



(11) **Número de Publicação:** PT 641330 E

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

C07C229/00 A A61K031/195 B  
C07D263/26 B C07C053/42 B  
C07C069/347 B C07C069/675 B

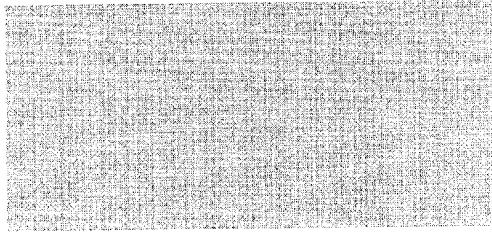
(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) <b>Data de depósito:</b> 1993.05.18	(73) <b>Titular(es):</b> NORTHWESTERN UNIVERSITY 633 CLARK STREET EVANSTON ILLINOIS 60208-1111	US
(30) <b>Prioridade:</b> 1992.05.20 US 886080		
(43) <b>Data de publicação do pedido:</b> 1995.03.08	(72) <b>Inventor(es):</b>  PO-WAI YUEN RICHARD B. SILVERMAN RYSZARD ANDRUSZKIEWICZ	US US PL
(45) <b>Data e BPI da concessão:</b> 2001.10.17	(74) <b>Mandatário(s):</b>  LUIS MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO RUA VITOR CORDON, Nº 14 - 3º 1200 LISBOA	PT

(54) **Epígrafe:** ANÁLOGOS DE GABA E DE ÁCIDO L-GLUTÂMICO PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

(57) **Resumo:**

ANÁLOGOS DE GABA E DE ÁCIDO L-GLUTÂMICO PARA O TRATAMENTO DE  
DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL



*Very Sincere Genuineness*

- 1 -

## DESCRIÇÃO

### **"ANÁLOGOS DE GABA E DE ÁCIDO L-GLUTÂMICO PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL"**

A presente invenção relaciona-se com novos compostos que são análogos do ácido gama aminobutírico (GABA), e com métodos para a síntese destes compostos. Mais especificamente, os análogos de acordo com a invenção são úteis como terapia anti-ataque para distúrbios do sistema nervoso central tais como epilepsia, corea de Huntington, isquemia cerebral, doença de Parkinson, disquinesia tardia, espasticidade, e, possivelmente como uma actividade anti-depressiva, ansiolítica e antipsicótica.

O ácido gama aminobutírico (GABA) é um neurotransmissor principal envolvido na regulação da actividade neuronal do cérebro. O GABA é o neurotransmissor inibitório principal (Roberts E, et al., GABA in Nervous System Function, Raven Press; New York, 1976; McGeer EG, et al., Glutamine, glutamate, and GABA in the Central Nervous System; Hertz L, Kvamme E, McGeer EG, Schousbal A, eds., Liss: New York, 1973; 3-17).

Um desequilíbrio na concentração de um tal neurotransmissor pode conduzir a estados convulsivos. Concordantemente, é clinicamente relevante ser capaz de controlar estados convulsivos através do controle do metabolismo deste neurotransmissor. Quando a concentração de GABA diminui abaixo de um nível limiar no cérebro, resulta em convulsões (Karlsson A, et al., Biochem. Pharmacol 1974; 23: 3053-3061). Quando os níveis de GABA aumentam no cérebro durante as convulsões, os ataques terminam

*Very Sudden Convulsions*

- 2 -

(Hayashi TJ, Physiol. (London) 1959; 145: 570-578). O termo ataque como usado aqui significa actividade neuronal dessincronizada excessiva que quebra a função neuronal normal. Em vários distúrbios do sistema nervoso central com ataque concomitante com níveis reduzidos de GABA no cérebro é também observado um nível diminuído de actividade de descarboxilase do ácido L-glutâmico (GAD) (McGeer PO, et al., em: GABA in Nervous System Function; Roberts E, Chase TN, Tower DB, eds., Raven Press: New York 1976: 487-495; Butterworth J, et al., Neurochem. 1983; 41: 440-447; Spokes EG, Adv. Exp. Med. Biol. 1978; 123: 461-473; Wu JY, et al., Neurochem. Res. 1979; 4: 575-586; e Iversen LL, et al., Psychiat. Res. 1974; 11: 255-256). Frequentemente, as concentrações de GAD e GABA variam em paralelo uma vez que a diminuição da concentração de GAD resulta na produção inferior de GABA.

Devido à importância de GABA como um neurotransmissor inibitório, e o seu efeito em estados convulsivos e noutras disfunções motoras, foi tomada uma variedade de métodos para aumentar a concentração de GABA no cérebro. Por exemplo, o método mais óbvio foi administrar GABA. Quando o GABA é injectado no cérebro de um animal em convulsão, as convulsões cessam (Purpura DP, et al., Neurochem. 1959; 3: 238-268). No entanto, se o GABA é administrado sistematicamente, não existe efeito anticonvulsivo porque o GABA, sob circunstâncias normais, não pode atravessar a barreira sanguínea do cérebro (Meldrum BS, et al., Epilepsy; Harris P, Mawdsley C, eds., Churchill Livingston: Edinburg 1974:55. Face a esta limitação, existem três métodos alternativos que podem ser tomados para aumentar os níveis de GABA.

O método mais frequente é criar um composto que atravessa a barreira sanguínea do cérebro e em seguida inactiva a aminotransferase de GABA. O efeito é bloquear a degradação de GABA e portanto aumentar a sua concentração. São conhecidos numerosos mecanismos baseados nos

*Very Sincere Greetings*

- 3 -

inactivadores de aminotransferase de GABA (Silverman RB, Mechanism-Based Enzyme Inactivation: Chemistry and Enzymology, Vol. I e II, CRC: Boca Raton 1988).

Outro método é aumentar as concentrações de GABA no cérebro tornando o GABA lipofílico por conversão de amidas de GABA hidrofóbicas (Kaplan JP, et al., G. J. Med. Chem. 1980; 23: 702-704; Carvajal G, et al., Biochem. Pharmacol. 1964; 13: 1059-1069; Iminas: Kaplan JP, *Ibid.*; ou ésteres de GABA: Shashoua VE, et al., J. Med. Chem. 1984; 27: 659-664; e Pedido de Patente PCT WO85/00520, publicada a 2/14/85) de modo que o GABA pode atravessar a barreira sanguínea do cérebro. Uma vez no interior do cérebro, estes compostos requerem amidases e esterases para remover por hidrólise o grupo transportador e libertar GABA.

Ainda outro método é aumentar 25 níveis de GABA no cérebro através da criação de um activador de GAD. Alguns compostos foram descritos como activadores de GAD. Foi descrito que o agente anticonvulsivo, maleicimida, aumenta a actividade de GAD em 11% e como uma consequência aumenta a concentração de GABA na *substantia nigra* em até 38 % (Janssens de Varebeke P, et al., Biochem. Pharmacol. 1983; 32: 2751-2755. Foi também descrito que o fármaco anticonvulsivo valproato de sódio (Loscher W, Biochem. Pharmacol. 1982; 31: 837-842; Phillips NI, et al., Biochem Pharmacol. 1982; 31: 2257-2261) activa GAD e aumenta os níveis de GABA.

Foi descoberto que os compostos da presente invenção activam GAD *in vitro* e têm efeito protector no ataque *in vivo* dependente da dosagem.

Também, foi descoberto que os compostos da presente invenção se coordenam a um novo centro de coordenação que foi identificado como

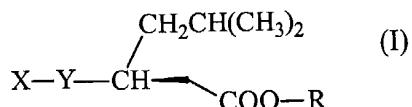
*Willy Sander Germany*

- 4 -

coordenador da gabapentina tritiada. Foi descoberto que a gabapentina é um tratamento efectivo para a prevenção de ataques parciais em pacientes resistentes a outros agentes anticonvulsivos. Chadwick D, Gabapentin, pp. 211-222, Em: Recent Advances in Epilepsy, Vol. 5, Pedley TA, Meldrum BS, (eds.) Churchill Livingstone, New York (1991). O novo centro de coordenação marcado por gabapentina tritiada foi descrito em fracções de membrana de tecido de cérebro de rato e em estudos auto-radiográficos em secções de cérebro de rato, Hill D, *Ibid.* Este centro de coordenação foi usado para avaliar o composto farmaceuticamente activo da presente invenção.

Além disso, são desvendados análogos de 3-alquil GABA no J. Med. Chem. 1991, 34, 2295-2298 como sendo agentes anticonvulsivos úteis. Uma mistura racémica de ácido 4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico é desvendada neste documento; nenhum indicador de isómero óptico preferido é dado no documento.

Os compostos novos da presente invenção são enantiómeros S(+) com a fórmula geral (I)



em que:

X representa  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{N}_3$  ou p-tolueno-sulfoniloxi;

Y representa  $-\text{CH}_2$ , ou X-Y- são juntamente  $-\text{COOH}$ ; e

R representa benzilo ou 1,1 dimetiletílo (quando X é  $\text{N}_3$ ,  $-\text{OH}$  ou p-tolueno-sulfoniloxi e Y é  $-\text{CH}_2$ , ou quando X-Y são juntamente  $-\text{COOH}$ ) ou hidrogénio (quando X é  $-\text{NH}_2$  e Y é  $\text{CH}_2$ ), ou um sal farmaceuticamente aceitável do composto referido.

*Very Sincere Ceremony*

- 5 -

Um dos compostos de acordo com a invenção é farmaceuticamente activo e pode ser usado para tratamento de distúrbios do sistema nervoso central num paciente por administração ao referido paciente de uma quantidade efectiva anticonvulsiva do composto (ou do seu sal farmaceuticamente aceitável). Um tal composto pode também ser usado para aumentar o GABA neuronal do cérebro.

De acordo com uma característica preferida da presente invenção, o composto novo é o ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico (ou um seu sal farmaceuticamente aceitável). Este composto foi descoberto como sendo inesperadamente mais potente do que outros análogos e misturas racémicas. O que é adicionalmente surpreendente, como mostram os dados seguintes, é que este composto é o menos eficiente dos análogos testados na activação de GAD *in vitro*. Concordantemente, foi muito inesperado que o composto de acordo com a presente invenção tivesse uma tal potência elevada quando testado *in vivo*. Este composto farmacologicamente activo foi descrito como o mais potente para o deslocamento de gabapentina tritiada.

A presente invenção também providencia uma formulação farmacêutica, que compreende o ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e consequentemente um veículo farmaceuticamente aceitável.

O composto acabado de descrever pode formar sais farmaceuticamente aceitáveis com ambos os ácidos orgânicos ou inorgânicos ou bases. Por exemplo, os sais de adição de ácidos podem ser preparados quer por dissolução da base livre em solução aquosa ou aquosa alcoólica ou em outros solventes adequados contendo o ácido adequado e isolando o sal por evaporação da solução. Exemplos de sais farmaceuticamente aceitáveis são hidrocloreto, hidrobrometo e hidrossulfato tal como sais de sódio, potássio e magnésio.

*Wayne S. Johnson*

- 6 -

De acordo com uma característica adicional da presente invenção o composto pode ser:

ácido S-(+)-3-(azidometil)-5-metil-hexanóico;  
éster fenilmetílico do ácido S-(+)-3-(hidroximetil)-5-metil-hexanóico;  
éster fenilmetílico do ácido S-(+)-5-metil-3-[[[(-4-metilfenil)sulfonil]oxi]-metil]-hexanóico;  
éster 4-(1,1-dimetiletilílico) do ácido S-(+)-2-(2-metilpropil)-1,4-butanodióico;  
éster 1,1-dimetiletilílico do ácido S-(+)-3-(azidometil)-5-metil-hexanóico;  
éster 1,1-dimetiletilílico do ácido S-(+)-3-(hidroximetil)-5-metil-hexanóico;  
éster 1,1-dimetiletilílico do ácido S-(+)-5-metil-3-[[[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]-metil]-hexanóico;  
éster 1,1-dimetiletilílico do ácido S-(+)-4-metil-2(2-metilpropil)- $\gamma$ ,2-dioxo-5-fenil-3-oxazolidinobutanóico.

Estes compostos são intermediários para o composto farmacologicamente activo ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, como será evidente dos esquemas reaccionais subsequentes.

Os compostos de acordo com a invenção podem ser preparados a partir de aldeídos comercialmente disponíveis e malonato de monometilo pela reacção de Knoevenagel (Kim YC, et al., J. Med. Chem. 1965: 8509).

Mais especificamente, o seguinte é um procedimento ilustrativo. Dez gramas de uma 3-(2-metilpropil)5,5-dicarbetoxi-2-pirrolidinona foram levados ao refluxo em 150 ml de HBr fumante a 49 % durante 4 horas. Após este tempo, o conteúdo foi colocado num evaporador e os constituintes voláteis foram removidos sob vácuo com a ajuda de um banho de água quente. O resíduo gomoso foi dissolvido em 25 ml de água destilada e a água foi removida com a ajuda do evaporador. Este processo foi repetido mais uma vez. O resíduo foi

*Willy Sander Germany*

- 7 -

dissolvido em 20 ml de água, e o pH da solução foi ajustado a 3,2 com solução concentrada de NH<sub>3</sub>.

A precipitação a partir da mistura de água-álcool fica completa em 48 horas.

A adição de Michael de nitrometano a compostos α,β-insaturados mediada por 1,1,3,3-tetrametilguanidina ou 1,8-diazabiciclo-[5.4.0]undec-7-eno (DBU) deu origem a 4-nitroésteres com bons rendimentos. Mais especificamente, uma mistura de nitrometano (5 mol), éster α,β-insaturado (1 mol), e tetrametilguanidina (0,2 mol) foi agitada à temperatura ambiente durante 2 a 4 dias. (No caso do acrilato de metilo, o éster tem que ser adicionado a uma temperatura inferior a 30 °C). O progresso da reacção foi seguido por análises de IV (desaparecimento da banda C=C) e C.L.G. A mistura reacional foi lavada com ácido clorídrico e extraída com éter. O extracto orgânico foi seco, o solvente removido a pressão reduzida, e o resíduo 20 destilado a uma pressão de 2 torr. Embora os compostos nitro alifáticos sejam usualmente reduzidos quer por hidrogenação catalítica de elevada pressão por hidrogenação por transferência catalisada por um metal, ou por métodos de hidrogenólise introduzidos recentemente com formato de amónio ou borohidreto de sódio e paládio como catalisadores, descobriu-se que os ésteres 4-nitrocarboxílicos podem ser reduzidos quase quantitativamente nos ésteres 4-aminocarboxílicos correspondentes por hidrogenação usando paládio a 10 % sobre carbono como catalisadores em ácido acético à temperatura ambiente e à pressão atmosférica. O aminoéster produzido foi sujeito a hidrólise ácida para dar origem aos compostos de acordo com a invenção com bons rendimentos.

Exemplos de métodos mais específicos de síntese dos compostos de acordo com a presente invenção são como se segue, opcionalmente utilizando

*Way Sultan Lissman*

- 8 -

os métodos descritos com detalhe acima. Quando o material de partida não está comercialmente disponível, a sequência sintética pode ser iniciada com o álcool correspondente, que é oxidado ao aldeído pelo método de Corey EJ, et al., Tetrahedron Lett. 1975: 2647-2650.

O composto quiral farmacologicamente activo pode ser preparado como estabelecido no Diagrama esquemático I a este respeito.

No Diagrama I Ph é fenilo, Bn é benzilo, THF é tetrahidrofurano, LDA é diisopropilamina de lítio,  $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$  é o complexo dimetilsulfureto de borano, TsCl é cloreto de tosilo e DMSO é dimetilsulfóxido.

O procedimento sintético detalhado é estabelecido aqui abaixo no Exemplo 1. A literatura introdutória chave para esta metodologia foi discutida no artigo de Evans, J. Am. Chem. Soc. 1982: 104: 1737-9. O enolato metálico pode ser formado com uma base de amida de lítio ou de sódio, e alquilada subsequentemente para dar origem a um derivado de ácido carboxílico substituído. Esta metodologia foi valiosa para a síntese enantiosseletiva destes derivados de ácido carboxílico  $\alpha$ -substituídos. Neste artigo seminal Evans descreveu a preparação de derivados de ácido propiónico com uma série de agentes alquilantes simples. Por variação da estequiometria do sintão quiral (a oxazolidinona), foi capaz de conseguir estereoselectividade elevada.

Evans usou este auxiliar quiral noutras estudos sintéticos mas nenhum foi relacionado com o ácido 4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico que contém um ácido  $\beta$ -substituído- $\gamma$ -amino. A metodologia tal como apresentada por Evans ensina com respeito à substituição  $\alpha$ , e na direcção oposta da substituição  $\beta$ , e não tem sido usada na preparação deste tipo de aminoácido não usual. Foram usadas N- aciloxazolidinonas para formar enolatos de clorotitânio

*Very Sincere Greetings*

- 9 -

que têm sido feitos reagir com aductos de Michael tais como acrilonitrilo, J. Org. Chem. 1991; 56: 5750-2. Estes foram usados na síntese da família de antibióticos rutamicina, J. Org. Chem. 1990; 55: 6260-8 e nas condensações aldólicas estereoselectivas, Org. Synth. 1990; 68: 83-91. Os aminoácidos α quirais foram preparados via o método oxazolidinona. Nesta sequência, um enolato de dibutilboro foi bromado e deslocado com azida, Tetrahedron Lett. 1987; 28: 1123-6. Foram também descritas outras sínteses de β-hidroxi-α-aminoácidos via este auxiliar quiral através de condensação aldólica (Tetrahedron Lett. 1987; 28: 39-42; J. Am. Chem. Soc. 1987; 109: 7151-7). Foram também usados N-aciloxazolidinonas α,β-insaturadas para induzir quiralidade na reacção de Diels-Alder, (J. Am. Chem. Soc. 1988; 110: 1238-56. Em nenhum destes exemplos, ou outros encontrados na literatura, é esta a metodologia usada para preparar ácidos carboxílicos β-substituídos ou análogos de GABA 3-substituídos.

Noutra concretização, os compostos quirais de acordo com a invenção podem ser preparados de uma maneira que é semelhante à síntese descrita no Diagrama I. Nesta concretização, no entanto, o passo 8 no Diagrama I pode ser substituído por um procedimento alternativo de dois passos que está estabelecido aqui abaixo no Exemplo 2. Em vez de redução da azida (8) ao aminoácido (9) no Diagrama I, o procedimento alternativo hidrolisa a azida (8) para dar origem a um intermediário azida (8a) que é subsequentemente reduzido (ver diagrama Ia).

Existem duas vantagens principais na hidrólise da azida (8) para dar origem ao intermediário azida (8a) antes da redução. A primeira vantagem é que esse intermediário azida (8a) pode ser purificado por extracção numa base aquosa. Após o extracto aquoso ser acidificado, o intermediário azida (8a) pode ser extraído numa fase orgânica e isolado. Isto permite uma purificação do intermediário azida (8a) que não envolve cromatografia. A purificação da azida

*Very Sincere Genuineness*

- 10 -

(8) requer cromatografia que é muito dispendiosa e muitas vezes impraticável numa grande escala.

A segunda vantagem é que esse intermediário azida (8a) pode ser reduzido ao aminoácido (9) sem adição de ácido. A redução da azida (8) requer a adição de ácido, e.g. ácido clorídrico para se obter o aminoácido (9). Infelizmente, a lactamização do aminoácido (9) é promovida pela presença de ácido. O intermediário azida (8a) pode ser reduzido sob condições perto da neutralidade para dar origem ao aminoácido (9), minimizando assim o problema da formação de lactama.

Noutra concretização preferida, os compostos quirais de acordo com a invenção podem ser preparados como estabelecido no Diagrama esquemático II a este respeito.

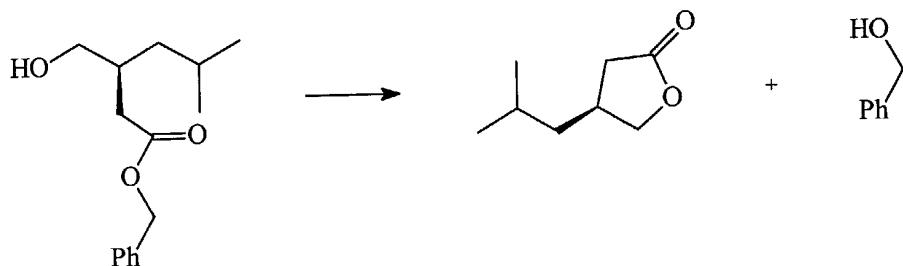
No Diagrama II Ph é fenilo, Ts é tosilo.

O procedimento sintético detalhado é estabelecido aqui abaixo no Exemplo 3. Este procedimento é semelhante ao da via sintética descrita no Diagrama I, no entanto, o procedimento do Diagrama II substitui o éster benzílico na via sintética do Diagrama I por um éster t-butílico. O aminoácido desejado (9) e (109) é o mesmo produto final em ambos os Diagramas I e II, respectivamente.

Existem várias vantagens para usar o éster t-butílico em vez do éster benzílico na síntese do aminoácido (9) ou (109). Uma primeira vantagem relaciona-se com a hidrólise do auxiliar quiral no passo 4 do Diagrama I. Durante a hidrólise do auxiliar quiral nesta reacção ocorre frequentemente alguma hidrólise do éster benzílico. Não houve experiência de ocorrência de hidrólise do

## Éster t-butílico no Diagrama II.

Outra vantagem relaciona-se com a utilização de álcool (106) no Diagrama II sobre a utilização de álcool (6) no Diagrama I. Um problema com o álcool-éster benzílico é a tendência do álcool-éster benzílico sofrer lactonização como é mostrado abaixo. Embora a lactonização do éster benzílico possa ser evitada sob certas condições, o álcool-éster t-butílico é muito menos propenso para lactonização.



Ainda outra vantagem, que foi discutida previamente com respeito ao procedimento sintético descrito pelo Diagrama Ia, é que a via sintética t-butilo minimiza o problema de formação de lactama do produto final aminoácido (109). Em vez de redução da azida (108) a aminoácido (109) que requer a adição de ácido que causa a lactamização do aminoácido (109), a azida (108) é primeiro hidrolisada no intermediário azida (108a). O intermediário azida (108a) pode ser reduzido sob condições neutras para dar origem ao aminoácido (109) minimizando assim o problema de formação de lactama.

Os compostos de acordo com a invenção podem ser utilizados em composições farmacêuticas como um antidepressivo, anxiolítico, antipsicótico, anti-ataque, antidisquinésico, ou antissintomático para as doenças de Huntington ou de Parkinson quando é utilizada uma quantidade efectiva do composto juntamente com um veículo farmaceuticamente aceitável. Isto é, a presente

*Viv Salas Company*

- 12 -

invenção providencia uma composição farmacêutica para a supressão de ataques resultantes de epilepsia, o tratamento de isquemia cerebral, doença de Parkinson, doença de Huntington e espasticidade e também possivelmente para efeitos antidepressivos, anxiolíticos e antipsicóticos. Estas últimas utilizações são esperadas devido a similaridades funcionais com outros compostos conhecidos contendo estas actividades farmacológicas. As composições farmacêuticas podem ser utilizadas para o tratamento de tais distúrbios em mamíferos, incluindo humanos, sofrendo disso por administração a tais mamíferos uma quantidade efectiva do composto na forma de dosagem unitária.

Os compostos farmacêuticos de acordo com presente invenção podem ser preparados e administrados numa vasta variedade de formas de dosagem. Por exemplo, a composição farmacêutica pode ser feita em veículos inertes, farmaceuticamente aceitáveis que são quer sólidos ou líquidos. Preparações na forma sólida adequadas incluem pós, comprimidos, grânulos dispersáveis, cápsulas, "cachets" e supositórios. Outras preparações na forma sólida e líquida podem ser feitas de acordo com métodos conhecidos da técnica. A quantidade de composto activo numa unidade de dose pode ser variada ou ajustada desde 1 mg até cerca de 300 mg/kg (miligrama por quilograma) diariamente, baseada num paciente médio de 70 kg. É preferida uma gama de dose diária de cerca de 1 mg até cerca de 50 mg/kg. As dosagens, no entanto, podem ser variadas dependendo da necessidade do paciente e da severidade do estado tratado.

Como notado aqui acima, o enantiómero S-(+) de ácido 4-amino-3-(2-metilpropil) butanóico (3-isobutil GABA ou IBG) que está relacionado estruturalmente com o anticonvulsivo conhecido, gabapentina, desloca potencialmente a gabapentina tritiada de um novo local de elevada afinidade em fracções de membrana cerebral de rato. Também o enantiómero S-(+) de 3-

*Very Sincere Greetings*

- 13 -

isobutil GABA é virtualmente responsável por todo o bloqueio de ataques de electrochoque máximo em murganhos e ratos. O enantiómero R(-) de 3-isobutil GABA é muito menos efectivo no bloqueio de ataques de electrochoque máximo e no deslocamento de gabapentina tritiada do novo local de coordenação de elevada afinidade. A Tabela 1 abaixo estabelece dados comparando gabapentina, 3-isobutil GABA racémico ((±)-IBG), S-(+)-3-isobutilGABA ((S)-IBG) e R-(-)-3-isobutilGABA ((R)-IBG) nestes ensaios.

TABELA 1

Sistema de Ensaio	3-Isobutil GABA (ED <sub>50</sub> )			
	Gabapentina	(±)-IBG	(S)-IBG	(R)-IBG
<b>Ligaçao ao Receptor de Gabapentina (IC<sub>50</sub>)</b>	0,14 μM	0,10 μM	0,044 μM	0,86 μM
<b>Murganho IV</b>				
Electrochoque de Baixa Intensidade	4,3 mg/kg	4,8 mg/kg	4,0 mg/kg	> 100 mg/kg
<b>Murganho IV</b>				
Electrochoque Máximo	75 mg/kg	10 mg/kg	18 mg/kg	> 100 mg/kg
<b>Rato PO</b>				
Electrochoque Máximo	200 mg/kg	47 mg/kg	12 mg/kg	
<b>Murganho IV</b>	> 100 mg/kg	> 100 mg/kg	> 300 mg/kg	> 100 mg/kg
<b>Ataxia</b>		(IP)		

Duração de picos de actividade anticonvulsiva (todos os compostos) 2,0 horas após a dose e principalmente na maioria desaparecidos 8 horas após a dose.

Os dados estabelecidos na Tabela 1 foram obtidos como se segue.

*Very Satis. Learning*

- 14 -

Para o ensaio anticonvulsivo, murganhos masculinos de classe CF-1 (20-25 g) e ratos masculinos "Sprague-Dawley" (75 – 115 g) foram obtidos dos Laboratórios Charles River e foram mantidos com acesso livre a alimentos e água antes do ensaio. O electrochoque máximo foi emitido com eléctrodos corneais por métodos convencionais (Krall, supra, 1975) excepto que o electrochoque de baixa intensidade com murganhos consistiu em 17 mA de corrente em vez dos convencionais 50 mA (de zero até ao pico). Resumidamente, foi dada a substância teste aos murganhos e foram ensaiados para prevenção de ataques por aplicação de corrente eléctrica às córneas por 2 eléctrodos metálicos revestidos com rede e saturados com cloreto de sódio a 0,9 %. A estimulação de electrochoque foi emitida por um dispositivo de corrente constante que produziu corrente eléctrica sinusoidal de 60 Hz durante 0,2 segundos. Para os ratos, a estimulação de electrochoque máximo consistiu em 120 mA de corrente. A ataxia nos murganhos foi avaliada pelo procedimento de ecrã invertido no qual os murganhos foram colocados individualmente num quadrado de malha de arame de 4,0 polegadas que foi subsequentemente invertido (Coughenour, supra, 1978). Qualquer rato que caísse da malha de arame durante um período de teste de 60 segundos foi considerado como atáxico. Os valores de ED<sub>50</sub> foram determinados por análises de resultados "probit" com pelo menos 5 grupos de dosagem de 10 murganhos ou 8 ratos cada.

Todos os fármacos foram solubilizados livremente em meio aquoso. Para estudos *in vivo*, as soluções de fármaco foram feitas em cloreto de sódio a 0,9 % e dadas num volume de 1 ml/100 g de peso corporal. A administração intravenosa foi dada por injecção bolus na cavidade retro-orbital em murganhos. As administrações orais foram por cânula intragástrica.

Para estudos de ligação, foram preparadas membranas de plasma sináptico parcialmente purificadas a partir do neocortex de rato usando

*Very Sincere Gennarino*

- 15 -

gradiêntes de densidade de sacarose. O córtex cerebral de 10 ratos foi dissecado do resto do cérebro e homogeneizado em 10 volumes (massa/volume) de sacarose 0,32 M arrefecida em gelo em tris-acetato 5 mM (pH 7,4) utilizando um homogeneizador de vidro equipado com um pilão de teflon (10-15 pancadas a 200 rpm). O homogeneizado foi centrifugado a 100 g durante 10 minutos e o sobrenadante recolhido e mantido em gelo. A pílula (P1) foi re-homogeneizada em 20 ml de tris-sacarose e o homogeneizado re-centrifugado. Os sobrenadantes combinados foram centrifugados a 21500 g durante 20 minutos. A pílula (P2) foi ressuspensa em tris-sacarose 1,2 M e 15 ml desta mistura foram adicionados a tubos de ultracentrifugação. Neste, foram depositados 10 ml de sacarose 0,9 M seguida de uma camada final de tris-acetato 5 mM, pH 8,0. Os tubos foram centrifugados a 100000 g durante 90 minutos. As membranas de plasma sinápticas localizadas na interface de sacarose 0,9/1,2 M foram recolhidas, ressuspensas em 50 ml de tris-acetato 5 mM, pH 7,4, e centrifugadas a 48000 g. A pílula final foi ressuspensa em 50 ml de tris-acetato, pH 7,4, tomada uma alíquota, e em seguida congelada até utilização.

O tecido de ensaio (0,1 a 0,3 mg de proteína) foi incubado com [<sup>3</sup>H]-gapentina 20 mM num tampão HEPES 10 mM (pH 7,4 a 20 °C, sódio livre) na presença de concentrações variadas do composto teste durante 30 minutos à temperatura ambiente, antes de filtração sobre filtros GFB sob vácuo. Os filtros foram lavados 3 vezes com 5 ml de solução de NaCl 100 mM arrefecida em gelo e dpm ligado aos filtros foi determinado usando contagem de cintilação líquida. A ligação não específica foi definida pelo observado na presença de gapentina 100 mM.

Face à actividade demonstrada acima dos compostos que caracterizam a presente invenção e em particular o ácido 4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico (isobutil GABA) os compostos feitos de acordo com a

*Very Satisfactory*

- 16 -

presente invcnção são dc valor como agentes farmacêuticos, particularmente para o tratamento de ataques em mamíferos, incluindo humanos.

#### EXEMPLO 1

##### ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico

Os "passos" seguintes, referem-se ao Diagrama I.

##### Passo 1

A uma solução de ácido 4-metilvalérico (50,0 g, 0,43 mol) em 100 ml de clorofórmio anidro foi adicionado cloreto de tionilo (60 ml, 0,82 mol). A mistura reaccional foi refluxada durante 2 horas e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. O excesso de clorofórmio e de cloreto de tionilo foi removido por destilação. O óleo residual foi em seguida destilado fraccionadamente para dar origem a 45,3 g (78 %) de cloreto de ácido (2), p. eb. = 143-144 °C.

O cloreto de ácido (2) foi também preparado por um método alternativo que eliminou a utilização de clorofórmio o qual tem dificuldades de controle de resíduos e de exposição do operador. O método alternativo também minimizou a formação de anidrido 4-metilvalérico.

A uma solução de cloreto de tionilo (98,5 kg, 828 mol) e N,N-dimetilformamida (2 kg, 27 mol) foi adicionado ácido 4-metilvalérico (74 kg, 637 mol) enquanto se mantinha a temperatura reaccional de 25-30 °C. Foram adicionados hexanos (30 l) e a solução foi mantida a 30-35 °C durante 1 hora e 15 minutos. A solução foi sujeita a destilação atmosférica até que foi atingida uma temperatura de solução de 95 °C. Após arrefecimento, foram adicionados

*Very Satisfactory*

- 17 -

hexanos (30 l) e a solução foi sujeita a destilação atmosférica até que foi atingida uma temperatura de solução de 97 °C. A destilação do óleo residual produziu 79 kg (92 %) de cloreto de ácido (2), p. eb. = -77 °C, 60-65 mm Hg.

### Passo 2

A uma solução de (4R, 5S)-(+)-4-metil-5-fenil-2-oxazolidinona (5,27 g, 29,74 mmol) em 70 ml de tetrahidrofurano anidro a -78 °C sob atmosfera de argon foi adicionada lentamente uma solução de n-butillítio 1,6 M (19 ml, 30,40 mmol) em hexanos. A mistura foi deixada a agitar a -78 °C durante 15 minutos em seguida foi adicionado o cloreto de ácido (4,5 g, 33,43 mmol) para extinguir a reacção. A reacção foi agitada a -78 °C durante 10 minutos e em seguida a 0 °C durante 30 minutos. Foi adicionada uma solução de bicarbonato de sódio saturada (50 ml) e a mistura foi agitada a 0 °C durante 30 minutos. A fase orgânica foi recolhida e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (3x). Os extractos orgânicos foram combinados e secos com sulfato de magnésio anidro. Foi em seguida filtrado e concentrado para dar origem a um óleo incolor. O óleo foi então cromatografado com acetato de etilo a 8 % em hexanos em sílica gel para dar origem a 7,56 g (82 %) da aciloxazolidinona (3) como um sólido branco.

Anal. Calc. para  $C_{16}H_{21}NO_3$  :

C, 69,79; H, 7,69; N, 5,09.

Encontrado: C, 69,56; H, 7,63; N, 5,06.

A aciloxazolidinona (3) foi também preparada por um método alternativo que foi conduzido de -5 °C a 0 °C em vez de a -78 °C que é difícil e dispendioso de se atingir numa escala de fabrico. O método alternativo também deu origem a um sólido cristalino a partir da mistura reaccional em vez de um óleo o qual tem que ser cromatografado.

*Very Sullen. Liverwurst*

- 18 -

A uma solução de 4-metil-5-fenil-2-oxazolidinona (64 g, 0,36 mol) em tetrahidrofurano anidro (270 g) a -5 °C foi adicionada uma solução de n-butil-lítio em hexano a 15 % (160 g, 0,37 mol) numa gama de temperatura de -5°C até 0 °C. Foi adicionado cloreto de ácido (2) (48,6 g, 0,36 mol) de -10 °C até 0 °C. A reacção foi extinguida com uma solução de água (90 ml) e bicarbonato de sódio (4 g). Foi adicionado acetato de etilo (200 g) e as fases foram separadas. A fase orgânica foi extraída com água (2 x 50 ml) e as fases aquosas foram novamente extraídas com acetato de etilo (100 g). Os extractos orgânicos foram combinados e foram removidos aproximadamente 150 ml de solvente por destilação. A destilação atmosférica foi continuada e foi adicionado heptano (2 x 200 g) até ser atingida uma temperatura de vapor de 95 °C. A solução foi arrefecida até 5 °C. O produto foi recolhido por filtração, lavado com heptano frio, e seco para dar origem a 79 g (80 %) de acicloxazolidinona. (3).

### Passo 3

A uma solução de diisopropilamina (4,8 ml, 34,25 mmol) em 30 ml de tetrahidrofurano anidro a 0 °C sob atmosfera de argón, foi adicionada lentamente uma solução de n-butil-lítio em hexanos 1,6 M ( 21 ml, 33,60 mmol). A solução foi agitada a 0 °C durante 30 minutos e em seguida arrefecida até -78 °C. Foi adicionada uma solução de acicloxazolidinona (3) (7,56 g, 27,46 mmol) em 30 ml de tetrahidrofurano anidro e a solução amarelo pálido foi agitada a -78 °C durante 30 minutos. Foi adicionado α-bromoacetato de benzilo e a solução resultante foi agitada a -25 °C durante 2 horas. A mistura reacional foi extinguida com uma solução semi-saturada de cloreto de amónio e extraída com acetato de etilo (2x). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de magnésio anidro e em seguida filtradas e concentradas para dar origem a um óleo incolor. O óleo foi em seguida cromatografado com acetato de etilo a 8% em

*Way South Germany*

- 19 -

hexanos em sílica gcl para dar origem a 6,16 g (53 %) da aciloxazolidinona (4) como um sólido branco.

Anal. Calc. para  $C_{25}H_{29}NO_5$  :

C, 70,90; H, 6,90; N, 3,31.

Encontrado: C, 70,47; H, 6,87; N, 3,45.

A aciloxazolidinona (4) foi também preparada por um método alternativo que foi vantajoso por a reacção ter sido conduzida a temperatura superior (de  $-35^{\circ}\text{C}$  a  $25^{\circ}\text{C}$  em vez de a  $-78^{\circ}\text{C}$ ) e ter sido evitada uma separação cromatográfica difícil e dispendiosa.

A aciloxazolidinona (3) (85 kg, 308 mol) foi dissolvida em tetrahidrofurano anidro (201 kg) e arrefecido a  $-30^{\circ}\text{C}$ . Foi adicionada diisopropilamina de lítio (340 mol) em éter metil-t-butílico/hexano enquanto se mantinha uma temperatura reacional de desde  $-35^{\circ}\text{C}$  até  $-25^{\circ}\text{C}$ . Em seguida foi adicionado bromoacetato de benzilo (85 kg, 371 mol) enquanto se mantinha a temperatura reacional de  $-35^{\circ}\text{C}$  até  $-25^{\circ}\text{C}$ . Água (60 kg) e éter metil-t-butílico (93 kg) foram adicionados e a mistura foi deixada aquecer até  $18^{\circ}\text{C}$ . As fases foram separadas e a fase orgânica foi extraída com uma solução de água (40 ml) e cloreto de sódio (7 kg). As fases foram separadas e a fase orgânica foi concentrada a 200 litros por destilação. Foi adicionado álcool isopropílico (200 l) e a solução foi novamente concentrada a 200 litros por destilação. Foram adicionados álcool isopropílico (425 l) e água (160 l) e a mistura foi aquecida até  $50^{\circ}\text{C}$ . A solução foi arrefecida até  $18^{\circ}\text{C}$ . O produto foi recolhido por filtração, lavado com álcool isopropílico/água e seco sob pressão reduzida para dar origem a 58,7 kg (rendimento 49 %) de aciloxazolidinona (4) como um sólido.

*Way Sulfur Chemistry*

- 20 -

Passo 4

A uma solução pré-arrefecida (0 °C) de aciloxazolidinona (4) (24,3 g, 57,38 mmol) em 600 ml de tetrahidrofurano foi adicionada uma solução de peróxido de hidrogénio a 30% (23,7 ml) em 320 ml de solução de hidróxido de lítio 0,2 M através de um funil de adição durante 20 minutos. A mistura reacional foi deixada a agitar a 0 °C durante 4 horas. Em seguida foi adicionada lentamente uma solução de meta-bissulfito de sódio (62,2 g, 0,33 mol) em 320 ml de água para extinguir a reacção. A mistura foi agitada a 0 °C durante 20 minutos. O excesso de tetrahidrofurano num rotavapor. O resíduo aquoso foi extraído com acetato de etilo (3 x 350 ml). Os extractos orgânicos combinados foram secos com sulfato de magnésio anidro e em seguida filtrados. O resíduo oleoso após concentração foi cromatografado por acetato de etilo a 40% em hexano em sílica gel para dar origem a 13,34 g (88 %) do ácido (5) como um óleo límpido. A coluna foi em seguida eluída com acetato de etilo a 50% em hexano para dar origem ao auxiliar quiral oxazolidinona.

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de ácido (5):  $\delta$  9,80 (s largo, 1H), 7,36 (m, 5H), 5,14 (ABq estreito, 2H,  $J_{\text{AB}}=11,4$  Hz), 2,80 (m, 1H), 2,63 (ABX, 2H,  $J_{\text{AB}}=16,75$  Hz,  $J_{\text{AB}}=9,13$  Hz,  $J_{\text{BX}}=5,16$  Hz,  $\text{U}_{\text{AB}}=73,20$  Hz), 1,66 (m, 2H), 1,33 (m, 1H), 0,93 (d, 3H,  $J=7,32$  Hz), 0,91 (d, 3H,  $J=6,45$  Hz).

Num método alternativo, após concentração da reacção a um resíduo oleoso, pode ser adicionado hexano ou heptano para precipitar o auxiliar quiral oxazolidinona. A filtração origina então uma recuperação de 80 % do auxiliar quiral. O filtrado hexano ou heptano contendo ácido (5) é em seguida extraído quer com uma solução de etanol em água ou com água quente para remoção de qualquer auxiliar quiral restante. Este método alternativo evita uma separação cromatográfica difícil e dispendiosa do auxiliar quiral do ácido (5).

*Way Salmon Murray*

- 21 -

### Passo 5

A uma solução do ácido (5) (13,34 g, 50,47 mmol) em 460 ml de tetrahidrofurano anidro a 0 °C sob atmosfera de argônio foi adicionado lentamente o complexo dimetilsulfureto de borano (10 M, 11,2 ml, 112,0 mmol). A mistura reacional foi agitada a 0 °C durante 30 minutos em seguida à temperatura ambiente durante 4 horas. A reacção foi arrefecida a 0 °C e foram adicionados lentamente 250 ml de metanol. A mistura foi agitada a 0 °C durante 30 minutos e o excesso de solvente foi removido sob vácuo. O óleo resultante foi cromatografado por acetato de etilo a 15 % em hexanos em sílica gel para dar origem a 10,59 g (84%) do álcool (6) como um óleo incolor.

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,37 (m, 5H), 5,14 (s, 2H), 3,57 (ABX, 2H,  $J_{\text{AB}}=10,99$  Hz,  $J_{\text{AX}}=4,34$  Hz,  $J_{\text{BX}}=6,85$  Hz,  $\nu_{\text{AB}}=51,71$  Hz), 2,42 (ABX, 2H,  $J_{\text{AB}}=15,26$  Hz,  $J_{\text{AX}}=7,60$  Hz,  $J_{\text{BX}}=5,56$  Hz,  $\nu_{\text{AB}}=18,81$  Hz), 2,15 (m, 1H), 1,87 (s largo, 1H), 1,63 (m, 1H), 0,93 (m, 2H), 0,88 (d, 3H,  $J=6,15$  Hz), 0,87 (d, 3H,  $J=6,45$  Hz).

### Passo 6

A uma solução do álcool (6) (10,22 g, 40,82 mmol) em 50 ml de piridina anidra a 0 °C foi adicionado cloreto de tosilo (8,60 g, 45,11 mmol). A mistura reacional foi agitada a 0 °C durante 15 minutos em seguida mantida durante a noite num frigorífico a 4 °C. A mistura reacional foi diluída com 160 ml de acetato de etilo e 100 ml de água. A mistura foi arrefecida a 0 °C num banho de água-gelo e em seguida foi adicionado lentamente ácido clorídrico concentrado para neutralizar o excesso de piridina (até pH 2). A fase orgânica foi recolhida e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (3 x 100 ml). Os orgânicos combinados foram secos com sulfato de magnésio anidro e em seguida filtrados. O óleo amarelo pálido resultante após concentração foi cromatografado

*Very Sulfur Chemistry*

- 22 -

por acetato de etilo a 10 % em hexanos em sílica gel para dar origem a 14,44 g (87%) do tosilato (7) como um óleo incolor.

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,77 (d, 2H,  $J=8,27$  Hz), 7,34 (m, 7H), 5,07 (s, 2H), 4,00 (ABX, 2H,  $J_{\text{AB}}=9,77$  Hz,  $J_{\text{AX}}=4,07$  Hz,  $J_{\text{BX}}=5,69$  Hz,  $\nu_{\text{AB}}=27,58$  Hz), 2,44 (s, 1H), 2,44-2,20 (m, 3H), 1,46 (m, 1H), 1,28-1,02 (m, 2H), 0,81 (d, 6H,  $J=6,58$  Hz).

O tosilato (7) foi também preparado a partir do ácido (5) num método alternativo. Este método foi vantajoso sobre o procedimento precedente acima uma vez que minimizou a quantidade de  $\beta$ -isobutil- $\gamma$ -lactona produzida como um produto secundário na reacção acima.

Uma solução de ácido (5) (22,3 kg, 84,4 mol) em éter metil-t-butílico (198 kg) foi arrefecida a  $-6$  °C. Foi adicionado o complexo sulfureto de metilborano (15,6 kg, 177 mol) enquanto se mantinha uma temperatura reacional de 5 °C ou menos. A mistura foi em seguida aquecida a 20 °C e agitada durante duas horas. A mistura foi arrefecida a 0 °C e foi adicionado metanol (24 l) enquanto se mantinha uma temperatura reacional de 5 °C ou menos. Foi adicionada água (132 l) a uma temperatura de 15 °C ou menos. As fases foram separadas e a fase aquosa foi extraída com éter metil-t-butílico (27 kg). Os orgânicos foram combinados e extraídos com água (72 l). A solução foi concentrada a um óleo por destilação e foi adicionado acetato de etilo (23 kg). A solução foi novamente concentrada a um óleo por destilação para dar origem ao álcool (6). Foi adicionada piridina (53 kg). A solução foi arrefecida a 1 °C e foi adicionado cloreto de *para*-toluenossulfônico (23 kg, 121 mol) enquanto se mantinha uma temperatura reacional de  $-5$  °C a 5 °C. A mistura foi agitada a 2 °C durante 8 horas em seguida aquecida a 20 °C. Foi adicionada água (12 l) enquanto se mantinha uma temperatura reacional de 23 °C ou menos. A mistura foi arrefecida a 1 °C e foi adicionado ácido clorídrico aquoso (52 kg de ácido

*Woj Selsz Germany*

- 23 -

concentrado em 63 l de água). Foi adicionado éter metil-t-butílico (296 kg) e a mistura foi aquecida a 18 °C. As fases foram separadas e a fase aquosa foi extraída com éter metil-t-butílico (74 kg). As fases orgânicas foram combinadas e extraídas com ácido clorídrico aquoso (0,6 kg de ácido clorídrico concentrado em 20 l de água), bicarbonato de sódio aquoso (2,7 kg de bicarbonato de sódio em 50 l de água), e água (30 l). A solução orgânica foi concentrada a um óleo por destilação. Foi adicionado éter metil-t-butílico (19 kg) e a mistura foi novamente concentrada a um óleo. O produto resultante foi dissolvido em éter metil-t-butílico (37,9 kg) e armazenado como uma solução. Massa de tosilato (7) contido na solução éter metil-t-butílico 30,1 kg (rendimento 88 %).

#### Passo 7

Uma mistura do tosilato (7) (14,44 g, 35,70 mmol) e azida de sódio (5,50 g, 84,59 mmol) em 180 ml de dimetilsulfóxido anidro foi aquecida a 65 °C durante a noite. A mistura reaccional foi arrefecida até à temperatura ambiente e foram adicionados 900 ml de água. A mistura foi extraída (4x) com um total de 2 l de hexanos. Os extractos orgânicos combinados foram secos com sulfato de magnésio anidro e em seguida filtrados. O filtrado foi concentrado e o óleo resultante foi em seguida cromatografado por acetato de etilo a 8 % em hexanos em sílica gel para dar origem a 8,55 g (87 %) da azida (8) como um óleo incolor.  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,37 (m, 5H), 5,14 (s, 2H), 3,33 (ABX, 2H,  $J_{\text{AB}}=12,27$  Hz,  $J_{\text{AX}}=4,95$  Hz,  $J_{\text{BX}}=6,10$  Hz,  $\nu_{\text{AB}}=22,87$  Hz), 2,39 (m, 2H), 2,19 (m, 2H), 1,62 (m, 1H), 1,20 (m, 2H), 0,88 (d, 6H,  $J=6,44$  Hz).

#### Passo 8

A uma solução da azida (8) (8,55 g, 31,05 mmol) em 500 ml de tetrahidrofurano foram adicionados 62 ml de uma solução de ácido clorídrico

*Very Satis. Clarity*

- 24 -

aquoso 1N c 1 g dc catalisador dc paládio a 10% cm carbono. A mistura foi agitada durante a noite à temperatura ambiente num aparelho Parr. O catalisador foi removido por filtração sobre uma pasta de celite. O filtrado foi concentrado e foram adicionados 50 ml uma solução de ácido clorídrico 1N. A solução aquosa foi lavada com éter (3 x 50 ml). A fase aquosa foi recolhida e em seguida cromatografada numa coluna Dowex 50W x 8 (forma H<sup>+</sup>) eluída com uma solução de hidróxido de amónio 0,5 N. As fracções contendo o aminoácido (positivo Ninidrina) foram recolhidas e em seguida liofilizadas para dar origem a 3,2 g (65 %) do aminoácido (9) como um sólido branco.

P.f.= 175 – 176 °C; [α]D<sup>23</sup> = 10,520 (1,06, H<sub>2</sub>O).

## EXEMPLO 2

### Ácido (S)-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico

Este composto foi preparado da mesma maneira que no Exemplo 1, excepto que o aminoácido (9) é preparado a partir da azida (8) por um processo de 2 passos utilizando um intermediário azida (8a) que é reduzido subsequentemente (o passo 1 do método de redução identificado como passo 8 é descrito acima). O procedimento sintético do Exemplo 2 é esquematizado no Diagrama Ia.

#### Passo 1: Preparação da Azida Intermediária (8a)

A azida (8) (10,7 g, 0,040 mol) em etanol (100 ml) e água (20 ml) foi tratada com hidróxido de sódio aquoso a 50 % (9,8 g). A mistura foi agitada a 30 °C durante 45 minutos. O etanol foi removido sob pressão reduzida até ter permanecido 30 g de líquido, foi adicionada água (100 ml) e a mistura foi extraída com éter metil-t-butílico (4 x 100 ml). Os extractos de éter metil-t-butílico foram extraídos com hidróxido de sódio 1M e as fases aquosas foram

*Very Sulfur Compounds*

- 25 -

combinadas e acidificadas a pH 1,6 com ácido clorídrico concentrado. A mistura aquosa foi em seguida extraída com éter metil-t-butílico (2 x 100 ml) e os extractos orgânicos foram combinados e concentrados sob pressão reduzida. O óleo resultante foi dissolvido em heptano (50 ml) e extraído com bicarbonato de sódio aquoso saturado (2 x 40 ml). Os extractos aquosos foram extraídos com heptano (50 ml), combinados e acidificados a pH 1,6 com ácido clorídrico concentrado. A mistura aquosa foi extraída com heptano (2 x 50 ml). Os extractos de heptano foram extraídos com água (40 ml), combinados, e concentrados sob pressão reduzida para dar origem a 5,4 g (75 %) da azida intermediária (8a) como um óleo.

$^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10,8 (s largo, 1H), 3,36 (m, 2H), 2,38 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,25 (m, 2H), 0,91 (d, 6H,  $J=6,56$  Hz).

Passo 2: Síntese de Aminoácido (9) a partir da Azida Intermediária (8a)

A azida intermediária (8a) (12,7 g, 68,6 mol) foi dissolvida em éter metil-t-butílico (80 kg). A mistura foi sujeita a hidrogenação catalítica na presença de paládio a 5% em carbono (2,0 kg humedecido com 50 % de água) de 49 a 55 psi de hidrogénio até a azida intermediária (8a) ter sido consumida. A mistura foi filtrada e o sólido foi lavado com éter metil-t-butílico (30 kg). O sólido foi dissolvido numa solução de isopropanol quente (75 kg) e água (60 kg) e a solução foi filtrada. A solução aquosa de isopropanol foi arrefecida a  $-3$  °C e o produto foi filtrado e lavado com isopropanol frio (16 kg). O sólido foi seco sob pressão reduzida para dar origem a 6,4 kg (59 %) de aminoácido (9).

Esta reacção pode ser conduzida numa variedade de solventes. Reduções com sucesso foram levadas a cabo em heptano, etanol/água, isopropanol, isopropanol/água, metanol/água, e tetrahidrofurano/água bem como em éter metil-t-butílico.

*Very Good Summary*

### EXEMPLO 3

#### Ácido (S)-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico

Os "passos" seguintes, referem-se ao Diagrama II. Todas as reacções foram levadas a cabo sob uma atmosfera de azoto.

##### Passo 1

A uma solução de ácido 4-metilvalérico (50,0 g, 0,43 mol) em 100 ml de clorofórmio anidro foi adicionado cloreto de tionilo (60 ml, 0,82 mol). A mistura reaccional foi refluxada durante 2 horas e em seguida arrefecida até à temperatura ambiente. O excesso de clorofórmio e de cloreto de tionilo foi removido por destilação. O óleo residual foi em seguida destilado fraccionadamente para dar origem a 45,3 g (78 %) de cloreto de ácido (102), p.eb.=143 - 144 °C.

O cloreto de ácido (102) foi também preparado por um método alternativo que eliminou a utilização de clorofórmio o qual tem dificuldades de controle de resíduos e de exposição do operador. O método alternativo também minimizou a formação de anidrido 4-metilvalérico.

A uma solução de cloreto de tionilo (98,5 kg, 828 mol) e N,N-dimetilformamida (2 kg, 27 mol) foi adicionado ácido 4-metilvalérico (74 kg, 637 mol) enquanto se mantinha a temperatura reaccional de 25-30 °C. Foram adicionados hexanos (30 l) e a solução foi mantida a 30-35 °C durante 1 hora e 15 minutos. A solução foi em seguida aquecida de 70 a 75 °C durante 1 hora e 10 minutos. A solução foi sujeita a destilação atmosférica até que foi atingida uma temperatura de solução de 95 °C. Após arrefecimento, foram adicionados hexanos (30 l) e a solução foi sujeita a destilação atmosférica até que foi atingida uma temperatura de solução de 97 °C. A destilação do óleo residual produziu 79

*Willy Eberhard Weygand*

- 27 -

kg (92 %) de cloreto de ácido (102), p. cb. = -77 °C, 60-65 mm Hg.

### Passo 2

A uma solução de (4R, 5S)-(+)-4-metil-5-fenil-2-oxazolidinona (5,27 g, 29,74 mmol) em 70 ml de tetrahidrofurano anidro a -78 °C sob atmosfera de argon foi adicionada lentamente uma solução de n-butillítio 1,6 M (19 ml, 30,40 mmol) em hexanos. A mistura foi deixada a agitar a -78 °C durante 15 minutos em seguida foi adicionado o cloreto de ácido (4,5 g, 33,43 mmol) para extinguir a reacção. A reacção foi agitada a -78 °C durante 10 minutos e em seguida a 0 °C durante 30 minutos. Foi adicionada uma solução de bicarbonato de sódio saturada (50 ml) e a mistura foi agitada a 0 °C durante 30 minutos. A fase orgânica foi recolhida e a fase aquosa foi extraída com acetato de etilo (3x). Os extractos orgânicos foram combinados e secos com sulfato de magnésio anidro. Foi em seguida filtrado e concentrado para dar origem a um óleo incolor. O óleo foi então cromatografado com acetato de etilo a 8 % em hexanos em sílica gel para dar origem a 7,56 g (82 %) da aciloxazolidinona (3) como um sólido branco.

Anal. Calc. para  $C_{16}H_{21}NO_3$  :

C, 69,79; H, 7,69; N, 5,09.

Encontrado: C, 69,56; H, 7,63; N, 5,06.

A aciloxazolidinona (103) foi também preparada por um método alternativo que foi conduzido de -5 °C a 0 °C em vez de a -78 °C que é difícil e dispendioso de se atingir numa escala de fabrico. O método alternativo também deu origem a um sólido cristalino a partir da mistura reacional em vez de um óleo o qual tem que ser cromatografado.

A uma solução de 4-metil-5-fenil-2-oxazolidinona (64 g, 0,36 mol)

*Lury Sábia Lemos*

- 28 -

em tctrahidrofurano anidro (270 g) a -5 °C foi adicionada uma solução de n-butil-lítio em hexano a 15 % (160 g, 0,37 mol) numa gama de temperatura de -5 °C até 0 °C. Foi adicionado cloreto de ácido (102) (48,6 g, 0,36 mol) de -10 °C até 0 °C. A reacção foi extinguida com uma solução de água (90 ml) e bicarbonato de sódio (4 g). Foi adicionado acetato de etilo (200 g) e as fases foram separadas. A fase orgânica foi extraída com água (2 x 50 ml) e as fases aquosas foram novamente extraídas com acetato de etilo (100 g). Os extractos orgânicos foram combinados e foram removidos aproximadamente 150 ml de solvente por destilação. A destilação atmosférica foi continuada e foi adicionado heptano (2 x 200 g) até ser atingida uma temperatura de vapor de 95 °C. A solução foi arrefecida até 5 °C. O produto foi recolhido por filtração, lavado com heptano frio, e seco para dar origem a 79 g (80 %) de acicloxazolidinona. (103).

### Passo 3

A uma solução de diisopropilamina (7,6 g, 0,075 mol) em tetrahidrofurano anidro (10 ml) a 0 °C sob atmosfera de azoto, foi adicionada uma solução de n-butil-lítio em hexano 1,6 M ( 47 ml, 0,075 mol) enquanto se mantinha a temperatura de -5 °C a 0 °C. A solução resultante foi adicionada a uma solução de acicloxazolidinona (103) (18,6 g, 0,068 mol) em tetrahidrofurano (160 ml) de -55 °C a -45 °C. A solução foi agitada de -55 °C a -45 °C durante 30 minutos. A solução foi em seguida adicionada a uma solução de bromoacetato de t-butilo (14,6 g, 0,075 mol) em tetrahidrofurano de -55 °C a -45 °C. A solução foi arrefecida a - 65 °C e deixada aquecer a 10 °C por um período de 2 horas. A mistura reaccional foi extinguida com a adição de cloreto de amónio aquoso saturado e extraída com acetato de etilo. A fase orgânica foi seca ( $MgSO_4$ ), filtrada, e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo foi recristalizado de heptanos, filtrado, e seco sob pressão reduzida para dar origem a 18 g (68 %) de acicloxazolidinona (104).

$^1H$  RMN (200 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7,4-7,2 (m, 5H), 5,65 (d, 1H,  $J=7,09$  Hz), 4,74 (m,

*Any Série Chevrons*

- 29 -

1H), 4,26 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,44 (m, 1H), 1,65-1,45 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 0,93 (m, 6H), 0,89 (d, 3H, J=7,87 Hz).

Alternativamente, a ordem de adição dos reagentes pode ser invertida. O bromoacetato de t-butilo pode ser adicionado à solução contendo diisopropilamina, n-butillítio e aciloxazolidinona (103). O isolamento do produto final pode também ser conduzido pela realização de uma destilação e substituição dos solventes presentes (hexano e tetrahidrofurano) com álcool isopropílico. A aciloxazolidinona (104) cristaliza em seguida a partir da solução de álcool isopropílico. O procedimento experimental seguinte ilustra esta alternativa.

A uma solução de diisopropilamina (23,1 g, 0,229 mol) em tetrahidrofurano anidro (30 ml) a 0 °C sob atmosfera de azoto, foi adicionada uma solução de n-butil-lítio 2,5 M (92 ml, 0,229 mol) em hexano enquanto se mantinha a temperatura de -5 °C a 0 °C. A solução resultante foi adicionada a uma solução de aciloxazolidinona (103) (60,0 g, 0,218 mol) em tetrahidrofurano (400 ml) a desde -45 °C a 40 °C. A solução foi agitada a desde -45 °C a -40 °C durante 30 minutos. Em seguida foi adicionado bromoacetato de t-butilo (44,6 g, 0,229 mol) à solução reacional a desde -45 °C a -40 °C. A solução foi deixada aquecer a 10 °C por um período de 2 a 3 horas. A mistura reacional foi extinguida com a adição de cloreto de amónio aquoso saturado. A fase orgânica foi separada da fase aquosa. O solvente foi removido sob pressão reduzida e substituído com álcool isopropílico. O produto foi cristalizado de álcool isopropílico e foi filtrado e seco sob pressão reduzida para dar origem a 53,8 g (63 %) de aciloxazolidinona (104).

#### Passo 4

A uma solução pré-arrefecida (5 °C) de aciloxazolidinona (4) (60,0 g, 0,15 mmol) em tetrahidrofurano (266 g) foi adicionada uma solução de

peróxido de hidrogénio a 30% (71 g), 9,4 g de hidróxido de lítio monohidrato (0,22 mol) e água (120 ml) por um período de 35 minutos de modo a manter uma temperatura reaccional de 5 °C. A mistura foi agitada a 3 – 5 °C durante 2,5 horas. A reacção foi extinguida por adição de uma solução de sulfito de sódio (50 g), bissulfito de sódio (27 g), e água (310 ml) a uma temperatura de ou inferior a 29 °C. Heptano (100 ml) e éter metil-t-butílico (100 ml) foram adicionados e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com éter metil-t-butílico (100 ml) e as fases orgânicas foram combinadas. O solvente foi substituído com heptano por destilação e solução de heptano resultante (400 ml) foi arrefecida a 5 °C. Os sólidos resultantes foram filtrados e o filtrado foi extraído com água quente (2 x 150 ml, 1 x 200 ml, 1 x 300 ml). A solução foi concentrada por evaporação para dar origem a 34,5 g (97 %) de ácido (105) como um sólido.

$^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11,5 (s largo, 1H), 2,85 (m, 1H), 2,67-2,29 (m, 2H), 1,60 (m, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,32 (m, 2H), 0,92 (m, 6H).

### Passo 5

O ácido (105) (72,4 g, 0,314 mol) foi dissolvido em tetrahidrofurano (360 ml) e arrefecido a 0 °C. Foi adicionada uma solução de complexo dimetilsulfureto de borano em tetrahidrofurano (178 ml, 0,356 mol) a 0 °C. A solução foi deixada aquecer até 48 °C em seguida arrefecida a 25 °C. Após 2 horas e 45 minutos, a reacção foi extinguida com a adição de metanol (300 ml) e o solvente foi removido sob pressão reduzida. Foi adicionado metanol (300 ml) adicional e a solução foi concentrada sob pressão reduzida para dar origem a 66 g (97 %) de álcool (106) como um óleo.

$^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3,62 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,44 (s largo, 1H), 2,36 – 2,21 (m, 2H), 2,05 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,24 – 1,04 (m, 2H), 0,91 (m, 6H).

Passo 6

O álcool (107) (51,9 g, 0,24 mol) foi dissolvido em piridina (130 ml) e arrefecido a 5 °C. Foi adicionado cloreto de p-toluenossulfônico (57,2 g, 0,30 mol) e a mistura foi agitada a 22 °C durante 21 horas. A reacção foi extinguida com a adição de água (95 ml) e ácido clorídrico aquoso a 18 % (300 ml) a menos de 300 °C. Foi adicionado éter metil-t-butilíco (350 ml) e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com éter metil-t-butilíco (350 ml). As fases orgânicas foram combinadas, lavadas com ácido clorídrico aquoso a 1% (2 x 100 ml), bicarbonato de sódio aquoso saturado (1 x 150 ml), e água 81 x 100 ml). A solução orgânica foi tratada com carvão descorante, filtrada, e evaporada para dar origem a 77 g (86 %) do tosilato (107) como um óleo.

$^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,78 (d, 2H,  $J=8,25$  Hz), 7,34 (d, 2H,  $J=8,25$  Hz), 3,96 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,32 – 2,12 (m, 3H), 1,6 – 1,4 (m, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,2 – 1,1 (m, 2H), 0,83 (m, 6H).

Passo 7

O tosilato (107) (65 g, 0,175 mol) foi dissolvido em dimetilsulfóxido (40 ml). A solução de dimetilsulfóxido juntamente com dimetilsulfóxido adicional (10 ml) foi em seguida adicionada a uma solução de azida de sódio (11 g, 0,26 mol) em dimetilsulfóxido (450 g) a 63 °C. A mistura foi em seguida agitada a 65 °C durante 6 horas. Foram adicionados água (140 ml) e heptano (250 ml) à reacção e as fases foram separadas. A fase aquosa foi extraída com heptano (250 ml) e as fases orgânicas foram combinadas. O solvente foi removido sob pressão reduzida para dar origem a 42 g (95 %) da azida (108) como um óleo.

$^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3,32 (m, 2H), 2,22 (m, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,63 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,19 (m, 2H), 0,89 (m, 6H).

*Very Satisfactory*

Passo 8

A azida (108) (36,3 g, 0,15 mol) foi colocada em ácido fórmico aquoso a 88 % (365 ml). A mistura foi agitada a 30 °C durante 4,5 horas. Foi adicionado carvão descorante e a mistura foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida para dar origem a um óleo. Foi adicionado heptano (250 ml) e a mistura foi destilada sob vácuo para dar origem a um óleo. Água (125 ml) e heptano (250 ml) foram adicionados e a misturados vigorosamente. As fases foram separadas e a fase aquosa foi lavada com heptano (250 ml). As fases de heptano foram combinadas e concentradas sob pressão reduzida para dar origem a 24,6 g (88 %) de azida intermediária (108a) como um óleo.

Alternativamente, pode ser usado ácido clorídrico aquoso em vez de ácido fórmico aquoso de forma a conduzir a hidrólise.

Passo 9

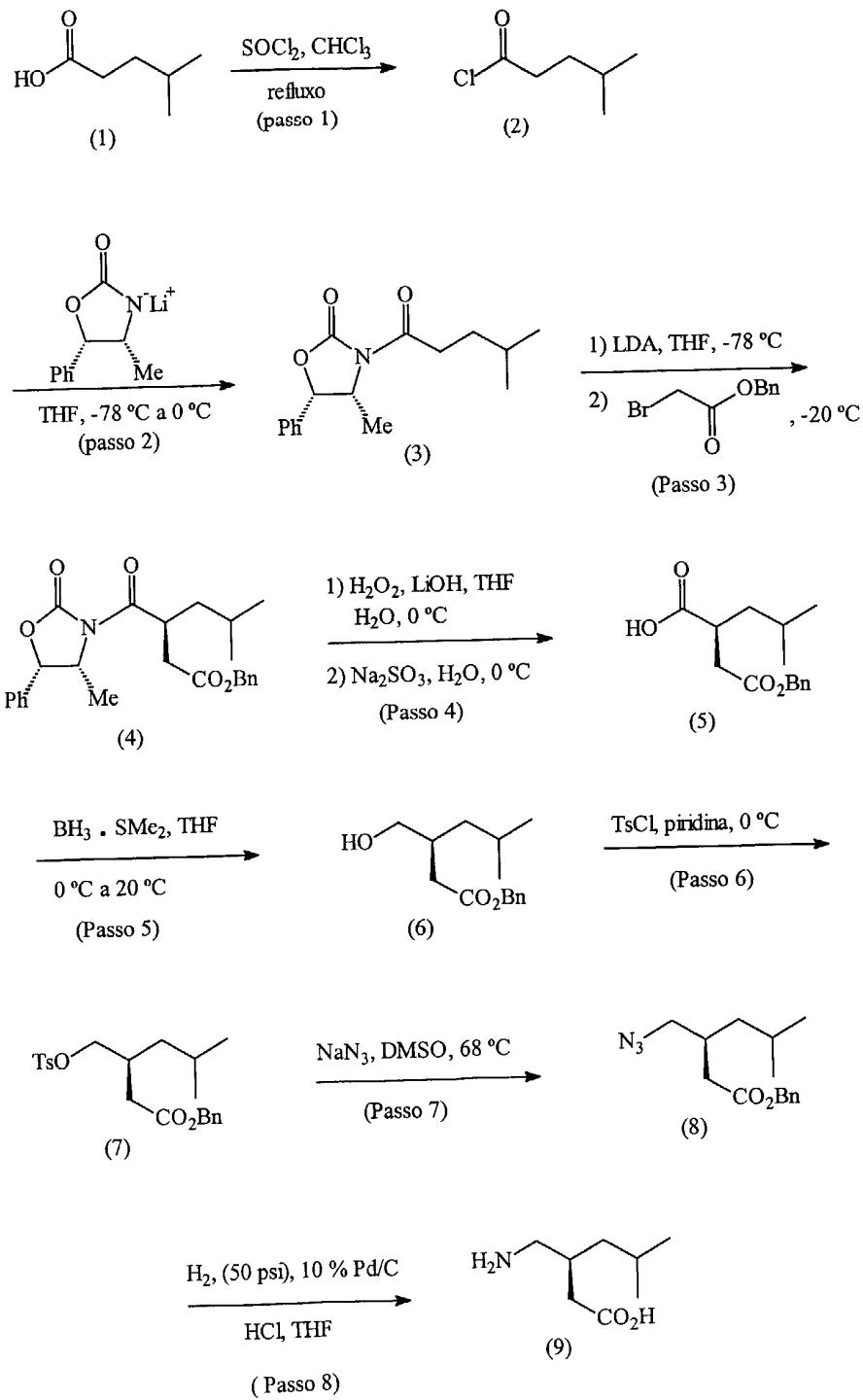
A azida intermediária (108a) (12,7 g, 68,6 mol) foi dissolvida em éter metil-t-butílico (80 kg). A mistura foi sujeita a hidrogenação catalítica na presença pálido a 5 % em carbono (2,0 kg humedecido com 50 % de água) a 49 – 55 psi de hidrogénio até a azida intermediária (108a) ter sido consumida. A mistura foi filtrada e o sólido foi lavado com éter metil-t-butílico (30 kg). O sólido foi dissolvido numa solução de isopropanol quente (75 kg) e água (60 kg) e a solução foi filtrada. A solução aquosa de isopropanol foi arrefecida a –3 °C e o produto foi filtrado e lavado com isopropanol frio (16 kg). O sólido foi seco sob pressão reduzida para dar origem a 6,4 kg (59 %) de aminoácido (109).

Esta reacção pode ser conduzida numa variedade de solventes. Reacções bem sucedidas foram levadas a cabo em heptano, etanol/água, isopropanol, isopropanol/água, metanol/água, e tetrahidrofurano/água bem como éter metil-t-butílico.

Bray Salen Chemistry

- 33 -

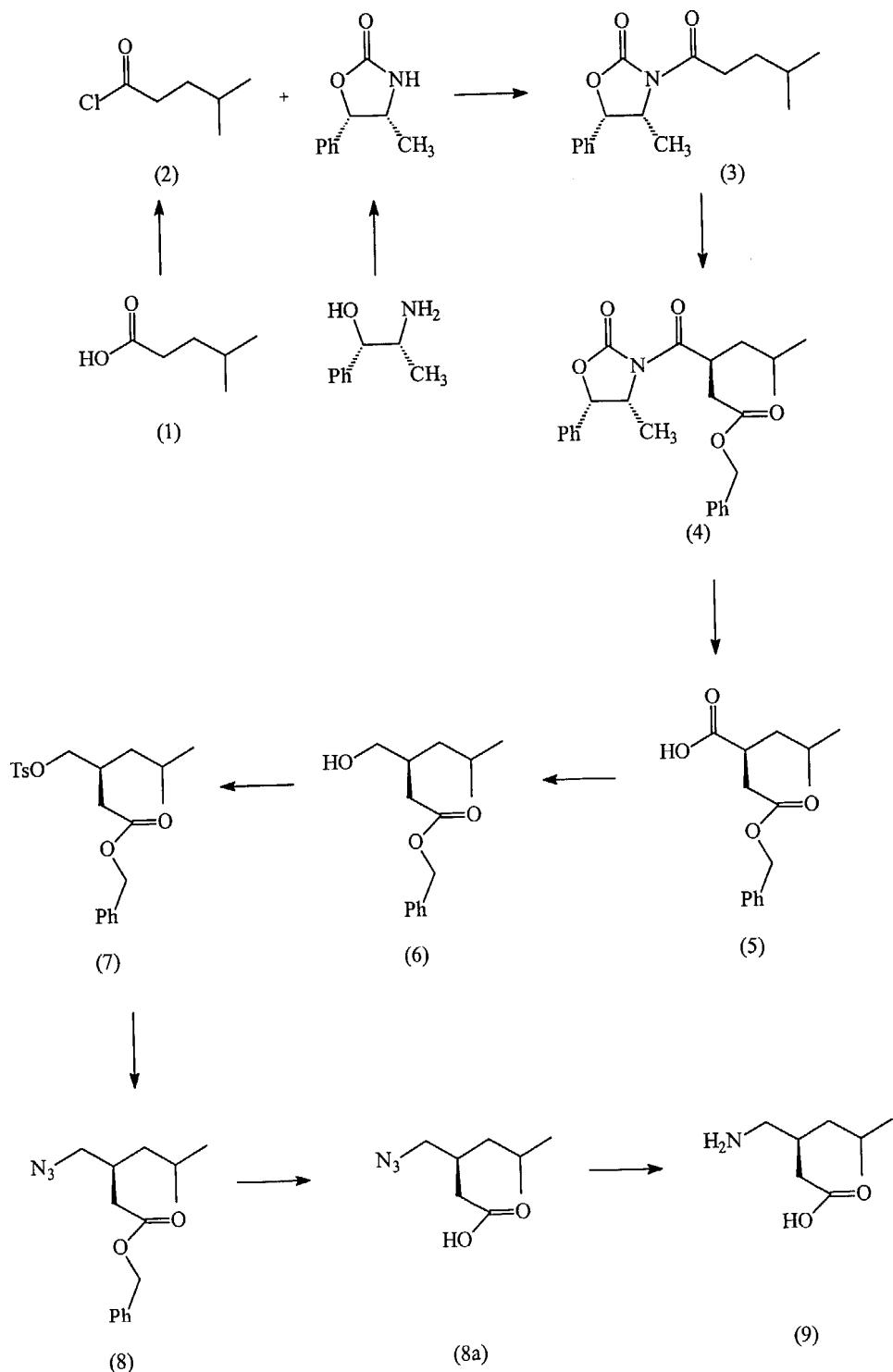
Diagramma I



*Very Satisfactory*

- 34 -

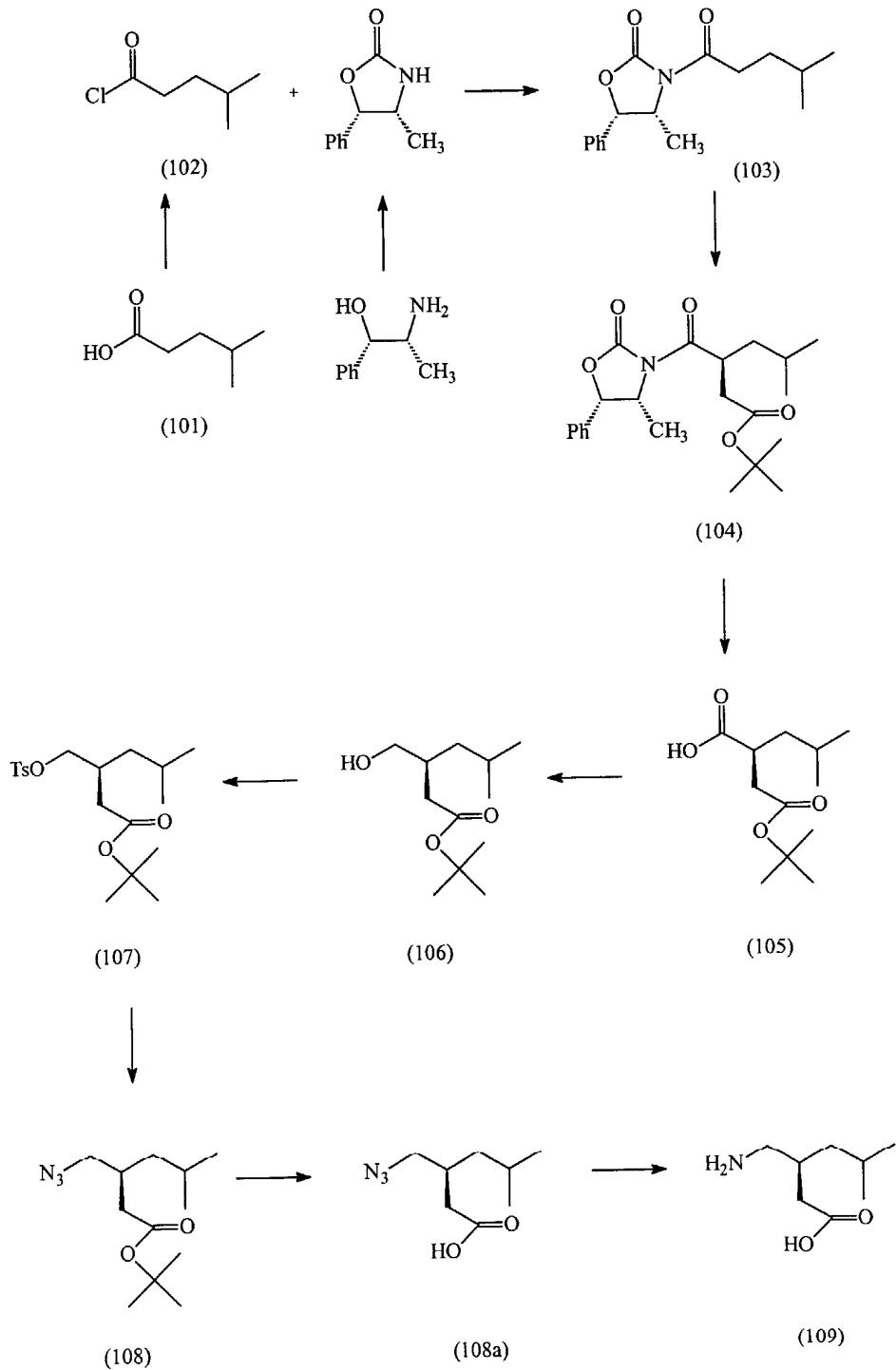
Diagramma Ia



Drug Enter Chemistry

- 35 -

Diagrama II



Lisboa, 27 de Dezembro de 2001

*Luis Silva Carvalho*

LUIS SILVA CARVALHO  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VICTOR CORDON, 14  
1200 LISBOA

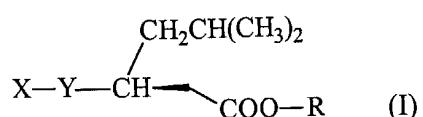
*União Soviética*

- 1 -

### REIVINDICAÇÕES

1. Um enantiómero S(+) de um composto com a fórmula geral

(I)



em que:

X representa  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{N}_3$  ou p-tolueno-sulfoniloxi;

Y representa  $-\text{CH}_2$ , ou X-Y são juntamente  $-\text{COOH}$ ; e

R representa benzilo ou 1,1 dimetiletilo (quando X é  $\text{N}_3$ ,  $-\text{OH}$  ou p-tolueno-sulfoniloxi e Y é  $-\text{CH}_2$ , ou quando X-Y são juntamente  $\text{COOH}$ ) ou hidrogénio (quando X é  $-\text{NH}_2$  e Y é  $\text{CH}_2$ ), ou um sal farmaceuticamente aceitável do composto referido.

2. Ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

3. Ácido S-(+)-3-(azidometil)-5-metil-hexanóico.

4. Éster fenilmetílico do ácido S-(+)-3-(hidroximetil)-5-metilhexanóico de acordo com a reivindicação 1.

5. Éster fenilmetílico do ácido S-(+)-5-metil-3-[[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]-metil-hexanóico de acordo com a reivindicação 1.

*Henry Sultan Cottam*

- 2 -

6. Éster 4-(1,1-dimetiletílico) do ácido S-(+)-2-(2-metilpropil)-1,4-butanodióico de acordo com a reivindicação 1.

7. Éster 1,1-dimetiletílico do ácido S-(+)-3-(azidometil)-5-metil-hexanóico de acordo com a reivindicação 1.

8. Éster 1,1-dimetiletílico do ácido S-(+)-3-(hidroximetil)-5-metil-hexanóico de acordo com a reivindicação 1.

9. Éster 4-fenilmétílico do ácido S-(+)-2-(2-metilpropil)-1,4-butanodióico de acordo com a reivindicação 1.

10. Éster fenilmétílico do ácido S-(+)-3-(azidometil)-5-metilhexanóico de acordo com a reivindicação 1.

11. Éster 1,1-dimetiletílico do ácido S-(+)-5-metil-3-[[(4-metilfenil)sulfonil]oxi]-metil]-hexanóico de acordo com a reivindicação 1.

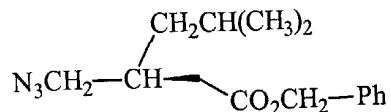
12. Éster 1,1-dimetiletílico do ácido S-(+)-4-metil-2(2-metilpropil)- $\gamma$ ,2-dioxo-5-fenil-3-oxazolidinobutanóico.

13. Uma composição farmacêutica compreendendo o ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um veículo farmaceuticamente aceitável.

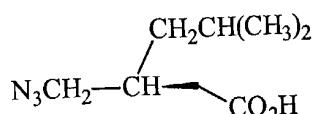
14. Um processo para a preparação de ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, que compreende a hidrólise de uma azida da fórmula

*My Best Wishes*

- 3 -



numa azida intermediária da fórmula



e em seguida a redução da azida na amina correspondente.

15. Um processo de acordo com a reivindicação 14, em que a azida é hidrolisada por tratamento com hidróxido de sódio.

16. Um processo de acordo com a reivindicação 14 ou 15, compreendendo adicionalmente o passo de extracção da azida intermediária numa base aquosa.

17. Um processo de acordo com a reivindicação 16, compreendendo adicionalmente o passo de acidificação do extracto aquoso.

18. Ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para utilização em terapia.

19. Utilização do ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, no fabrico de um medicamento anti-convulsivo.

20. Utilização do ácido S-(<sup>1</sup>)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, no fabrico de um medicamento anti-ansiedade.

21. Utilização do ácido S-(+)-4-amino-3-(2-metilpropil)butanóico, ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável, no fabrico de um medicamento anti-psicótico.

Lisboa, 27 de Dezembro de 2001



LUIS SILVA CARVALHO  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
RUA VICTOR CORDON, 14  
1200 LISBOA