

(11) Número de Publicação: **PT 1973540 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 31/352 (2007.10) **A61K 31/353** (2007.10)

A61K 31/357 (2007.10) **A61P 29/00** (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2006.12.19	(73) Titular(es): JANSSEN PHARMACTUICA, N.V. TURNHOUTSEWEG 30 2340 BEERSE BE
(30) Prioridade(s): 2005.12.19 US 751686 P 2006.02.15 US 773812 P 2006.12.18 US 612071	(72) Inventor(es): ALLEN B. REITZ US VIRGINIA L. SMITH-SWINTOSKY US
(43) Data de publicação do pedido: 2008.10.01	(74) Mandatário: ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA PT
(45) Data e BPI da concessão: 2009.11.11 019/2010	

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DE DERIVADOS HETEROCÍCLICOS BENZO-FUNDIDOS DE SULFAMIDA PARA O TRATAMENTO DE DOR**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"UTILIZAÇÃO DE DERIVADOS HETEROCÍCLICOS BENZO-FUNDIDOS DE SULFAMIDA PARA O TRATAMENTO DE DOR"

REFERÊNCIA CRUZADA A PEDIDOS RELACIONADOS

Este pedido reivindica o benefício do Pedido Provisório U.S. 60/751686, apresentado em 19 de Dezembro de 2005 e do Pedido Provisório U.S. 60/773812, apresentado em 15 de Fevereiro de 2006.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção dirige-se para a utilização de derivados heterocíclicos benzo-fundidos de sulfamida para o tratamento de dor aguda, crónica, inflamatória e/ou neuropática.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A dor é geralmente definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a lesão efectiva ou potencial de tecido (Wileman L, Advances in pain management, Scrip Report, 2000).

A dor aguda é uma resposta fisiológica a um estímulo químico, térmico ou mecânico adverso que pode estar associado a cirurgia, traumatismo ou doença aguda. Estes estados incluem,

mas não se limitam a dor pós-cirúrgica, lesões em medicina desportiva, síndrome do canal cárpico, queimaduras, entorses e luxações musculoesqueléticas, luxação musculotendinosa, síndrome de nevralgia cervicobraquial, dispepsia, úlcera gástrica, úlcera duodenal, dor de cálculo renal, dor na vesícula biliar, dor de cálculo biliar, dismenorreia, endometriose, dor obstétrica, dor reumatológica, dor de cabeça ou dor de dentes.

A dor crónica é um estado de dor que ultrapassa a causa normal de uma lesão ou doença e pode ser uma consequência de inflamação ou de fases patológicas progressivas, graves, dolorosas. Os vários tipos de dor crónica incluem, mas não se limitam a dor de cabeça, enxaqueca, nevralgia do trigémeo, síndrome da articulação temporomandibular, síndrome de fibromialgia, osteoartrite, artrite reumatóide, dor nos ossos devido a osteoartrite, osteoporose, metástases do osso ou razões desconhecidas, gota, fibrosite, dor miofascial, síndromes cervicobraquiais, dor nas costas ou dor lombossagrada (em que a dor lombar resulta de dor sistemática, regional ou primária da coluna vertebral (radiculopatia)), dor pélvica, dor torácica cardíaca, dor torácica não cardíaca, dor associada a lesão na medula espinal, dor central pós-acidente vascular cerebral, dor de cancro, dor de SIDA, dor falciforme ou dor geriátrica.

A dor neuropática é definida como dor provocada por um processamento somatossensorial aberrante no sistema nervoso central ou periférico e inclui neuropatia periférica diabética dolorosa, nevralgia pós-herpética, nevralgia do trigémeo, dor pós-acidente vascular cerebral, dor associada a esclerose múltipla, dor associada a neuropatias, tais como na neuropatia idiopática ou pós-traumática e mononevrite, dor neuropática associada ao HIV, dor neuropática associada ao cancro, dor

neuropática associada ao canal cárpico, dor associada a lesão na medula espinal, síndrome dolorosa regional complexa, dor neuropática associada a fibromialgia, dor lombar e cervical, distrofia simpática complexa, síndrome do membro fantasma e outras síndromes dolorosas associadas a patologia crónica e debilitante.

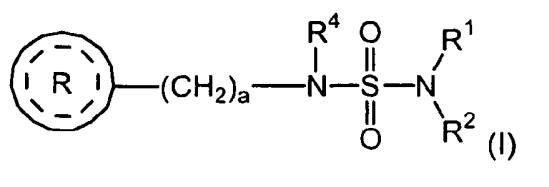
O documento WO 98/15270 divulga derivados anticonvulsivos para utilização no tratamento de dor neuropática.

Um estudo da eficácia relativa de grupos sulfamato e sulfamida para inibição da anidrase carbónica-II (CA-II) é divulgado em J. Med. Chem. 2005, 48(6), 1941-7.

Continua a existir uma necessidade de proporcionar um tratamento eficaz para a dor.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção dirige-se para um composto de fórmula (I)



ou um seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que

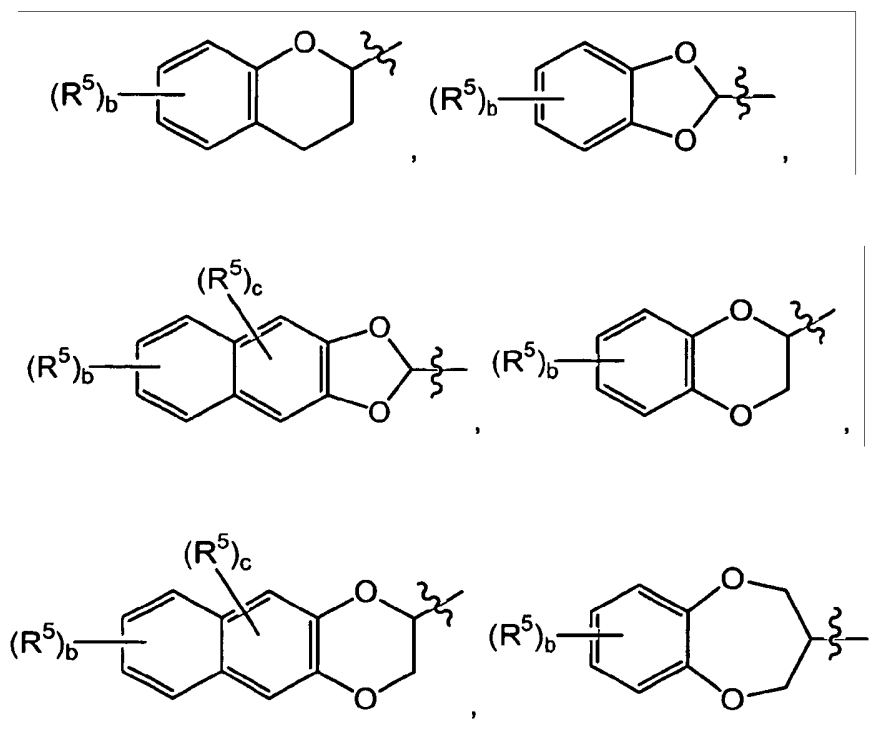
R^1 e R^2 são, cada, independentemente seleccionados do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

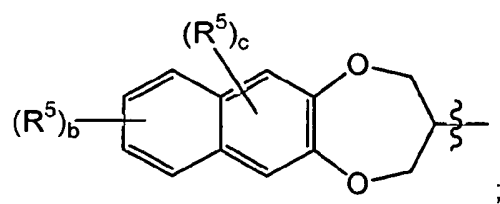
a é um número inteiro desde 1 a 2;



é seleccionado do grupo consistindo de



e

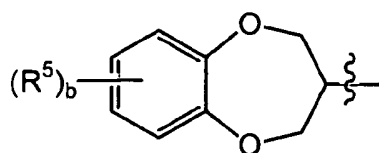


em que b é um número inteiro desde 0 a 4; e em que c é um número inteiro desde 0 a 2;

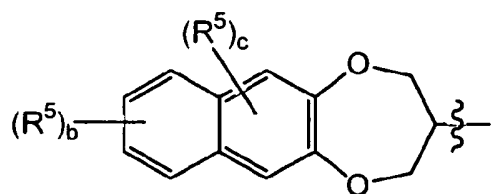
cada R^5 é independentemente seleccionado do grupo consistindo de halogéneo, alquilo inferior e nitro; na condição de que quando



é

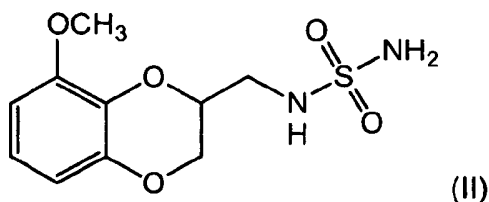


ou



então a seja 1.

A presente invenção dirige-se ainda para um composto de fórmula (II)



ou um seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor.

Ilustrativo da invenção é qualquer dos compostos ou os seus sais farmacologicamente aceitáveis descritos acima, para utilização no tratamento de dor, em que a dor é seleccionada do grupo consistindo de dor aguda, dor crónica, dor inflamatória e dor neuropática.

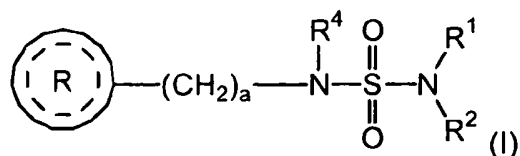
Adicionalmente ilustrativo da invenção é qualquer dos compostos ou os seus sais farmacologicamente aceitáveis descritos acima, para utilização no tratamento de dor, em que a dor é dor inflamatória.

Adicionalmente ilustrativo da invenção é qualquer dos compostos ou os seus sais farmacologicamente aceitáveis descritos acima, para utilização no tratamento de dor, em que a dor é dor neuropática.

É aqui divulgado o tratamento de dor compreendendo a administração, a um indivíduo necessitado daquele, de co-terapia com, pelo menos, um agente analgésico e um composto de fórmula (I) ou fórmula (II).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção dirige-se para um composto de fórmula (I)



ou um seu sal farmacêuticamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que



a, R¹, R² e R⁴ são como aqui definidos. É aqui divulgada a co-terapia com, pelo menos, um agente analgésico e um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) para tratamento da dor.

Como aqui utilizado, o termo "dor" deverá ser definido para incluir dor aguda, crônica, inflamatória e neuropática (de um modo preferido, neuropática diabética). Além disso, a dor pode ser mediada centralmente, mediada periféricamente, provocada por lesão de tecido estrutural, provocada por lesão de tecido mole ou provocada por doença progressiva. Qualquer dor mediada centralmente, mediada periféricamente ou associada a lesão de tecido estrutural, lesão de tecido mole ou doença progressiva pode ser aguda ou crônica.

Como aqui utilizado, a menos que mencionado de outra forma, dor deverá incluir dor inflamatória, dor mediada centralmente, dor mediada periféricamente, dor visceral, dor relacionada com a estrutura, dor de cancro, dor relacionada com a lesão de tecido mole, dor relacionada com doença progressiva, dor neuropática, dor aguda de lesão aguda, dor aguda de traumatismo, dor aguda de cirurgia, dor de cabeça, dor de dentes, dor de costas (de um modo preferido dor lombar), dor crónica de estados neuropáticos e dor crónica provocada por estados pós-acidente vascular cerebral.

Numa forma de realização da presente invenção, é um composto ou seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que a dor é dor aguda. Noutra forma de realização da presente invenção, é um composto ou seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que a dor é dor crónica. Noutra forma de realização da presente invenção, é um composto ou seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que a dor é dor neuropática, de um modo mais preferido, neuropatia diabética. Ainda noutra forma de realização da presente invenção é um composto ou seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que a dor é dor inflamatória.

A dor pode ser seleccionada do grupo consistindo de osteoartrite, artrite reumatóide, fibromialgia, dor de cabeça, dor de dentes, queimadura, queimadura solar, mordedura de animal (tais como mordedura de cão, mordedura de gato, mordedura de cobra, picada de aranha, picada de insecto, e semelhantes), bexiga neurogénica, hipertrofia benigna da próstata, cistite intersticial, rinite, dermatite de contacto/hipersensibilidade,

prurido, eczema, faringite, mucosite, enterite, celulite, causalgia, nevrite ciática, nevralgia da articulação mandibular, nevrite periférica, polinevrite, dor do coto de amputação, dor do membro fantasma, vólvulo pós-cirúrgico, colecistite, síndrome de dor pós-mastectomia, dor neuropática oral, dor de Charcot, algodistrofia simpática, síndrome de Guillain-Barre, meralgia parestésica, síndrome da boca queimada, nevralgia pós-herpética, nevralgia do trigêmeo, neuropatia periférica, neuropatia periférica bilateral, neuropatia diabética, nevralgia pós-herpética, nevralgia do trigêmeo, nevrite óptica, nevrite pós-febril, nevrite migratória, nevrite segmentada, nevrite de Gombault, neuronite, nevralgia cervicobraquial, nevralgia craniana, nevralgia geniculada, nevralgia glossofaríngea, nevralgia migranosa, nevralgia idiopática, nevralgia intercostal, nevralgia mamária, nevralgia de Morton, nevralgia nasociliar, nevralgia occipital, eritromelalgia, nevralgia de Sluder, nevralgia esplenopalatina, nevralgia supra-orbital, nevralgia vidiana, doença inflamatória do intestino, síndrome do intestino irritável, trabalho de parto, parto, câibras menstruais, cancro, dor de costas, dor lombossagrada e dor da síndrome do canal cárpico.

A dor aguda inclui dor provocada por lesão aguda, traumatismo, doença ou cirurgia (por exemplo, cirurgia de peito aberto (incluindo cirurgia de coração aberto ou de *bypass*)). A dor aguda também inclui e não se limita a dor de cabeça, dor pós-cirúrgica, dor de cálculo renal, dor na vesícula biliar, dor de cálculo biliar, dor obstétrica, dor reumatológica, dor de dentes ou dor provocada por lesões de medicina desportiva, síndrome do canal cárpico, queimaduras, entorses e luxações musculoesqueléticas, luxação musculotendinosa, síndrome de

nevralgia cervicobraquial, dispepsia, úlcera gástrica, úlcera duodenal, dismenorreia ou endometriose.

A dor crónica inclui dor provocada por um estado inflamatório, osteoartrite, artrite reumatóide ou como sequelas de doença, lesão aguda ou traumatismo. A dor crónica também inclui e não se limita a dor de cabeça, dor nas costas ou dor lombossagrada (seleccionada de dor de costas resultante de doença sistemática, regional ou primária da coluna vertebral (seleccionada de radiculopatia)), dor óssea (seleccionada de dor nos ossos devido a osteoartrite, osteoporose, metástases do osso ou razões desconhecidas), dor pélvica, dor associada a lesão na medula espinal, dor torácica cardíaca, dor torácica não cardíaca, dor central pós-acidente vascular cerebral, dor miofascial, dor de cancro, dor de SIDA, dor falciforme, dor geriátrica ou dor provocada por dor de cabeça, enxaqueca, nevralgia do trigémeo, síndrome da articulação temporomandibular, síndrome de fibromialgia, osteoartrite, artrite reumatóide, gota, fibrosite ou síndromes cervicobraquiais.

A dor neuropática inclui dor resultante de estados ou distúrbios crónicos ou debilitantes. Os estados ou distúrbios crónicos ou debilitantes que podem levar a dor neuropática incluem mas não se limitam a neuropatia periférica diabética dolorosa, nevralgia pós-herpética, nevralgia do trigémeo, dor pós-acidente vascular cerebral, dor associada a esclerose múltipla, dor associada a neuropatias, tais como na neuropatia idiopática e pós-traumática e mononevrite, dor neuropática associada ao HIV, dor neuropática associada ao cancro, dor neuropática associada ao canal cárpico, dor associada a lesão na medula espinal, síndrome dolorosa regional complexa, dor

neuropática associada a fibromialgia, dor lombar e cervical, distrofia simpática complexa, síndrome do membro fantasma e outras síndromes dolorosas associadas a patologia crónica e debilitante.

Como aqui utilizado, o termo **“agente analgésico”** deverá significar qualquer agente farmacêutico que proporciona alívio da dor, incluindo mas não se limitando a opiáceos e seus derivados, agentes anti-inflamatórios não esteróides, compostos semelhantes a Tilenol, compostos dadores de NO, TRAMADOL e compostos tipo TRAMADOL e antidepressivos, tal como amitriptilina. De um modo preferido, o agente analgésico é TRAMADOL ou Tilenol.

Os exemplos adequados incluem, mas não se limitam a Acetaminofeno; Cloridrato de Alfentanil; Aminobenzoato de Potássio; Aminobenzoato de Sódio; Anidoxima; Anileridina; Cloridrato de Anileridina; Cloridrato de Anilopam; Anirolac; Antipirina; Aspirina; Benoxaprofeno; Cloridrato de Benzidamina; Cloridrato de Bicifadina; Cloridrato de Brifentanil; Maleato de Bromadolina; Bromfenac Sódico; Cloridrato de Buprenorfina; Butacetina; Butixirato; Butorfanol; Tartarato de Butorfanol; Carbamazepina; Carbaspirina de Cálcio; Cloridrato de Carbifeno; Citrato de Carfentanil; Succinato de Ciprefadol; Ciramadol; Cloridrato de Ciramadol; Clonixeril; Clonixina; Fosfato de Codeína; Codeína; Sulfato de Codeína; Cloridrato de Conorfona; Ciclazocina; Cloridrato de Dexoxadrol; Dexpemedolac; Dezocina; Diflunisal; Bitartarato de Di-hidrocodeína; Dimefadano; Dipirona; Cloridrato de Doxpicomina; Drinideno; Cloridrato de Enadolina; Epirizole; Tartarato de Ergotamina; Cloridrato de Etoxazeno; Etofenamato; Eugenol; Fenoprofeno; Fenoprofeno de Cálcio; Citrato de Fentanilo; Floctafenina; Flufenisal;

Flunixinina; Meglumina de Flunixinina; Maleato de Flupirtina; Fluproquazona; Cloridrato de Fluradolina; Flurbiprofeno; Cloridrato de Hidromorfona; Ibufenac; Indoprofeno; Cetazocina; Cetorfanol; Cetorolac Trometamina; Cloridrato de Letimida; Acetato de Levometadilo; Acetato e Cloridrato de Levometadilo; Cloridrato de Levonantradol; Tartarato de Levorfanol; Cloridrato de Lofemizole; Oxalato de Lofentanil; Lorcinadol; Lornoxicam; Salicilato de Magnésio; Ácido Mefenâmico; Cloridrato de Menabitano; Cloridrato de Meperidina; Cloridrato de Meptazinol; Cloridrato de Metadona; Acetato de Metadilo; Metofolina; Metotrimeprazina; Acetato de Metecefamida; Cloridrato de Mimbano; Cloridrato de Mirfentanil; Molinazona; Sulfato de Morfina; Moxazocina; Cloridrato de Nabitano; Cloridrato de Nalbufina; Cloridrato de Nalmexona; Namoxirato; Cloridrato de Nantradol; Naproxeno; Naproxeno Sódico; Naproxol; Cloridrato de Nefopam; Cloridrato de Nexeridina; Cloridrato de Noracimetadol; Cloridrato de Ocfentanil; Octazamida; Olvanil; Fumarato de Oxetorona; Oxicodona; Cloridrato de Oxicodona; Tereftalato de Oxicodona; Cloridrato de Oximorfona; Pemedolac; Pentamorfona; Pentazocina; Cloridrato de Pentazocina; Lactato de Pentazocina; Cloridrato de Fenazopiridina; Cloridrato de Feniramidol; Cloridrato de Picenadol; Pinadolina; Pirfenidona; Piroxicam Olamina; Maleato de Pravadolina; Cloridrato de Prodilidina; Cloridrato de Profadol; Fumarato de Propirarno; Cloridrato de Propoxifeno; Napsilato de Propoxifeno; Proxazole; Citrato de Proxazole; Tartarato de Proxorfanol; Cloridrato de Pirrolifeno; Cloridrato de Remifentanil; Salcolex; Maleato de Saletamida; Salicilamida; Meglumina Salicilato; Salsalato; Salicilato de Sódio; Mesilato de Espiradolina; Sufentanil; Citrato de Sufentanil; Talmetacina; Talniflumato; Talosalato; Succinato de Tazadoleno; Tebufelono; Tetridamina; Tifuraco Sódico; Cloridrato de Tilidina; Tiopinaco; Mesilato de Tonazocina; Cloridrato de

Tramadol; Cloridrato de Trefentanil; Trolamina; Cloridrato de Veradolina; Cloridrato de Verilopam; Volazocina; Mesilato de Xorfanol; Cloridrato de Xilazina; Mesilato de Zenazocina; Zomepiraco Sódico e Zucapsaicina.

Adicionalmente, o analgésico pode ser um produto de associação, incluindo, mas não se limitando ao FIORICET da Novartis ou ESGIC da Forests ou genéricos (associação de acetaminofeno e butalbital e cafeína), FIORINAL ou genéricos (associação de aspirina, butalbital e cafeína, Novartis), MIGPRIV ou genéricos (associação de aspirina e metoclopromida; Sanofi-Synthelabo), MIDRIN/MIDRID ou genéricos (associação de acetaminofeno e dicloralfenazona; Carnick), PARAMAX da Sanofi-Synthelabo ou MIGRAENERTON da Dolorgiet ou genéricos (associação de paracetamol e metoclopramida), VICODIN da Abbott ou genéricos (associação de acetaminofeno e hidrocodona), STADOL NS (butorfanol para pulverização nasal; Bristol-Myers Squibb), LONARID da Boehringer Ingelheim ou MIGRALEVE da Pfizer ou genéricos (associação de paracetamol e codeína), e semelhantes.

O termo **"indivíduo"** como aqui utilizado, refere-se a um animal, de um modo preferido, um mamífero, de um modo muito preferido, um humano que foi objecto de tratamento, observação ou experimentação.

O termo **"quantidade terapeuticamente eficaz"** como aqui utilizado, significa aquela quantidade de composto ou agente farmacêutico activo que desencadeia a resposta biológica ou medicinal num sistema tecidual, animal ou humano que está a ser procurada por um investigador, veterinário, médico ou outro clínico, a qual inclui o alívio dos sintomas da doença ou distúrbio a ser tratado.

Quando é descrita a co-terapia ou terapia de associação, compreendendo a administração de um ou mais composto(s) de fórmula (I) ou fórmula (II) e um ou mais agentes analgésicos, “quantidade terapeuticamente eficaz” deverá significar aquela quantidade da associação de agentes tomados em conjunto de modo a que o efeito combinado desencadeie a resposta biológica ou medicinal desejada. Por exemplo, a quantidade terapeuticamente eficaz da co-terapia compreendendo a administração de um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) e, pelo menos, um agente analgésico seria a quantidade do composto de fórmula (I) ou fórmula (II) e a quantidade do agente analgésico que quando tomadas em conjunto ou sequencialmente teriam um efeito combinado que é terapeuticamente eficaz. Além disso, será reconhecido por um especialista na técnica que no caso da co-terapia com uma quantidade terapeuticamente eficaz, como no exemplo acima, a quantidade do composto de fórmula (I) ou fórmula (II) e/ou a quantidade do agente analgésico individualmente poderá ou não ser terapeuticamente eficaz.

Como aqui utilizados, os termos **“co-terapia”** e **“terapia de associação”** deverão significar o tratamento de um indivíduo necessitado daquela administrando um ou mais compostos de fórmula (I) ou fórmula (II) em associação com um ou mais agente(s) analgésico(s), em que o(s) composto(s) de fórmula (I) ou fórmula (II) e o(s) agente(s) analgésico(s) são administrado(s) por qualquer meio adequado, simultaneamente, sequencialmente, separadamente ou numa única formulação farmacêutica. Quando o(s) composto(s) de fórmula (I) ou fórmula (II) e o(s) agente(s) analgésico(s) são administrados em formas de dosagem separadas, o número de dosagens administradas por dia para cada composto podem ser iguais ou diferentes. O(s) composto(s) de fórmula (I) ou fórmula (II) e o(s) agente(s)

analgésico(s) podem ser administrados através da mesma ou através de vias de administração diferentes. Exemplos de métodos de administração adequados incluem, mas não se limitam a oral, intravenosa (iv), intramuscular (im), subcutânea (sc), transdérmica e rectal. Os compostos também podem ser administrados directamente no sistema nervoso incluindo, mas não se limitando às vias de administração intracerebral, intraventricular, intracerebroventricular, intratecal, intracisternal, intra-espinal e/ou peri-espinal por administração via agulhas e/ou cateteres intracranianos ou intravertebrais com ou sem dispositivos de bomba. O(s) composto(s) de fórmula (I) ou fórmula (II) e o(s) agente(s) analgésico(s) pode(m) ser administrado(s) de acordo com regimes simultâneos ou alternados, ao mesmo tempo ou em alturas diferentes ao longo do curso da terapia, concorrentemente em formas divididas ou únicas.

Numa forma de realização da presente invenção, R^1 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e metilo. Noutra forma de realização da presente invenção, R^2 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e metilo. Ainda noutra forma de realização da presente invenção, R^1 e R^2 são, cada, hidrogénio ou R^1 e R^2 são, cada, metilo.

Numa forma de realização da presente invenção $-(CH_2)_a-$ é seleccionado do grupo consistindo de $-CH_2-$ e $-CH_2-CH_2-$. Noutra forma de realização da presente invenção $-(CH_2)_a-$ é $-CH_2-$.

Numa forma de realização da presente, R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e metilo, de um modo preferido, R^4 é hidrogénio.

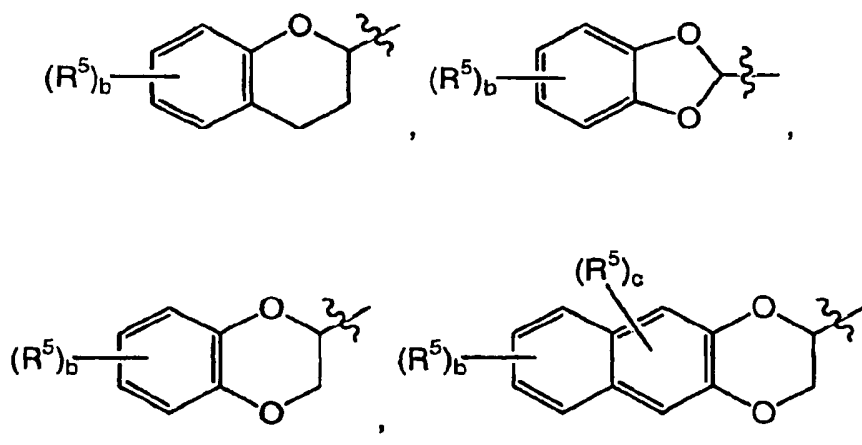
Numa forma de realização da presente invenção a é 1.

Numa forma de realização da presente invenção, b é um número inteiro desde 0 a 2. Noutra forma de realização da presente invenção c é um número inteiro desde 0 a 2. Noutra forma de realização da presente invenção, b é um número inteiro desde 0 a 1. Noutra forma de realização da presente invenção, c é um número inteiro desde 0 a 1. Ainda noutra forma de realização da presente invenção, a soma de b e c é um número inteiro desde 0 a 2, de um modo preferido, um número inteiro desde 0 a 1. Ainda noutra forma de realização da presente invenção, b é um número inteiro desde 0 a 2 e c é 0.

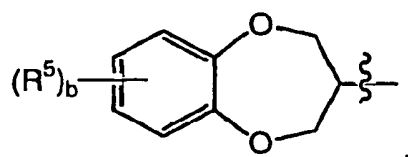
Numa forma de realização da presente invenção,



é seleccionado do grupo consistindo de



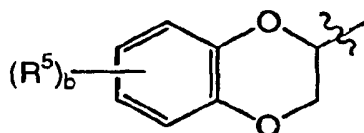
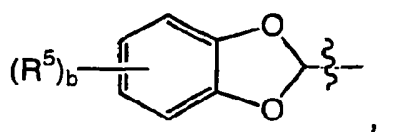
e



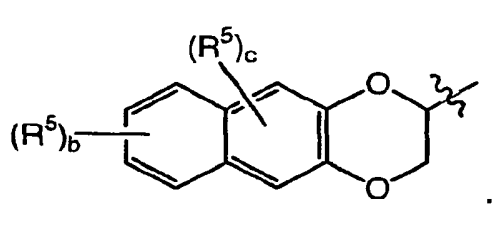
Noutra forma de realização da presente invenção,



é seleccionado do grupo consistindo de



e



Numa forma de realização da presente invenção,



é seleccionado do grupo consistindo de 2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(benzo[1,3]dioxotilo), 3-(3,4-di-hidro-benzo[1,4]dioxepinilo), 2-(6-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-fluoro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(cromanilo), 2-(5-fluoro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-cloro-benzo[1,3]dioxolilo), 2-(7-nitro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-metil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(5-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-bromo-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(8-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(2,3-di-hidro-nafto[2,3-b][1,4]dioxinilo) e 2-(4-metil-benzo[1,3]dioxolilo).

Noutra forma de realização da presente invenção,



é seleccionado do grupo consistindo de 2-(benzo[1,3]dioxolilo), 2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-metil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-bromo-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo) e 2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-

benzo[1,4]dioxinilo). Noutra forma de realização da presente invenção,



é seleccionado do grupo consistindo de 2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-metil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo) e 2-(6-bromo-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo).

Numa forma de realização da presente invenção R⁵ é seleccionado do grupo consistindo de halogéneo e alquilo inferior. Noutra forma de realização da presente invenção R⁵ é seleccionado de cloro, fluoro, bromo e metilo.

Numa forma de realização da presente invenção, o centro estereoquímico no composto de fórmula (I) está na configuração S. Noutra forma de realização da presente invenção, o centro estereoquímico no composto de fórmula (I) está na configuração R.

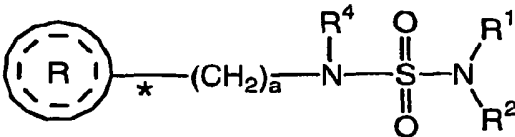
Numa forma de realização da presente invenção, o composto de fórmula (I) está presente como uma mistura enriquecida enantiomericamente, em que a% de enriquecimento enantiomérico (% ee) é maior do que cerca de 75%, de um modo preferido, maior do que cerca de 90%, de um modo mais preferido, maior do que cerca de 95%, de um modo muito preferido, maior do que cerca de 98%.

Outras formas de realização da presente invenção, incluem aquelas em que os substituintes seleccionados para uma ou mais

das variáveis aqui definidas (i. e., R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , X-Y e A) são independentemente seleccionadas para serem qualquer substituinte individual ou qualquer subconjunto de substituintes seleccionados da lista completa como aqui definida.

Os compostos representativos da presente invenção são como listados nos Quadros 1 abaixo. Outros compostos da presente invenção são como listados no Quadro 3. Nos Quadros 1 e 2 abaixo, a coluna com o título “estereo” define a configuração estereoquímica no átomo de carbono do heterociclo ligado à ligação marcada com asterisco. Quando não é listada nenhuma designação, o composto foi preparado como uma mistura de configurações estereoquímicas. Quando é listada uma designação “R” ou “S”, a configuração seria-se no material de partida enriquecido enantiomericamente.

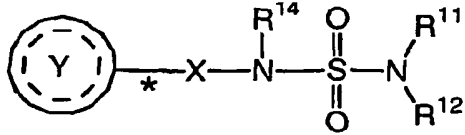
Quadro 1: Compostos Representativos de Fórmula (I)

						
Nº ID		Estereo	(CH ₂) _a	NR ⁴	R ¹	R ²
1	2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)		CH ₂	NH	H	H
2	2-(benzo[1,3]dioxolilo)		CH ₂	NH	H	H
3	3-(3,4-di-hidro-2H-benzo[1,4]dioxepinilo)		CH ₂	NH	H	H
4	2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H

(continuação)

Nº ID		Estereo	(CH ₂) _a	NR ⁴	R ¹	R ²
5	2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	R	CH ₂	NH	H	H
6	2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)		CH ₂	NH	metilo	metilo
7	2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)		CH ₂	N(CH ₃)	H	H
8	2-(6-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
9	2-(6-fluoro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
10	2-(cromanilo)		CH ₂	NH	H	H
13	2-(5-fluoro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
14	2-(7-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
15	2-(6-cloro-benzo[1,3]dioxolilo)		CH ₂	NH	H	H
16	2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)		CH ₂ CH ₂	NH	H	H
18	2-(7-nitro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
19	2-(7-metil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
20	2-(5-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
22	2-(8-metoxi-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
24	2-(6-bromo-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
29	2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
30	2-(8-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
33	2-(2,3-di-hidro-nafto[2,3-b][1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
35	2-(4-metil-benzo[1,3]dioxolilo)		CH ₂	NH	H	H

Quadro 2: Compostos Adicionais da Presente Invenção

						
Nº ID		Estereo	X	NR ¹⁴	R ¹¹	R ¹²
23	2-(5-metoxi-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
26	2-(6-metilcarbonil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
32	2-(6-metoxicarbonil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
34	2-(6-hidroximetil-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H
36	2-(7-amino-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo)	S	CH ₂	NH	H	H

Como aqui utilizado, a menos que mencionado de outra forma, **“halogéneo”** deverá significar cloro, bromo, flúor e iodo.

Como aqui utilizado, a menos que mencionado de outra forma, o termo **“alquilo”** utilizado sozinho ou como parte de um grupo substituinte, inclui cadeias lineares e ramificadas. Por exemplo, radicais alquilo incluem metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, pentilo e semelhantes. A menos que mencionado de outra forma, **“inferior”** quando utilizado com alquilo significa uma composição de cadeia carbonada de 1-4 átomos de carbono.

Como aqui utilizado, a menos que mencionado de outra forma, **“alcoxilo”** deverá denotar um radical éter de oxigénio dos grupos alquilo de cadeia linear ou ramificada acima. Por exemplo,

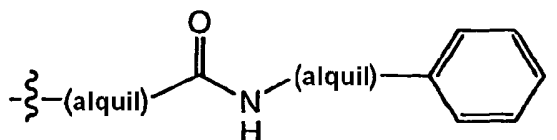
metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, sec-butoxilo, t-butoxilo, n-hexiloxilo e semelhantes.

Como aqui utilizada, a notação "*" deverá denotar a presença de um centro estereogénico.

Quando um grupo particular está "**substituído**" (e. g., alquilo, arilo, etc.), esse grupo pode ter um ou mais substituintes, de um modo preferido, desde um a cinco substituintes, de um modo mais preferido, desde um a três substituintes, de um modo muito preferido, desde um a dois substituintes, independentemente seleccionados da lista de substituintes.

Relativamente aos substituintes, o termo "**independentemente**" significa que quando é possível mais do que um de tais substituintes, esses substituintes podem ser iguais ou diferentes uns dos outros.

Na nomenclatura corrente utilizada ao longo desta divulgação, a parte terminal da cadeia lateral designada é descrita em primeiro lugar, seguida da funcionalidade adjacente na direcção do ponto de ligação. Assim, por exemplo, um substituinte "**fenil-alquil-amino-carbonil-alquilo**" refere-se a um grupo da fórmula



As abreviaturas utilizadas na descrição, em particular, nos Esquemas e Exemplos, são como se segue:

DCC =	Diciclo-hexilcarbodiimida
DCE =	Dicloroetano
DCM =	Diclorometano
DIPAE ou DIAE =	Diisopropiletilamina
DMF =	N,N-Dimetilformamida
DMSO =	Dimetilsulfóxido
EDC =	Etilcarbodiimida
Et ₃ N ou TAE =	Trietilamina
Et ₂ O =	Éter dietílico
AE ou AcOEt =	Acetato de etilo
EtOH =	Etanol
IPA =	2-propanol
Hept =	Heptano
HOBT =	1-Hidroxibenzotriazole
HPLC =	Cromatografia Líquida de Alta Pressão
LAH =	Hidreto de Alumínio Lítio
M ou MeOH =	Metanol
RMN =	Ressonância Magnética Nuclear
Pd-C =	Catalisador de Paládio sobre Carvão
RP HPLC =	Cromatografia Líquida de Alta Pressão de Fase Inversa
TA ou ta =	Temperatura ambiente
TAE =	Trietilamina
TFA =	Ácido Trifluoroacético
THF =	Tetra-hidrofurano
TLC =	Cromatografia em Camada Fina

Quando os compostos de acordo com esta invenção têm pelo menos um centro quiral, estes podem, de modo adequado, existir

como enantiómeros. Quando os compostos possuem dois ou mais centros quirais, estes podem ainda existir como diastereómeros. Entender-se-á que todos estes isómeros e as suas misturas estão abrangidos no âmbito da presente invenção. Além disso, algumas das formas cristalinas para os compostos podem existir como polimorfos e como tal estão incluídos na presente invenção. Além disso, alguns dos compostos podem formar solvatos com água (*i. e.*, hidratos) ou com solventes orgânicos comuns e tais solvatos também estão abrangidos no âmbito desta invenção.

Para utilização em medicina, os sais dos compostos desta invenção referem-se a "**sais farmacêuticamente aceitáveis**," não tóxicos. No entanto, outros sais podem ser úteis na preparação de compostos de acordo com esta invenção ou dos seus sais farmacêuticamente aceitáveis. Os sais farmacêuticamente aceitáveis adequados dos compostos incluem os sais de adição de ácido os quais podem, por exemplo, ser preparados misturando uma solução do composto com uma solução de um ácido farmacêuticamente aceitável, tais como ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico ou ácido fosfórico. Além disso, quando os compostos da invenção são portadores de uma unidade ácida, os seus sais farmacêuticamente aceitáveis adequados podem incluir sais de metais alcalinos, *e. g.*, sais de sódio ou potássio; sais de metais alcalino-terrosos, *e. g.*, sais de cálcio ou magnésio; e sais preparados com ligandos orgânicos adequados, *e. g.*, sais de amónio quaternário. Assim, os sais farmacêuticamente aceitáveis representativos incluem os seguintes:

acetato, benzenossulfonato, benzoato, bicarbonato,
bissulfato, bitartarato, borato, brometo, edetato de

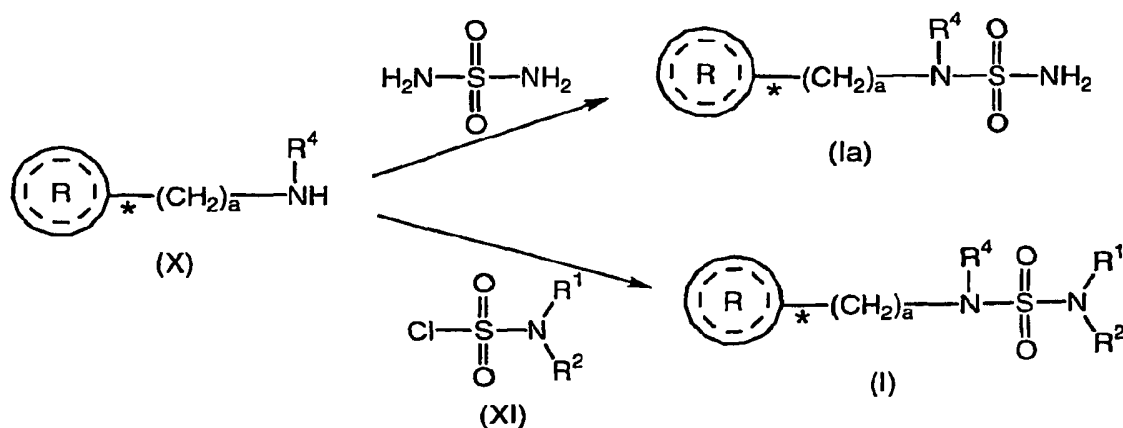
cálcio, cansilato, carbonato, cloreto, clavulanato, citrato, di-cloridrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromidrato, cloridrato, hidroxinaftoato, iodeto, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbrometo, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, N-metilglucamina sal de amônio, oleato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, sulfato, subacetato, succinato, tanato, tartarato, teoclato, tosilato, trietiodeto e valerato.

Os ácidos e bases representativos que podem ser utilizados na preparação de sais farmaceuticamente aceitáveis incluem os seguintes:

ácidos incluindo ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido benzenossulfônico, ácido benzóico, ácido 4-acetamidobenzóico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfônico, ácido (+)-(1S)-canfor-10-sulfônico, ácido cáprico, ácido capróico, ácido caprílico, ácido cinâmico, ácido cítrico, ácido ciclâmico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etano-1-,2-dissulfônico, ácido etanossulfônico, ácido 2-hidroxi-etanossulfônico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido gluco-heptanóico, ácido D-glucônico, ácido D-glucorônico, ácido L-glutâmico, ácido α -oxo-glutárico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido

bromídrico, ácido clorídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (±)-DL-láctico, ácido lactobiônico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malônico, ácido (±)-DL-mandélico, ácido metanossulfônico, ácido naftaleno-2-sulfônico, ácido naftaleno-1,5-dissulfônico, ácido 1-hidroxi-2-naftóico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamóico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutâmico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebaico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tânico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiociânico, ácido p-toluenossulfônico e ácido undecilénico; e bases incluindo amônia, L-arginina, benetamina, benzetina, hidróxido de cálcio, colina, deanol, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilenodiamina, N-metil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazole, L-lisina, hidróxido de magnésio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido de potássio, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, amina secundária, hidróxido de sódio, trietanolamina, trometamina e hidróxido de zinco.

Os compostos de fórmula (I) podem ser preparados de acordo com o processo delineado no Esquema 1.



Esquema 1

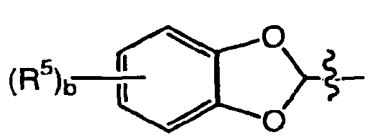
Consequentemente, um composto de fórmula (X) adequadamente substituído, um composto conhecido ou composto preparado por métodos conhecidos, é feito reagir com sulfamida, um composto conhecido, de um modo preferido, em que a sulfamida está presente numa quantidade na gama de cerca de 2 a cerca de 5 equivalentes, num solvente orgânico, tais como THF, dioxano e semelhantes, de um modo preferido, a uma temperatura elevada na gama de cerca de 50 °C a cerca de 100 °C, de um modo mais preferido, próximo da temperatura de refluxo, para produzir o composto de fórmula (Ia) correspondente.

Alternativamente, um composto de fórmula (X) adequadamente substituído, um composto conhecido ou composto preparado por métodos conhecidos, é feito reagir com um composto de fórmula (XI) adequadamente substituído, um composto conhecido ou composto preparado por métodos conhecidos, na presença de uma base, tais como TAE, DIPAE, piridina e semelhantes, num solvente orgânico, tais como DMF, DMSO e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (I) correspondente.

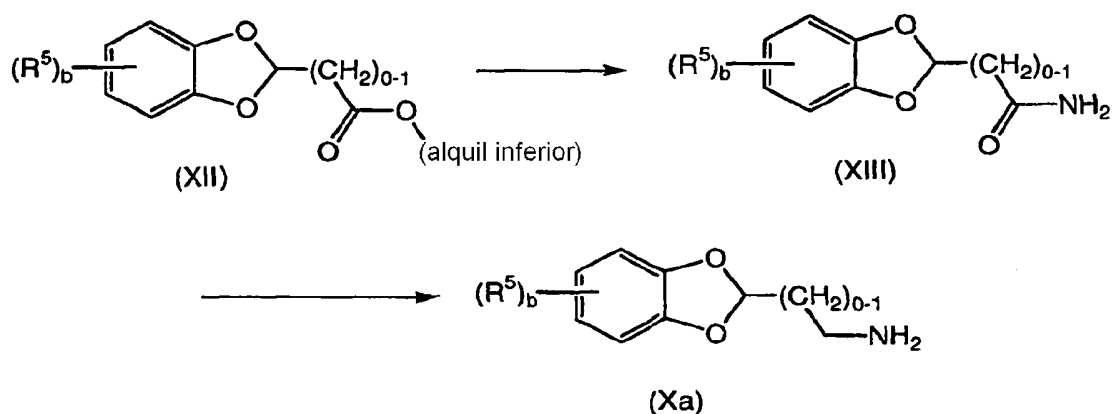
Os compostos de fórmula (X), em que



é



podem ser preparados de acordo com o processo delineado no Esquema 2.



Esquema 2

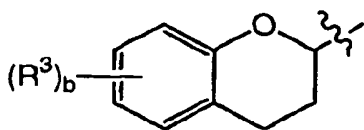
Consequentemente, um composto de fórmula (XII) adequadamente substituído, um composto conhecido ou composto preparado por um método conhecido (por exemplo, como descrito no Esquema 3 acima), é feito reagir com NH_4OH , um composto conhecido, opcionalmente num solvente orgânico, tal como acetonitrilo, e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (XIII) correspondente.

O composto de fórmula (XIII) é feito reagir com um agente de redução adequadamente seleccionado, tal como LAH, e semelhantes, e semelhantes, num solvente orgânico tal como THF, éter dietílico, e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (Xa) correspondente.

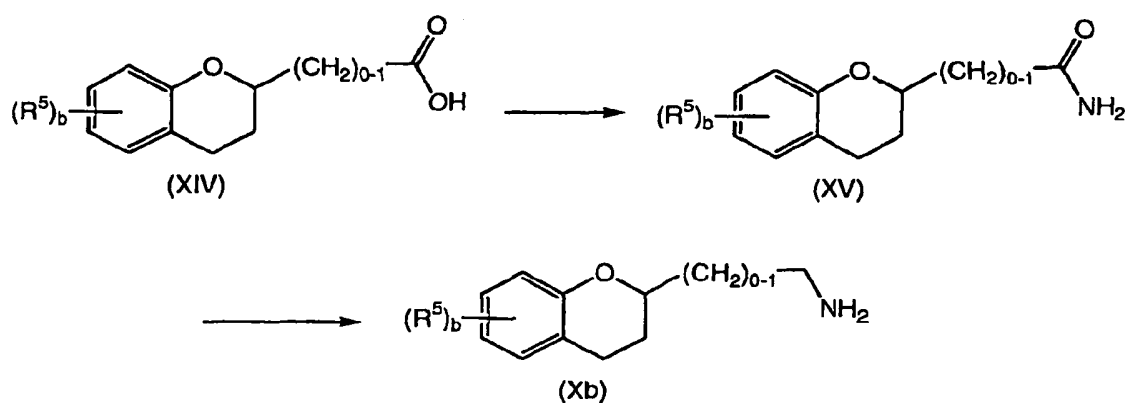
Os compostos de fórmula (X), em que



é seleccionado de



podem ser preparados de acordo com o processo delineado no Esquema 3.



Esquema 3

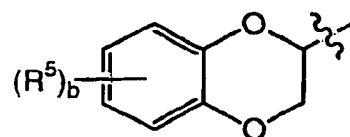
Consequentemente, um composto de fórmula (XIV) adequadamente substituído, um composto conhecido ou composto preparado por métodos conhecidos, é feito reagir com NH_4OH , na presença de um agente de condensação, tal como DCC, e semelhantes, opcionalmente num solvente orgânico, tal como acetonitrilo, e semelhantes, para produzir o correspondente composto de fórmula (XV).

O composto de fórmula (XV) é feito reagir com um agente de redução adequadamente seleccionado, tal como LAH, e semelhantes, num solvente orgânico, tais como THF, éter dietílico, e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (Xb) correspondente.

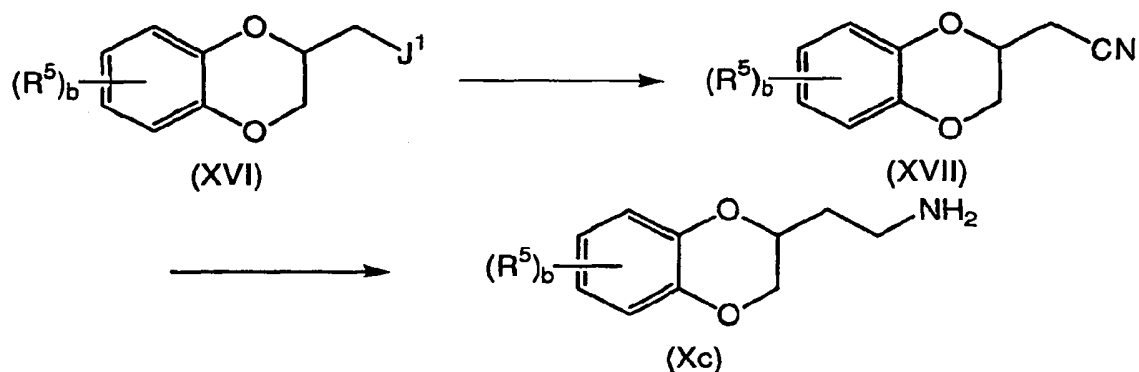
Os compostos de fórmula (X), em que



é seleccionado de



e em que a é 2, podem ser preparados de acordo com o processo delineado no Esquema 4.



Esquema 4

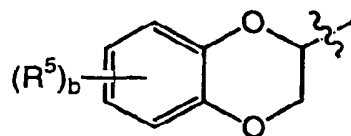
Consequentemente, um composto de fórmula (XVI) adequadamente substituído em que J^1 é um grupo de saída adequado, tais como Br, Cl, I, tosilo; mesilo, triflilo, e semelhantes, um composto conhecido ou composto preparado por métodos conhecidos (por exemplo, activando o composto correspondente, em que J^1 é OH), é feito reagir com um cianeto, tais como cianeto de potássio, cianeto de sódio, e semelhantes, num solvente orgânico, tais como DMSO, DMF, THF, e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (XVII) correspondente.

O composto de fórmula (XVII) é reduzido de acordo com métodos conhecidos, por exemplo, fazendo reagir com um agente de redução adequado, tal como LAH, borano, e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (Xc) correspondente.

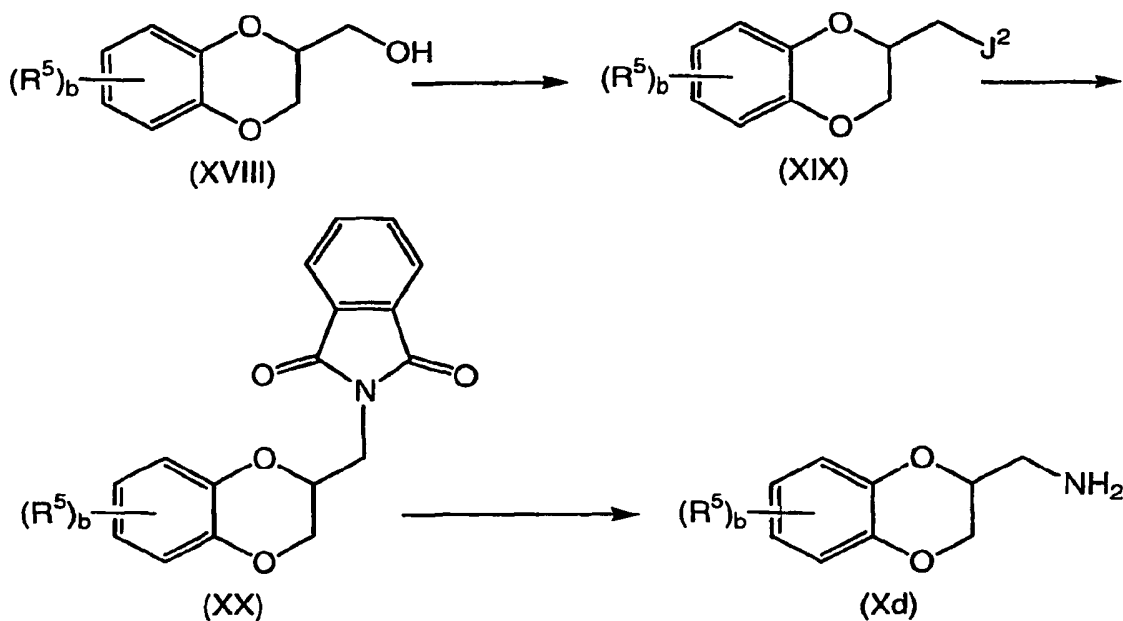
Os compostos de fórmula (X), em que



é seleccionado de



e em que a é 1, podem ser preparados de acordo com o processo delineado no Esquema 5.



Esquema 5

Consequentemente, um composto de fórmula (XVIII) adequadamente substituído, um composto conhecido ou composto preparado por métodos conhecidos é ativado, de acordo com um método conhecido, para produzir o composto de fórmula (XIX) correspondente, em que J^2 é um grupo de saída adequado, como tosilato, Cl , Br , I , mesilato, triflato e semelhantes.

O composto de fórmula (XIX) é feito reagir com um sal de ftalimida, tais como ftalimida de potássio, ftalimida de sódio e semelhantes, num solvente orgânico, tais como DMF, DMSO,

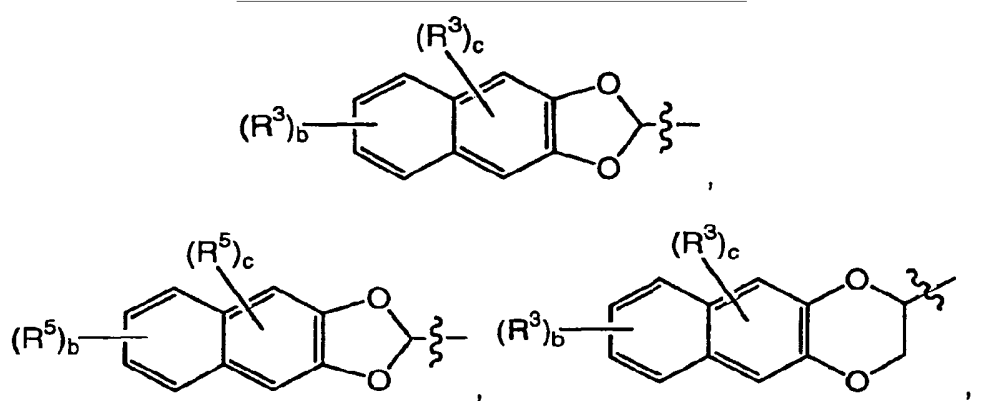
acetonitrilo e semelhantes, de um modo preferido, a uma temperatura elevada na gama desde 50 °C a cerca de 200 °C, de um modo mais preferido, próximo da temperatura de refluxo, para produzir o correspondente composto de fórmula (XX).

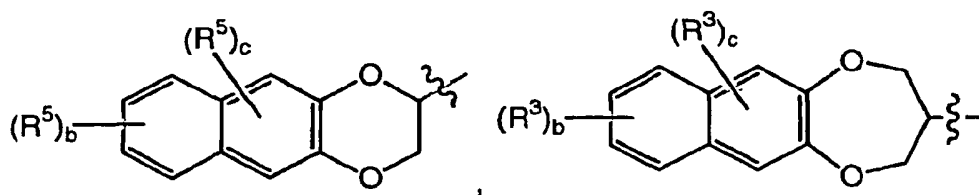
O composto de fórmula (XX) é feito reagir com N_2H_4 , um composto conhecido, num solvente orgânico, tais como etanol, metanol e semelhantes, de um modo preferido, a uma temperatura elevada na gama desde cerca de 50 °C a cerca de 100 °C, de um modo mais preferido, próximo da temperatura de refluxo, e semelhantes, para produzir o composto de fórmula (Xd) correspondente.

Um especialista na técnica reconhecerá que os compostos de fórmula (X), em que

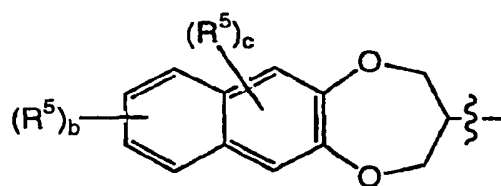


é seleccionado de





ou



podem ser analogamente preparados segundo métodos conhecidos ou por exemplo, de acordo com os processos delineados nos Esquemas 2 a 5 acima, seleccionado e substituindo os materiais de partida benzo-fundidos pelos compostos naftil-fundidos correspondentes.

Um especialista na técnica reconhecerá ainda que quando for desejado um único enantiómero (ou uma mistura de enantiómeros em que um enantiómero está enriquecido) de um composto de fórmula (X), podem ser aplicados os processos anteriores como descritos nos Esquemas 1 a 5 substituindo o material de partida apropriado pelo enantiómero único correspondente (ou mistura de enantiómeros, em que um enantiómero está enriquecido).

Um especialista na técnica reconhecerá que quando um passo reaccional da presente invenção pode ser realizado numa variedade de solventes ou sistemas solventes, o referido passo reaccional também pode ser realizado numa mistura dos solventes ou sistemas solventes adequados.

Quando os processos de preparação dos compostos de acordo com a invenção dão origem a misturas de estereoisómeros, estes isómeros podem ser separados por técnicas convencionais tal como cromatografia preparativa. Os compostos podem ser preparados na forma racémica ou os enantiómeros individuais podem ser preparados por síntese enantioespecífica ou por resolução. Os compostos podem, por exemplo, ser resolvidos nos seus enantiómeros componentes por técnicas correntes, tal como a formação de pares diastereoméricos por formação de sal com um ácido opticamente activo, tais como ácido (-)-di-p-toluoil-D-tartárico e/ou ácido (+)-di-p-toluoil-L-tartárico, seguida de cristalização fraccionada e regeneração da base livre. Os compostos também podem ser resolvidos por formação de ésteres ou amidas diastereoméricas, seguida de separação cromatográfica e remoção do auxiliar quiral. Alternativamente, os compostos podem ser resolvidos utilizando uma coluna de HPLC quiral.

Durante qualquer um dos processos de preparação dos compostos da presente invenção, pode ser necessário e/ou desejável proteger grupos sensíveis ou reactivos em qualquer uma das moléculas em questão. Isto pode ser conseguido por meio de grupos de protecção convencionais, tal como os descritos em *Protective Groups in Organic Chemistry*, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; e T.W. Greene & P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 1991. Os grupos de protecção podem ser removidos numa fase subsequente conveniente utilizando métodos conhecidos na técnica.

São aqui divulgadas composições farmacêuticas contendo um ou mais compostos de fórmula (I) com um veículo farmacêuticamente aceitável. As composições farmacêuticas contendo um ou mais dos compostos da invenção aqui descritos

como o ingrediente activo podem ser preparadas misturando intimamente o composto ou compostos com um veículo farmacêutico de acordo com técnicas convencionais de formulação farmacêutica. O veículo pode tomar uma grande variedade de formas dependendo da via de administração desejada (e. g., oral, parentérica). Assim, para preparações líquidas orais, tais como suspensões, elixires e soluções, os veículos e aditivos adequados incluem água, glicóis, óleos, álcoois, aromatizantes, conservantes, estabilizantes, corantes; para preparações orais sólidas, tais como pós, cápsulas e comprimidos, os veículos e aditivos adequados incluem amidos, açúcares, diluentes, agentes de granulação, lubrificantes, aglutinantes, desintegrantes. As preparações orais sólidas também podem ser revestidas com substâncias tal como açúcares ou ser revestidas entericamente de modo a modular o sítio principal de absorção. Para administração parentérica, o veículo consistirá geralmente de água estéril e podem ser adicionados outros ingredientes para aumentar a solubilidade ou conservação. As suspensões ou soluções injectáveis também podem ser preparadas utilizando veículos aquosos juntamente com aditivos apropriados.

Para preparar as composições farmacêuticas desta divulgação, um ou mais compostos da presente invenção como o ingrediente activo são intimamente misturados com um veículo farmacêutico de acordo com técnicas convencionais de formulação farmacêutica, veículo esse que pode tomar uma grande variedade de formas dependendo da forma de preparação desejada para administração, e. g., oral ou parentérica, tal como intramuscular. Ao preparar as composições na forma de dosagem oral, pode utilizar-se qualquer dos meios farmacêuticos habituais. Assim, para preparações orais líquidas, tais como, por exemplo, suspensões, elixires e soluções, os veículos e

aditivos adequados incluem água, glicóis, óleos, álcoois, aromatizantes, conservantes, corantes; para preparações orais sólidas, tais como, por exemplo, pós, cápsulas, comprimidos ovais, cápsulas de gelatina e comprimidos, os veículos e aditivos adequados incluem amidos, açúcares, diluentes, agentes de granulação, lubrificantes, aglutinantes, desintegrantes. Devido à sua facilidade de administração, os comprimidos e cápsulas representam a forma de dosagem unitária oral mais vantajosa, em cujo caso são obviamente utilizados veículos farmacêuticos sólidos. Se desejado, os comprimidos podem ser revestidos com açúcar ou revestidos entericamente por técnicas correntes. Para as parentéricas, o veículo compreenderá geralmente água estéril, embora possam ser incluídos outros ingredientes, por exemplo, para efeitos tais como ajudar a solubilidade ou para conservação. Também podem ser preparadas suspensões injectáveis, em cujo caso podem ser utilizados veículos líquidos, agentes de suspensão apropriados. Aqui as composições farmacêuticas irão conter, por unidade de dosagem, e. g., comprimido, cápsula, pó, injeção, conteúdo de uma colher de chá, uma quantidade do ingrediente activo necessária para administrar uma dose eficaz como descrita acima. Aqui, as composições farmacêuticas conterão, por unidade de dosagem, e. g., comprimido, cápsula, pó, injeção, supositório, conteúdo de uma colher de chá, desde cerca de 0,1-1000 mg e podem ser dadas a uma dosagem desde cerca de 0,01-200,0 mg/kg/dia, de um modo preferido, desde cerca de 0,1 a 100 mg/kg/dia, de um modo mais preferido, desde cerca de 0,5-50 mg/kg/dia, de um modo mais preferido, desde cerca de 1,0-25,0 mg/kg/dia ou qualquer gama dentro daquelas. No entanto, as dosagens podem variar dependendo do requisito dos doentes, da gravidade do estado a ser tratado e do composto a ser utilizado. Pode ser empregue a utilização de administração diária ou administração pós-periódica.

De um modo preferido, estas composições estão em formas de dosagem unitárias, tais como comprimidos, pílulas, cápsulas, pós, granulados, soluções ou suspensões parentéricas estéreis, preparações para pulverização calibrada de aerossol ou líquido, gotas, ampolas, dispositivos auto-injectores ou supositórios; para administração oral, parentérica, intranasal, sublingual ou rectal, ou para administração por inalação ou insuflação. Alternativamente, a composição pode ser apresentada numa forma adequada para administração semanal ou mensal; por exemplo, um sal insolúvel do composto activo, tal como o sal de decanoato, pode ser adaptado para proporcionar uma preparação de depósito para injeção intramuscular. Para preparar composições sólidas, tais como comprimidos, o ingrediente activo principal é misturado com um veículo farmacêutico, e. g., ingredientes convencionais de formulação de comprimidos, tais como amido de milho, lactose, sacarose, sorbitol, talco, ácido esteárico, estearato de magnésio, fosfato dicálcico ou gomas, e outros diluentes farmacêuticos, e. g., água, para formar uma composição de pré-formulação sólida contendo uma mistura homogénea de um composto da presente invenção, ou um seu sal farmacêuticamente aceitável. Quando se refere estas composições de pré-formulação como homogéneas, pretende-se dizer que o ingrediente activo se encontra dispersado uniformemente em toda a composição, pelo que a composição pode ser prontamente subdividida em formas de dosagem igualmente eficazes, tais como comprimidos, pílulas e cápsulas. Esta composição de pré-formulação sólida é, depois, subdividida em formas de dosagem unitárias do tipo descrito acima contendo desde 0,1 a cerca de 1000 mg do ingrediente activo da presente invenção. Os comprimidos ou pílulas da nova composição podem ser revestidos ou formulados de outro modo para originar uma forma de dosagem que proporciona a vantagem de acção prolongada. Por exemplo, o comprimido ou pílula pode

compreender um componente de dosagem interior e um exterior, encontrando-se o último na forma de um envelope sobre o anterior. Os dois componentes podem ser separados por uma camada entérica que serve para resistir à desintegração no estômago e permitir que o componente interior passe intacto para o duodeno ou que seja retardado na sua libertação. Pode utilizar-se uma diversidade de materiais para tais camadas ou revestimentos entéricos, incluindo esses materiais um número de ácidos poliméricos com materiais, tais como goma-laca, álcool cetílico e acetato de celulose.

As formas líquidas nas quais as novas composições da presente invenção podem ser incorporadas para administração por via oral ou por injeção incluem, soluções aquosas, xaropes adequadamente aromatizados, suspensões aquosas ou oleosas, e emulsões aromatizadas com óleos comestíveis, tais como óleo de semente de algodão, óleo de sésamo, óleo de coco ou óleo de amendoim, bem como elixires e veículos farmacêuticos semelhantes. Os agentes de dispersão ou suspensão adequados para suspensões aquosas, incluem gomas sintéticas e naturais, tais como tragacanta, goma-arábica, alginato, dextrano, carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, polivinil-pirrolidona ou gelatina.

Uma composição farmacêutica compreendendo qualquer um dos compostos como aqui definidos e um veículo farmacêuticamente aceitável pode ser utilizada para tratar depressão. A composição farmacêutica pode conter entre cerca de 0,1 mg e 1000 mg, de um modo preferido, cerca de 50 a 500 mg, do composto e pode ser constituída em qualquer forma adequada para o modo de administração seleccionado. Os veículos incluem excipientes farmacêuticos necessários e inertes, incluindo, mas não se

limitando a aglutinantes, agentes de suspensão, lubrificantes, aromatizantes, edulcorantes, conservantes, corantes e revestimentos. As composições adequadas para administração oral incluem formas sólidas, tais como pílulas, comprimidos, comprimidos ovais, cápsulas (incluindo, cada, formulações de libertação imediata, libertação programada e libertação prolongada), granulados e pós, e formas líquidas, tais como soluções, xaropes, elixires, emulsões e suspensões. As formas úteis para administração parentérica incluem soluções, emulsões e suspensões estéreis.

Vantajosamente, os compostos da presente invenção podem ser administrados numa única dose diária ou a dosagem diária total pode ser administrada em doses divididas de duas, três ou quatro vezes ao dia. Além disso, os compostos da presente invenção podem ser administrados na forma intranasal via utilização tópica de veículos intranasais adequados ou via pensos transdérmicos bem conhecidos dos especialistas na matéria. Ao serem administrados na forma de um sistema de administração transdérmico, a administração da dosagem será, evidentemente, contínua em vez de intermitente ao longo do regime de dosagem.

Por exemplo, para administração oral na forma de um comprimido ou cápsula, o componente fármaco activo pode ser combinado com um veículo inerte, não tóxico, farmacologicamente aceitável, oral, tais como etanol, glicerol, água. Além disso, quando desejado ou necessário, podem ser incorporados na mistura aglutinantes; lubrificantes, desintegrantes e corantes adequados. Os aglutinantes adequados incluem amido, gelatina, açúcares naturais, tais como glucose ou beta-lactose, adoçantes de milho, gomas naturais e sintéticas, tais como goma-arábica, tragacanta ou oleato de sódio, estearato de sódio, estearato de

magnésio, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio. Os desintegrantes incluem, amido, metilcelulose, agar, bentonite, goma de xantana.

As formas líquidas em agentes de suspensão ou dispersantes adequadamente aromatizados, tais como as gomas sintéticas e naturais, por exemplo, tragacanta, goma-arábica, metilcelulose. Para administração parentérica são desejadas suspensões e soluções estéreis. Quando é desejada administração intravenosa, São utilizadas preparações isotónicas que contêm geralmente conservantes adequados.

Os compostos desta invenção podem ser administrados em qualquer uma das composições precedentes e de acordo com os regimes de dosagem estabelecidos na técnica, sempre que for necessário tratar depressão.

A dosagem diária dos produtos pode variar numa gama grande desde 0,01 a 200 mg/kg por humano adulto por dia. Para administração oral, as composições são, de um modo preferido, proporcionadas na forma de comprimidos contendo, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250, 500 e 1000 miligrama do ingrediente activo para o ajuste sintomático da dosagem ao doente a ser tratado. Uma quantidade eficaz do fármaco é habitualmente fornecida a um nível de dosagem de cerca de 0,01 mg/kg até cerca de 200 mg/kg de peso corporal por dia. De um modo preferido, a gama é de cerca de 0,1 até cerca de 100,0 mg/kg de peso corporal por dia, de um modo mais preferido, desde cerca de 0,5 mg/kg a cerca de 50 mg/kg, de um modo mais preferido, desde cerca de 1,0 a cerca de 25,0 mg/kg de peso corporal por dia. Os compostos podem ser administrados num regime de 1 a 4 vezes por dia.

As dosagens óptimas a serem administradas podem ser prontamente determinadas pelos especialistas na técnica, e variarão com o composto particular utilizado, o modo de administração, a potência da preparação, o modo de administração e o avanço do estado patológico. Além disso, factores associados ao doente particular a ser tratado, incluindo idade, peso e regime alimentar do doente e momento de administração, resultarão na necessidade de ajustar as dosagens.

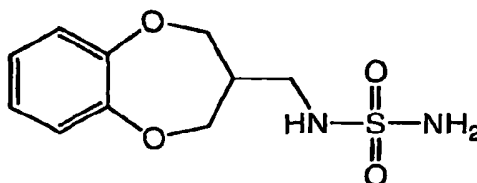
Um especialista na técnica reconhecerá que ensaios *in vivo* e *in vitro* utilizando modelos celulares e/ou animais conhecidos e geralmente aceites, adequados permitem prever a capacidade de um composto de ensaio para tratar ou prevenir um dado distúrbio.

Um especialista na técnica reconhecerá ainda que podem ser realizados estudos clínicos humanos, incluindo estudos de gama de dose e eficácia em indivíduos saudáveis e/ou naqueles que sofrem de um dado distúrbio, de acordo com métodos bem conhecidos nas técnicas clínica e médica.

Os Exemplos seguintes são explicitados para ajudar a compreender a invenção.

Exemplo 1

((3,4-Di-hidro-2H-benzo[b][1,4]dioxepin-3-il)metil)sulfamida (Composto nº 3)



Catecol (5,09 g, 46,2 mmol) e carbonato de potássio foram combinados em acetonitrilo e aquecidos a refluxo, durante uma hora. Foi adicionado 2-clorometil-3-cloro-1-propeno (5,78 g, 46,2 mmol) e a reacção foi prosseguida a refluxo, durante 24 horas. A solução foi arrefecida até à temperatura ambiente e filtrada. O filtrado foi evaporado e o resíduo foi diluído com água e extraído com éter dietílico (3 ×). A solução orgânica reunida foi seca sobre mgSO_4 e concentrada. A cromatografia (2% éter etílico em hexano) produziu 3-metileno-3,4-di-hidro-2H-benzo[b][1,4]dioxepina como um óleo incolor.

MS (ESI): 163,2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ : 6,94 (m, 4H), 5,07 (s, 2H), 4,76 (s, 4H).

3-Metileno-3,4-di-hidro-2H-benzo[b][1,4]dioxepina (5,00 g, 30,8 mmol) foi dissolvida em THF seco (100 mL). Foi adicionado borano-THF (1,0 M em THF, 10,3 mL) a 0 °C. A reacção foi agitada à T.A., durante 5 horas. Foi adicionado ácido aminossulfónico (6,97 g, 61,6 mmol). A reacção foi aquecida a refluxo, de um dia

para o outro. A reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente e foi adicionado hidróxido de sódio aquoso (3,0 M, 100 mL). A solução foi extraída com acetato de etilo (3 × 100 mL). A solução orgânica reunida foi seca sobre mgSO_4 . A solução foi concentrada sob vácuo e purificada por cromatografia (2% a 8% metanol em diclorometano) para produzir ((3,4-di-hidro-2H-benzo[b][1,4]dioxepin-3-il)metil)amina como um óleo incolor.

MS (ESI): 180,1 ($\text{M}+\text{H}^+$)

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO), δ : 6,92 (m, 4H), 4,21 (m, 2H), 4,07 (m, 2H), 3,33 (largo, 2H), 3,16 (d, $J = 4$ Hz, 1H), 2,72 (d, $J = 4$ Hz, 1 H), 2,30 (m, 1 H).

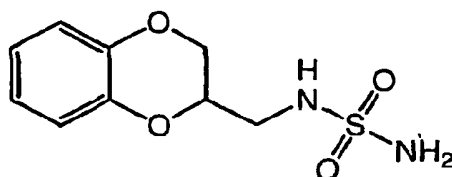
((3,4-Di-hidro-2H-benzo[b][1,4]dioxepin-3-il)metil)amina (2,90 g, 16,2 mmol) e sulfamida (3,11 g, 32,4 mmol) foram combinadas em dioxano seco (60 mL) e aquecidos a refluxo, de um dia para o outro. Foi adicionado clorofórmio e o precipitado foi removido por filtração. O filtrado foi concentrado sob vácuo e purificado por cromatografia (2% a 8% acetona em diclorometano) para produzir o composto em epígrafe como um sólido esbranquiçado.

258,8 ($\text{M}+\text{H}^+$)

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO), δ : 6,92 (m, 4H), 6,71 (largo, 1 H), 6,59 (largo, 2H), 4,19 (m, 2H), 4,04 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,39 (m, 1 H).

Exemplo 2

N-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (Composto nº 1)



2,3-Di-hidro-1,4-benzodioxin-2-ilmetilamina racémica (4,4 g, 26 mmol) e sulfamida (5,1 g, 53 mmol) foram combinadas em 1,4-dioxano (100 mL) e mantidas a refluxo, durante 2 h. A reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente e uma pequena quantidade de sólido foi filtrada e rejeitada. O filtrado foi evaporado *in vacuo* e o resíduo foi purificado utilizando cromatografia em coluna flash (DCM:Metanol - 10:1) para produzir um sólido branco. O sólido foi recrystalizado de DCM para produzir o composto em epígrafe como um sólido branco.

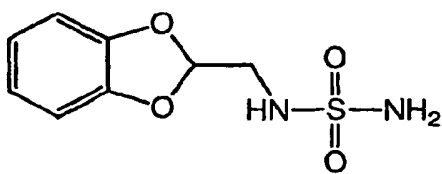
p.f.: 97,5 - 98,5 °C

Análise Elementar:				
Anal Calculado:	C, 44,25;	H, 4,95;	N, 11,47;	S, 13,13
Anal Encontrado:	C, 44,28;	H, 4,66;	N, 11,21;	S, 13,15

RMN de ^1H (DMSO d_6) δ 6,85 (m, 4H), 6,68 (s 1, 3H, NH), 4,28 (m, 2H), 3,97 (dd, $J = 6,9,11,4$ Hz, 1 H), 3,20 (m, 1 H), 3,10 (m, 1H).

Exemplo 3

(Benzo[1,3]dioxol-2-ilmetil)sulfamida (Composto nº 2)



Foram combinados catecol (10,26 g, 93,2 mmol), metóxido de sódio (25% em peso de metanol, 40,3 g, 186 mmol) e dicloroacetato de metilo (13,3 g, 93,2 mmol) em metanol seco (100 mL). A solução foi aquecida a refluxo, de um dia para o outro. A reacção foi arrefecida até à temperatura ambiente, acidificada pela adição de ácido clorídrico concentrado e, em seguida, reduzida em volume sob vácuo até cerca de 50 mL. Foi adicionada água e a mistura foi extraída com éter dietílico (3 × 100 mL). A solução orgânica reunida foi seca com MgSO_4 , concentrada até um sólido castanho e cromatografada (2% acetato de etilo em hexano) para produzir éster metílico do ácido benzo[1,3]dioxole-2-carboxílico como um óleo incolor.

MS (ESI): 195,10 ($\text{M}+\text{H}^+$).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ : 6,89 (largo, 4H), 6,29 (s, 1H), 4,34 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 1,33 (t, $J = 7$ Hz, 3H).

Ao éster metílico do ácido benzo[1,3]dioxole-2-carboxílico (7,21 g, 40,0 mmol) foi adicionado hidróxido de amónio (29% em água, 10 mL) e suficiente acetonitrilo para tornar a mistura homogénea (-5 mL). A solução foi agitada durante duas horas à temperatura ambiente e, em seguida, foi adicionada água

destilada. A amida do ácido benzo[1,3]dioxole-2-carboxílico precipitou como um sólido branco e foi colhida por filtração e utilizada sem mais purificação.

MS (ESI): 160,00 ($M+H^+$)

RMN de 1H (300 MHz, DMSO), δ : 7,99 (s, largo, 1H), 7,72 (s, largo, 1 H), 6,94 (m, 2H) 6,86 (m, 2H), 6,30 (s, 1 H).

A amida do ácido benzo[1,3]dioxole-2-carboxílico (5,44 g, 32,9 mmol) foi dissolvida em tetra-hidrofurano (THF, 100 mL). Foi adicionado lentamente hidreto de alumínio lítio (LAH, 1 M em THF, 39,5 mL, 39,5 mmol) à solução, à temperatura ambiente. A reacção foi agitada, à temperatura ambiente, durante 24 horas. Foi adicionada água destilada para destruir o excesso de LAH. Foi adicionado hidróxido de sódio aquoso (3,0 M, 100 mL) e a solução foi extraída com acetato de etilo (3 $\times$ 100 mL). A solução orgânica reunida foi lavada com água e seca sobre $MgSO_4$. O solvente foi evaporado para produzir C-benzo[1,3]dioxol-2-il-metilamina como um óleo incolor.

MS (ESI): 152,1 ($M+H^+$)

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$), δ 6,87 (m, 4H), 6,09 (t, $J = 4$ Hz, 1 H), 3,13 (d, $J = 4$ Hz, 2H)

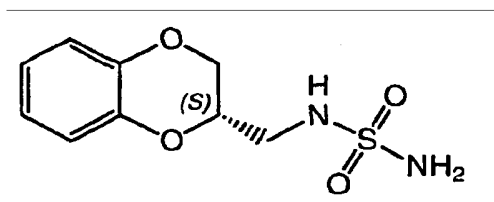
C-Benzo[1,3]dioxol-2-il-metilamina (2,94 g, 19,4 mmol) e sulfamida (3,74 g, 38,9 mmol) foram combinadas em dioxano seco (50 mL) e a solução foi aquecida a refluxo, de um dia para o outro. A reacção foi concentrada e o resíduo foi cromatografado (2% a 10% acetona em diclorometano) para produzir o composto em epígrafe como um sólido branco.

MS (ESI): 230,0 (M+H⁺)

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ: 6,87 (m, 4H), 6,25 (t, J= 4 Hz, 1 H), 4,79 (largo, 1 H), 4,62 (largo, 1 H), 3,64 (d, J = 4 Hz, 2H).

Exemplo 4

(2S)-(-)-N-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (Composto nº 4)



Catecol (13,2 g, 0,12 mol) e carbonato de potássio (16,6 g, 0,12 mol) foram agitados em DMF (250 mL) e foi adicionado tosilato de (2R)-glicidilo (22,8 g, 0,10 mol) e a reação foi agitada, a 60 °C, durante 24 h. A reação foi arrefecida até à temperatura ambiente e diluída com água gelada (1 L) e extraída com éter dietílico (4 vezes). A solução orgânica reunida foi lavada 3 vezes com carbonato de potássio a 10%, uma vez com água, uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e evaporada *in vacuo* para produzir um sólido branco o qual foi purificado por cromatografia em coluna flash (DCM:Metanol - 50:1) para produzir ((2S)-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metanol como um sólido.

O sólido (13,3 g, 68 mmol) foi dissolvido em piridina (85 mL) arrefecido até 0 °C, foi adicionado cloreto de

p-toluenossulfonilo (13,0 g, 68 mmol) e a mistura reaccional agitada, à temperatura ambiente, durante 20 h. A reacção foi diluída com éter dietílico (1 L) e HCl 1 N (1,2 L). A camada aquosa foi separada e lavada 2 vezes com HCl 1 N (500 mL), 4 vezes com água (150 mL), uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca (MgSO_4) e evaporada *in vacuo* para produzir um sólido branco o qual foi purificado por cromatografia em coluna flash (Hept:AE - 2:1) para produzir éster de (2S)-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetilo do ácido tolueno-4-sulfónico como um sólido branco.

O sólido branco foi combinado com ftalimida de potássio (14,4 g, 78 mmol) em DMF (250 mL) e aquecido a refluxo, durante 1 h, arrefecido até à temperatura ambiente e vertido para água sob agitação vigorosa (1,5 L) e agitado 30 min. O sólido branco foi filtrado e o sólido foi lavado várias vezes com água, NaOH a 2% e novamente água e deixado secar ao ar para produzir a (2S)-2-(2;3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-isoindole-1,3-diona como um sólido pulverulento branco.

O sólido pulverulento branco foi combinado com hidrazina (2,75 g, 86 mmol) em EtOH (225 mL) e aquecido a refluxo, durante 2 h, arrefecido até à temperatura ambiente e foi adicionado HCl 1 N a pH 1,0 e agitado durante 15 min. O sólido branco foi filtrado e lavado com EtOH fresco (sólido rejeitado) e o filtrado foi evaporado *in vacuo* até um sólido, o qual foi partilhado entre éter dietílico e NaOH aquoso diluído. A solução de éter dietílico foi seca (Na_2SO_4) e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo amarelo claro. O óleo foi purificado por cromatografia em coluna flash (DCM:MeOH-10:1) para produzir um óleo. Uma porção do óleo (4,82 g, 29 mmol) em 2-propanol (250 mL) foi tratada com HCl 1 N (30 mL) e aquecida num banho de

vapor até homogênea e, em seguida, deixada arrefecer até à temperatura ambiente. Depois de 3 h, a mistura foi arrefecida com gelo durante 2 h. Foi recuperado por filtração um sólido em flocos brancos (o correspondente sal de HCl de (2S)-C-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina) e, em seguida, novamente recristalizado de 2-propanol para produzir um sólido branco.

$$[\alpha]_D = -69,6 \text{ (c = 1,06, EtOH)}$$

O sólido branco foi partilhado entre DCM e NaOH diluído, e o DCM foi seco (NaSO_4) e evaporado *in vacuo* para produzir (2S)-C-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina como um óleo.

$$[\alpha]_D = -57,8 \text{ (c = 1,40, CHCl}_3\text{)}$$

O óleo (2,1 g, 12,7 mmol) e sulfamida (2,44 g, 25,4 mmol) foram aquecidos a refluxo, em dioxano (75 mL), durante 2 h e o produto em bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (DCM:MeOH 10:1) para produzir um sólido branco, o qual foi recristalizado de DCM para produzir o composto em epígrafe como um sólido cristalino branco.

pf 102-103 °C

$$[\alpha]_D = -45,1^\circ \text{ (c = 1,05, M);}$$

RMN de ^1H (DMSO-d_6) δ 6,86 (m, 4H), 6,81 (s 1, 3H, NH), 4,3 (m, 2H); 3,97 (dd, $J = 6,9, 11,4$ Hz, 1 H), 3,20 (dd, $J = 5,5, 13,7$ Hz, 1 H), 3,10 (dd, $J = 6,9, 13,7$ Hz, 1H)

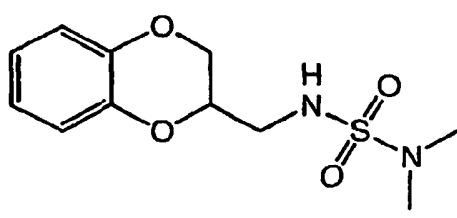
Análise Elementar:

Anal Calculado: C, 44,25; H, 4,95; N, 11,47; S, 13,13

Anal Encontrado: C, 44,20; H, 4,69; N, 11,40; S, 13,22

Exemplo 5

N-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-N',N' dimetilsulfamida (Composto nº 6)



2,3-Di-hidro-1,4-benzodioxin-2-ilmetilamina racémica (8,25 g, 5,0 mmol) e trietilamina (1,52 g, 15 mmol) foram combinadas em DMF (10 mL) e arrefecidas num banho de gelo à medida que era adicionado cloreto de dimetilsulfamoílo (1,44 g, 10 mmol). A mistura reaccional foi, depois, agitada durante 3 h com arrefecimento continuado. A mistura reaccional foi partilhada entre acetato de etilo e água e a solução de acetato de etilo foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca (MgSO₄) e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo. O óleo foi purificado utilizando cromatografia em coluna flash (acetato de etilo:Heptano 1:1) para produzir um sólido branco, o qual foi recristalizado (acetato de etilo/Hexano) para produzir o composto em epígrafe como um sólido flocular branco.

pf 76 - 78 °C

MS 273 (MH⁺)

Análise Elementar:

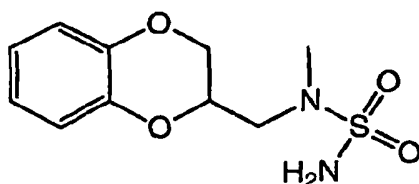
Anal Calculado: C, 48,52; H, 5,92; N, 10,29; S, 11,78

Anal Encontrado: C, 48,63; H, 5,62; N, 10,20; S, 11,90

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 6,87 (m, 4H), 4,59 (m 1, 1H, NH), 4,35 (m, 1 H), 4,27 (dd, $J = 2,3, 11,4$ Hz, 1 H), 4,04 (dd, $J = 7,0, 11,4, 1$ H), 3,36 (m, 2H), 2,82 (s, 6H).

Exemplo 6

N-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-N-metilsulfamida (Composto nº 7)



2,3-Di-hidro-1,4-benzodioxin-2-ilmetilamina racémica (825 mg, 5 mmol) foi dissolvida em formato de etilo (15 mL), mantida a refluxo, durante 30 min e evaporada *in vacuo* para produzir N-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-formamida como um óleo.

O óleo em éter dietílico (25 mL) foi tratado com LAH 1 M em THF (9,0 mL, 9,0 mmol) a 0 °C e agitado durante 5 h, à temperatura ambiente. A reacção foi arrefecida num banho de gelo e desactivada com água (0,50 mL), seguida de NaOH 3 N (0,50 mL)

e água (0,50 mL). A mistura foi, depois, agitada, à temperatura ambiente, durante 1 h. O sólido foi filtrado e o filtrado foi evaporado *in vacuo* para produzir um resíduo o qual foi partilhado entre HCl 1 N e éter dietílico. A fase aquosa foi basificada com NaOH 1 N e extraída com éter dietílico. A fase orgânica foi seca (MgSO₄) e evaporada *in vacuo* para produzir (2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-metil-amina como um óleo.

MS 180 (MH⁺)

RMN de ¹H (CDCl₃) δ 6,85 (m, 4H), 4,30 (m, 2H), 4,02 (dd, J = 7,9, 11,6 Hz, 1 H), 2,85 (m, 2H), 2,50 (s, 3H)

O óleo (380 mg, 2,1 mmol) e sulfamida (820 mg, 8,5 mmol) foram combinados em dioxano (15 mL), mantidos a refluxo, durante 1,5 h e evaporados *in vacuo* para produzir um resíduo em bruto. O resíduo foi purificado via cromatografia em coluna (acetato de etilo/Heptano 1:1) e o sólido resultante foi recristalizado de acetato de etilo/Hexano para produzir o composto em epígrafe como um sólido branco.

pf 97-98 °C

MS 257 (M⁻¹)

Análise Elementar:

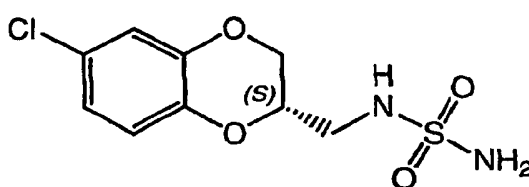
Anal Calculado: C, 46,50; H, 5,46; N, 10,85; S, 12,41

Anal Encontrado: C, 46,48; H, 5,65; N, 10,90; S, 12,07

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 6,86 (m, 4H), 4,52 (s 1, 2H), 4,46 (m, 1H), 4,29 (dd, $J = 2,3, 11,5$ Hz, 1 H), 4,05 (dd, $J = 6,5, 11,5$ Hz, 1 H), 3,51 (dd, $J_{6,7}, 14,9$ Hz, 1 H), 3,40 (dd, $J = 5,9, 14,9$ Hz, 1 H), 2,99 (s, 3H).

Exemplo 7

(2S)-(-)-N-(6-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (Composto nº 8)



Seguindo o procedimento delineado no Exemplo 4 acima, o 4-clorocatecol foi feito reagir para produzir uma mistura de (2S)-C-(7-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina e (2S)-C-(6-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina (proporção ca. 3:1 dos isômeros 6-cloro:7-cloro por RP HPLC).

A mistura foi dissolvida em 2-propanol (100 mL) e foi adicionado HCl 1 N em éter dietílico até se obter $\text{pH} = 1,0$. O sal de cloridrato que precipitou foi filtrado (2,65 g) e recristalizado de metanol/IPA para produzir cristais brancos. Os

cristais brancos foram partilhados entre DCM e NaOH diluído. O DCM foi seco e evaporado *in vacuo* para produzir (2S)-C-(6-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina purificada como um óleo.

$$[\alpha]_{\text{D}} = -67,8 \text{ (c = 1,51, CHCl}_3\text{)}$$

O óleo (7,75 mmol) e sulfamida (1,50 g, 15,5 mmol) foram combinados em dioxano (50 mL) e mantidos a refluxo, durante 2,0 h, arrefecidos até à temperatura ambiente e evaporados *in vacuo* para produzir um sólido. O produto foi purificado via coluna flash utilizando DCM/metanol 20:1 para produzir o composto em epígrafe como um sólido branco.

MS 277 (M^{-1})

$$[\alpha]_{\text{D}} = -59,9^{\circ} \text{ (c = 1,11, M)}$$

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 6,90 (d, $J = 2,2$ Hz, 1 H), 6,81 (m, 2H), 4,76 (m, 1 H), 4,55 (s, 2H), 4,40 (m, 1 H), 4,29 (dd, $J = 2,4, 11,5$ Hz, 1 H), 4,05 (dd, $J = 7,1, 11,5$ Hz, 1 H), 3,45 (m, 2H)

Análise Elementar:

Anal Calculado: C, 38,78; H, 3,98; N, 10,05

Anal Encontrado: C, 38,80; H, 3,67; N, 9,99.

Os filtrados do sal de cloridrato de (2S)-C-(6-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina cristalizado preparado acima foram recuperados (ca. 1:1 de isómeros 6-cloro:7-cloro) e evaporados *in vacuo* para produzir um sólido, o qual foi partilhado entre DCM (200 mL) e NaOH diluído (0,5 M,

50 mL). A solução de DCM foi lavada uma vez com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca (Na_2SO_4) e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo, o qual foi purificado via HPLC de fase inversa (10 - 50% ACN com 0,16% TFA em água com 0,20% TFA) para produzir (2S)-C-(7-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-metilamina como um resíduo.

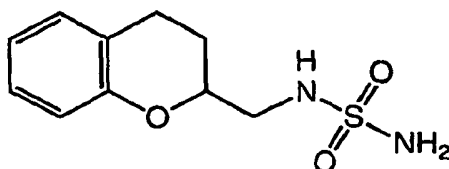
O resíduo foi combinado com sulfamida (0,90 g, 9,4 mmol) em dioxano (25 mL) e mantido a refluxo, durante 2,5 h, arrefecido até à temperatura ambiente e evaporado *in vacuo* para produzir um óleo. O óleo foi purificado por cromatografia em coluna flash utilizando DCM/metanol - 10:1 para produzir (2S)-(-)-N-(7-Cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida como um sólido branco.

MS 277 (M^{-1})

RMN de ^1H ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 6,88 (d, $J = 0,7$ Hz, 1 H), 6,81 (m, 2H), 4,37 (m, 1H), 4,30 (dd, $J = 2,3, 11,6$ Hz, 1 H), 4,04 (dd, $J = 7,0, 11,6$ Hz, 1 H), 3,38 (m, 2H).

Exemplo 8

Croman-2-ilmetilsulfamida (Composto nº 10)



Ácido cromano-2-carboxílico (4,5 g, 25 mmol) e HOBT (3,86 g, 25 mmol) foram combinados em DCM (40 mL) e DMF (10 mL). Foi adicionada dimetilaminopropiletilcarbodiimida (EDC, 4,84 g, 25 mmol), à temperatura ambiente e a mistura reaccional foi agitada durante 30 min. Foi adicionado hidróxido de amónio (2,26 mL, 33,4 mmol) e a mistura reaccional foi agitada durante 16 h. A mistura reaccional foi diluída com DCM (50 mL) e água (50 mL) e o pH da mistura foi ajustado até cerca de pH = 3,0 com HCl 1 N. A DCM foi separada e a fase aquosa extraída duas vezes com DCM. A fase de DCM reunida foi seca (Na₂SO₄) e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo, o qual foi purificado por cromatografia em coluna flash (acetato de etilo) para produzir um óleo.

O óleo (5,35 g, 30 mmol) em THF (90 mL) foi agitado à medida que era adicionado LAH 1 M em THF (36 mL, 36 mmol) e a mistura reaccional foi, depois, agitada, à temperatura ambiente, durante 20 h. A reacção foi desactivada com água, agitada durante 2 horas, a solução decantada, seca (Na₂SO₄) e evaporada *in vacuo* para produzir C-croman-2-il-metilamina como uma amina oleosa.

A amina oleosa (1,63 g, 10 mmol) e sulfamida (1,92 g, 20 mmol) foram combinadas em dioxano (50 mL) e trazidas a refluxo, durante 2 h. A solução foi arrefecida e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo, o qual foi purificado via cromatografia em coluna (DCM:Metanol 10:1) para produzir um sólido branco. O sólido foi recristalizado de acetato de etilo/hexano para produzir croman-2-ilmetilsulfamida como um sólido branco.

pf 100-101 °C

MS 241 (M^{-1})

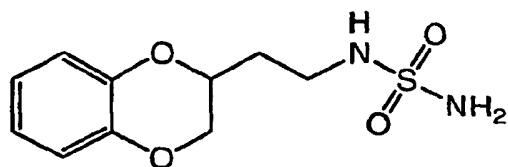
Análise Elementar:

Anal Calculado: C, 49,57; H, 5,82; N, 11,56; S, 13,23

Anal Encontrado: C, 49,57; H, 5,80; N, 11,75; S, 13,33.

Exemplo 9.

2-(2,3-Di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-il)-etilsulfamida (Composto nº 16)



Foi adicionado cianeto de potássio (2,05 g, 31,5 mmol) a 2-bromometil-(2,3-di-hidrobenzo[1,4]dioxina) (6,87 g, 30 mmol) em

DMSO (90 mL) e agitado, à temperatura ambiente, durante 20 h. A mistura reaccional foi, depois, diluída com água (250 mL) e extraída duas vezes com éter dietílico. O éter dietílico foi lavado com água, em seguida, lavado duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seco (Na_2SO_4) e evaporado *in vacuo* para produzir 2-cianometil-(2,3-di-hidrobenzo[1,4]dioxina) como um sólido branco.

RMN de ^1H (CDCl_3) δ 6,89 (m, 4H), 4,50 (m, 1H), 4,31 (dd, $J = 2,3, 11,5$ Hz, 1 H), 4,08 (dd, $J = 6,2, 11,6$ Hz, 1 H), 2,78 (d, $J = 6,1$, Hz, 2H)

A 2-cianometil-(2,3-di-hidrobenzo[1,4]dioxina) foi dissolvida em THF (50 mL) e foi adicionado BH_3 1 M em THF (80 mL, 80 mmol) e a mistura reaccional foi mantida a refluxo, durante 5 h, em seguida, agitada, à temperatura ambiente, durante 16 h. Com arrefecimento em banho de gelo foi adicionado HCl 2 N até se atingir um pH = 1,0. A mistura reaccional foi, depois, agitada durante 1 h à temperatura ambiente e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo. O óleo foi partilhado entre NaOH 3 N e éter dietílico, e a solução de éter dietílico foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca (Na_2SO_4) e evaporada *in vacuo* para produzir 2-(2,3-di-hidrobenzo[1,4]dioxin-2-il)etilamina em bruto.

MS $(\text{M}+\text{H})^+$ 180.

A 2-(2,3-di-hidrobenzo[1,4]dioxin-2-il)etilamina em bruto em dioxano (100 mL) foi combinada com sulfamida (3,0 g, 31 mmol) e aquecidas a refluxo, durante 2 h. A solução foi arrefecida e evaporada *in vacuo* para produzir um sólido cor de laranja, o qual foi purificado por cromatografia em coluna (DCM:MeOH -

10:1) para produzir um sólido branco. O sólido foi recristalizado de DCM para produzir o composto em epígrafe como um sólido.

MS (M-1) 257

PF 101 - 103 °C (corr)

RMN de ^1H (CDCl_3): δ 6,86 (m, 4H), 4,70 (m, 1 H), 4,52 (s, 2H), 4,30 (m, 2H), 3,94 (dd, $J = 7,4, 11,3$ Hz, 1 H), 3,43 (dd, $J = 6,4, 12,9$ Hz, 2H), 1,94 (dd, $J = 6,5, 12,9, 2\text{H}$).

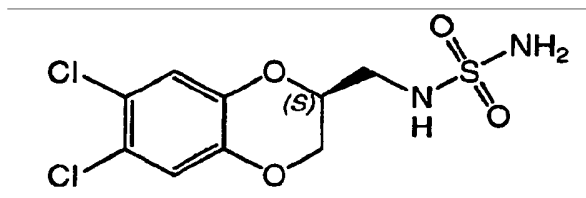
Análise Elementar:

Medido: C, 46,48; H, 5,60; N, 10,81; S, 12,41

Calculado: C, 46,50; H, 5,46; N, 10,85; S, 12,41

Exemplo 10

(2S)-(-)-N-(6,7-Dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (Composto nº 29)



4,5-Diclorocatecol (8,6 g, 48 mmol) e carbonato de potássio (6,64 g, 48 mmol) foram agitados em DMF (200 mL). Foi adicionado tosilato de (2R)-glicidilo (9,12 g, 40 mmol) e a mistura reaccional foi agitada, a 60 °C, durante 24 h. A mistura

reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e, em seguida, diluída com água gelada (600 mL) e extraída com éter dietílico (4 vezes). A solução orgânica reunida foi lavada 3 vezes com carbonato de potássio a 10%, duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca (MgSO_4) e evaporada *in vácuo*, para produzir um óleo viscoso de (2S)-2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxina) metanol.

O óleo de (2S)-2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxina)metanol (6,4 g, 27 mmol) foi dissolvido em piridina (50 mL) arrefecida até 0 °C. Em seguida, foi adicionado cloreto de p-toluenossulfonilo (5,2 g, 27 mmol) e a mistura reaccional foi agitada, à temperatura ambiente, durante 20 h. A mistura reaccional foi diluída com éter dietílico e HCl 1 N (750 mL) e a camada aquosa foi separada e lavada 2 vezes com HCl 1 N (250 mL), uma vez com água (150 mL), duas vezes com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca (MgSO_4) e evaporada *in vácuo*, para produzir um sólido amarelo claro de éster de (2S)-6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetilo do ácido tolueno-4-sulfónico.

RMN de ^1H (CDCl_3): δ 7,79 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,36 (d, $J = 8,0$ Hz; 2H), 6,94 (s, 1 H), 6,83 (s, 1 H), 4,37 (m, 1 H), 4,2 (m, 3H), 4,03 (dd, $J = 6,3, 11,7$ Hz, 1 H), 2,47 (s, 3H).

O éster de (2S)-6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetilo do ácido tolueno-4-sulfónico (8,0 g, 20,5 mmol) foi combinado com ftalimida de potássio (6,1 g, 33 mmol) em DMF (75 mL) e aquecido a refluxo, durante 1 h, arrefecido até à temperatura ambiente e vertido para água sob agitação vigorosa (0,5 L) e, em seguida, agitado 30 min. O sólido branco foi filtrado e o sólido foi lavado várias vezes com água, NaOH 2% e

novamente água e, em seguida, deixado secar ao ar para produzir (2S)-2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-isoindole-1,3-diona (6,0 g, 80%) como um sólido pulverulento branco.

O sólido pulverulento branco foi combinado com hidrazina (1,06 g, 33 mmol) em EtOH (80 mL) e aquecido a refluxo, durante 2 h, em seguida, arrefecido até à temperatura ambiente. Foi adicionado HCl 1 N para ajustar o pH da mistura reaccional até pH 1,0 e a mistura reaccional foi, depois, agitada durante 15 min. O sólido branco foi filtrado e lavado com EtOH fresco (sólido rejeitado) e o filtrado foi evaporado *in vacuo*, até um sólido, o qual foi partilhado entre éter dietílico e NaOH aquoso diluído. A solução de éter dietílico foi seca (Na₂SO₄) e evaporada *in vacuo* para produzir um óleo viscoso de (2S)-2-aminometil-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxina).

RMN de ¹H (CDCl₃): δ 6,98 (s, 1 H), 6,96 (s, 1 H), 4,25 (dd, J = 2,0, 11,2 Hz, 1H), 4,15 (m, 1 H), 4,0 (m, 1 H), 2,97 (d, J = 5,5 Hz, 2H)

Uma porção do óleo (3,8 g, 16 mmol) e sulfamida (3,1 g, 32,4 mmol) foram aquecidos a refluxo, em dioxano (100 mL) durante 2 h e o produto em bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (DCM:MeOH 20:1) para produzir o composto em epígrafe como um sólido branco, o qual foi recristalizado de acetato de etilo/hexano para produzir o composto em epígrafe como um sólido cristalino branco.

MS [M-H]⁻ 311,0

pf 119-121 °C

$[\alpha]_D = -53,4^\circ (c = 1,17, M)$

RMN de 1H (DMSO-d₆): δ 7,22 (s, 1 H), 7,20 (s, 1 H), 6,91 (s 1, 1H), 6,68 (s 1, 2H), 4,35 (m, 2H), 4,05 (dd, J = 6,5, 11,5 Hz, 1 H), 3,15 (m, 2H) Análise Elementar:

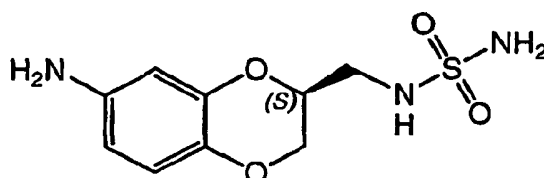
Análise Elementar:

Medido: C, 34,52; H, 3,22; N, 8,95; Cl, 22,64; S, 10,24

Calculado: C, 34,64; H, 2,68; N, 8,87; Cl, 22,94; S, 10,35.

Exemplo 11

(2S)-(-)-N-(7-Amino-2,3-di-hidro-benzor[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (Composto nº 36)



(2S)-(-)-N-(2,3-Di-hidro-7-nitro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (1,2 g, 4,15 mmol) foi preparada de 4-nitrocatecol de acordo com o processo delineado no Exemplo 4. A (2S)-(-)-N-(2,3-Di-hidro-7-nitro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida foi, depois, combinada com Pd a 10%/C em metanol (120 mL) e agitada sob atmosfera de hidrogénio (39 psi), à temperatura ambiente, durante 3 h. Os sólidos foram filtrados e lavados com 10% M em DCM e o filtrado foi evaporado *in vácuo*, para produzir produto em bruto. O produto em bruto foi dissolvido em HCl 0,2 N (25 mL), congelado e liofilizado para

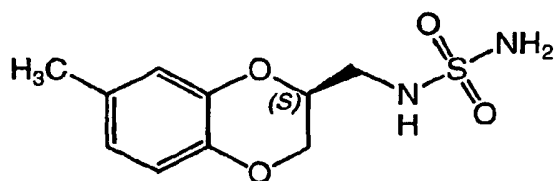
produzir o composto em epígrafe como um sólido em flocos branco, como o correspondente sal de cloridrato.

MS (M+H)⁺ 260

RMN de ¹H (DMSO d6): δ 10,2 (s 1, 3H), 6,86 (m, 1 H), 6,85 (s, 1 H), 6,74 (dd, J = 2,5, 8,4 Hz, 1 H), 4,22 (m, 2H), 3,88 (dd, J = 6,7, 11,4 Hz, 1 H), 3,04 (m, 2H)

Exemplo 12

(2S)-(-)-N-(7-Metil-2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida (Composto nº 19)



O composto em epígrafe foi preparado segundo o procedimento descrito no Exemplo 4 acima, começando de 4-metilcatecol, para produzir um sólido branco, o qual foi recristalizado de acetato de etilo/hexano para produzir o composto em epígrafe como um sólido branco.

MS [M-H]⁻ 257

RMN de ¹H (CDCl3): δ 6,76 (m, 1H), 6,66 (m, 2H), 4,80 (m, 1H), 4,57 (s 1, 1H), 4,40 (m; 1H), 4,28 (m, 1H), 4,03 (dd, J = 6,9, 11,4 Hz, 1H), 3,45 (m, 2H), 2,25 (s, 3H).

Análise Elementar

Calculado: C, 46,50; H, 5,46; N, 10,85; S, 12,41

Encontrado: C, 46,65; H, 5,60; N, 10,84; S, 12,61.

Exemplo 13

Ensaio de Formalina em Ratinho (NINDS)

O ensaio de formalina em ratinho é um modelo agudo e crónico para testar a aptidão de um composto de ensaio para o tratamento de dor.

No Ensaio de Formalina em Ratinho, formalina a 0,5% foi injectada s.c. na região plantar da pata traseira de ratinhos machos adultos para induzir uma resposta dolorosa mediada por inflamação. A dor foi exprimida como o acto de lamber da área injectada de um modo bimodal - fase aguda e crónica. A fase aguda ocorreu imediatamente e durou, aproximadamente, 20 min após injeção, representando a estimulação directa de fibras de dor. O comportamento de lamber recomeça, aproximadamente, 10 min depois (-20 min após injeção) e durou 10-15 min, representando a fase crónica que se supõe que é provocada pela libertação de mediadores inflamatórios, tal como citocinas.

A actividade na fase aguda do ensaio de formalina é um indicador de dor aguda que se julga estar correlacionada com vias periféricas da dor. A actividade na fase crónica do ensaio de formalina é indicativa de uma centralização e sensibilização da dor em vias condutoras da dor mais elevadas e foi demonstrado que correlaciona bem com a eficácia no modelo de constrição

crónica de Bennett de dor neuropática e com a eficácia clínica para dor neuropática crónica (Visser et al., 2003).

O composto nº 8 foi avaliado no Ensaio de formalina em ratinho como descrito acima. O composto nº 8 foi administrado a 110 mg/kg, i.p. 15 min antes da injeção de formalina e foi observado que atenua significativamente as respostas de fase aguda e crónica. Para a fase aguda a diminuição foi de 52% do controlo ($p < 0,01$), enquanto para a fase crónica a diminuição foi de 43% do controlo ($p < 0,01$). O composto nº 8 administrado a 60 mg/kg i.p. exibiu actividade analgésica semelhante, com uma diminuição de 30% do controlo ($p < 0,05$) para a fase aguda e uma diminuição de 40% do controlo ($p < 0,01$) para a fase crónica.

Assim, neste ensaio, o Composto nº 8 exibiu actividade analgésica, em particular relacionada com a dor inflamatória aguda e crónica.

Exemplo 14

Modelo de Dor Neuropática de Chung em Rato

O modelo de Chung em rato é um ensaio utilizado para determinar se um composto é útil para o tratamento de dor neuropática (Kim e Chung, 1994; Chaplan et al., 1994).

Neste estudo, ratos Sprague Dawley machos (145-165 g; Harlan) foram anestesiados e o nervo L5 foi isolado e ligado com material de sutura em seda resultando em alodinia mecânica. Seis semanas após ligação, os ratos foram administrados intensamente com veículo (uma solução aquosa de 0,5% de metilcelulose) ou

Composto nº 8 a 120 e 240 mg/kg, p.o. A alodinia mecânica (táctil) foi quantificada registando a pressão à qual a pata afectada era afastada de um estímulo graduado (filamentos de von Frey) aos 30 min, 1, 2, 4, 6, 8 e 24 h após administração. Os resultados foram normalizados e os resultados são apresentados como % MPE (efeito protector máximo) do fármaco.

O tratamento com Composto nº 8 a 120 mg/kg p.o. resultou num aumento de 42% na %MPE, relativamente aos animais de controlo: Foi observada eficácia aos 30 min, atingiu o máximo à 1 h e era mantida às 4 h após administração. O tratamento com o Composto nº 8 a 240 mg/kg, po resultou num aumento de 66% na %MPE relativamente a animais de controlo. Foi observada eficácia aos 30 min, atingiu o máximo às 2-4 h e era mantida às 24 h após administração. (Os ratos tratados com veículo não tiveram qualquer efeito).

Assinale-se que neste ensaio, a administração de gabapentina a 480 mg/kg p.o. foi utilizada como um controlo positivo. O efeito da gabapentina foi equivalente à actividade medida para o Composto nº 8 à dose de 240 mg/kg.

Assim, neste ensaio, o Composto nº 8 exibiu actividade analgésica, em particular relacionada com dor inflamatória crónica e/ou dor neuropática.

Exemplo 15-18

Modelo (Chung) de Ligação do Nervo Espinal Lombar 5 (L5) de Dor Neuropática

O modelo de Chung em rato é um ensaio utilizado para determinar se um composto é útil para o tratamento de dor neuropática (Kim e Chung, 1994; Chaplan *et al.*, 1994). Neste ensaio, a lesão do nervo ciático por ligação frouxa com sutura de intestino cromado, ligação apertada do nervo espinal L5 com sutura de seda ou ligação parcialmente apertada com sutura de seda produz, cadaa, hipersensibilidade a muitas modalidades de estímulo (e. g., toque, pressão, temperatura) que dura semanas ou meses. A hipersensibilidade produzida por tais lesões é semelhante à alodinia e hiperalgesia observada em condições clínicas de dor neuropática provocadas por lesão mecânica de tecido nervoso, diabetes e quimioterapia. Este ensaio permite prever o efeito analgésico, antialodínico e/ou anti-hiperalgésico dos compostos de ensaio.

O composto de ensaio e controlos foram dissolvidos no volume apropriado de HPMC a 0,5% ou solutol a 10% em hidroxipropilmetilcelulose a 0,5% (HPMC). A HPMC serviu de veículo para a preparação de soluções de gabapentina utilizadas como controlo positivo. As soluções foram preparadas para proporcionar a final dose num volume de 2,5 mL/kg ou 5 mL/kg p.o. para ratos. Nos estudos SNL de L₅ foram utilizados ratos Sprague-Dawley machos de Harlan Industries (Indianapolis, IN), com 150 até 250 grama de peso no momento da cirurgia.

Todos os animais tiveram uma semana de quarentena/aclimação antes de serem transferidos para um

armazém geral. Os ratos nos estudos SNL foram alojados e testados na mesma sala. Os animais foram alojados em gaiolas micro-isoladoras em grupos de quatro ratos por gaiola ou 5 ratinhos por gaiola com cama de carolo de milho e acesso livre a alimento e água. O ambiente foi mantido a uma temperatura constante de 21 °C, com um ciclo luz/escuro de 12 horas. Os ratos submetidos a cirurgia SNL de L₅ foram colocados em gaiolas de alojamento individuais com cama seca alfa e tiveram acesso a alimento de enriquecimento, granulado alimentar e água *ad libitum*. Os animais foram deixados recuperar durante quatro a seis semanas da cirurgia antes de serem submetidos aos testes e não foram utilizados depois das oito semanas após cirurgia. Para o teste SNL de L₅, apenas aqueles animais que responderam a uma força inferior a 4 g foram incluídos em mais ensaios e análises, sendo distribuídos aleatoriamente em grupos de tratamento no dia do estudo. Em todos estes ensaios, o investigador que fez a análise comportamental desconhecia o tratamento administrado a qualquer animal em particular.

Para a cirurgia SNL de L₅, os ratos foram induzidos e mantidos sob anestesia por inalação de isoflurano. Foi feita uma incisão de 2 cm na pele imediatamente à esquerda da linha central sob o aspecto dorsal dos segmentos espinais L₄-S₂, seguida de separação dos músculos paraespinhais dos processos espinhosos. O processo transversal de L₆ foi, depois, cuidadosamente removido e o nervo espinal L₅ foi identificado. O nervo espinal L₅ esquerdo foi, depois, firmemente ligado com linha de seda 6-0, o músculo foi suturado com Vicryl 4-0, e a pele foi fechada com agrafos.

Foi realizado um ensaio comportamental nos ratos L₅SNL numa altura entre as 3-6 semanas após ligação. No dia do estudo, após

determinações de referência de von Frey para verificar a presença de alodinia mecânica, os ratos L₅ SNL foram administrados por via oral com veículo, Composto n° 8 ou gabapentina (como um controlo positivo). A alodinia táctil foi quantificada aos 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h e/ou 24 h após administração, registando a força à qual a pata ipsilateral à ligação do nervo era retirada da aplicação de uma série de filamentos de von Frey calibrados (0,4, 0,7, 1,2, 2,0, 3,6, 5,5, 8,5 e 15,1 g; Stoelting; Wood Dale, IL). Começando numa dureza intermédia (2,0 g), os filamentos eram aplicados na região média plantar da pata traseira durante, aproximadamente, 5 segundos. Um afastamento rápido da pata conduzia à apresentação do estímulo seguinte mais leve e a ausência de uma resposta de afastamento levava à apresentação do estímulo seguinte mais forte para determinar o limiar de resposta. Foi recolhido um total de quatro respostas após a detecção do primeiro limiar. Os limiares de 50% de afastamento foram interpolados pelo método de Dixon (como descrito em Meert TF e Vermeirsch, HA, Pharmacol. Biochem. Behav.; 2005, 80(2), p. 309-326) e quando os limiares de resposta ficavam acima ou abaixo da gama de detecção foram atribuídos os respectivos valores de 75,0 ou 0,25 g.

Os dados limiares do ensaio com filamentos de von Frey foram indicados como limiares de afastamento em grama ou convertido numa percentagem do efeito máximo possível (%MPE), segundo a fórmula: $\%MPE = [(limiar \text{ após fármaco}) - (limiar \text{ de referência})] / [(valor \text{ limite de } 15 \text{ g}) - (limiares \text{ de referência})] \times 100$. A dose efectiva que produz um efeito de 50% (ED₅₀) e as estatísticas associadas foram calculadas utilizando o software PharmTools Plus (The McCary Group). As estatísticas (ANOVA bifactorial) para o ensaio de ácido acético foram calculadas utilizando Graph Pad Prism v4.0. Os dados dos estudos ao longo

do tempo no modelo SNL de dor neuropática foram analisados por uma ANOVA unifactorial, intra-indivíduos, com medições repetidas. Os efeitos principais significativos ($p < 0,05$) foram ainda analisados utilizando o teste de comparação múltipla de Dunnett. Os dados são apresentados abaixo como a média $\pm$ E.P.M. Foi concluído um número de estudos, com resultados como detalhados a seguir.

Exemplo 15/Estudo A:

Num primeiro estudo, o Composto nº 8 foi avaliado a 120 mg/kg e 240 mg/kg e comparado com a gabapentina a 480 mg/kg e veículo.

Nos ratos que não submetidos a cirurgia, os limiares médios de afastamento foram superiores a 13 g. Seis semanas após cirurgia, os limiares de afastamento foram entre 1,0 e 1,6 g. O veículo não modificou os limiares de afastamento ao longo do período de estudo de 4 horas.

Uma dose de 480 mg/kg de gabapentina aumentou significativamente os limiares aos tempos 1 h, 2 h e 4 h após administração ($73,2 \pm 14,7$ e $73,7 \pm 16,6\%$ inversão às 2 h e 4 h, respectivamente). O efeito da administração com o Composto nº 8 a 120 mg/kg, o composto nº 8 foi ligeiramente inferior ao observado com a gabapentina, mas foi significativamente diferente da referência (tempo '0') à 1 h ($42,2 \pm 13,8\%$ inversão) e 4 h ($45,4 \pm 12,2\%$ inversão) após administração oral. A administração a 240 mg/kg de Composto nº 8 produziu efeitos ($65,6 \pm 21,1\%$ modificação às 4 h) semelhantes aos observados com a gabapentina ($73,4 \pm 15,2$ às 4 h). Assim, a gabapentina e o

Composto nº 8 aumentaram, significativamente, os limiares de afastamento às 2 h, 4 h e 6 h após administração oral. Os efeitos diminuíram pelas 8 h e foram semelhantes aos valores tratados com veículo 24 h após administração.

Exemplo 16/Estudo B:

Num segundo estudo, foi avaliada a administração diária de Composto nº 8 durante 7 dias para determinar se a administração subcrônica alteraria os limiares de afastamento. Três semanas após cirurgia foi avaliada a hipersensibilidade táctil de referência. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos e receberam veículo (HPMC), 60 mg/kg, 120 mg/kg, 240 mg/kg ou 480 mg/kg de Composto nº 8. Os limiares de afastamento foram avaliados às 1 h, 2 h, 4 h, 8 h e 24 h após administração no Dia 1 (dose inicial), Dia 3 (terceira dose) e Dia 7 (sétima dose).

Após a primeira administração de Composto nº 8, 480 mg/kg produziu uma inversão significativa na hipersensibilidade táctil, com o efeito máximo a ocorrer 4 h após administração ($64,3 \pm 9,9\%$ inversão). Não foram observadas diferenças significativas nos outros grupos de tratamento neste ponto no tempo, embora existisse tendência estatisticamente não significativas para as doses mais baixas de Composto nº 8 para a hipersensibilidade táctil inversa. No terceiro e sétimo dias de administração, nenhum dos grupos de tratamento exibiu uma inversão significativa da hipersensibilidade táctil.

Exemplo 17/Estudo C:

Num terceiro estudo, o Composto nº 8 foi administrado a 100 mg/kg, 300 mg/kg e 560 mg/kg, p.o., a gabapentina foi administrada como um controlo positivo a 560 mg/kg e a alodinia mecânica foi medida às 2 h, 4 h e 6 h após administração, às 4 semanas após cirurgia.

Neste estudo, o tratamento com Composto nº 8 a 100 mg/kg, 300 mg/kg ou 560 mg/kg, p.o. não apresentou um efeito estatisticamente significativo até às 6 h. A administração com gabapentina a 560 mg/kg (controlo positivo) resultou numa diminuição observada na alodinia mecânica às 2 h e 4 h após administração (58,7 e 86,4% inversão, respectivamente) em relação à referência, mas não às 6 h após administração. (Refira-se que este comportamento com a gabapentina não parece ser coerente com o comportamento esperado para a gabapentina no modelo de Chung.)

Exemplo 18/Estudo D:

Num quarto estudo, foi avaliado o efeito do Composto nº 8 a uma dose de 560 mg/kg utilizando uma solução de solutol a 10% em HPMC. A gabapentina foi administrada como um controlo positivo a 560 mg/kg e a alodinia mecânica foi medida em pontos seleccionados no tempo até às 6 h após administração.

Quatro semanas após cirurgia, o veículo (solutol a 10% em HPMC), o Composto nº 8 a 560 mg/kg ou gabapentina a 560 mg/kg foi administrado por via oral a ratos. Neste estudo, o veículo produziu um aumento estatisticamente significativo na

hipersensibilidade táctil em comparação com a referência ao longo da duração do estudo, enquanto a gabapentina produziu uma diminuição estatisticamente significativa (55 a 77% inversão) na hipersensibilidade táctil entre as 2 h e 6 h após administração. Houve uma tendência estatisticamente não significativa para os ratos administrados com o Composto nº 8 com uma diminuição na hipersensibilidade entre as 4 h e 6 h após administração. Mais especificamente, o tratamento com o Composto nº 8 a 560 mg/kg p.o. mostrou uma diminuição na alodinia mecânica às 4 h e 6 h após administração, mas com um $p=0,054$.

Refira-se que o efeito do controlo positivo foi variável em cada dos estudos descritos acima no modelo de Chung. Por conseguinte, o efeito do Composto nº 8 deveria ser interpretado em contexto com a resposta do controlo positivo para qualquer estudo.

Exemplo 19

Modelo de Neuropatia Periférica Induzida por Taxol®

As neuropatias periféricas são condições crónicas que surgem quando os nervos são danificados por traumatismo, doença, insuficiência metabólica ou por determinados fármacos e toxinas. As perturbações sensoriais associadas a agentes quimioterapêuticos, tal como paclitaxel (Taxol®), vão desde formigueiro ligeiro até queimadura espontânea, tipicamente nas mãos e pés. Os sintomas tornam-se mais intensos com a continuação da terapia e podem levar a fraqueza, ataxia, entorpecimento e dor que pode demorar semanas ou meses a desaparecer.

Num estudo piloto, o Composto nº 8 foi avaliado quanto à sua capacidade para reduzir a alodinia mecânica e neurodegeneração do nervo ciático induzida pelo Taxol® (Polomano, RC, Mannes, AJ, Clark, US, Bennett, GJ. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, paclitaxel. Pain, 94:293-304, 2001; Flatters, SJL, Xiao, W-H, Bennett, GJ. Acetil-L-carnitine prevents and reduces paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. Neurosci Lett 397:219-223, 2006). Além disso foram medidos os efeitos do composto na actividade locomotora espontânea.

Método:

Ratos Sprague-Dawley machos (recebidos de Harlan Sprague Dawley, Inc. às 7 semanas de idade) foram divididos em dois grupos de tratamento (n=10/grupo): o primeiro grupo foi tratado com 2 mg/kg Taxol®, i.p. + 0,5% HPMC (hidroxipropilmetilcelulose) veículo, po; o segundo grupo foi tratado com 2 mg/kg Taxol®, i.p. + 100 mg/kg Composto nº 8 (em veículo de HPMC), po. Os animais foram alojados em gaiolas plásticas de policarbonato, 2 animais por gaiola, a uma temperatura de 18-26 °C, 30-70% de humidade, ciclo luz/escuro de 12 horas, com alimento e água disponíveis *ad libitum*.

Nos dias 1, 3, 5 e 7, os ratos receberam uma injeção ip (intraperitoneal) de Taxol® (2 mg/kg). Além disso, os animais receberam diariamente doses po (oral) de Composto nº 8 ou veículo durante 12 dias, começando no primeiro dia de injeções de Taxol®.

Foram realizados dois testes comportamentais: medição da sensibilidade táctil e actividade locomotora espontânea. Na referência de base e nos Dias 5 e 12 após injeção de Taxol®, os animais foram submetidos ao ensaio de Von Frey para alodinia mecânica (de acordo com o processo como descrito em Chaplan, SR, Bach, FW, Pogrel, JW, Chung, JM, Yaksh, TL. Quantitative assessment of táctil allodynia in the rat paw. J Neurosci Meth, 53:55-63, 1994). A sensibilidade táctil (*i. e.* alodinia mecânica) foi medida utilizando filamentos calibrados em contacto com a superfície plantar do membro afectado para determinar o limiar de afastamento da pata. Resumidamente, os ratos foram colocados numa gaiola em Plexiglas com um fundo de rede metálica e deixados familiarizar-se durante 10 minutos. Assim que os animais estavam instalados, a superfície plantar da pata traseira direita foi tocada com um filamento de von Frey de 2,0 g. Na ausência de uma resposta de afastamento da pata ao filamento inicialmente seleccionado, foi apresentado um estímulo mais forte; na eventualidade de ocorrer afastamento da pata, foi escolhido o estímulo mais fraco seguinte. Deste modo, o padrão resultante de respostas positivas e negativas foi utilizado para determinar o limiar de afastamento da pata. Os dados foram analisados utilizando ANOVA bifactorial, ANOVA unifactorial e teste de Dunnett, com significância estatística a $p < 0,05$.

No Dia 11 depois do começo da injeção de Taxol®, os animais foram submetidos a um ensaio em Campo Aberto para medir os níveis de actividade motora. Estudos anteriores mostraram que o tratamento com Taxol® pode levar a uma menor actividade locomotora espontânea (*e. g.*, número de travessias de um feixe) (Pascual, D, Goicoechea, C, Suardiaz, M, Martin, MI. A cannabinoid agonist, WIN 55,212-2, reduces neuropathic nociception induced by paclitaxel in rats. Pain 118: 23-34,

2005). O ensaio em Campo Aberto foi realizado colocando o animal numa câmara aberta de 17" x 17" que continha bandas de luz infravermelha que estavam posicionados ao longo das paredes da câmara. As bandas de luz transmitem feixes de luz infravermelha pelo que os movimentos horizontal (locomotor) e vertical (empinamento) do animal são automaticamente registados cada 100 ms pelas interrupções do feixe. Para este estudo, os níveis de actividade locomotora do animal foram registados ao longo de um período de tempo de 20 min para avaliar a actividade espontânea num novo ambiente. Os dados foram analisados utilizando ANOVA unifactorial e o teste de Dunnett, com significância estatística a $p < 0,05$.

No Dia 13, os animais foram mortos por eutanásia com asfixia por dióxido de carbono. O nervo ciático e a pata traseira direita foram extirpados e colocados em formalina tamponada neutra a 10%. Os tecidos colhidos foram bloqueados, fixos em parafina, seccionados e revelados com hemotoxilina e eosina. O tecido foi examinado utilizando microscopia óptica e classificado por um avaliador cego em relação ao regime de tratamento. O tecido foi classificado numa escala de 0 a 3 com base no grau e quantidade de disrupção axonal observada na secção, sendo 0 uma aparência normal do axónio, sendo 1 a 2 uma disrupção ligeira a moderada dos axónios e sendo 3 uma disrupção total e degeneração Walleriana dos axónios (Cavaletti, G, Tredici, G, Braga, M, Tazzari, S. Experimental peripheral neuropathy induced in adult rats by repeated intraperitoneal administration of Taxol®. *Exper Neurol* 133:64-72, 1995). Os dados foram analisados utilizando ANOVA unifactorial e teste de Dunnett, com significância estatística a $p < 0,05$.

Resultados:

A alodinia mecânica foi medida na referência, Dia 5 e Dia 12 após administração de Taxol®. Não houve nenhuma diferença significativa entre grupos na referência ou no Dia 5; no entanto, no Dia 12 os grupos tratados com Taxol® sozinho ($p < 0,05$) e com Taxol® + 100 mg/kg Composto nº 8 ($p < 0,001$) foram mais sensíveis à dor em comparação com as suas respostas na referência. O Composto nº 8 pareceu potenciar a resposta de dor em comparação com o Taxol® sozinho; no entanto, esta diferença foi estatisticamente não significativa.

A actividade locomotora espontânea foi testada no Dia 11 depois do começo da administração de Taxol®. Não houve nenhuma diferença entre os grupos quanto ao movimento horizontal; no entanto, os animais tratados com Taxol® + Composto nº 8 ($p < 0,05$) apresentaram um menor empinamento vertical em comparação com o Taxol® sozinho.

Foram realizadas avaliações histopatológicas das secções da pata traseira direita e do nervo ciático. O Composto nº 8 não teve nenhum efeito na gravidade da degeneração induzida pelo Taxol® na pata traseira direita; no entanto, houve uma tendência positiva para uma menor degeneração no nervo ciático, embora as diferenças sejam estatisticamente não significativas.

Discussão:

O estudo piloto foi realizado para avaliar a eficácia do Composto nº 8 na dor, alterações no movimento e deterioração de tecido nervoso que podem ocorrer em resultado de neuropatia

periférica induzida pelo Taxol®. Tipicamente, ratos tratados com Taxol® são avaliados várias semanas após injeção porque a alodinia mecânica resultante desenvolve-se em qualquer altura entre os 12 e os 21 dias após o Taxol®. No actual estudo, a eficácia do composto foi avaliada nos Dias 5 e 12 após o Taxol®, uma duração de estudo mais curta do que os estudos anteriormente publicados; no entanto, refira-se que pode ocorrer alodinia significativa neste período de tempo.

Os resultados sugerem que se desenvolveu alodinia mecânica no Dia 12 com o tratamento com Taxol®, embora a grandeza do efeito não fosse robusta (referência: $16,42 \pm 2,14$ g, dia 12: $12,11 \pm 4,92$ g). No entanto, o Composto nº 8 foi ineficaz na prevenção da alodinia neste mesmo instante. Este resultado é visto como inconclusivo. O aumento do tempo do estudo pode revelar um efeito mais pronunciado do Taxol® e um efeito protector do Composto nº 8. Além disso, refira-se que não foi incluído um controlo positivo no estudo.

A avaliação do comportamento em campo aberto indicou que os ratos tratados com Composto nº 8 apresentavam um menor comportamento de empinamento, em comparação com o Taxol® sozinho, indicando um nível mais baixo de exploração vertical espontânea. No entanto, uma vez que os níveis de actividade horizontal não diferem com o tratamento com o Composto nº 8 daqueles do grupo de Taxol® sozinho, a dor ou sedação não são provavelmente as razões para um menor empinamento. A análise histopatológica revelou uma tendência para a redução da deterioração do nervo ciático com o tratamento com o Composto nº 8; no entanto, esta não foi estatisticamente significativa.

No seu conjunto, este estudo preliminar sugere que o Composto nº 8 pode ter efeitos benéficos contra a neuropatia periférica induzida por Taxol® em ratos. Os estudos de seguimento propostos incluirão um período de ensaio mais prolongado após Taxol® (e. g., ~ 6 semanas) e níveis de dosagem múltiplos (e. g., uma curva dose-resposta) para o Composto nº 8.

Exemplo 20

Modelo de Neuropatia Periférica Induzida por Taxol®

As neuropatias periféricas são condições crônicas que surgem quando os nervos são danificados por traumatismo, doença, insuficiência metabólica ou por determinados fármacos e toxinas. Os distúrbios sensoriais associadas a agentes quimioterapêuticos, tal como paclitaxel (Taxol®), vão desde formigueiro ligeiro até queimadura espontânea, tipicamente nas mãos e pés. Os sintomas tornam-se mais intensos com a continuação da terapia e podem levar a fraqueza, ataxia, entorpecimento e dor que pode demorar semanas ou meses a desaparecer.

Este segundo estudo, mais prolongado utilizando o modelo de neuropatia periférica induzida pelo Taxol® foi completado como um seguimento do estudo preliminar descrito no Exemplo 19 acima.

Método:

Paclitaxel (Taxol®, Bristol-Myers-Squibb; 6 mg/mL numa mistura 50:50 de Cremophor e etanol) foi diluído imediatamente

antes da utilização com soro fisiológico até uma concentração de 2 mg/mL e injectado IP num volume de 1 mL/kg) em quatro dias alternados (D0, D2, D4 e D6). O Composto nº 8 foi suspenso em HCl 0,1 N:metilcelulose a 0,5% (1:9) imediatamente antes de cada injeção às concentrações de 60 mg/mL e 120 mg/mL:

Ratos Sprague-Dawley machos adultos (Harlan, Indianapolis, IN; Frederick, colônia de criação MD) foram alojados em gaiolas com cama de serradura em grupos de 3-4 com alimento e água disponíveis *ad libitum* e um ciclo luz-escuro de 12:12 h.

Foram formados três grupos de animais tratados com paclitaxel, cada com n = 12: Grupo 1 foi tratado com Composto nº 8 a 60 mg/kg, PO (sonda esofágica oral), diariamente durante 20 dias, começando no D0 (o mesmo dia do início da administração de paclitaxel). Nos dias em que foram administrados o Composto nº 8 e o paclitaxel, o Composto nº 8 foi dado às 0900h e o paclitaxel às 1300h. Grupo 2 foi tratado com Composto nº 8 a 120 mg/kg, PO (sonda esofágica oral), diariamente, começando no D0 (o mesmo dia do início da administração de paclitaxel). Nos dias em que foram administrados o Composto nº 8 e o paclitaxel, o Composto nº 8 foi dado às 09:00 h e o paclitaxel às 13:00 h. Grupo 3 foi tratado diariamente com um volume igual de veículo, começando no D0 (o mesmo dia do início da administração de paclitaxel).

Os animais foram habituados ao ambiente de ensaio em três dias diferentes e, em seguida, foram dadas três sessões de referência diárias para medir a taxa de resposta normal à estimulação com filamentos de von Frey que exerciam 4 g ou 15 g de pressão (4gVFH e 15gVFH). Os ratos normais raramente, se é que alguma vez, afastaram-se do estímulo com 4gVFH; assim, um

aumento após paclitaxel na resposta a este estímulo é indicador de alodinia mecânica. Os ratos normais afastavam-se do estímulo com 15gVFH 10-20% das vezes; assim, uma maior frequência de resposta a este estímulo é indicadora de hiperalgesia mecânica.

Os animais foram colocados debaixo de gaiolas de ratinho em plástico viradas ao contrário por cima de uma plataforma elevada com pavimento de rede metálica. Cada VFH foi aplicado à pele glabra do calcanhar médio e foi anotada a presença ou ausência de uma resposta de afastamento. Isto foi repetido 5 vezes em cada pata traseira e as respostas dos animais foram resumidas como uma percentagem do índice de resposta (e. g., 5 resposta de afastamentos ao estímulo de 15gVFH produziria um índice de 50%). O comportamento foi avaliado por um observador cego em relação à atribuição do grupo.

Os testes comportamentais para os efeitos do paclitaxel começaram no dia 13 (D13) e foram repetidos nos D15, D17, D21, D24, D28, D31, D35 e D38. Os testes nos dias 13-17 foram durante o 20º dia do período de administração do Composto nº 8. Nestes dias, o fármaco foi dado às 09:00 h e os testes comportamentais começaram às 13:00 h. Era esperado que se desenvolvessem alodinia mecânica e hiperalgesia mecânica induzidas por paclitaxel significativas aos 10-14 dias após a última injeção de paclitaxel.

Resultados:

Como esperado, os ratos tratados com paclitaxel que receberam injeções de veículo desenvolveram alodinia mecânica (teste 4gVFH) e hiperalgesia mecânica (teste 15gVFH).

Ambas as doses, 60 mg/kg e 120 mg/kg, de Composto nº 8 suprimiram o desenvolvimento de alodinia mecânica e hiperalgesia mecânica. O efeito supressor foi evidente no aparecimento da síndrome dolorosa e continuou durante, aproximadamente, 11 dias após a última injeção de Composto nº 8; a alodinia e a hiperalgesia regressaram depois disso. Não existiram diferenças significativas entre os dois grupos de dosagem. O tratamento com Composto nº 8 não produziu efeitos secundário evidentes. O bloqueio da alodinia mecânica pareceu ser superior ao bloqueio de hiperalgesia mecânica.

Exemplo 21

Modelo de Constrição Abdominal Induzida por Ácido Acético da Dor Visceral

O objectivo deste ensaio foi para determinar se o Composto nº 8 altera por completo a hipersensibilidade nos modelos de dor visceral, inflamatória e neuropática.

O composto de ensaio e controlos foram dissolvidos no volume apropriado de HPMC a 0,5% ou solutol a 10% em hidroxipropilmetilcelulose a 0,5% (HPMC). A HPMC serviu como veículo para a preparação de soluções de gabapentina utilizadas como o controlo positivo. As soluções foram preparadas para proporcionar a dose final num volume de 10 mL/kg por via oral (p.o.) para ratinhos. Ratinhos CD-1 machos de Charles Rivers Laboratories (Portage, ME), com entre 25 e 30 grama de peso na altura do estudo, foram utilizados para os estudos de constrição abdominal induzida por ácido acético.

Todos os animais tiveram um período de uma semana de quarentena/aclimação antes de serem transferidos para um armazém geral. Os ratinhos no estudo de constrição abdominal induzida por ácido acético foram deixados familiarizar-se durante 1 h com a sala de ensaio antes do início do estudo. Os animais foram alojados em gaiolas micro-isoladoras em grupos de quatro ratos por gaiola ou 5 ratinhos por gaiola com cama de carolo de milho e com acesso livre a alimento e água. O ambiente foi mantido a uma temperatura constante de 21 °C, com um ciclo luz/escuro de 12 horas.

Os animais utilizados no teste de constrição abdominal induzida por ácido acético foram mantidos com os parceiros de gaiola iniciais ao longo do período do estudo (quatro ratos por gaiola, 5 ratinhos por gaiola; as gaiolas foram da Nalgene® com cama de carolo de milho). Animais de várias gaiolas foram distribuídos aleatoriamente pelos grupos de tratamento; isto é, os ratinhos numa dada gaiola foram distribuídos pseudo-aleatoriamente por grupos de tratamento diferentes. Em todos os ensaios, o investigador que realiza a análise comportamental desconhecia o tratamento administrado a qualquer animal particular.

No dia do estudo, os ratinhos foram administrados por via oral com veículo (Methocel ou 10% de Solutol:Methocel), 560 mg/kg de Composto nº 8 ou 560 mg/kg de gabapentina como um controlo positivo. Os ratinhos foram, em seguida, administrados com uma injeção i.p de 0,5 mL (2 × 0,25 mL/quadrante abdominal) de ácido acético a 0,6% após 1 h, 2 h, 3 h ou 4 horas de tratamento com veículo, composto ou controlo positivo. Cinco minutos depois da injeção i.p. com ácido acético, 5 animais foram colocados em câmpulas de vidro separadas contendo uma

pequena quantidade de lascas de cama, e foi registado o número de constrições abdominais por animal durante 5 minutos. Isto foi repetido para cada grupo (N = 10 ratinhos/grupo).

A dose eficaz que produz um efeito de 50% (ED₅₀) e as estatísticas associadas foram calculadas utilizando o software PharmTools Plus (The McCary Group). As estatísticas (ANOVA bifactorial) para o ensaio de ácido acético foram calculadas utilizando Graph Pad Prism v4.0. Os dados do modelo de dor visceral induzida por ácido acético foram analisados por uma análise de variância bifactorial (ANOVA). Os efeitos principais significativos ($p < 0,05$) foram ainda analisados utilizando o teste de comparação de múltiplos de Dunnett. Os dados são apresentados a seguir como a média $\pm$ erro padrão da média (E.P.M.).

O composto nº 8 foi avaliado no modelo de dor víscero-química induzida por ácido acético. Nos ratinhos tratados com veículo, o número médio de constrições abdominais foi entre 13 e 16,2 entre os 4 grupos. Embora a gabapentina tivesse tendência para diminuir o número de constrições às 2 h ($11,00 \pm 1,5$ constrições) e 3 h ($10,0 \pm 1,6$ constrições) após administração oral, este efeito não foi estatisticamente significativo. Ao comparar com os ratinhos tratados com veículo ou gabapentina, o tratamento com 560 mg/kg de Composto nº 8 não modificou, significativamente, a constrição induzida por ácido acético.

O Composto nº 8 não modificou as constrições abdominais produzidas por uma injeção i.p. de ácido acético. Analogamente, a gabapentina não diminuiu significativamente as constrições induzidas por ácido acético. Estes resultados sugerem que este

ensaio pode não ser sensível a efeitos analgésicos destes compostos anticonvulsivos.

Exemplo 22

Modelo de Dor Inflamatória Induzida por Adjuvante Completo de Freund (CFA)

A injeção intraplantar de CFA em ratos, resulta numa reacção inflamatória duradoura, caracterizada por edema e uma hipersensibilidade acentuada a estímulos térmicos e mecânicos. Esta hipersensibilidade atinge o máximo entre as 24-72 horas após injeção e pode durar várias semanas. Este ensaio permite prever o efeito analgésico, antialodínico e/ou anti-hiperalgésico dos compostos de ensaio.

O composto de ensaio e controlos foram dissolvidos no volume apropriado de HPMC a 0,5% ou solutol a 10% em hidroxipropilmetilcelulose a 0,5% (HPMC). As soluções foram preparadas para proporcionar a dose final num volume de 2,5 mL/kg ou 5 mL/kg p.o. para ratos. Foram utilizados ratos Sprague-Dawley machos da Charles Rivers Laboratories (Portage, ME), com entre 250 e 350 grama de peso na altura do estudo, para os estudos de radiação térmica na pata CFA.

Todos os animais tiveram um período de uma semana de quarentena/aclimação antes de serem transferidos para um armazém geral. Os ratos no estudo CFA foram mudados para uma sala de ensaio no dia da injeção de CFA, onde permaneceram durante a duração do estudo. Os animais foram alojados em gaiolas micro-isoladoras em grupos de quatro ratos por gaiola ou

5 ratinhos por gaiola com cama de carolo de milho e acesso livre a alimento e água. O ambiente foi mantido a uma temperatura constante de 21 °C, com um ciclo luz/escuro de 12 horas.

Os animais utilizados nos ensaios CFA-RH em rato foram mantidos com os parceiros de gaiola iniciais ao longo do período do estudo (quatro ratos por gaiola, 5 ratinhos por gaiola; as gaiolas foram da Nalgene® com cama de carolo de milho). Os animais de várias gaiolas foram distribuídos aleatoriamente pelos grupos de tratamento; isto é, os roedores numa dada gaiola foram distribuídos pseudo-aleatoriamente por grupos de tratamento diferentes. Para o ensaio de CFA, apenas os ratos que apresentaram pelo menos 25% de redução na latência da resposta relativamente à referência de base (*i. e.*, hiperalgesia) foram incluídos em avaliações e análises adicionais. Em todos os testes, o investigador que realizou a análise comportamental desconhecia o tratamento administrado a qualquer animal particular.

No dia do estudo, os ratos foram administrados com uma injeção intraplantar de 100 µL (1 µg/µL) de CFA (1:1 CFAaaline) na pata traseira esquerda. Após um período de incubação de 24 horas, foram obtidas as latências da resposta num estimulador da pata por radiação térmica (RH) e comparadas com as latências de referência (pré-CFA). A resposta foi automaticamente registada pelo dispositivo RH quando o rato levantou a sua pata da superfície do vidro. Depois da avaliação da latência após CFA, os ratos foram administrados por via oral (2,5 mL/kg) com o Composto n° 8 ou veículo (HPMC). A percentagem de inversão da hiperalgesia foi calculada para cada animal como $[(\text{resposta com tratamento}) - (\text{resposta após CFA})] / [(\text{resposta pré-CFA}) - (\text{resposta após CFA})] \times 100$. A% de inversão média da hiperalgesia

foi, em seguida, calculada para cada grupo de tratamento (n= 5-6 ratos/grupo).

A dose eficaz que produz um efeito de 50% (ED₅₀) e as estatísticas associadas foram calculadas utilizando o software PharmTools Plus (The McCary Group). As estatísticas (ANOVA bifactorial) para o ensaio de ácido acético foram calculadas utilizando o Graph Pad Prism v4.0. Os dados dos estudos ao longo do tempo no modelo de dor inflamatória induzida por CFA foram analisados por uma ANOVA unifactorial, intra-indivíduos, com medições repetidas. Os efeitos principais significativos ($p < 0,05$) foram ainda analisados utilizando o teste de comparação múltipla de Dunnett. Os dados são apresentados a seguir como a média $\pm$ E.P.M.

O composto nº 8 foi avaliado no modelo de dor inflamatória CFA. Em ratos normais, as latências médias de afastamento da pata foram entre 14,6 e 15,6 s. Vinte e quatro horas após CFA, as latências médias de afastamento da pata tinham aumentado para entre 6,0 e 6,8 s, indicando que se tinha desenvolvido hipersensibilidade térmica. A administração oral de veículo não modificou significativamente as latências de afastamento da pata. Em comparação, uma dose administrada por via oral de 560 mg/kg de gabapentina inverteu a hipersensibilidade térmica de um modo dependente com o tempo, com um máximo de 68,6% de inversão (relativamente à referência às 24-h pós-CFA) observado 4 h após administração oral. Uma dose oral de 560 mg/kg de Composto nº 8 também inverteu a hipersensibilidade térmica de um modo dependente com o tempo, com um máximo de 86,0% de inversão (relativamente à referência às 24-h pós-CFA) observado 4 h após administração oral.

O Composto nº 8 atenuou a hipersensibilidade térmica induzida por CFA de um modo dependente com o tempo, indicando que o composto nº 8 seria provavelmente útil para tratar dor inflamatória.

Exemplo 23

Modelo de Hiperálgia Induzida por Formalina

Ratinhos CF-1 adultos machos com 2-0 g de peso foram obtidos de Charles River (Wilmington, MA). Todos os animais foram mantidos num ciclo luz:escuro 12:12 e com acesso livre a alimento e água, excepto quando retirados da gaiola para processos experimentais.

O Composto nº 8 foi triturado num pequeno volume de metilcelulose a 0,5%, submetido a ultra-sons durante 10 min e aferido até um volume final com metilcelulose a 0,5%. O Composto nº 8 foi administrado i.p. num volume de 0,01 mL/10 g de peso corporal dos ratinhos de ensaio. Duas horas após administração i.p. do Composto nº 8 ou veículo, foi feita uma injeção de formalina a 0,5% na região plantar da pata traseira direita.

Neste modelo, a injeção de formalina desencadeia um perfil comportamental bifásico distinto caracterizado por o ratinho lambear a pata afectada. Imediatamente após a injeção, o ratinho lambe a pata durante cerca de 10 minutos. Isto corresponde à fase 1 (resposta aguda) e é seguida de um curto período de latência em que existe pouca actividade comportamental. Segue-se um período mais prolongado de cerca de 20-30 minutos de lambedela da pata que constitui a fase 2 (inflamatória).

Antes da administração do Composto nº 8 a 15 mg/kg (n=8), 30 mg/kg (n=8), 200 mg/kg (n=8), 300 mg/kg (n=4) ou veículo (n=8), cada ratinho foi submetido a um período de condicionamento de 15 minutos em um de vários tubos de 6" de altura em Plexiglas (4" de diâmetro) que foram colocados em frente de um espelho. Após o período de condicionamento, foi administrado i.p. Composto nº 8 ou veículo e o ratinho recolocado no seu tubo de alojamento. Duas horas após administração, foi injectada formalina por via sub-dérmica (20 µL, agulha de calibre 27) na superfície plantar da pata traseira direita. O corte biselado da agulha foi colocado para baixo na direcção da superfície da pele. Após a injeção da formalina cada animal foi observado durante os primeiros 2 minutos de cada período de 5 minutos durante um total de 45 minutos. Foi registado o período cumulativo de lambedela para cada período de 2 minutos. Um animal que recebeu o volume necessário de veículo foi alternado com cada ratinho administrado com Composto nº 8. Os animais foram mortos por eutanásia após a finalização da experiência.

As determinações das áreas sob a curva (AUC) foram feitas utilizando o GraphPad Prism Versão 3.03. A AUC total foi calculada para os grupos tratados e de controlo para as fases aguda e inflamatória. Também foi calculada a AUC de animais particulares para cada fase e convertida numa percentagem da AUC total do controlo. Foram calculadas as percentagens médias e EPM para o Composto nº 8 e veículo e testadas quanto à significância estatística.

O Composto nº 8 foi eficaz contra a dor aguda, de fase 1 associada à injeção de formalina. Para esta componente, a dose

eficaz mediana (ED_{50}) e o intervalo de confiança de 95% (CI) para produzir uma redução de 50% ou maior na AUC foi calculada como sendo de 111 mg/kg (com uma gama de 62,0–245 mg/kg) após administração i.p..

O Composto nº 8 diminuiu a fase secundária de hiperalgesia induzida por formalina de um modo dependente da dose. A dose eficaz mediana (ED_{50}) e o intervalo de confiança de 95% (CI) para produzir uma redução de 50% ou maior na AUC foi calculada como sendo de 101 mg/kg (com uma gama de 53,6–225 mg/kg) após administração i.p..

Os resultados deste estudo indicam que o Composto nº 8 tem a capacidade de reduzir a hiperalgesia induzida por formalina, e indicam que o Composto nº 8 seria provavelmente útil para o tratamento de dor inflamatória aguda e crónica.

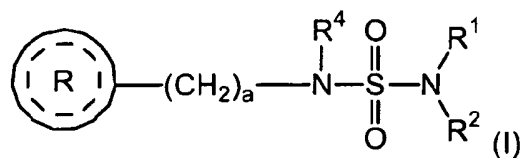
Exemplo 24

O Composto nº 8 preparado como no Exemplo 7 é formulado com lactose finamente dividida suficiente para proporcionar uma quantidade total de 580 até 590 mg para encher uma cápsula de gelatina dura de tamanho 0.

Lisboa, 21 de Janeiro de 2010

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de fórmula (I)

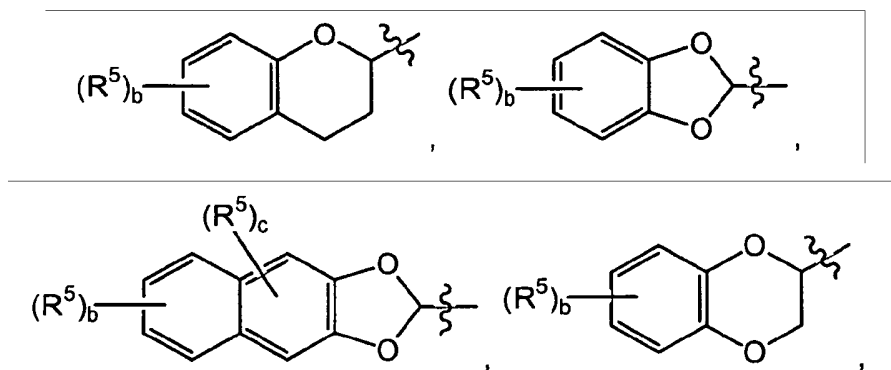


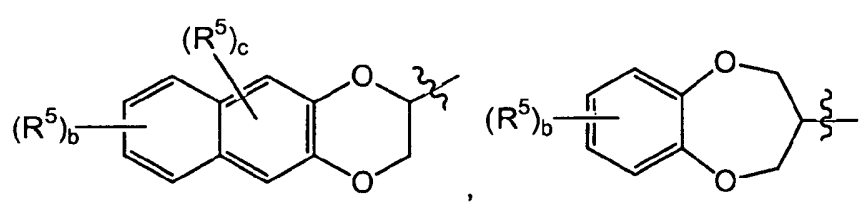
ou um seu sal farmacêuticamente aceitável para utilização no tratamento de dor, em que:

R^1 e R^2 são, cada, independentemente seleccionados do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;
 R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;
 a é um número inteiro desde 1 a 2;

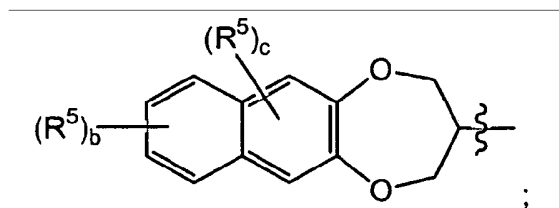


é seleccionado do grupo consistindo de





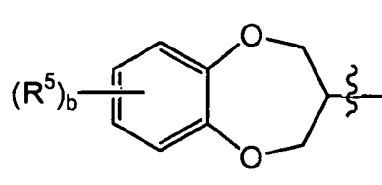
e



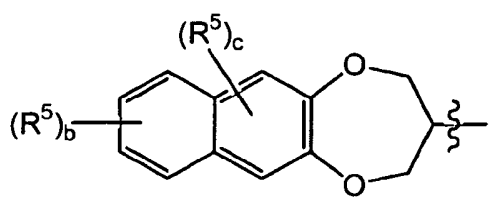
em que b é um número inteiro desde 0 a 4; e em que c é um número inteiro desde 0 a 2;
cada R^5 é independentemente seleccionado do grupo consistindo de halogéneo, alquilo inferior e nitro;
na condição de que quando



é



ou



então a seja 1,

em que o termo alquilo inferior se refere a uma composição de cadeia carbonada de 1-4 átomos de carbono.

2. Composto ou um seu sal farmacêuticamente aceitável para utilização no tratamento de dor, de acordo com a Reivindicação 1, em que:

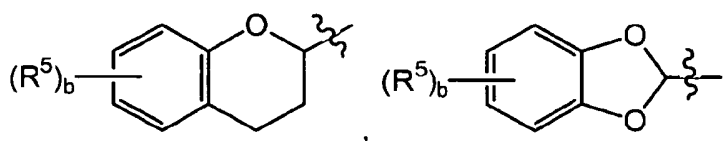
R^1 e R^2 são, cada, independentemente seleccionados do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

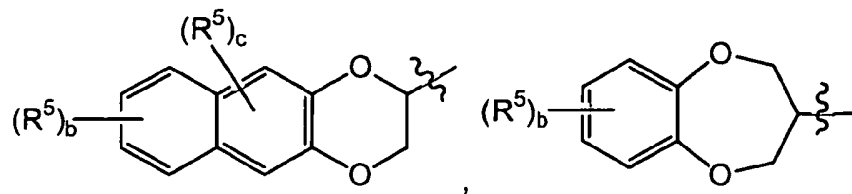
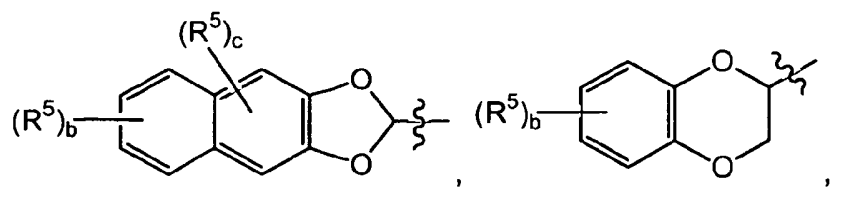
R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

a é um número inteiro desde 1 a 2;

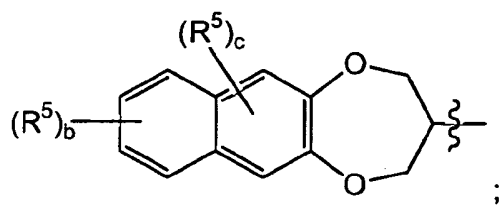


é seleccionado do grupo consistindo de





e

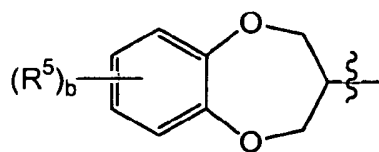


em que b é um número inteiro desde 0 a 2; e em que c é um número inteiro desde 0 a 1;

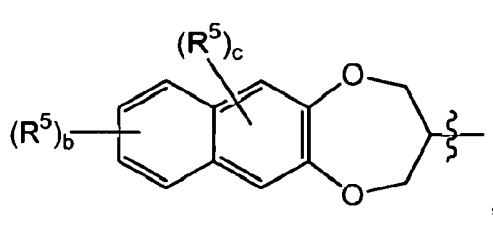
cada R^5 é independentemente seleccionado do grupo consistindo de halogéneo, alquilo inferior e nitro; na condição de que quando



é



ou



então a seja 1.

3. Composto ou um seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor de acordo com a Reivindicação 2, em que:

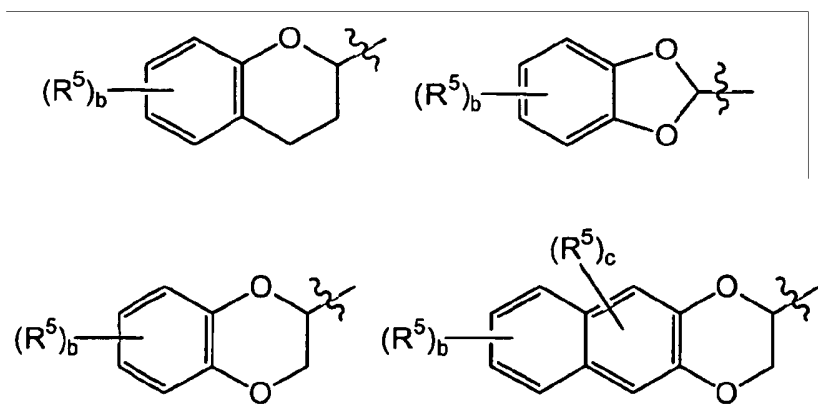
R^1 e R^2 são, cada, independentemente seleccionados do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

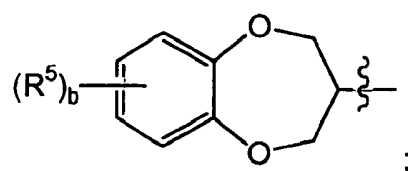
a é um número inteiro desde 1 a 2;



é seleccionado do grupo consistindo de



e

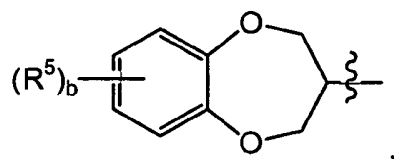


em que b é um número inteiro desde 0 a 2; e em que c é 0;

cada R^5 é independentemente seleccionado do grupo consistindo de halogéneo, alquilo inferior e nitro; na condição de que quando



é



então a seja 1.

4. Composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável para utilização no tratamento de dor de acordo com a Reivindicação 3, em que:

R^1 e R^2 são, cada, independentemente seleccionados do grupo consistindo de hidrogénio e alquilo inferior;

R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e metilo;

a é um número inteiro desde 1 a 2;



é seleccionado do grupo consistindo de 2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(benzo[1,3]dioxolilo), 2-(3,4-di-hidro-2H-benzo[1,4]dioxepinilo), 2-(2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-fluoro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(cromanilo), 2-(5-fluoro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-cloro-benzo[1,3]dioxolilo), 2-(7-nitro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-metil-2,3-di-hidro-

benzo[1,4]dioxinilo), 2-(5-cloro-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-bromo-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(8-cloro-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(2,3-di-hidro-nafto[2,3-
b][1,4]dioxinilo) e 2-(4-metil-benzo[1,3]dioxolilo);
na condição de que quando



é 2-(3,4-di-hidro-2H-benzo[1,4]dioxepinilo),, depois,
a seja 1.

5. Composto ou um seu sal farmaceuticamente aceitável para
utilização no tratamento de dor de acordo com a
Reivindicação 4, em que:

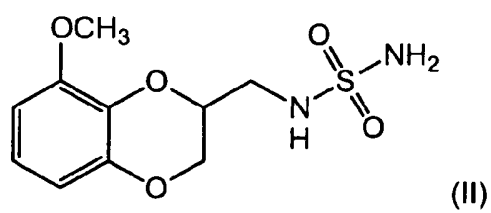
R^1 e R^2 são, cada, independentemente seleccionados do
grupo consistindo de hidrogénio e metilo;
 R^4 é seleccionado do grupo consistindo de hidrogénio e
metilo;
a é um número inteiro desde 1 a 2;



é seleccionado do grupo consistindo de
2-(benzo[1,3]dioxolilo), 2-(2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-cloro-2,3-di-hidro-

benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-cloro-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(7-metil-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo), 2-(6-bromo-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo) e 2-(6,7-dicloro-2,3-di-hidro-
benzo[1,4]dioxinilo).

6. Composto para utilização no tratamento de dor de acordo com a Reivindicação 1, em que o composto de fórmula (I) é seleccionado do grupo consistindo de (2S)-(-)-N-(6-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida; e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.
7. Composto seleccionado do grupo consistindo de (2S)-(-)-N-(6-cloro-2,3-di-hidro-benzo[1,4]dioxin-2-ilmetil)-sulfamida; e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis para utilização no tratamento de dor.
8. Composto para utilização no tratamento de dor de acordo com a Reivindicação 1 ou 7, em que a dor é seleccionada de qualquer uma de dor aguda, dor crónica, dor inflamatória e dor neuropática.
9. Composto para utilização no tratamento de dor de acordo com a Reivindicação 8, em que a dor neuropática é neuropatia diabética.
10. Composto de fórmula (II)



ou um seu sal farmacologicamente aceitável para utilização no tratamento de dor.

11. Composto para utilização no tratamento de dor de acordo com a Reivindicação 10, em que a dor é seleccionada de qualquer uma de dor aguda, dor crónica, dor inflamatória e dor neuropática.

Lisboa, 21 de Janeiro de 2010

RESUMO

"UTILIZAÇÃO DE DERIVADOS HETEROCÍCLICOS BENZO-FUNDIDOS DE SULFAMIDA PARA O TRATAMENTO DE DOR"

A presente invenção é um método para o tratamento de dor compreendendo a administração, a um indivíduo necessitado daquele, de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um ou mais derivados heterocíclicos benzo-fundidos de sulfamida novos de fórmula (I) e fórmula (II) como aqui descritos. A presente invenção dirige-se ainda para métodos de tratamento de dor compreendendo a co-terapia com agente(s) analgésico(s) e um composto de fórmula (I) ou fórmula (II) como aqui descrito.