seguido por PPh₃ (1,2 eq, 2,59 g). O solvente é evaporado sob pressão reduzida. A mistura é cromatografada sobre sílica com uma mistura CHex/AcOEt 95/5 como purificador para dar 4,42 g de produto.

Rendimento: 92,9%. R_f (CHex/AcOEt: 9/1): 0,65.

881 mg (1,79 mmol) desse produto são solubilizados a frio em 3 ml de CH₂Cl₂ e 1,36 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. Os solventes são evaporados sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclohexano. A mistura é precipitada a frio em Et₂O para dar 920 mg de composto 8d.

Rendimento: 100% R_f (CHex/AcOEt: 9/1): 0,1.

Composto 8e: Alanina carbetóxi metil éster, TFA.

BocAlaOH (5 g, 26,4 mmols) e Et₃N (3,7 ml, eq) são dissolvidos em 40 ml de AcOEt. A mistura é agitada durante 10 minutos à temperatura ambiente. O etil bromo acetato (6,62 g; 1,5 eq) é acrescentado e a mistura é levada durante 30 minutos ao refluxo. O precipitado é filtrado, depois 30 ml H₂O e 50 ml AcOEt são acrescentados ao filtrado. A fase aquosa é extraída por 3 x 30 ml AcOEt. A fase orgânica é lavada por ácido cítrico 10% (2 x 30 ml), NaHCO₃ 10% (2 x 30 ml), NaCl saturada, depois secada sobre Na₂SO₄ e evaporada sob pressão reduzida para dar 7,09 g de um produto bruto. A mistura é cromatografada sobre sílica com uma mistura CHex/AcOEt 6/4 como purificador para dar 4,68 g de produto.

Rendimento: 64,3% R_F (CHex/AcOEt: 6,4): 0,35.

500 mg (1,81 mmol) desse produto é solubilizado a frio em 3 ml

de CH_2Cl_2 e 1,4 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. Os solventes são evaporados sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclohexano. O produto 8e é precipitado a frio em Et_2O .

5 P=525 mg. Rendimento: 100% Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5): 0,14.

Composto 8f: alanina etil carbonato-1-éster, TFA.

Boc Ala (76,54 mmols) e Et_3N (12,27 ml, 1,2 eq) são dissolvidos em 70 ml de AcOEt. A mistura é agitada durante 15 minutos à temperatura ambiente. O etil-1-cloro etil carbonato (preparado segundo Barcelo et Al. 10 Síntese, 1986, 627) (14,01 g; 1,2 eq) e iodo de sódio NaI (926 mg, 0,1 eq) são acrescentados e a mistura é levada durante 16 horas ao refluxo. O precipitado é filtrado, depois 200 ml H_2O e 200 ml AcOEt são acrescentados ao filtrado. A fase aquosa é extraída por 3 x 300 ml AcOEt. A fase orgânica é lavada por ácido cítrico 10% (2 x 150 ml), NaHCO_3 10% (2 x 150 ml), NaCl 15 saturada, depois secada sobre Na_2SO_4 e evaporada sob pressão reduzida para dar 24,5 g de um produto bruto. A mistura é cromatografada sobre sílica com uma mistura CHex/AcOEt 9/1 como purificador para dar 18,1 do produto.

Rendimento: 77,51%. Rf ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 9/1): 0,33.

20 9,15 g (30 mmols) do produto é solubilizado a frio em 23 ml de CH_2Cl_2 e 23 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 2 horas à temperatura ambiente. Os solventes são evaporados sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclohexano. O produto 8f é precipitado a frio em Et_2O .

25 P = 9,57g. Rendimento > 77,5% (2 etapas). Rf (CHex/AcOEt: 6/4): 0,1.

Composto 8 g: Alanina glucosil éster, TFA.

O penta cloro fenol (3 eq, 10 g, 37,54 mmols) é solubilizado a 0 °C em 12 ml AcOEt e o N,N'-di ciclohexil carbo diimida (DCC) (2,58g, 12,51 30 mmols) é acrescentado. A mistura é deixada durante 12 horas a -20 °C. Hexano frio (10 ml) é acrescentado à mistura e o sólido é filtrado, lavado pelo hexano frio. O sólido é recristalizado no hexano para dar 10,3 g de sólido

castanho. Rendimento: 82,0% P.f.: 115-130 °C.

Esse complexo é acrescentado a 120 ml de AcOEt. Após dissolução total, a BocAlanina (1,0 eq, 10,25 mmols) é acrescentada e a mistura é agitada durante a noite à temperatura ambiente. O solvente é evaporado sob pressão reduzida, depois 100 ml de Et₂O são acrescentados. A suspensão é resfriada durante 1 hora, depois o sólido é filtrado. Este é colocado em suspensão em 100 ml dioxano, filtrado e lavado por duas vezes 20 ml de dioxano. O filtrado é evaporado a seco. O resíduo é tratado de novo por dioxano para eliminar o diciclo - hexil uréia (DCU). Em seguida, é colocado em suspensão em 100 ml Et₂O, colocado no congelador pela noite. O sólido é filtrado, depois secado para dar 1,29 g de sólido castanho. Rendimento: 27,8%.

A uma solução de glicose (3 eq, 1,54 g) em 57 ml de piridina destilada de novo, acrescenta-se o composto precedente e o imidazol. A mistura é agitada durante a noite à temperatura ambiente. O solvente é evaporado sob pressão reduzida para dar um produto bruto. A mistura é cromatografada sobre sílica com a mistura AcOEt/AcOH 20/1 como purificador para dar 883 mg do produto. Rendimento: 88,3% R_f (AcOEt/AcOH: 20/1): 0,13.

883 mg (2,51 mmols) desse produto são resfriados a 0 °C e 61 ml de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante 5 minutos a 0 °C, depois durante 30 minutos à temperatura ambiente. O TFA é evaporado sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada pelo ciclo hexano. A mistura é precipitada a frio em Et₂O para dar 746 mg do composto 8g castanho.

Rendimento: 81,3% R_f (AcOEt/AcOH: 10/1): 0,10.

Exemplo 9: Síntese dos ésteres da treonina.

25 Composto 9a: Treonina 1,3-di acetil-2-propil éster, TFA

Esse composto é obtido seguindo-se o protocolo descrito para 8c, e substituindo a Boc-alanina pela Boc-treonina.

Composto 9b: Treonina Etil carbonato-1-etil éster, TFA.

O composto é obtido, seguindo o protocolo descrito pelo composto 8f, e substituindo a Boc-alanina pela Boc-treonina.

Rendimento: 89,7% R_f (CHex/AcOEt: 6/4): 0,1

Exemplo 10: Síntese dos ésteres da glicina

Composto 10a: Glicina etil carbonato-1-etil éster, TFA.

Esse composto é obtido, seguindo o protocolo descrito para o composto 8f, substituindo a Boc alanina pela Boc-glicina.

Rendimento 92% Rf (CHex/AcOEt 8/2) 0,22

5 Composto 10b: Glicina etil carbonato-1-(-2-metil)propil éster, TFA.

Esse composto é obtido, seguindo o protocolo descrito para o composto 10a, substituído o carbonato etil-1-cloro etila pelo carbonato etil-1-cloro-2- metil -propil.

10 Rendimento 88% Rf (CHex/AcOEt 8/2) 0,12

Composto 10c: Glicina etil carbonato metil ciclohexil éster, TFA.

Esse composto é obtido, seguindo o protocolo descrito para o composto 10a substituindo o carbonato etil-1-cloro etila pelo etil-cloro metil ciclohexil carbonato.

15 Rendimento 78% Rf (CHex/AcOEt 7/3) 0,31

Composto 10d: Glicina etil carbonato metil fenil éster, TFA.

Esse composto é obtido, seguindo-se o protocolo descrito para o composto 10a, substituindo o carbonato etil-1-cloro etila pelo carbonato etil-cloro metil ciclo-fenil.

20 Rendimento 82% Rf (CHex/AcOEt 7/3) 0,46

Composto 10e: 1-(2-amino-acetóxi)-etil éster ácido propiônico (gli-OCH(CH₃)O-COEt)

Esse composto é obtido por condensação entre a Boc-gli e o propionato 1-cloro etila (1,1 eq) em presença de NaI (0,2 eq) e de Et₃N (1,2 eq) no acetato de etila (10 mL/mmol) ao refluxo durante uma noite. Após resfriamento, a fase orgânica é lavada com água, ácido cítrico 10%, NaHCO₃ 10% H₂O, NaCl saturado, e secada sobre Na₂SO₄.

25 Após evaporação, obtém-se um produto oleoso. Rendimento 86%.

30 A desproteção do grupamento Boc é feita conforme descrito nos exemplos precedentes. Produto sólido branco. Rendimento quantitativo.

Rf (CHex/AcOEt 6/4) 0.64

Composto 10f: 1-(2-amino acetóxi)-2-metil- propil éster de ácido propiônico (Gli OCH (Ch(CH₃)₂)O-COEt)

Esse composto é obtido, seguindo-se o protocolo descrito no exemplo 10e, substituindo-se o propionato 1-cloro etila pelo propionato 1-cloro-2-metil propil.

Sólido branco. Rendimento: 78% sobre as duas etapas.
Rf(CHex/AcOEt 6/4) 0,56

Composto 10g: (2-amino acetóxi)-ciclohexil-metil éster de propionato (Gli OCH (Chex)O-COEt)

Esse composto é obtido seguindo-se o protocolo descrito no exemplo 10e, substituindo-se o propionato 1-cloro etil pelo cloro metil (ciclohexil)propionato.

Sólido branco. Rendimento: 72% sobre as duas etapas.
Rf(CHex/AcOEt 6/4) 0,38

Composto 10h: (2-amino acetóxi)-fenil-metil éster ácido propiônico (Gli OCH (Ph)O-COEt)

Esse composto é obtido seguindo-se o protocolo descrito no exemplo 10e, substituindo-se o propionato 1-cloro etil pelo propionato cloro metil (fenila).

Sólido branco. Rendimento: 75% sobre as duas etapas.
Rf(CHex/AcOEt 6/4) 0,42.

Exemplo 11: Síntese do 2-amino-5 etil-(1,3,4)tiadiazol

Uma mistura de 25 g (0,27 mol) de tio-semicarbazida e de 46,6 mL cloreto de propanoíla (0,54 mol, 2 eq) é agitada a 40 °C durante 4 horas. O excesso de cloreto de propanoíla é, então, evaporado sob vácuo e o resíduo é triturado no éter. Um produto sólido é obtido. Ele contém o tiadiazol esperado e uma impureza que se elimina por precipitação no etanol. Sólido branco 33,6 g (Rendimento 83%) HPLC Kromasil C18 Tr 6,32 minutos a 30% CH₃CN.

Exemplo 12: Síntese dos inibidores mistos para os quais
R₅=CH(R₃)COOR₄

O di-sulfeto 5,6 ou 7 (0,54 mmol) é solubilizado em 4 ml de DMF.

Acrescenta-se o hexa-fluoro fosfato de benzo triazol-1-il-óxi- tris-(di metil amino)-fosfônio (BOP) (1,2 eq; 1,0 g) e a diisopropil -etil -amina (DIEA) (284 μ l), depois o éster de amino ácido 8,9 ou 10 (1,3 eq). A mistura é agitada durante 20 minutos à temperatura ambiente, depois o DMF é evaporado sob pressão reduzida. O produto é retomado em AcOEt. A fase orgânica é lavada por H_2O , pelo ácido cítrico 10% $NaHCO_3$. 10%; NaCl saturado e secado sobre Na_2SO_4 . O produto bruto é purificado por cromatografia sobre sílica.

O composto obtido (0,38 mmol) é solubilizado em 640 μ l de CH_2Cl_2 e 320 μ l de TFA são acrescentados. A mistura é agitada durante uma hora à temperatura ambiente. O excesso de solvente é evaporado sob pressão reduzida. A mistura é coevaporada com o ciclohexano. A mistura é purificada por HPLC semipreparatório ou precipitado em uma mistura hexano/ Et_2O

Composto 12a: trifluoro acetato de 1-(2-(1-(2,3-di acetóxi propóxi carbonil)-etil carbamoil) -3-tiofen-3-il propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio (composto 6 ou 7 + composto 8b).

P: 176 mg; Rendimento 66,9%. HPLC Kromasil C18 CH_3CN/H_2O (0,5% TFA) 40-60: 9,07 e 10,18 minutos. ESI espectrometiva de massas com ionização por "eletrosparay": $(M+H)^+ = 581$. Log Kow = 1,31

Composto 12b: trifluoro acetato de 1-(2-(1-(2-metano sulfonil etóxi carbonil) -etil carbamoil)- 3-tiofen-3-il propil di-sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amônio (composto 6 ou 7 + composto 8a).

P: 200 mg; Rendimento 74,1%. HPLC Kromasil C18 CH_3CN/H_2O (0,5% TFA) 40-60: 5,0 e 5,35 minutos. ESI: $(M+H)^+ = 529$. Log Kow = 0,13

Composto 12c: trifluoro acetato de 1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi etóxi carbonil))-etil carbamoil) -3-tiofen-3-il- propil di-sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amônio (composto 6 ou 7 + composto 8f).

P: 232 mg; Rendimento 71,3%. HPLC Kromasil C18 CH_3CN/H_2O (0,5% TFA) 50-50: 3,84 e 4,03 minutos. ESI: $(M+H)^+ = 509$. Log Kow = 1,63

Composto 12d: trifluoro acetato de 1-(2-(1-etóxi carbonil metil óxi carbonil etil carbamoil) -3-tiofen-3-il -propil di-sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amônio (composto 6 ou 7 + composto 8e).

P: 261 mg; Rendimento 83,9%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50-50: 3,84 e 4,90 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 539. Log Kow = 1,35

Composto 12e: 1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi etóxi carbonil)-2-hidróxi propil carbamoil)-3-tiofen-3-il propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio trifluoro acetato (composto 6 ou 7 + composto 9b).

P: 285 mg; Rendimento 47,8%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 40-60: 10,55 e 11,09 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 594. Log Kow = 0,76

Composto 12f: trifluoro acetato de 1-(2-(1-(2-acetóxi-1-acetóxi metil etóxi carbonil) -etil carbamoil) -3-tiofen-3-il propil di-sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amônio (composto 6 ou 7 + composto 8c).

P: 171 mg; Rendimento 70,1%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 40-60: 7,35 e 8,09 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 581. Log Kow = 1,31

Composto 12g: 1-(2-(1-(2-hidróxi -1-hidróxi metil etóxi carbonil)) -etil carbamoil) -3-tiofen-3-il propil di-sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil amônio trifluoro acetato (composto 6 ou 7 + composto 8d).

P: 166 mg; Rendimento 67,2%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 40-60: 2,94 e 3,27 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 497. Log Kow = 0,29

Composto 12h: trifluoro acetato de 1-(2-(1-(3,4,5,6 -tetra-hidróxi tetra-hidropiran-2-il metóxi carbonil) -etil carbamoil)-3-tiofen-3-il-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio (composto 6 ou 7 + composto 8g).

P: 85 mg; Rendimento 93,2%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50-50: 2,34 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 585. Log Kow = 1,15

Composto 12i: trifluoro acetato de 1-(2-((1-(1-etóxi carbonil óxi-etóxi carbonil)-2-hidróxi propil carbamoil)-3-fenil propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio (composto 5 + composto 9b).

P: 1,88 g; Rendimento 83,8%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 45-55: 7,0 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 563. Log Kow = 0,76

Composto 12j: trifluoro acetato de 1-(2-(1-(2-acetóxi-1-acetóxi metil-etóxi carbonil)-2-hidróxi propil carbamoil)-3-fenil propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio (composto 5 + composto 9a).

P: 532 mg; Rendimento 53,6%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 40-60: 6,16 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 605. Log Kow = 0,44.

Composto 12k: trifluoro acetato de 1-(2-(1-etóxi carbonil óxi-etóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio (composto 5 + composto 10a).

P: 1,76 g; Rendimento 89,5%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50-50: 5,33 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 519. Log Kow = 1,39.

Composto 12l: trifluoro acetato de 1(2-((1-etóxi carbonil óxi-2-metil-propóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio (composto 5 + composto 10b).

P: 1,2 g; Rendimento 82,3%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 9,33 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 547.

Composto 12m: trifluoro acetato de 1-2-((ciclohexil-etóxi carbonil óxi-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio, (composto 5 + composto 10c).

P: 2,1 g; Rendimento 65,3%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 12,65 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 587.

Composto 12n: trifluoro acetato de 1-2-((etóxi carbonil óxi-fenil-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil-propil amônio, (composto 5 + composto 10d).

P: 0,95 g; Rendimento 68,1%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 10,86 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 581.

Composto 12o: trifluoro acetato de 3-metil sulfanil-1-(3-fenil-2-((1-propionilóxi-etóxi carbonil metil)-carbamoil)-propil di-sulfanil metil)-propil amônio, (composto 5 + composto 10e)

P: 1,6 g. Rendimento 81,2%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 6,82 minutos ESI (M+H)⁺ = 502.

Composto 12p: trifluoro acetato de 1-(2-((2-metil-1-propionil óxi-propóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil amônio, (composto 5 + composto 10f).

P: 1,05 g. Rendimento 83%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 8,17 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 531.

Composto 12q: trifluoro acetato de 1-(2-((ciclohexil -propionil óxi-metóxi carbonil metil)-carbamoil) -3-fenil-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil-propil amônio, (composto 5 + composto 10g).

P: 1,8 g; Rendimento 78,2%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 12,24 minutos. ESI: (M+H)⁺ = 571.

Composto 12r: trifluoro acetato de 3-metil sulfanil-1-(3-fenil-2-((fenil-propionil óxi-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-propil di-sulfanil metil)-propil amônio, (composto 5 + composto 10h)

P: 0,98 g. Rendimento 76,3%. HPLC Kromasil C18 CH₃CN/H₂O (0,5% TFA) 50/50: 11,25 minutos ESI (M+H)⁺ = 565.

Exemplo 13: Síntese dos inibidores mistos para qualquer R₅ = hetero ciclo.

O di-sulfeto 5, 6 ou 7 (0,54 mmol) é dissolvido em 5 mL de CH₂Cl₂ e o amino tiadiazol do exemplo 11 (1,2 eq), o TBTU (O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetra metil uronio tetra fluoro borato) (3 eq) e a DIEA (di isopropil etil amina) (3 eq) são sucessivamente acrescentados. A mistura é agitada durante 30 minutos à temperatura ambiente ordinária (temperatura ambiente, aproximadamente 20 °C). O solvente é evaporado sob vácuo e o resíduo retomado no acetato de etila. A fase orgânica é lavada ao ácido cítrico, com água, com NaCl saturada e secada sobre Na₂SO₄. Após filtragem e evaporação sob vácuo, obtém-se um sólido branco.

O composto obtido é dissolvido no ácido fórmico e a mistura é agitada durante uma hora à temperatura ambiente. O excesso de ácido fórmico é evaporado sob vácuo. O resíduo é retomado pelo éter e dá um precipitado branco.

Composto 13a = 3-(2-amino-4-metil sulfanil-butil di-sulfanil)-2-benzil-N-(5-etil-(1,3,4)tiadiazol-2-il)-propionamida

P = 256 mg (rendimento 75%)

Exemplo 14: Mudança de contra-íon

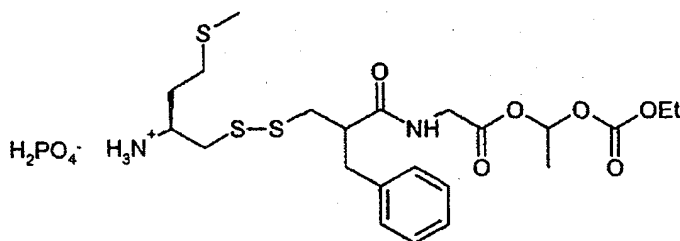
Os compostos do exemplo 12 e do exemplo 13 (1 mmol) são solubilizados em 9 ml de AcOEt destilado. A fase orgânica é lavada por 12 ml NaHCO₃ 0,1N. A fase orgânica é em seguida secada e evaporada sob

pressão reduzida. O produto é retomado em AcOEt (3 ml), resfriado a 0 °C e 1 eq do ácido AH escolhido em 3 ml de AcOEt é acrescentado. O solvente é evaporado e o produto é precipitado a frio em uma mistura Et₂O/hexano.

- (A = fosfato, cloridrato, acetato, metano-sulfonato, borato, lactato, fumarato, succinato, hemi-succinato, citrato, tartarato, hemitartarato, maleato, ascorbato, hemifumarato, hexanoato, heptanoato, hipurato, hidrocina-mato, fenil glioxilato, nicotinato).

Exemplo 15: Resultados farmacológicos - compostos de acordo com a invenção

- O composto 15 da fórmula a seguir foi testado nos diferentes testes biológicos abaixo.



- Teste da placa quente: ele refere-se ao reflexo de execução e de salto do rato sobre uma placa aquecida a 52 °C (medida da latência do salto nos exemplos dados). Os resultados são expressos em percentagem de efeito possível máximo (%MPE), isto é, em percentagem de analgesia, utilizando a seguinte equação:

$$\% \text{ MPE} = \frac{(\text{Tempo de latência medido} - \text{tempo de latência prova})}{(\text{Tempo de latência máximo} - \text{tempo de latência prova})}$$

Tempo de latência máximo = 240 segundos

- Os resultados são expressos em termos de média $\pm$ s.e.m. As diferenças observadas são consideradas como sendo significativas, quando os valores de P são inferiores a 0,05. O teste feito é o teste ANOVA com um teste de comparação múltipla.

- a- Respostas antinociceptivas observadas após injeção pela via intravenosa (iv) do composto 15 no teste da placa quente (52 °C, resposta por salto) em ratos machos (n=10).

O composto 15 é dissolvido na mistura e/manitol (50 mg/mL). Os tempos de latência dos saltos são determinados 10 minutos após as inje-

ções pela via intravenosa.

Tabela 2

Dose mg/kg	% analgesia
10	33,4 $\pm$ 7,5 **
20	59,2 $\pm$ 9,6 ***
40	90,2 $\pm$ 7,0 ***

Os resultados (tabela 2) mostram que o composto 15 apresenta uma ação analgésica, que é dose-dependente.

5 **P<0,01; ***P<0,001 *versus* veículo

A dose eficaz 50, ED50, é de 16,1 mg/kg.

ED50 é a dose (em g/kg de corpos) que dá o efeito buscado em 50% da população em quem ela é testada.

10 b- Efeito antinociceptivo do composto 15 (100 mg/kg *per os*) sobre o limite de vocalização quando da pressão da pata de um rato (macho Sprague Dawley) tendo uma pata inflamada, a inflamação sendo induzida pela injeção intraplantar de carragenina.

15 O composto 15 e um veículo (etanol/polietileno glicol (PEG) 400/água, 10/40/50) são administrados 180 minutos após uma injeção intraplantar de carragenina (1% em solução salina).

Tabela 3

	Limite de vocalização (g)
Limite basal	298,8 $\pm$ 18,7
Pata inflamada + veículo	205,5 $\pm$ 17,8
Pata inflamada + composto 15	292,5 $\pm$ 20,1 ***

20 A linha de base para o limite de vocalização, quando da pressão da pata, é medida, antes da inflamação (B), e, para a pata inflamada 20 minutos, após injeção do composto 15 ou do veículo. Os resultados são dados na tabela 3 e expressos em média $\pm$ s.e.m., n = 10. As diferenças observadas são consideradas como sendo significativas, quando os valores de P são inferiores a 0,05. Esses resultados mostram que o composto 15 é eficaz no tratamento da dor inflamatória neurogênica. *** P<0,001 *versus* veículo.

c- Resposta antinociceptivas observadas após injeção intravenosa do composto 15 dissolvido em etanol/tensoativo/e/ou (10/10/80) no teste da placa quente (52 °C, resposta por salto) em ratos machos OF1 e comparação das respostas em função da natureza do veículo.

5 O composto 15 é dissolvido em uma mistura etanol/cremophor®EL/água. Os tempos de latências do salto são determinados durante 10 minutos, após as injeções intravenosas. Os resultados são dados na figura 1.

10 A resposta dose-dependente fornece uma resposta analgésica com uma dose eficaz 50, $DE\ 50 = 1,9 \pm 0,4$ mg/kg. Esse valor é próximo daquele observado com a morfina ($DE = 1,3 \pm 0,2$ mg/kg). * * $P < 0,01$ versus veículo. * * * $P < 0,001$.

15 O composto 15 é também solúvel em solventes do tipo etanol/tween®/água, que são freqüentemente utilizados para a administração por via intravenosa no homem.

Nesses solventes, as diferenças não são significativamente diferentes daquelas observadas com o Cremophor®EL. Isto é ilustrado na tabela 4 (tempo de latência antes dos saltos determinados 10 minutos, após as injeções) a uma mesma concentração de 2,5 mg/kg intravenosa. * * * $P < 0,001$ versus veículo.

Tabela 4

	% analgesia
Cremophor EL	56,2±6,9 * * *
Tween 80	44,7±6,2 * * *
Tween 20	48,4±10,2 * * *

d- Efeito antinociceptivo do composto 15 injetado *per os* durante 20 minutos, antes do teste da placa quente: a) curva dose-resposta; b) cinética do efeito após administração p.o de 200 mg/kg.

25 O composto 15 é dissolvido em uma mistura etanol/PEG400/água 10/40/50. Os resultados, dados nas figuras 2a e 2b, mostram que o composto 15 apresentam um efeito analgésico dose-dependente

(2a), DE50 = 135 mg/kg, e que o efeito analgésico do composto 15 é muito importante exatamente após a administração e perdura, com um efeito menos importante, pelo menos duas horas (2b).

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ versus veículo.

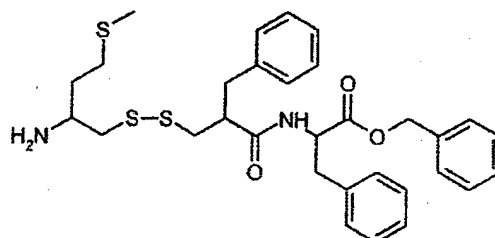
5

$P = 0,05$; ### $P < 0,001$ versus composto 15.

e- Respostas antinociceptiva comparativas observadas após injeção intravenosa do composto 15 ($n = 14-17$) ou do composto A ($n = 8-14$), 5 mg/kg, no teste da placa quente 52 °C, resposta por salto, nos ratos machos.

10

O composto A é o composto de fórmula:



que foi descrito no pedido de patente anterior WO 91/02718 (exemplo 7). É um inibidor misto da neprilisina e da amino peptidase, que apresenta propriedades analgésicas. É pouco solúvel nos solventes aquosos ou hidrófilos.

Os compostos 15 e A são dissolvidos em uma mistura etanol/CremophorEL/água, *10/10/80. Os tempos de latência do salto são medidos 10 minutos após as injeções intravenosas.

Tabela 5

	% analgesia
Composto 15	87,6 $\pm$ 4,6 **, ###
Composto A	51,1 $\pm$ 7,6 **

Os resultados dados na tabela 5 mostram que em doses idênticas (fracas a fim de permitir a administração do composto A por via intravenosa), o composto 15 é mais ativo que o composto A.

** $P < 0,01$ versus veículos, ### $P < 0,001$ versus composto A.

f- Analgesia induzida pela morfina ou pelo composto 15 injetado por via intravenosa no rato (testa da placa quente 52 °C).

A analgesia produzida pela morfina ou pelo composto 15 nos ratos (OF1 machos) no teste da placa quente (52 °C) foi determinada. A morfina em H₂O (NaCl, 9/1000) ou no composto 15, dissolvido no veículo EtOH/Cremophor EL/água (10/10/80) é injetado por via intravenosa. Os resultados são determinados 10 minutos após a injeção, o tempo de latência é de 240 segundos (equação dada nos exemplos 15 e 17).

Os resultados são reproduzidos na tabela 6 a seguir:

Tabela 6

Dose (mg/kg)	1	2,5	5
% analgesia composto 15	46,4±5,6 ***	56,3±6,9 ***	87,6±4,6 ***
% analgesia morfina	45,5±4,5 ***	66±6,0 ***	100 ***

*** P<0,001, teste Anova.

Constata-se que o composto 15 tem efeitos analgésicos comparáveis àqueles obtidos com a morfina. Isto está em acordo com os resultados de uma outra experiência feita em condições idênticas (figura 1 exemplo 15c).

Exemplo 16 - Efeito analgésico do Δ^9 THC sozinho.

A analgesia produzida pelo Δ^9 THC em ratos (OF1 machos) no teste da placa quente (52 °C) foi determinada. O Δ^9 THC, dissolvido no veículo EtOH/Cremophor EL/água (10/10/80), é injetado por intravenosa. Os resultados são determinados durante 10 minutos, após a injeção, o tempo de latência é de 240 segundos (equação dada nos exemplos 15 e 17).

Os resultados são reproduzidos na tabela 7 a seguir:

Tabela 7

Dose (mg/kg)	0,188	0,375	0,75	1,5
% analgesia	0,4±3,9	18,2±6,4	41,2±12,7 **	57,2±10,9 ***

** P<0,01; *** P<0,001

Constata-se que o Δ^9 THC produz um efeito analgésico dose-dependente. Valores de analgesia significativo são observados para doses de 0,75 mg/kg e 1,5 mg/kg. Em doses mais fracas, a percentagem de analgesia não é significativa.

Exemplo 17 - Efeitos analgésicos dos compostos, de acordo com a invenção + Δ^9 THC

As experiências descritas para demonstrar a importância da sinergia da ação dos compostos da invenção associadas ao Δ^9 THC foram feitas nos roedores (ratos e camundongos), graças a testes antinociceptivos classicamente utilizados na indústria farmacêutica para colocar em evidência esse tipo de propriedades, a saber:

- o teste da placa quente (Eddie et Leimbach, J. Pharmacol. Exp. Ther. 107, 385-389, 1953) no rato.

- o teste da retirada da cauda no rato (D'Amour et Smith, J. Pharmacol. Exp. Ther. 72, 74-79, 1941).

- teste do nado forçado (teste de Porsolt) no rato (Porsolt Arch. Int. Pharmacodyn. 229, 327, 1977).

Para a realização dos testes centrais (placa quente, retirada da cauda), os teores:

- em canabinóides (Δ^9 THC) estarão preferencialmente compreendidos entre 0,3 e 0,5 mg/kg;

- nos compostos, de acordo com a invenção, (composto 15) estarão preferencialmente compreendidos entre 1 e 2 mg/kg.

As proporções relativas são dependentes do estímulo nociceptivo.

O Δ^9 THC utilizado nos exemplos que se seguem é o produto comercial comprado no Sigma-Aldrich (T2386).

O inibidor misto utilizado nos exemplos que se seguem é o composto 15 descrito anteriormente (exemplo 15).

Colocação dos compostos em solução

Todos os compostos foram solubilizados na mistura etanol/Cremophor 80/água = 10/10/80.

Pelas experiências de potencialização (sinergia), são utilizadas doses de Δ^9 THC e de inibidores que, consideradas separadamente, não induzem respostas significativas.

Modo de administração.

Os diferentes compostos são administrados, em mistura na mesma seringa por via intravenosa na cauda do rato ou do camundongo.

Animais

- 5 Os ratos utilizados nesses testes são os ratos OF1 machos.
Os ratos utilizados nesses testes são ratos sprague-Dawley machos.

Testes farmacológicos

- teste da placa quente:

- 10 esse teste refere-se ao reflexo de expressão e de salto do rato sobre uma placa aquecida a 52 °C. Os resultados são expressos em percentagem de efeito máximo possível (%MPE), isto é em percentagem de analgesia, utilizando a seguinte equação:

$$15 \quad \%MPE = \frac{(\text{tempo de latência medido} - \text{tempo de latência prova})}{(\text{tempo de latência máximo} - \text{tempo de latência prova})}$$

Tempo de latência máxima = 240 s

- Os resultados são expressos em termos de média +/- sem. As diferenças observadas são consideradas como sendo significativas quando
20 os valores de P são inferiores a 0,05.

- Teste da retirada da cauda:

- Esse teste refere-se ao refluxo de retirada da cauda do rato, estimulada pelo calor radiante eminente de uma fonte luminosa focalizada sobre uma parte determinada da cauda. Os resultados são expressos como na
25 experiência precedente pela medida de uma percentagem de analgesia, segundo a mesma equação. O tempo de latência máxima é fixado arbitrariamente em 15 segundos.

- Teste do nado forçado:

- Esse teste mede o tempo de imobilização de um rato colocado
30 em um banho de água a 21-23 °C, do qual ela não pode escapar. A duração de imobilização reflete uma forma de depressão, o rato não se debatendo mais para escapar no meio hostil. Os resultados são expressos em duração de imobilização. O tempo máximo de imobilização é de 4 minutos.

Por necessidades de demonstração da sinergia da associação do composto 15 + Δ^9 THC, uma curva dose-resposta do composto 15 sozinho e do Δ^9 THC sozinho é feita no solvente etanol/cremophorEL/H₂O (1/1/8), pois o Δ^9 THC só é utilizável sozinho por via intravenosa à concentração elevada do que nessas condições (exemplo 16). O histograma (figura 3) das respostas analgésicas (placa quente) mostra claramente a potencialização muito importante do efeito analgésico da associação Δ^9 THC + composto 15 em relação a um ou ao outro dos produtos sozinhos.

a: Resposta antinociceptiva induzida pela injeção de uma mistura do composto 15 e do Δ^9 THC por via intravenosa no rato OF1 macho no teste da placa quente (figura 3).

A mistura composta 15 (0,4 mg/kg) e Δ^9 THC (0,375 mg/kg) é injetado no veículo etanol/Tween 80/água (10/10/80). Os ratos pesam 25-30 gramas. Essa mistura de solvente é compatível com uma administração por via intravenosa no homem e no animal.

A latência do saldo é determinada 10 minutos após a injeção intravenosa. Os resultados são expressos em percentagem de analgesia, utilizando a equação definida anteriormente. Eles são dados na figura 3.

A diferença observada é considerada significativa para um valor de $p \leq 0,05$ - ANOVA 1 fator seguido de um teste de comparação múltipla ** *: $p \leq 0,01$ versus controle, ###: $P \leq 0,01$ versus grupo composto 15 e Δ^9 THC.

b: resposta antinociceptiva induzida pela injeção de uma mistura do composto 15 e do Δ^9 THC por via intravenosa no teste da retirada da cauda do rato Sprague-Dawley macho. A mistura composto 15 (5 mg/kg) e Δ^9 THC (0,375 mg/kg) é injetada no veículo etanol/Tween 80/água (10/10/80). A latência da retirada da cauda é determinada antes da injeção (pré-teste) e 10 minutos após a injeção intravenosa (teste).

O tempo de latência é de 15 segundos. Os ratos pesam 260-300 gramas.

Os resultados são dados na tabela 8.

Tabela 8: Teste da retirada da cauda

	% analgesia
Veículo	-3,9 $\pm$ 3,3
Composto 15	-4,2 $\pm$ 1,9
Δ^9 THC	-23,3 $\pm$ 2,4 ***
Composto 15 + Δ^9 THC	39,2 $\pm$ 7,7 **, ***, #

*** : $P < 0,001$ versus veículo, **: $P < 0,001$ versus composto 15, #: $p < 0,05$ versus Δ^9 THC

5 A diferença observada considerada significativa para um valor de $p \leq 0,05$. ANOVA dois fatores seguida de um teste de comparação múltipla: *** : $p \leq 0,001$, **: $p \leq 0,01$ versus grupo veículo; #: $P \leq 0,05$ versus grupo Δ^9 THC; *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ versus grupo composto 15.

c: Resposta de tipo antidepressivo induzida por injeção de uma mistura do composto 15 e do Δ^9 THC por via intravenosa no teste do nado forçado no rato OF1 macho.

A mistura composta 15 (5 mg/kg) e Δ^9 THC (0,375 mg/kg) é injetada no veículo etanol/Tween 80/água (10/10/80) por via intravenosa 10 minutos antes do teste.

A duração de mobilização é medida durante 4 minutos.

15 Os resultados são dados na tabela 9. Os ratos pesam aproximadamente 25-30 gramas.

A diferença observada é considerada significativa para um valor de $p \leq 0,05$. ANOVA 1 fator seguido de um teste de comparação múltipla: ** *: $p \leq 0,001$, *: $p \leq 0,05$ versus grupo veículo, ###: $p \leq 0,001$ versus grupo composto 15/ Δ^9 THC; e grupo Δ^9 THC.

Tabela 9: Teste de depressão, nado forçado.

	Mobilização, (segundos)
Veículo	230,7 $\pm$ 4,5
Composto 15	180 $\pm$ 8,4 ***
Δ^9 THC	206 $\pm$ 6,1 ***
Composto 15 + Δ^9 THC	137,4 $\pm$ 8,8 **, ***, ###

*** : $p < 0,001$ versus controle, ###: $p < 0,001$ versus THC e composto 15.

Conclusão:

Constata-se que a administração de uma pequena dose de ca-

nabinóide, o Δ^9 THC, isto é, a concentrações inferiores a 0,5 mg/kg por administração intravenosa no rato, permite potencializar as respostas antinociceptivas ou antidepressivas induzidas pelo composto 15.

5 Nessas condições, a sinergia é muito claramente colocada em evidência, quando se comparam os efeitos analgésicos conseguidos no teste da placa quente no rato, comparando as curvas doses-respostas para o Δ^9 THC e o composto 15 de um lado, e o efeito produzido por doses subnalgésicas desses dois compostos (figura 3).

10 Pode-se observar que os fatores de amplificação dose ativa Δ^9 THC sozinho/dose ativa Δ^9 THC+composto 15, e inversamente, dose ativa composto 15 sozinho/dose ativa composto 15+ Δ^9 THC, são nos dois casos muito superiores a 10 e dificilmente calculáveis precisamente, já que as doses utilizadas do composto 15 e Δ^9 THC são inativas, quando essas duas moléculas são utilizadas sozinhos nessas mesmas doses.

15 A intensidade da resposta antinociceptiva dada pela associação do composto segundo a invenção (inibidor misto NEP/APN; por exemplo, o composto 15) e do Δ^9 THC, as duas substâncias sendo administradas em doses muito pequenas onde são desprovidas de atividade, indica a existência de uma sinergia de ação entre encefalinas endógenas (protegidas pelos
20 compostos, de acordo com a invenção) e o Δ^9 THC. Isto é corroborado por uma análise isobolográfica das respostas farmacológicas.

REIVINDICAÇÕES

1. Compostos, caracterizados pelo fato de que correspondem à seguinte fórmula (I):



5 na qual:

R_1 representa:

- uma cadeia hidrocarbonada, saturada ou insaturada, linear ou ramificada, comportando de 1 a 6 átomos de carbonos eventualmente substituída por:

- um radical OR, SR ou S(O)R, em cada um desses radicais R

10 representa um hidrogênio, uma cadeia hidrocarbonada, linear ou ramificada, de 1 a 4 átomos de carbono, um radical fenila ou benzila;

- um radical fenila ou benzila;

- um radical fenila ou benzila eventualmente substituído por:

- 1 a 5 halogênios, notadamente o flúor;

15 um radical OR, SR ou S(O)R, em cada um desses radicais R tendo a mesma significação que anteriormente;

- um radical metileno substituído por um hetero ciclo com 5 ou 6 átomos, aromático ou saturado, possuindo como heteroátomo, um átomo de nitrogênio ou de enxofre, eventualmente oxidado sob a forma de N-óxido ou de S-

20 óxido;

R_2 representa:

- um radical fenila ou benzila, eventualmente substituído por:

- 1 a 5 átomos de halogênios notadamente o flúor;

- um radical OR ou SR, em cada um desses radicais R tendo a

25 mesma significação que anteriormente;

- um grupamento amino eventualmente mono- ou di- substituído por um grupamento alifático de 1 a 6 átomos de carbonos;

- um cicloaromático com 5 ou 6 átomos;

30 - um heterocicloaromático com 5 ou 6 átomos, o heteroátomo sendo um oxigênio, um nitrogênio ou um enxofre;

- um grupo metileno substituído por um heterociclo com 5 ou 6 átomos, aromático ou saturado, o heteroátomo sendo um oxigênio, um nitrogênio ou um

enxofre, os átomos de nitrogênio e de enxofre sendo eventualmente oxidados sob a forma de N-óxido ou de S-óxido.

R_5 representa:

a) um radical $CH(R_3)-COOR_4$ no qual

5 R_3 representa:

- um hidrogênio;
- um grupamento OH ou OR, R tendo a mesma significação que anteriormente;

10 - uma cadeia hidrocarbonada saturada (alquila), linear ou ramificada, comportando de 1 a 6 átomos de carbono, eventualmente substituído por um radical OR ou SR, em cada um desses radicais R tem a mesma significação que anteriormente;

- um radical fenila ou benzila, eventualmente substituído por:
 - 1 a 5 halogênios notadamente o flúor;

15 - um radical OR ou SR, R tendo a mesma definição que anteriormente; e

OR_4 representa:

- um radical glicolato OCH_2COOR' ou lactato $OCH(CH_3)COOR'$, em cada um desses radicais R' representa;

20 - uma cadeia hidrocarbonada saturada (alquila) de 1 a 6 átomos de carbono, linear ou ramificada, eventualmente substituída por um grupamento alcóxi em C1 a C3, de preferência um grupo alquila em C1-C4 eventualmente substituído por um grupo metóxi;

25 - um grupamento cicloalquila de C5 a C8, de preferência um grupo cicloalquila em C5-C6;

- um grupamento fenila, benzila, heteroarila, alquil-heteroarila;

- um grupamento $OCH(R'')O(CO)OR'$ ou $OCH(R'')O(CO)R'$, em cada um desses radicais R' tem a mesma significação que anteriormente e R'' representa;

30 - um átomo de hidrogênio;

- uma cadeia alquila em C1-C6, linear ou ramificada, eventualmente substituída por um grupamento alcóxi de C1 a C3, de preferência um

grupo alquila em C1-C4 eventualmente substituída por um grupo metóxi;

- um grupo cicloalquila de C5 a C8, de preferência um grupo cicloalquila em C5-C6;

- um grupamento fenila, benzila, heteroarila, alquil heteroarila;

5 - um radical triglicerídeo $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OCOR}')_2$ ou $\text{OCH}_2\text{-CH}(\text{OCOR}')\text{-CH}_2\text{OCOR}'$, em cada um desses radicais R' tendo a mesma significação que anteriormente;

- um radical glicosídeo, tal como D-glicose, β -D-glucopirranose, α -ou β -galactopirranose;

10 - um radical sulfonato $\text{OCH}_2\text{CH}_2(\text{SO}_2)\text{CH}_3$;

- um radical $\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$;

b) um heterociclo, com 5 ou 6 ligantes, compreendendo vários heteroátomos, escolhidos no grupo constituído pelo nitrogênio, pelo enxofre e pelo oxigênio, dos quais 2 átomos de nitrogênio, esse heterociclo podendo ser substituído por um radical alquila em C1-C6, fenila ou benzila, o heterociclo com 5 cadeias sendo selecionadas a partir do grupo que consiste em imidazola, pirazola, imidazolinila, pirazolinila, tiadiazolila e furazanila, assim como os sais de adição desses compostos (I) com os ácidos minerais ou orgânicos farmaceuticamente aceitáveis.

20 2. Compostos de acordo com a reivindicação 1, caracterizados pelo fato de que R_1 representa um radical alquila, tendo de 1 a 4 átomos de carbono substituído por um radical SR, R tendo a mesma significação que precedentemente, em particular R representa uma cadeia hidrocarbonada saturada linear ou ramificada de 1 a 4 átomos de carbono.

25 3. Compostos, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, caracterizados pelo fato de que o radical R_2 representa um radical benzila ou um radical metileno substituído por um hetero ciclo com 5 a 6 átomos, aromático ou saturado, possuindo como heteroátomo, um átomo de nitrogênio ou de enxofre, eventualmente oxidado sob a forma de N-óxido ou de S-óxido.

30 4. Compostos, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizados pelo fato de que o radical R_3 representa um átomo de

hidrogênio ou um radical alquila tendo de 1 a 6 átomos de carbono substituído por um radical OH ou SH.

5 5. Compostos, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizados pelo fato de que o radical OR_4 representa um grupo-mento $OCH(R'')O(CO)OR'$ ou $OCH(R'')O(CO)R'$,

- o radical R' representando uma cadeia alquila em C1-C4, em particular o radical etila, e

- o radical R'' representando um radical metila, $CH(CH_3)_2$, ciclohexila ou fenila.

10 6. Compostos, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizados pelo fato de que o radical R_5 representar um hetero ciclo com 5 cadeias, compreendendo 2 átomos de nitrogênio, eventualmente substituído por uma cadeia alquila em C1-C4 ou por um radical fenila ou benzila.

15 7. Compostos, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizados pelo fato de que são escolhidos dentre os seguintes compostos.

1-(2-(1-(2,3-di acetóxi propóxi carbonil)-etil carbamoil)-3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil-sulfanil propil-amina;

20 1-(2-(1-(2-metano-sulfonil etóxi carbonil)-etil carbamoil)-3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amina;

1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi etóxi cabonil))-etil carbamoil)-3-tiofen-3-il-propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amina;

25 1-(2-(1-etóxi carbonil metil ilóxi carbonil etil carbamoil)-3-tio fen-3-il-propil di-sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amina

1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi etóxi cabonil)-2-hidróxi propil carba-moil)-3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amona;

1-(2-(1-(2-acetóxi-1-acetóxi metil etóxi carbonil)-etil carbamoil)-3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amina;

30 1-(2-(1-(2-hidróxi-1-hidróxi metil etoxi carbonil)-etil carbamoil)-3-tiofen-3-il propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amina;

1-(2-(1-(3,4,5,6-tetra hidróxi tetra hidro piran-2-il metóxi carbonil)-

- etil carbamoil)-3-tiofen-3-il-propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil propil-amina
 1-(2-(1-(1-etóxi carbonil óxi-etóxi carbonil)-2-hidróxi propil carbamoil) -3-fenil propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina;
 1-(2-(1-(2-acetóxi-1-acetóxi metil-etóxi carbonil)-2-hidróxi propil carbamoil)-3-fenil propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina;
 1-(2-((1-etóxi carbonil óxi-etóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina
 3-(2-amino-4-metil sulfanil-butyl di sulfanil)-2-benzil-N-(5-etil-(1,3,4)-tiadiazol-2-il)-propionamida
 1-(2-((1-etóxi carbonil óxi-2-metil-propóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina
 1-(2-((ciclohexil-etóxi carbonil óxi-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina
 1-(2-((etóxi carbonil óxi-fenil-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina
 3-metil sulfanil-1-(3-fenil-2-((1-propionil óxi-etóxi carbonil metil)-carbamoil)-propil di sulfanil metil)-propil-amina
 1-(2-((2-metil-1-propionil óxi-propóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil)-3-metil sulfanil-propil-amina
 1-(2-((ciclohexil-propionil óxi-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-3-fenil-propil di sulfanil metil) -3-metil sulfanil propil-amina
 3-metil sulfanil-1-(3-fenil-2-((fenil-propionil óxi-metóxi carbonil metil)-carbamoil)-propil di sulfanil metil)-propil-amina;
 8. Medicamentos, caracterizados pelo fato de que compreendem compostos de fórmula (I), como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 7.
 9. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, e um excipiente farmacêuticamente apropriado, em particular um excipiente apropriado para uma administração por via oral, nasal ou intravenosa.
 10. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 9,

caracterizada pelo fato de que é destinada ao tratamento da depressão e dos diferentes tipos de dor, tais como a dor aguda, a dor inflamatória e a dor neurogênica.

5 11. Uso de um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é para o preparo de um medicamento destinado ao tratamento da depressão e da dor.

10 12. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 9 ou 10, caracterizada pelo fato de que compreende, além disso, pelo menos um derivado de canabinóides, em particular o Δ^9 - tetrahydro canabinol.

15 13. Uso de pelo menos um derivado de canabinóides, em particular o Δ^9 - tetra-hidro canabinol, em uma composição farmacêutica, caracterizado pelo fato de que é para potencializar o efeito analgésico e/ou antidepressivo dos compostos de fórmula (I), como definidos em uma das reivindicações 1 a 7.

20 14. Uso de uma combinação de pelo menos um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, e de pelo menos um derivado de canabinóides, em particular o Δ^9 - tetrahydro canabinol, caracterizado pelo fato de que é para o preparo de um medicamento destinado ao tratamento da depressão e da dor.

15. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende:

I) pelo menos um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7;

25 II) pelo menos um derivado de canabinóides como produtos de combinação para uma utilização simultânea, separada ou aferida no tempo.

16. Uso de uma composição farmacêutica compreendendo:

I) pelo menos um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7;

30 II) pelo menos um derivado de canabinóides como produtos de combinação para uma utilização simultânea, separada ou aferida no tempo, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento des-

tinado ao tratamento da depressão e da dor.

17. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 9, 10 e 12, caracterizada pelo fato de que compreende, além disso, a morfina ou um dos seus derivados.

- 5 18. Uso de uma combinação de pelo menos um composto de fórmula (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7, e de morfina ou um de seus derivados, caracterizado pelo fato de que é para o preparo de um medicamento, destinado ao tratamento da depressão e da dor.

RESUMO

Patente de Invenção: "**DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS CONTENDO UM GRUPAMENTO DI-SULFANILA, MEDICAMENTO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E USO**".

5 A invenção tem por objeto novos compostos de fórmula (I) **H₂N-CH(R₁)-CH₂-S-S-CH₂-CH(R₂)-CONH-R₅**
na qual R₁ representa uma cadeia hidrocarbonada, um radical metileno substituído por um hetero ciclo com 5 ou 6 átomos; R₂ representa um radical fenila ou benzila, um hetero cicloaromático com 5 ou 6 átomos, um grupo
10 metileno substituído por um hetero ciclo com 5 ou 6 átomos; R₅ representa seja um radical CH(R₃)-COOR₄ no qual R₃ representa um hidrogênio, um grupamento OH ou OR, uma cadeia hidrocarbonada saturada, um radical fenila ou benzila, e OR₄ representa um éster hidrófilo; seja um hetero ciclo com 5 ou 6 cadeias compreendendo vários heteroátomos, escolhidos no
15 grupo constituído pelo nitrogênio, pelo enxofre e pelo oxigênio dos quais pelo menos 2 átomos de nitrogênio, esse hetero ciclo podendo ser substituído por um radical alquila em C1-C6, fenila ou benzila. A invenção refere-se também à utilização a título de medicamento desses compostos e uma composição farmacêutica compreendendo esses compostos e um excipiente
20 farmaceuticamente apropriado. A invenção refere-se enfim à utilização em associação de pelo menos um derivado de canabinóides, para potencializar o efeito analgésico e antidepressivo dos novos compostos de fórmula (I) e/ou da morfina ou de um de seus derivados.