

(11) Número de Publicação: **PT 2146946 E**

(51) Classificação Internacional:

C07C 37/55 (2009.01) **C07C 39/06** (2009.01)
C07C 271/44 (2009.01) **A61K 31/05** (2009.01)
A61P 25/20 (2009.01)

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

(22) Data de pedido: **2008.05.08**

(30) Prioridade(s): **2007.05.09 US 928296 P**
2007.05.09 US 928327 P
2007.05.09 US 928429 P

(43) Data de publicação do pedido: **2010.01.27**

(45) Data e BPI da concessão: **2010.11.10**
031/2011

(73) Titular(es):

PHARMACOFORÉ, INC.
75 SHOREWAY ROAD, SUITE D SAN CARLOS,
CA 94070 **US**

(72) Inventor(es):

THOMAS E. JENKINS **US**

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **ESTEREOISÓMEROS (-) DE 2,6-DI-SEC-BUTILFENOL E SEUS ANÁLOGOS**

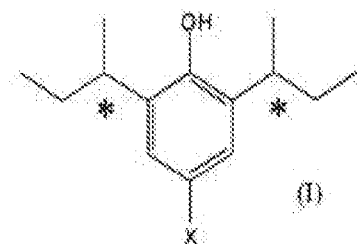
(57) Resumo:

UM ESTEREOISÓMERO (-) DE FÓRMULA (I): ONDE X É H OU F; OU UM SEU SAL OU PRÓ-DROGA FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL, ÚTIL COMO ANESTÉSICO.

RESUMO

"Estereoisómeros (-) de 2,6-di-*sec*-butilfenol e seus análogos"

Um estereoisómero (-) de fórmula (I):



onde X é H ou F; ou um seu sal ou pró-droga farmacêuticamente aceitável, útil como anestésico.

DESCRIÇÃO**"Estereoisómeros (-) de 2,6-di-sec-butilfenol e seus análogos"**

O Propofol (2,6-diisopropilfenol) é um agente sedativo/hipnótico intravenoso usado extensivamente para induzir e manter anestesia geral, sedação de pacientes com doença em estado crítico e sedação processual (e.g., endoscopia). Ver Langly, M.S. and Heel, R.C. *Drugs*, 1988, 35, 334-372. O Propofol é apenas moderadamente solúvel em água e é correntemente comercializado numa emulsão lipídica à base de óleo de soja a 10% semelhante às formulações usadas para nutrição parentérica.

O Propofol é um agonista de GABA_A que activa múltiplos subtipos de receptores GABA_A, que são canais iónicos que transportam aniões de cloro através das membranas celulares, no sistema nervoso central. Embora o Propofol seja aquiral, misturas racémicas de um número de dialquilfenóis são agonistas conhecidos do receptor GABA_A (James et al., *J Med. Chem.* 23, 1350. 1980; Krasowski et al., *J. Pharmacol. & Exp. Therapeutics* 297, 338, 2001). James et al., referem considerar que o Propofol é superior a outros análogos avaliados, no seu perfil global.

Muitos clínicos preferem o Propofol devido aos seus excelentes perfis farmacocinético, farmacodinâmico, de emergência e de recuperação. No entanto, os efeitos secundários indesejados (e.g., depressão respiratória, síndrome de UCI, dor de injeção e efeitos hemodinâmicos) produzidos com a dose terapêutica ou próximo desta limitam muito a sua utilidade em múltiplas configurações clínicas. De particular preocupação são os efeitos hemodinâmicos. A administração de Propofol, em particular na forma de bolus, produz frequentemente uma diminuição na tensão arterial sem um aumento compensatório na frequência cardíaca. Uma variedade de problemas clínicos é incompatível com a utilização de propofol devido às suas consequências hemodinâmicas indesejadas e potencialmente nocivas. Exemplos desses problemas incluem doenças cardiovasculares tais como doença arterial coronária, cardiomiopatia, doença isquémica cardíaca, doença valvular cardíaca, e doença cardíaca congénita. A hipertensão crónica,

a doença cerebrovascular, danos cerebrais e idade avançada podem tornar a utilização de Propofol difícil ou problemática devido às suas propriedades hemodinâmicas. Os pacientes com perda aguda de sangue, desidratação, ou infecções graves incluindo as com choque hemorrágico, choque hipovolémico, ou choque séptico podem ser expostos a perigo excessivo se for utilizado Propofol. As propriedades hemodinâmicas do Propofol podem limitar a sua utilização em pacientes a receber outros medicamentos ou tratamentos tais como anestesia espinal, anestesia epidural, ou medicamentos vasoactivos.

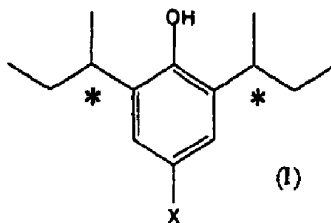
Krasowski et al., 2001, *J. Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 297, No. 1, pp. 338-351 descrevem estudos de muitos análogos do anestésico geral propofol (2,6-di-isopropilfenol), incluindo propofol racémico (2,6-di-isopropilfenol) e 2,6-di-isobutilfenol racémico.

A Patente dos Estados Unidos da América N.º 2747982 concedida a 29 de Maio de 1956 descreve o 4-bromo e o 4-cloro-2,6-di(sec-butil)fenol para utilização no controlo do crescimento de vegetação.

Resumo do Invento

O invento proporciona compostos terapêuticos que demonstram actividade farmacológica semelhante ou melhor, quando comparados ao propofol, junto com um perfil hemodinâmico melhorado.

Em conformidade, numa concretização o invento proporciona um estereoisómero (-) de fórmula (I):



onde X é H ou F, ou um seu sal.

O invento proporciona também uma composição farmacêutica compreendendo um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou um seu sal farmacêuticamente aceitável e um transportador farmacêuticamente aceitável.

Neste documento descreve-se também um método para tratar náuseas, vômitos, enxaqueca, problemas neurodegenerativos do sistema nervoso (e.g. doença de Friedrich, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ELA), esclerose múltipla (EM), doença de Pick, etc.), traumatismo do sistema nervoso central (e.g., fratura de crânio e seu edema resultante, concussão, contusão, hemorragias cerebrais, lesões de cisalhamento, hematoma subdural e epidural, e lesão da espinal medula (e.g., lesão mecânica devida a compressão ou flexão da espinal medula)), convulsões (e.g., convulsões epiléticas) ou uma doença associada a radicais livres (e.g., danos de reperfusão isquêmica, doenças inflamatórias, lúpus sistêmico eritematoso, enfarte do miocárdio, apoplexia, hemorragia traumática, formação de cataratas, uveíte, enfisema, úlceras gástricas, neoplasia, doença de radiação, etc.) num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento: um método para induzir ou manter anestesia geral num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento um método para promover sedação num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável ao animal.

Neste documento descreve-se também um método para tratar uma enxaqueca num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento um método para tratar insônia num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento um método para promover um efeito ansiolítico num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um

estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento um método para tratar privação de uma dependência num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento um método para promover um efeito antiemético num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável ao animal.

Descreve-se também neste documento um método para agonizar um receptor de GABA compreendendo o contacto do receptor (*in vitro* ou *in vivo*) com uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável.

Descreve-se também neste documento um método para agonizar um receptor de GABA num animal, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável ao animal.

O invento proporciona também um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável para utilizar em terapia médica.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmaceuticamente aceitável para preparar um medicamento para o tratamento de náuseas, vômitos, enxaqueca, problemas neurodegenerativos do sistema nervoso (e.g. doença de Friedrich, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica (ELA), esclerose múltipla (EM), doença de Pick, etc.), traumatismo do sistema nervoso central (e.g., fractura de crânio e seu edema resultante, concussão, contusão, hemorragias cerebrais, lesões de cisalhamento, hematoma subdural e epidural, e lesão da espinal medula (e.g., lesão mecânica devida a compressão ou flexão da espinal medula)), convulsões (e.g., convulsões epilépticas) ou uma doença associada a radicais livres (e.g.,

danos devidos a reperfusão isquêmica, doenças inflamatórias, lúpus sistêmico eritematoso, enfarte do miocárdio, apoplexia, hemorragia traumática, formação de cataratas, uveíte, enfisema, úlceras gástricas, neoplasia, doença de radiação, etc.) num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para induzir ou manter anestesia geral num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para promover sedação num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para tratar enxaqueca num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para tratar insônia num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para promover um efeito ansiolítico num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para tratar privação de uma dependência num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para promover um efeito antiemético num animal.

O invento proporciona também a utilização de um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal farmacologicamente aceitável para preparar um medicamento para agonizar um receptor de GABA num animal.

O invento proporciona também os processos de síntese e os compostos intermediários aqui apresentados que são úteis para preparar um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou um seu sal.

Breve Descrição dos Desenhos

A Figura 1 mostra o efeito sobre a pressão sanguínea arterial média (mm Hg) em porcos após infusão IV do estereoisómero (-) de fórmula (I) em que X é H em comparação com o propofol.

A Figura 2 mostra o efeito sobre a frequência cardíaca (batimentos por minuto) em porcos após infusão IV do estereoisómero (-) de fórmula (I) em que X é H em comparação com o propofol.

A Figura 3 mostra o efeito sobre o débito cardíaco (litros por minuto, ou l/min) em porcos após infusão IV do estereoisómero (-) de fórmula (I) em que X é H em comparação com o propofol.

Descrição Detalhada do Invento

O presente invento proporciona um estereoisómero (-) de fórmula (I), ou um seu sal conforme se definiu anteriormente neste documento.

Determinou-se que a configuração absoluta desse estereoisómero é (R,R).

Numa concretização, X é H. Quando X é H, também se pode fazer referência ao estereoisómero pelo nome (R,R)-3,6-di-sec-butilfenol.

Verificou-se que, em comparação com o propofol, o (R,R)-3,6-di-sec-butilfenol apresenta um perfil geral de actividade como anestésico surpreendentemente melhor. Mais particularmente, verificou-se que o composto produz um efeito mais potente na actividade anestésica, exhibe um índice terapêutico superior e retém um perfil farmacocinético comparável, e.g., exhibe uma taxa de depuração semelhante. O composto pode produzir também um efeito menos potente sobre a pressão arterial média, frequência cardíaca e/ou débito cardíaco. Além disso, crê-se que os ensaios clínicos demonstrem que o composto causa menor dor quando injectado do

que o propofol. Correlacionou-se a dor de injeção associada ao propofol com a concentração de propofol na fase aquosa do seu veículo de emulsão lipídica. Quando formulado em emulsões lipídicas idênticas, verificou-se que a concentração em fase aquosa de (R,R)-2,6-di-sec-butilfenol era significativamente menor (em mais de 90%) quando comparada ao propofol.

Verificou-se também, inesperadamente, que os outros dois isómeros de 2,6-di-sec-butilfenol, os estereoisómeros (S,S) ou (+) e o (*meso*), demonstram perfis hemodinâmicos melhores, junto com actividades farmacológicas semelhantes ou melhores, em comparação com o propofol. No entanto, verificou-se que o melhor perfil geral de actividade como anestésico do (R,R)-2,6-di-sec-butilfenol é exclusivo deste isómero deste dialquilfenol.

Em conformidade, os compostos de acordo com o invento são particularmente úteis para induzir e manter anestesia geral ou para promover a sedação num paciente. São particularmente úteis para anestesiarem pacientes que possuem elevada susceptibilidade a efeitos hemodinâmicos. Esses pacientes incluem os que sofrem de doenças cardiovasculares tais como a doença arterial coronária, cardiomiopatia, doença isquémica cardíaca, doença valvular cardíaca, e doença cardíaca congénita; pacientes que sofrem de hipertensão crónica, doença cerebrovascular, ou danos cerebrais; pacientes de uma idade avançada (por exemplo com idade superior a 50, 60, 70 ou 80 anos); pacientes com perda aguda de sangue, desidratação, ou infecções graves incluindo as com choque hemorrágico, choque hipovolémico, ou choque séptico; e pacientes a receber anestesia espinal, anestesia epidural, ou medicamentos vasoactivos; ver e.g. Reich DL et al, 2005, *Anesth Analg* 101, 622. Por exemplo, o paciente pode ser um para quem o estado físico segundo a Sociedade Americana de Anestesiologistas (ASA) é pelo menos 3. Descreve-se também neste documento a administração de compostos em conformidade com o invento a pacientes que não foram pré-medicados para a dor de injeção.

Neste documento, a expressão "transportador farmacologicamente aceitável" inclui diluentes, adjuvantes, excipientes ou veículos.

O termo "animal" inclui mamíferos tais como, por exemplo, seres humanos, animais de companhia, animais do jardim zoológico e gado.

O termo "tratar" uma doença ou transtorno inclui 1) atenuar a doença ou transtorno (*i.e.*, deter ou reduzir o desenvolvimento da doença ou do transtorno ou pelo menos um dos seus sintomas clínicos), 2) atenuar pelo menos um parâmetro físico, que pode não ser discernível pelo paciente, 3) inibir a doença ou transtorno que pode ser fisicamente (*e.g.*, estabilização de um sintoma discernível), fisiologicamente (*e.g.*, estabilização de um parâmetro físico) ou ambos, ou 4) atrasar o início da doença ou transtorno.

A pureza estereoisomérica de compostos descritos neste documento pode ser estabelecida por métodos analíticos convencionais bastante conhecidos dos especialistas na matéria. Por exemplo, para estabelecer a pureza estereoquímica de um estereoisómero específico, pode usar-se a utilização de reagentes de desvio para RMN quiral, a análise por cromatografia gasosa usando colunas quirais, a análise por cromatografia líquida de elevada pressão usando colunas quirais, a polarimetria, a diluição isotópica, a calorimetria, métodos enzimáticos, a electroforese capilar em géis quirais, a formação de derivados diastereoméricos através de reacção com reagentes quirais e a análise convencional *via* métodos analíticos estabelecidos. Como alternativa, para estabelecer a pureza estereoquímica dos compostos descritos neste documento pode utilizar-se síntese com matérias-primas de conhecido enriquecimento estereoquímico. Na área, conhecem-se outros métodos analíticos para demonstrar a homogeneidade estereoquímica.

O presente invento proporciona um estereoisómero de fórmula (I) ou de um seu sal numa forma não racémica (*i.e.*, uma enantiomericamente enriquecida) nos centros marcados por "*" na fórmula (I). Assim, o invento inclui um estereoisómero de fórmula (I) numa mistura enriquecida, que não contém mais de 45% dos outros enantiómeros ou diastereómeros do composto de fórmula (I) que é apresentado ou do seu sal. O enantiómero (-) isolado no Exemplo 1 abaixo é um estereoisómero específico do invento. Em algumas concretizações do invento, uma mistura enriquecida não contém mais do que cerca de 40%, 35%, 30%,

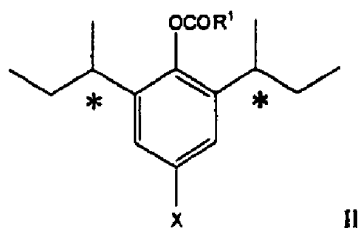
25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, ou 1% de outros enantiómeros ou diastereómeros de um composto de fórmula (I) ou do seu sal. Numa outra concretização do invento, uma mistura enriquecida contém menos de cerca de 1% de outros enantiómeros ou diastereómeros de um composto de fórmula (I) ou de seu sal.

Métodos para a preparação de um composto de Fórmula (I)

De modo geral, os compostos de fórmula (I) podem ser preparados por pelo menos três abordagens diferentes. Numa abordagem, prepara-se uma mistura racémica e/ou diastereomérica usando métodos convencionais de síntese orgânica, ou adquire-se a fontes comerciais e resolve-se a mistura usando os métodos conhecidos pelos especialistas na matéria, tais como, por exemplo, cristalização fraccionada, separação em colunas quirais (ver Exemplo 1 abaixo), formação de derivados e a sua separação ou resolução cinética, etc. para proporcionar estereoisómeros substancialmente puros de fórmula (I) ou misturas estereoisomericamente enriquecidas de compostos de fórmula (I). Como alternativa, pode usar-se síntese assimétrica para preparar compostos de fórmula (I). Pode-se utilizar precursores quirais conhecidos para preparar estereoisómeros substancialmente puros de fórmula (I) ou misturas estereoisomericamente enriquecidas de compostos de fórmula (I), usando métodos conhecidos. Outros métodos incluem a preparação de compostos intermediários quirais usando, por exemplo, hidrogenação enantiosselectiva, redução enantiosselectiva, formação de ligação carbono - carbono enantiosselectiva, clivagem enzimática de acetatos racémicos, etc., seguida de conversão para um composto de fórmula (I) usando métodos convencionais de síntese orgânica.

Num método, pode preparar-se um estereoisómero de fórmula (I) usando um isocianato quiral para formar uma mistura de diastereómeros de carbamato que podem ser separados para produzir o diastereómero desejado de fórmula (I) após a hidrólise do resíduo de carbamato.

Em conformidade com um outro aspecto, por conseguinte, o presente invento proporciona um processo para preparar um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou de um seu sal, que compreende a hidrólise de um diastereoisómero do éster de (-)-2,6-di-sec-butilfenilo e do ácido carbâmico de fórmula:



na qual R^1 representa um grupo amina quiral, seguido, se necessário, de formação de fenol livre ou de um seu sal (tal como um sal farmacêuticamente aceitável).

A hidrólise pode ser efectuada fazendo reagir o carbamato com uma base, por exemplo um hidróxido de metal alcalino, como o hidróxido de potássio ou de sódio, que proporciona um sal de estereoisómero (-) de fórmula (I), como um sal de metal alcalino. O fenol livre pode ser obtido tratando este sal com um ácido, como o ácido clorídrico. O grupo amina quiral pode ser, por exemplo, um grupo 1-ariletilamina quiral, por exemplo um grupo (R)-1-ariletilamina como o (R)-1-feniletilamina.

O carbamato matéria-prima pode ser preparado fazendo reagir uma mistura racémica do 2,6-di-sec-butilfenol correspondente com um isocianato quiral, para proporcionar uma mistura de diastereoisómeros compreendendo o diastereoisómero do éster de (-)-2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido carbâmico; e separando o correspondente diastereoisómero do éster de (-)-2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido carbâmico de fórmula (II).

O isocianato quiral pode ser, por exemplo, um 1-ariletil-isocianato quiral, por exemplo um (R)-1-ariletilisocianato como o (R)-(+)-1-feniletilisocianato. O produto resultante é uma mistura dos correspondentes diastereoisómeros do éster de 2-sec-butil-6-isopropilfenilo e de ácido 1-ariletilcarbâmico. O diastereoisómero desejado pode ser separado por cromatografia usando, por exemplo, sílica como fase estacionária, ou por cristalização.

Verificou-se, surpreendentemente, que a utilização de R-(+)-1-feniletilisocianato no método descrito acima proporciona uma separação excepcionalmente boa dos estereoisómeros de 2,6-di-sec-butilfenol, quando comparada com a utilização de outros reagentes de acilação ou sulfonação quirais, como os ácidos carboxílicos quirais ou os ácidos sulfónicos quirais.

Como outras concretizações do invento, proporcionam-se processos para preparar um estereoisómero de fórmula (I) ou um seu sal.

Sais

Em casos em que os compostos são suficientemente ácidos, um sal de um composto de fórmula (I) pode ser útil como composto intermediário para isolar ou purificar um composto de fórmula (I) ou uma sua mistura enriquecida. Além disso, a administração de um composto de fórmula (I) na forma de um sal farmacologicamente aceitável pode ser adequada. Exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis incluem os sais que são obtidos usando procedimentos padrão bastante conhecidos na especialidade, por exemplo, a reacção de um composto suficientemente ácido de fórmula (I) com uma base adequada, proporcionando um catião fisiologicamente aceitável. Por exemplo, podem ser produzidos sais de metal alcalino (por exemplo, sódio, potássio ou lítio) ou de um metal alcalino-terroso (por exemplo cálcio).

Composições farmacêuticas

As composições farmacêuticas apresentadas neste documento compreendem um composto de fórmula (I) aqui apresentada com uma quantidade adequada de um transportador farmacologicamente aceitável, para proporcionar uma forma para boa administração a um paciente. Os compostos de fórmula (I) podem ser formulados sob a forma de composições farmacêuticas e podem ser administradas a um paciente, numa variedade de formas adaptadas à via de administração escolhida, e.g., via oral, parentérica, intravenosa, intramuscular, tópica ou subcutânea.

Assim, os compostos de fórmula (I) podem ser administrados sistemicamente, em combinação com transportadores farmacologicamente aceitáveis, como diluentes inertes ou transportadores comestíveis. Essas composições e preparações podem conter pelo menos 0,1% de composto activo. A percentagem das composições e preparações pode, obviamente, variar e pode situar-se convenientemente entre cerca de 0,1% a cerca de 60% do peso de uma dada forma de dosagem unitária. A quantidade de composto activo nessas composições terapeuticamente úteis é tal que se obtém um nível de dosagem eficaz.

Os compostos de fórmula (I) descritos neste documento são formulados tipicamente na forma de composições farmacêuticas adequadas a administração intravenosa. Os compostos de fórmula (I) podem ser relativamente insolúveis em água. Assim, para administração intravenosa, os compostos de fórmula (I) são formulados tipicamente em meio aquoso usando um ou mais solventes imiscíveis em água e um ou mais emulsionantes ou tensioactivos. As formulações individuais podem incluir um ou mais componentes adicionais como estabilizantes, modificadores de tonicidade, bases ou ácidos para corrigir o pH e solubilizantes. As formulações podem também conter opcionalmente um conservante, como por exemplo, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou metabissulfito de sódio. As emulsões de óleo em água úteis que contêm um conservante como o EDTA, que podem ser utilizadas em conjunto com os compostos descritos neste documento, encontram-se descritas nas Patentes dos Estados Unidos números 5908869, 5714520, 5731356 e 5731355.

Nas composições farmacêuticas descritas neste documento pode ser utilizada uma vasta gama de solventes imiscíveis em água. O solvente imiscível em água pode ser um óleo vegetal, como por exemplo, o óleo de soja, de cártamo, de sementes de algodão, milho, girassol, amendoim, rícino ou azeite. Como alternativa, o solvente imiscível em água pode ser um éster de um ácido gordo de cadeia média ou longa, como por exemplo, um mono-, di-, ou triglicérido, um éster de uma combinação de um ácido gordo de cadeia média e longa ou um material quimicamente modificado ou manufacturado como o oleato de etilo, miristato de isopropilo, palmirato de isopropilo, um éster de glicerol, polioxilo ou óleo de rícino hidrogenado. O solvente imiscível em água pode ser também um óleo marinho, como por exemplo óleo de fígado de bacalhau ou um outro óleo derivado de peixe. Outros solventes adequados incluem óleos fraccionados, como por exemplo o óleo de coco fraccionado ou o óleo de soja modificado. O solvente imiscível em água pode incluir "lípidos estruturados" (ver, e.g., *Lipid Biotechnology*, T.M. Kuo e H.W. Gardner (eds.). Marcel Dekker, Inc. Nova Iorque, NY). Muitos lípidos estruturados estão disponíveis nos fornecedores comerciais como a *Danisco A/S*, Copenhaga Dinamarca e *S&J Lipids*, Ostrander, OH.

As composições farmacêuticas descritas neste documento podem também conter um emulsificante. Os emulsionantes adequados incluem emulsionantes não iônicos sintéticos, como por exemplo éteres etoxilados, ésteres etoxilados, copolímeros de bloco de polioxipropileno-polioxietileno e fosfolípidos. Podem também ser utilizados fosfolípidos naturais, como os fosfolípidos de ovo ou de soja, e fosfolípidos modificados ou manipulados artificialmente ou suas misturas. Em algumas concretizações, os emulsionantes são fosfolípidos de ovo e fosfolípidos de soja. Os fosfolípidos da gema do ovo incluem fosfatidilcolina, lecitina e fosfatidiletanolamina.

As formulações farmacêuticas descritas neste documento podem compreender uma emulsão lipídica contendo de cerca de 0,1% a cerca de 5% (p/p) de um composto de fórmula (I), de cerca de 5 a cerca de 25% (p/p) de solvente imiscível em água e de cerca de 40% a cerca de 90% (p/p) de água. Uma formulação preferida compreende de cerca de 0,5% a cerca de 2% (p/p) de um composto de fórmula (I). Numa concretização, uma formulação farmacêutica compreende de cerca de 0,5% a cerca de 5% (p/p) de um composto de fórmula (I) e de cerca de 0% a cerca de 50% (p/p) de um solvente imiscível em água.

As formulações farmacêuticas descritas neste documento podem também incluir agentes estabilizantes. Os estabilizantes aniônicos incluem, por exemplo, fosfatidiletanolaminas, conjugadas com polietilenoglicol, (PEG-PE) e fosfatidilgliceróis, dos quais é um exemplo específico o dimiristolfosfatidilglicerol (DMPG). Estabilizantes adicionais incluem, embora não se limitando a esses, ácido oleico e o seu sal de sódio, ácido cólico e ácido desoxicólico e os seus respectivos sais, lípidos catiónicos como a estearilamina e a oleilamina, e o 3,3-[N-(N',N'-dimetilaminoetano)carbamoil]-colesterol (DC-Chol).

As composições farmacêuticas descritas neste documento podem tornar-se isotônicas com o sangue por incorporação de um modificador de tonicidade adequado. O glicerol é usado com mais frequência como modificador de tonicidade. Agentes modificadores de tonicidade alternativos incluem xilitol, manitol e sorbitol. As composições farmacêuticas são formuladas tipicamente para serem de pH fisiologicamente neutro, tipicamente no intervalo de 6,0-8,5. O pH pode ser

corrigido com a adição de base, por exemplo, NaOH ou NaHCO₃ ou em alguns casos de ácido, como o HCl.

Os compostos de fórmula (I) podem ser formulados com emulsões de óleo - água farmacêuticamente seguras compreendendo um óleo vegetal, um emulsionante fosfatido, tipicamente lecitina de ovo e lecitina de soja, e um modificador de tonicidade como, por exemplo, Liposyn® II e Liposyn® III (Abbott Laboratories, North Chicago, IL) e Intralipid® (Fresenius Kabi AB, Uppsala, Suécia) ou outras emulsões de óleo - água semelhantes.

Os compostos de fórmula (I) podem também ser formulados em ésteres compreendendo um triglicérido de pelo menos um ácido gordo de comprimento de cadeia médio (C₆-C₁₂). Em algumas concretizações, o triglicérido é um éster de um ácido gordo de C₈-C₁₀. Os triglicéridos adequados para formular os compostos de fórmula (I) incluem, embora não se limitando a esses, Miglyol® (Condea Chemie GmbH (Witten, Alemanha). Por exemplo, o Miglyol® 810 ou 812 (glicerídeo caprílico (C₁₀)/ cáprico (C₈)) é útil na formulação de compostos de fórmula (I).

Além disso, os compostos de fórmula (I) descritos neste documento podem ser formulados de forma análoga às composições farmacêuticas de propofol conforme descrito, por exemplo, nas Patentes dos Estados Unidos da América números 4056635, 4452817 e 4798846.

Ainda outras formulações para utilização no presente invento podem ser encontradas, por exemplo, em *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Filadélfia, Pa., 19^a ed. (1995).

Administração Terapêutica/ Profiláctica e Dosagens

Um composto de fórmula (I) e/ou uma sua composição farmacêutica pode ser administrado isoladamente ou em combinação com outros agentes farmacêuticos, incluindo compostos descritos neste documento e/ou suas composições farmacêuticas. Os compostos apresentados neste documento podem ser administrados ou aplicados *per se* na forma de composições farmacêuticas. As composições farmacêuticas específicas dependem do modo de administração desejado, conforme sabem os especialistas na matéria.

Os compostos apresentados neste documento e/ou as suas composições farmacêuticas podem ser administrados a um sujeito por injeção intravenosa de bolus, infusão intravenosa contínua, comprimido oral, cápsula oral, injeção intramuscular, injeção subcutânea, absorção transdérmica, absorção bucal, absorção intranasal, inalação, por via sublingual, intracerebral, intravaginal, rectal, tópica, particularmente nos ouvidos, nariz, olhos ou pele ou por qualquer outro método conveniente conhecido dos especialistas na matéria. Em algumas concretizações, os compostos apresentados neste documento e/ou as suas composições farmacêuticas são entregues via formas de dosagem de libertação sustentada, incluindo as formas de dosagem de libertação sustentada orais. A administração pode ser sistémica ou local. Conhecem-se vários sistemas de entrega (e.g., encapsulação em lipossomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, sistemas de entrega de fármacos de "analgesia controlada pelo paciente", etc.) que podem ser utilizados na entrega dos compostos apresentados neste documento e/ou das suas composições farmacêuticas.

A quantidade dos compostos apresentados neste documento e/ou das suas composições farmacêuticas que será eficaz pode ser determinada por técnicas clínicas padrão conhecidas na especialidade. A quantidade dos compostos apresentados neste documento e/ou das suas composições farmacêuticas administrada dependerá, obviamente, de entre outros factores, do sujeito a tratar, do peso do sujeito, da idade do sujeito, da condição do sujeito, do efeito pretendido dos compostos, do modo de administração e da decisão do médico que a receita. Por exemplo, o nível de dosagem de um estereoisómero (-) ou (R,R) de fórmula (I) para produzir anestesia geral pode ser no intervalo de cerca de 1 a cerca de 10 mg/kg. As doses de indução preferidas variam de cerca de 1 a cerca de 2,5 mg/kg. As doses de manutenção preferidas variam de cerca de 1 a cerca de 15 mg/kg/h. As doses preferidas para produzir um efeito sedativo variam de cerca de 0,3 a cerca de 6 mg/kg/h.

Terapia de combinação

Em determinadas concretizações, os compostos apresentados neste documento e/ou as suas composições farmacêuticas podem ser utilizados em terapia de combinação com pelo menos um

outro agente terapêutico. Os compostos apresentados neste documento e/ou as suas composições farmacêuticas e o agente terapêutico podem actuar de forma aditiva ou, com maior preferência, de forma sinérgica. Em algumas concretizações, os compostos apresentados neste documento e/ou das suas composições farmacêuticas são administrados paralelamente à administração de um outro agente terapêutico, como por exemplo outros agentes hipnóticos sedativos (e.g., etomidato, tiopental, midazolam, dexmedetomidina, cetamina), agentes anestésicos (e.g., desflurano, sevoflurano, isoflurano, óxido nítrico), analgésicos (e.g., um opióide como o remifentanil, a morfina, meperidina, hidromorfona, metadona, fentanil, sufentanil, ou alfentanil, ou um analgésico não opióide como o cetorolac, gabapentina, lidocaína, ou cetamina), agentes paralisantes, como rocurónio, cis-atracúrio, vecurónio, ou brometo de pancurónio, antieméticos (e.g., ondansetron, dolasetron, droperidol), agentes cardiovasculares (e.g., metoprolol, propranolol, esmolol, clonidina, fenilefrina, efedrina, epinefrina, norepinefrina, dopamina, diltiazem, atropina, glicopirrolato, lisinopril, nitroglicerina, nitroprusiato de sódio, digoxina, milrinona), esteróides (e.g., dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona), agentes anti-infecciosos (e.g., cefazolina, vancomicina), diuréticos (e.g., furosema, hidroclorotiazida, espironolactona), medicamentos estabilizadores do humor (e.g., fluoxetina, aripiprazole), ou estimulantes como a nicotina ou a citisina.

Por exemplo, os compostos apresentados neste documento e/ou as suas composições farmacêuticas podem ser administrados junto com outros agentes terapêuticos. Em outras concretizações, os compostos apresentados neste documento e/ou as suas composições farmacêuticas são administrados antes ou a seguir à administração de outros agentes terapêuticos.

Conforme foi descrito acima, verificou-se também que os outros dois isómeros de 2,6-di-sec-butilfenol, os isómeros (S,S) ou (+) e (meso) de fórmula (I), demonstram um melhor perfil hemodinâmico juntamente com uma actividade farmacológica melhor ou semelhante, em comparação ao propofol. Em conformidade, neste documento estão também descritos cada um desses isómeros, os seus derivados fluorados na posição

para e os seus sais farmacêuticamente aceitáveis, e suas composições farmacêuticas, para utilizar como anestésicos.

Os estereoisómeros (S,S) ou (+) e (*meso*) de fórmula (I), os seus sais desses podem ser preparados cada um seguindo os métodos gerais descritos na preparação dos correspondentes estereoisómeros (R,R) ou (-). Por exemplo, os estereoisómeros podem ser separados do composto racémico por cromatografia em fase quiral, por exemplo conforme é descrito no Exemplo 2, neste documento. Verificou-se que o estereoisómero (S,S) ou (+) do 2,6-di-sec-butilfenol pode vantajosamente ser preparado por reacção de uma mistura racémica do correspondente 2,6-di-sec-butilfenol com um halogeneto de acilo (por exemplo um halogeneto de arilo como o cloreto de benzoílo), para proporcionar uma mistura de diastereómeros de carbonato que pode ser separada para produzir o diastereómero de fórmula (I) desejado, após a hidrólise do resíduo de carbonato. Um exemplo desse processo encontra-se descrito no Exemplo 5a mais adiante.

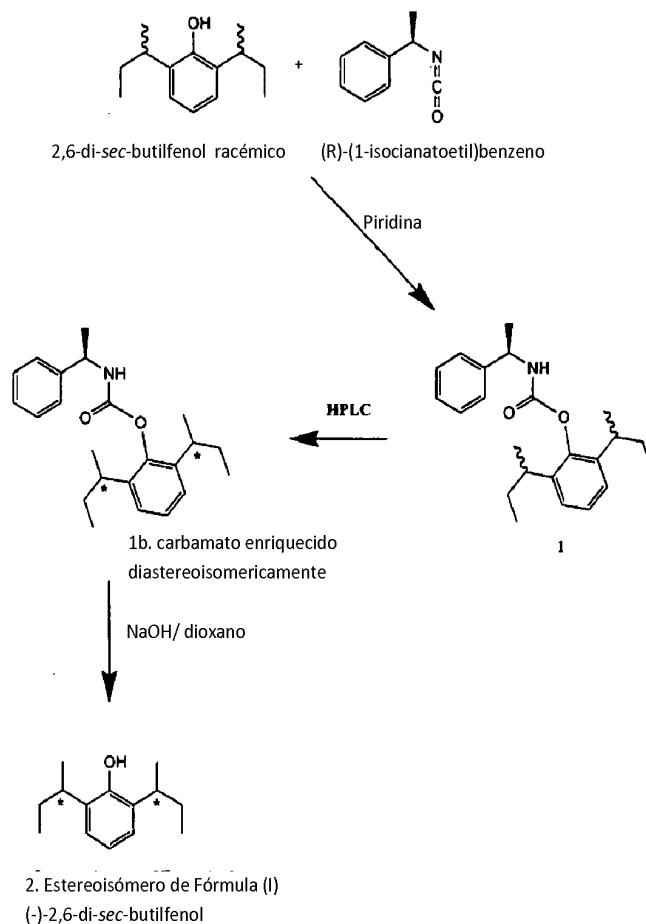
Os estereoisómeros (S,S) ou (+) e (*meso*) de fórmula (I) podem existir, ser formulados e ser administrados a pacientes conforme foi descrito e exemplificado neste documento para os estereoisómeros (R,R) ou (-). Para os estereoisómeros (S,S) ou (+), o nível de dosagem para produzir anestesia geral pode situar-se no intervalo de cerca de 1 a cerca de 12 mg/kg. As doses de indução preferidas variam de cerca de 1,2 a cerca de 4 mg/kg. As doses de manutenção preferidas variam de cerca de 1,5 a cerca de 30 mg/kg/h. As doses preferidas para produzir um efeito sedativo variam de cerca de 0,5 a cerca de 12 mg/kg/h. Para os estereoisómeros (*meso*), o nível de dosagem para produzir anestesia geral pode situar-se no intervalo de cerca de 1 a cerca de 10 mg/kg. As doses de indução preferidas variam de cerca de 1 a cerca de 3 mg/kg. As doses de manutenção preferidas variam de cerca de 1 a cerca de 20 mg/kg/h. As doses preferidas para produzir um efeito sedativo variam de cerca de 0,3 a cerca de 8 mg/kg/h.

A capacidade de um composto do invento para produzir um efeito sedativo ou hipnótico pode ser determinado usando modelos farmacológicos padrão que são bastante conhecidos na especialidade. O perfil hemodinâmico de um composto do invento pode ser determinado usando modelos farmacológicos padrão bastante conhecidos na especialidade.

O invento será agora ilustrado pelos exemplos que se seguem.

Exemplo 1

Isolamento de estereoisómeros de um composto de Fórmula (I) via separação por HPLC de carbamatos de 2,6-di-*sec*-butilfenol diastereoméricos



Síntese do éster de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido R-(+)-1-fenil-etil)-carbâmico (1):

Aqueceu-se a 100°C, em 10 ml de piridina seca, durante a noite, uma mistura de 2,6-di-sec-butilfenol (2,06 g, 10 mmol), R-(+)-1-feniletilisocianato (1,47 g, 10 mmol), e 4-(dimetilamino)piridina (0,06 g, 0,5 mmol). Evaporou-se a mistura de reacção, e tratou-se o resíduo resultante com acetato de etilo (75 ml) e HCl aquoso 1M (100 ml). Lavou-se a camada orgânica duas vezes com HCl aquoso 1M (2 × 100 ml), salmoura (100 ml) e secou-se sobre MgSO₄ anidro. A evaporação do solvente proporcionou o carbamato (1) (3 g; 85%).

Separação dos diastereómeros do éster de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido R-(+)-1-fenil-etil)-carbâmico (1b):

Efectuou-se a separação por HPLC numa coluna de HPLC de sílica gel (250 × 41,5 mm), 10 mm de Si-60A sorvente. Gradiente: hexanos - acetato de etilo de 0-10% em 72 minutos; caudal 50 ml/min; carga de 1g de (1) em 10 ml de hexano. Recolheu-se e evaporou-se a fracção com o isómero desejado do carbamato (1b) (0,18 g; 72%).

Análise da pureza óptica por cromatografia quiral:

Efectuaram-se análises aos 2,6-di-sec-butilfenóis em coluna OD-H CHIRALCEL (4,6 × 250 mm) em modo isocrático, fase móvel - n-hexanos, caudal 1 ml/min, 20 minutos, detecção a 270 nm. Dissolveram-se as amostras em hexanos. Efectuou-se a hidrólise preliminar dos carbamatos para 2,6-di-sec-butilfenóis a 100°C durante 1-2 minutos numa mistura 1:1 de dioxano: NaOH aquoso 1M. Efectuou-se a extracção dos 2,6-di-sec-butilfenóis com éter. Evaporou-se a camada de éter, e dissolveu-se o óleo residual em n-hexanos.

Síntese de (-)-2,6-di-sec-butilfenol (2):

Dissolveu-se o éster de (-)-2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido R-(+)-1-fenil-etil)-carbâmico (1b) (4,1 g, 11,6 mmol) em 100 ml de mistura 1:1 de dioxano : NaOH aquoso 1M. Agitou-se a mistura de reacção a 70°C durante 15 minutos. Removeram-se os voláteis a pressão reduzida até um volume de ~50-70 ml. Corrigiu-se o pH para 3-4 com HCl 1M. Efectuou-se a extracção do fenol com éter (3 × 50 ml), lavou-se com HCl 1M,

salmoura e secou-se sobre MgSO_4 anidro. A evaporação produziu óleo amarelo bruto (2,4 g; ~100%). Efectuou-se a destilação em vácuo (120–125°C/~5mm) (2,1 g, 89%). Rotação óptica: $\alpha^{20}_{\text{D}} = -14,11^\circ$ (c=2, pentano).

Exemplo 2

Separação directa de estereoisómeros de 2,6-di-sec-butilfenol

Realizou-se a separação da mistura de estereoisómeros de 2,6-di-sec-butilfenol por HPLC quiral. Injectou-se 2,6-di-sec-butilfenol (1 mg/ml em n-hexano de grau HPLC) numa coluna de HPLC quiral (*Daicel, Inc.*, CHIRALCEL OD-H, 20 × 250 mm, 5 μ m). Realizou-se a separação usando um gradiente isocrático com n-hexano de grau HPLC como fase móvel a um caudal de 10 ml/minuto à temperatura ambiente. A detecção de pico foi a 270 nm. O 2,6-di-sec-butilfenol mostrou três picos numa razão de 1:2:1 correspondendo a enantiómero 1 (o estereoisómero desejado), (meso)-2,6-di-sec-butilfenol, e enantiómero 2. Dissolveu-se o enantiómero 1 isolado (1 mg/ml) em n-hexano de grau HPLC e injectou-se numa coluna de HPLC quiral (*Daicel, Inc.*, CHIRALCEL OD-H, 4,6 × 250 mm, 5 μ m), a funcionar com um gradiente isocrático usando como fase móvel n-hexano de grau HPLC, a um caudal de 0,7 ml/minuto, à temperatura ambiente. A detecção de pico foi a 270 nm, e mostrou um tempo de retenção de 17,1 minutos, e uma pureza > 99% do isómero. Rotação óptica: $\alpha^{20}_{\text{D}} = -11,91''$. Seguindo o mesmo procedimento analítico como para o enantiómero 1, o enantiómero 2 apresentou um tempo de retenção de 19,6 minutos, e uma pureza > 95% do isómero, e o (meso)-2,6-di-sec-butilfenol apresentou um tempo de retenção de 18,8 minutos, e uma pureza > 96% do isómero.

Exemplo 3

Formulação

O quadro que se segue ilustra uma forma de dosagem representativa contendo um composto de fórmula (I) para utilização terapêutica.

Componente	Peso do lote	% em p/p
Óleo de soja	70 g	11,71
Fosfolípidos de soja (Lípido S-75)	8,4 g	1,41
Composto de fórmula (I)	3,5 g	0,59
Glicerina	15,75 g	2,64
Edetato dissódico	0,035 g	0,01
Hidróxido de sódio (correção de pH)		
Sub-total	97,685	
Água estéril para injeção	500 ml	83,66
Total	597,685	100

Exemplo 4

Formulação

O Quadro que se segue ilustra uma forma de dosagem representativa contendo um composto de fórmula (I) para utilização terapêutica.

Componente	Peso do lote	% em p/p
Óleo de soja	70 g	11,66
Fosfolípidos de soja (Lípido S-75)	8,4 g	1,40
Composto de fórmula (I)	6,0 g	1,00
Glicerina	15,75 g	2,62
Edetato dissódico	0,035 g	0,01
Hidróxido de sódio (correção de pH)		
Sub-total	100,185	
Água estéril para injeção	500 ml	83,31
Total	600,185	100

Exemplo 5**Preparação de (R,R)-di-sec-butilfenol usando cromatografia para separar os diastereoisômeros de carbamato****a) Éster de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido (R)-((+)-1-fenil-etil)-carbâmico**

Secou-se azeotropicamente, num rotavapor (55°C, 48 torr), di-sec-butilfenol (disponível na Acros & AK Scientific) (5 gramas (g), 21,1 milimoles (mmol)), usando 5 mililitros (ml ou mL) de tolueno e depois efectuou-se a carga de um balão de vidro de 100 ml com três tubuladuras equipado com um agitador magnético, um condensador de refluxo, um termopar e uma entrada de azoto (N₂). Adicionou-se tolueno (10 ml) e 4-dimetilaminopiridina (0,085 g, 0,7 mmol). Em último lugar introduziu-se isocianato de (R)-(+)-1-feniletilo (3,5 g, 3,65 ml, 23,63 mmol). Usando uma manta de aquecimento, aqueceu-se a 90°C a mistura límpida amarela resultante, sob N₂, e continuou-se a agitar a essa temperatura enquanto se monitorizava o progresso da reacção por cromatografia líquida de pressão elevada (HPLC). Após o final da reacção (18-24 horas (h)) conforme suposto por HPLC, concentrou-se a mistura de reacção num rotavapor (50-55°C/45-50 torr) para obter um semi-sólido (9,4 g) que se dissolveu em 2-propanol quente (18 ml). Deixou-se a solução atingir a temperatura ambiente, semeou-se com éster de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido (R)-((+)-1-fenil-etil)carbâmico puro, e colocou-se num frigorífico (4°C) durante 24-36 h para que ocorresse cristalização lenta. Filtraram-se a frio os sólidos amarelos precipitados e secaram-se num filtro de funil durante 1-2 h. A primeira colheita de produto pesou 2,8 g (37,5% de rendimento) e verificou-se ser de pureza superior (>) a 95 por cento de área (%A) por análise de HPLC. Concentrou-se o licor mãe num rotavapor até 2/3 do volume original (destilado de 4 ml de 2-propanol), e depois arrefeceu-se até 0-5°C durante 6-8 h. Filtrou-se a frio a segunda colheita de produto, secou-se no filtro de funil para originar um adicional de 2,6 g (34,9% de rendimento) de produto que se verificou ser ~88 %A por HPLC.

b) Éster (R,R,R) de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido 1-feniletilcarbâmico

Num sistema de HPLC Agilent equipado com um detector de matriz de díodos e uma coluna de 10 mm de sílica KROMASIL com 0,46 cm de diâmetro interno × 25 cm de comprimento, alimentou-se 714 mg de éster de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido R-(+)-1-fenil-etil)-carbâmico racémico dissolvido em 10 ml de hexano/ acetato de etilo (98:2) para originar uma solução de alimentação a 71,4 g/l. Efectuou-se a eluição da amostra com hexano/ acetato de etilo (98:2) a 2 ml/min a 25°C. Recolheram-se as fracções contendo o éster (R,R,R) de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido 1-feniletilcarbâmico e evaporaram-se a pressão reduzida a temperatura <55°C. Com a carga mais elevada, colheu-se o estereoisómero (R,R,R) com uma pureza quiral de 98,7% de excesso diastereomérico (ed) e um rendimento total de 53%.

c) (R,R)-di-sec-butilfenol

Num balão de vidro de 100 ml com três tubuladuras equipado com um agitador magnético, um condensador de refluxo, um termopar e uma entrada de N₂, adicionou-se tetrahidrofurano (THF) (9 ml), éster (R,R,R) de 2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido 1-feniletilcarbâmico (1 g, 2,8 mmol), e hidróxido de sódio 1,0 M (11,4 ml, 11,4 mmol). Aqueceu-se a mistura límpida resultante sob N₂ a 55-60°C usando uma manta de aquecimento e continuou-se a agitar a esta temperatura enquanto se monitorizava o progresso da reacção por HPLC. Após o final da reacção (6-8 h) conforme suposto por HPLC, arrefeceu-se a mistura de reacção até 15°C e filtrou-se para remover ureia precipitada. Lavou-se o bolo filtrado com THF frio (5 ml). Combinou-se o filtrado e a lavagem, acidificou-se até pH 2-3 com ácido clorídrico (HCl) 3,0 M (3,5 ml). Após agitação durante 10 minutos (min.), adicionou-se éter (10 ml) e depois agitou-se vigorosamente a mistura resultante durante 15 minutos, após o que se separaram as camadas. Lavou-se a camada orgânica com HCl 3,0 M (3 ml), salmoura (5 ml), secou-se em sulfato de magnésio (MgSO₄), filtrou-se para remover o agente de secagem, e depois concentrou-se num rotavapor para originar um resíduo amarelo semi-sólido que se agitou com éter de metil-t-butilo (MTBE) (3 ml) durante 15 minutos e depois filtrou-se. Lavou-se o bolo filtrado com

MTBE (2 ml). Combinou-se o filtrado e a lavagem, e depois concentrou-se num rotavapor para originar o composto do título na forma de um óleo amarelo (0,6 g, 100% de rendimento bruto) que se verificou ser de pureza superior a 93 %A por HPLC. Verificou-se que o ^1H -RMN (DMSO- d_6) era consistente com a estrutura.

Exemplo 5a

Preparação de (S,S)-di-sec-butilfenol usando cromatografia para separar os diastereoisómeros de carbonato

a) Éster de 2,6-di-sec-butilfenolbenzoílo

Seca-se num rotavapor (55°C, 48 torr) di-sec-butilfenol (disponível na Acros & AK Scientific) usando tolueno e depois alimenta-se num balão de vidro de 100 mililitros (ml ou mL) com três tubuladuras, equipado com um agitador magnético, um condensador de refluxo, um termopar, e uma entrada de azoto (N_2). Adiciona-se tolueno e 4-dimetilaminopiridina seguidos de cloreto de benzoílo. Aquece-se a mistura resultante sob N_2 a 90°C usando uma manta de aquecimento e continua-se a agitar a esta temperatura enquanto se segue o progresso da reacção por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Após o final da reacção segundo decisão por HPLC, concentra-se a mistura de reacção num rotavapor (50-55°C/45-50 torr) para obter um semi-sólido.

b) Éster de (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol-benzoílo

Num sistema de HPLC Agilent equipado com um detector de matriz de díodos e uma coluna de 10 mm de sílica KROMASIL, com 0,46 cm de diâmetro interno x 25 cm de comprimento, alimenta-se éster de 2,6-di-sec-butilfenol-benzoílo dissolvido em hexano/ acetato de etilo (98:2) para originar uma solução de alimentação. Efectua-se a eluição da amostra com hexano/ acetato de etilo (98:2) a 25°C. Recolhem-se as fracções contendo o éster de (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol-benzoílo e evaporam-se a pressão reduzida a temperatura <55°C para originar um óleo fino.

c) (S,S)-di-sec-butilfenol

Num balão de vidro de 100 ml com três tubuladuras, equipado com um agitador magnético, um condensador de refluxo, um termopar e uma entrada de N₂, adiciona-se tetrahidrofurano (THF), éster (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol-benzoílo, e hidróxido de sódio 1,0 M. Aquece-se a mistura resultante sob N₂ a 55-60°C usando uma manta de aquecimento e continua-se com a agitação a esta temperatura enquanto se segue o progresso da reacção por HPLC. Após o final da reacção segundo decisão por HPLC, arrefece-se a mistura de reacção até 15°C e filtra-se para remover ureia precipitada. Lava-se o bolo de filtrado com THF frio. Combina-se o filtrado e a lavagem, acidifica-se até pH 2-3 com ácido clorídrico (HCl) 3,0 M. Após agitação durante 10 minutos, adiciona-se éter e agita-se vigorosamente a mistura resultante durante 15 minutos, após o que se separam as camadas. Lava-se a camada orgânica com HCl 3,0 M, salmoura, seca-se em sulfato de magnésio (MgSO₄), filtra-se para remover o agente de secagem, e depois concentra-se num rotavapor para originar um resíduo que se submete a agitação com éter de metil-*t*-butilo (MTBE) durante 15 minutos e depois se filtra. Lava-se o bolo de filtrado com MTBE. Combina-se o filtrado e a lavagem, e depois concentra-se num rotavapor para originar o composto do título.

Testes Biológicos

Avaliou-se o perfil farmacológico de (R,R)-di-sec-butilfenol por comparação com o propofol, nos testes descritos nos Exemplos a seguir apresentados. Nesses Exemplos faz-se referência ao (R,R)-di-sec-butilfenol por Composto 1.

Exemplo 6**Teste em fatias de hipocampo do cérebro de rato**

Testaram-se as capacidades do Composto 1 e do propofol para potenciarem a acção de agonistas no receptor de ácido g-aminobutírico de subtipo A (receptor GABA_A) e compararam-se num teste electrofisiológico em fatias de hipocampo do cérebro de rato.

Testou-se o Composto 1, preparado conforme foi descrito no Exemplo 5, e o propofol, cada um em cinco concentrações: 0,1,

1, 3, 10 e 30 micromolar (μM). Diluíram-se em salino, soluções mãe de 100 milimolar (mM) de propofol e de 100 mM de composto 1, cada uma em DMSO, para efectuar as respectivas concentrações; as amostras de 30 μM continham 0,03% de DMSO; soluções contendo até 0,1% de DMSO não têm qualquer efeito significativo no teste em fatias de cérebro. Determinaram-se os valores de EC_{50} e EC_{20} usando um procedimento semelhante ao descrito em Casasola et al, 2002, *Epilepsy Research* 47, 257, com modificações como as apresentadas abaixo.

Prepararam-se as fatias de hipocampo de rato da seguinte forma:

Anestesiaram-se ratinhos *Wister* machos (100-125 g) com isoflurano e decapitaram-se, removeram-se rapidamente os cérebros, colheram-se, fixaram-se, e cortaram-se usando um vibratome (OTS-4000, *Electron Microscope Sciences*) em secções transversais de 400 micrómetros (μm). Transferiram-se as fatias para uma câmara de registo para tecido submerso, aquecida (33°C), perfusionada a 2,5-3 ml/min com fluido cerebrospinal artificial modificado (cloreto de sódio 120 mM, cloreto de potássio 3,5 mM, cloreto de cálcio 2,5 mM, cloreto de magnésio 1,3 mM, fosfato de sódio 1,25 mM, carbonato de sódio 26 mM, glicose 10 mM, saturada com oxigénio a 95%, pH 7,4). Equilibraram-se as fatias de hipocampo na câmara de registo durante pelo menos 1 hora.

Efectuaram-se os testes electrofisiológicos da seguinte forma: encheu-se um eléctrodo de vidro (extremidade de diâmetro 1-2 μm) com cloreto de sódio 3M (NaCl) e colocou-se na camada de células piramidais CA1 das fatias de hipocampo. Colocou-se um eléctrodo estimulante bipolar concêntrico a 25 μM (SNE-100, *Rhodes Medical Supply*) no *stratum radiatum* da área CA1 para estimular a via comissural/ colateral de *Schaffer*. Registaram-se as respostas da população das células piramidais CA1 com um Axoprobe-1A (*Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, CA*). Para a aquisição de dados utilizou-se pCLAMP 8.2 (*Axon Instruments*) e para a análise utilizou-se Clampfit (*Axon Instruments*). O estímulo consistiu num único pulso de onda quadrada (com duração de 0,3 milissegundos (ms)) proveniente do estimulador Grass S11 (*Grass Medical Instruments*) e aplicado de 20 em 20 segundos ao longo do período experimental. Ajustou-se a intensidade do estímulo

para provocar uma resposta 80-90% do máximo. Mediu-se a amplitude pico a pico da resposta da população de cada estímulo como indicador de excitabilidade celular.

Efectuou-se a perfusão sequencial de composto 1 e de propofol, cada um na presença de EC_{20} de muscimol (2 μ M), partindo da menor concentração para a maior, no fluido cerebrospinal artificial modificado das respectivas fatias de hipocampo. Mediram-se os efeitos de cada concentração, 4 a 7 minutos após a aplicação de composto 1 ou de propofol, respectivamente, altura em que se consideraram estáveis as variações na resposta. Aplicou-se o muscimol (10 μ M) a seguir à aplicação de Composto 1 ou de propofol, para verificar a sensibilidade da preparação, apenas se o Composto 1 ou o propofol não produziram uma correcta inibição da amplitude do pico de população CA1 (< 90% de inibição). No final do registo, aplicou-se o antagonista do canal do receptor $GABA_A$ picrotoxina (50 μ M) para confirmar que a resposta era mediada pelo receptor $GABA_A$.

Obtiveram-se e analisaram-se os dados usando o *Clampfit* e o *Excel* (Microsoft), e divulgaram-se como valores individuais e médios. Obteve-se o grau de efeito na população (%) medindo a amplitude do pico de população CA1 antes (controle) e após a co-aplicação de muscimol (EC_{20}) e Composto 1 ou propofol (normalizou-se a diferença em relação ao controle e multiplicou-se por 100 para obter a percentagem de efeito).

Os dados demonstraram que o Composto 1 foi um potenciador potente da acção de agonistas no receptor $GABA_A$ nas fatias de hipocampo de cérebro de rato, com um EC_{50} de 2,5 μ M. O propofol teve um EC_{50} de 4,8 μ M. Deste modo, o Composto 1 comportou-se de modo semelhante ao propofol no ensaio em fatia do hipocampo de cérebro e potenciou totalmente a resposta mediada por muscimol no receptor $GABA_A$.

Exemplo 7

Estudos de especificidade para o alvo

Testaram-se e compararam-se as capacidades do Composto 1 e do propofol para interagirem com uma variedade de alvos biológicos.

Efectuou-se a determinação dos perfis farmacológicos do Composto 1, preparado conforme foi descrito no Exemplo 5, e do propofol, por Cerep, Inc. (Redmond, WA, EUA) no seu "*Diversity Profile*", um perfil padrão de 71 receptores (59 receptores de péptidos, não péptidos ou nucleares; 7 canais de iões; 5 transportadores de amina) e 16 enzimas. Testou-se o Composto 1 e o propofol, ambos a 10µM, uma concentração terapeuticamente relevante.

Os resultados indicaram que o Composto 1 teve um comportamento semelhante ao propofol no que diz respeito aos 71 receptores e 16 enzimas testados. Por exemplo, o Composto 1 e o propofol apresentaram, cada um, o maior efeito (superior a 30% de inibição de ligação de controle) no ensaio que mede a ligação de picrotoxina (composto activo de picrotoxina) no canal de cloro isolado do córtex cerebral de rato. Este canal iónico controlado pelo ligando ácido g-aminobutírico (GABA) é o alvo central de acção do propofol. Além disso, o Composto 1 e o propofol apresentaram, cada um, inibição de ligação de controlo superior a 20% para apenas uma das 16 enzimas testadas: a fosfodiesterase 2 (PDE2). Não se observaram quaisquer efeitos significativos para a alfa2, NMDA, PCP, benzodiazepina ou receptores de opióides.

Exemplo 8

Dor em injeção - Concentração na fase aquosa

Pensa-se que a dor de injeção, um problema comum da administração de propofol, é causada pelo propofol presente em fase aquosa da emulsão lipídica (ver, e.g., Klement W et al, 1991, *Br J Anaesth* 67, 281). Vários estudos reportaram uma significativa diminuição na dor em injeção quando a concentração de propofol em fase aquosa é menor, quando comparada à quantidade de propofol na fase aquosa de DIPRIVAN (ver, e.g., Doenicke AW et al, 1996, *Anesth Analg* 82, 472; Ueki R et al, 2007, *J Anesth* 21, 325).

Determinou-se a concentração de Composto 1 na fase aquosa (concentração em fase aquosa) de uma formulação em emulsão lipídica. Comparou-se esta concentração em fase aquosa à do propofol formulado na mesma formulação e à de DIPRIVAN® (AstraZeneca, Wilmington, DE, EUA).

Produziu-se uma formulação de Composto 1 a um por cento (1%) em conformidade com o Exemplo 4, sendo o Composto 1 preparado conforme foi descrito no Exemplo 5. Produziu-se uma formulação de propofol a 1% do mesmo modo. Utilizou-se DIPRIVAN (emulsão injectável de propofol a 1%) conforme foi adquirida à AstraZeneca.

Determinaram-se as concentrações em fase aquosa de Composto 1 e de propofol usando o método de ultrafiltração descrito por Teagarden DL *et al.*, 1988, *Pharmaceutical Research* 5, 482. Resumidamente, colocaram-se quatro amostras de 0,4 ml da formulação de Composto 1 a 1%, quatro amostras de 0,4 ml da formulação de propofol a 1%, e duas amostras de 0,4 ml de DIPRIVAN nos filtros de uma microcentrífuga *Ultrafree[®]-MC* (Millipore, Billerica, MA) e separaram-se as fases aquosas das fases lipídicas por microcentrifugação durante 15 minutos a 5000 rpm. Quantificaram-se as concentrações de composto 1 e de propofol nas respectivas fases aquosas, por cromatografia líquida associada a espectrometria de massa (LC/MS/MS), em comparação com curvas padrão de Composto 1 e de propofol usando timol como padrão interno de referência (análise efectuada por *Alturas Analytics Inc.*, Moscovo, ID).

A concentração em fase aquosa de Composto 1 na formulação de Composto 1 a 1% foi $0,38 \pm 0,02$ µg/ml. A concentração em fase aquosa de propofol na formulação de propofol a 1% foi $6,28 \pm 0,41$ µg/ml. A concentração em fase aquosa de propofol no DIPRIVAN foi 4,1 µg/ml.

Estes resultados demonstraram uma redução de 94% na concentração em fase aquosa de Composto 1 quando comparada à de propofol em formulações idênticas, e uma redução de 91% na concentração em fase aquosa de Composto 1 quando comparada à de propofol em DIPRIVAN.

Exemplo 9

Estudos farmacocinéticos

Efectuaram-se estudos farmacocinéticos (PK) em porcos domésticos para avaliar os efeitos farmacodinâmicos de Composto 1 e para comparar esses efeitos aos do propofol.

Administrou-se uma formulação de Composto 1 a 1%, preparada conforme foi descrito no Exemplo 5 e formulada em conformidade com o Exemplo 4, a 6 porcos via uma infusão intravenosa (IV) de 20 minutos a 0,380 mg/kg/min (dose total 7,6 mg/kg) e a um porco a 0,456 mg/kg/min (dose total 9,12 mg/kg). Compararam-se as concentrações plasmáticas de Composto 1 aos dados históricos de propofol gerados por um protocolo semelhante no qual se administrou uma formulação de propofol a 1%, formulada do mesmo modo que o Composto 1, a 5 porcos via uma infusão IV de 10 minutos a 0,750 mg/kg/min (dose total 7,5 mg/kg).

Os dados deste estudo indicaram que o Composto 1 exibiu um perfil farmacocinético semelhante ao propofol no modelo suíno. Um modelo de três compartimentos descreveu melhor os dados do Composto 1 e do propofol. A depuração do Composto 1 excedeu o fluxo de sangue hepático estimado, semelhante ao propofol. O Composto 1 também exibiu uma via metabólica semelhante em porcos à do propofol em seres humanos: glucuronidação na posição 1, estando a posição 4 sujeita a hidroxilação seguida de conjugação de glucuronido e sulfato. Um estudo de escalonamento de dose em cães mostrou concentrações plasmáticas semelhantes na lavagem para o Composto 1 e para o propofol, indicando taxas de depuração semelhantes nessa espécie, também.

Exemplo 10

Efeitos anestésicos em ratos

Estudou-se a resposta anestésica à dose de injeção IV de bolus de Composto 1, em ratos, em comparação ao propofol.

Utilizou-se um modelo roedor validado de anestesia geral (ver Hill-Venning C et al., 1996, *Neuropharmacology* 35, 1209; Lingamaneni R et al., 2001, *Anesthesiology* 94, 1050) para proporcionar uma medida do início e duração de anestesia, conforme é demonstrado pela perda de reflexo de endireitamento (LORR) e tempo de recuperação (intervalo de tempo desde a recuperação do reflexo de endireitamento até o rato conseguir manipular e trepar uma armação de aço e deambular normalmente). Mediu-se, também, a dose mínima para alcançar a LOOR e a dose máxima tolerada (DMT).

Administrou-se uma formulação de Composto 1 a 1%, preparado conforme foi descrito no Exemplo 5 e formulado em conformidade com o Exemplo 4, ou DIPRIVAN, por injeção IV de bolus a 2,5 ml/minuto a 6 ratinhos *Sprague-Dawley* machos (200-300 g) por grupo de dose para o intervalo de tempo necessário para administrar as doses descritas abaixo. Avaliou-se a potência relativa determinando a dose necessária para fazer com que 50% dos ratos percam o reflexo de endireitamento (HD50) e a dose necessária para produzir 7 minutos de anestesia (HD7min). Os intervalos de doses estudados foram: 1,9, 2,3, 3,0, 7,0, 13,7, 14,0 e 15,2 mg/kg para o Composto 1 e 3,5, 4,0, 7,0 e 14,0 mg/kg para o DIPRIVAN.

Os resultados indicaram que a administração IV de bolus de Composto 1 produziu uma duração de anestesia dependente da dose em ratos. Os aparecimentos de LOOR foram inferiores a 15 segundos quando se administraram as respectivas drogas a uma dose de pelo menos 3,0 mg/kg para o Composto 1 e a uma dose de pelo menos de 7,0 mg/kg para o propofol. O Composto 1 não produziu qualquer LORR a 1,9 mg/kg, mas produziu LORR em todas as outras doses testadas. O propofol não produziu qualquer LORR em 4 de 6 ratos testados a 3,5 mg/kg, mas produziu LORR em todas as outras doses testadas. O Quadro 1 compara os resultados de HD50, HD7min, DMT, e índice terapêutico (IT; definido neste documento como a razão de DMT para HD7min) para o Composto 1 e para o propofol. Um rato morreu quando foram administrados 14 mg/kg de DIPRIVAN. Dois ratos morreram quando foram administrados 15,2 mg/kg de Composto 1. O tempo de recuperação apresentou pouca relação com a dose excepto para doses elevadas de Composto 1, que também produziram LORR prolongada.

Quadro 1. Comparação dos resultados de HD50, HD7min, DMT e IT para o Composto 1 e para o propofol administrados por bolus IV a ratos

	Propofol	Composto 1
HD50	3,8 mg/kg	2,1 mg/kg
HD7min	7,0 mg/kg	2,3 mg/kg
DMT	<14 mg/kg	14 mg/kg
IT	<2	6,1

Em resumo, o Composto 1 mostrou potência a doses inferiores ao propofol e também mostrou um DMT superior e um IT melhor em comparação com o propofol.

Avaliou-se também neste teste o (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol, preparado em conformidade com o Exemplo 2, nas doses de 2, 3, 4, 5, 6, 28, 35, 42, 49 e 56 mg/kg. O Quadro 1a indica os resultados de HD50, HD7min, DMT, e IT para este composto. Um de seis ratos morreu quando lhes foi administrado 49 mg/kg de (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol.

Quadro 1a. Resultados de HD50, HD7min, DMT e IT para o (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol administrado por bolus IV a ratos

	(S,S)
HD50	4 mg/kg
HD7min	5,2 mg/kg
DMT	42 mg/kg
IT	8,1

Num estudo separado, administrou-se aos ratos 7 mg/kg de Composto 1 a 1% em *cremaphor* ou propofol, (S,S)-2-6-di-sec-butilfenol ou (*meso*)-2-6-di-sec-butilfenol (preparado em conformidade com o Exemplo 2), nas mesmas doses e formulações. Os resultados estão apresentados no Quadro 1b. Um dos 6 ratos aos quais se administrou 21 mg/kg de (*meso*)-2-6-di-sec-butilfenol a 1% formulado em *cremaphor* morreu; no entanto os restantes 5 ratos exibiram 34 minutos de anestesia.

Quadro 1b. Comparação da duração da anestesia (tempo a dormir) para administrações de 7 mg/kg de Composto 1, propofol, (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol e (meso)-2,6-di-sec-butilfenol por bolus IV a ratos

	Tempo a dormir
Propofol	7,1 min
Composto 1	23 min
(S,S)	6,3 min
(meso)	12,7 min

Em resumo, a potência do (S,S)-2-6-di-sec-butilfenol foi semelhante ao propofol. A potência do (meso)-2,6-di-sec-butilfenol foi melhor em comparação ao propofol. Ambos os estereoisómeros exibiram melhores DMT e índices terapêuticos em comparação com o propofol.

Exemplo 11

Efeitos anestésicos e hemodinâmicos em cães Beagle

Conduziu-se um estudo de escalonamento de dose em cães para demonstrar os efeitos, anestésico e hemodinâmico, da administração IV de bolus de Composto 1 em comparação com o propofol.

Os fins deste estudo eram a relação com a dose da indução, duração, profundidade e qualidade da anestesia e os efeitos hemodinâmicos da administração IV de bolus de Composto 1 ou de propofol. Utilizou-se uma formulação de Composto 1 a 1%, preparada conforme foi descrito no Exemplo 5 e formulada em conformidade com o Exemplo 4, e uma formulação de propofol a 1% formulada do mesmo modo.

Mediu-se com o Índice Bispectral (BIS) a medição electroencefalográfica (EEG) da profundidade da anestesia, que é um dos vários sistemas usados para medir os efeitos de drogas anestésicas no cérebro e efectuar o rastreio de variações no nível de sedação ou de anestesia. O BIS é um algoritmo matemático que analisa dados de EEG, e o resultado é um único número de 100 (totalmente consciente) a 0 (EEG isoelectrico). Outras avaliações incluíram classificações de

sedação, observações clínicas, pressão sanguínea, electrocardiograma (ECG), e saturação de oxigénio.

Implantaram-se portas de acesso vascular em cães *Beagle* (machos, 2-4 anos de idade, 8-10 kg). Na altura da cirurgia de implante, tosquiaram-se as cabeças dos cães, marcaram-se para colocação dos eléctrodos de EEC e injectaram-se com BOTOX® (*Allergan, Inc., Irvine, CA*; complexo de neurotoxina purificada da toxina botulínica do tipo A): administrou-se um total de 40 unidades por cão, em 5 injeções intramusculares (IM), em toda a sobancelha. As injeções destinavam-se a suprimir o movimento muscular e a interferência electromiográfica (EMG) com o sinal de BIS.

O estudo foi de concepção cruzada. Cada cão recebeu doses IV de bolus escalonadas de 2 a 4 (injectadas durante 60 segundos) de composto 1 ou de propofol separadas por pelo menos 30 minutos (ou até o cão estar acordado) até se obter a DMT. Definiu-se DMT como a dose que reduzia a pressão sanguínea arterial média (PAM) em 50% ou para valores inferiores a 50 milímetros de mercúrio (mmHg ou mm Hg). Todos os animais receberam oxigénio suplementar e, se necessário, suporte ventilatório após 4 minutos de apneia.

Determinou-se a profundidade de anestesia avaliando a presença ou ausência de reflexo de pestanas, resposta a toque glabellar ou estímulo auditivo, aperto dos dedos, e respiração. Classificou-se a presença de cada sinal com 1 e a ausência de cada um com 0. Isto permitiu o cálculo de uma classificação de sedação cumulativa em múltiplos instantes durante os 30 minutos entre as doses (5= acordado, 0= apneico/ anestesia profunda). Avaliou-se a qualidade da anestesia observando a suavidade de indução, avaliação qualitativa do tónus muscular, e presença de movimento involuntário. Classificaram-se os episódios de movimentos involuntários (e.g. durante emergência) como presentes ou ausentes ao longo do período de observação para cada dose. Analisaram-se os efeitos hemodinâmicos e o BIS com ANOVA a dois factores, seguido do teste de t com correlação de Bonferroni para comparações múltiplas do efeito do tempo e da dose.

A. Efeitos anestésicos

No Quadro 2 são apresentadas as capacidades do Composto 1 e do propofol administrados por bolus IV para produzir uma anestesia relacionada com a dose em *beagles* a respirarem espontaneamente sem pré-medicação (3,3-30 mg/kg/dose; 1-10 cães por dose). Dois de 3 cães administrados com 15 mg/kg de propofol atingiram a DMT a 15 mg/kg. Deste modo, só se deu a dose de propofol de 30 mg/kg a 1 cão.

Quadro 2. Duração da anestesia (tempo a dormir) relacionada com a dose para o Composto 1 e o propofol após a administração IV de bolus a cães

Dose	Propofol	Composto 1
5 mg/kg	13 min	24 min
10 mg/kg	28 min	43 min
15 mg/kg	43 min	77 min
30 mg/kg	69 min	105 min

Os dados indicaram também que a anestesia foi induzida no espaço de 1 minuto em todas as doses de Composto 1 e de propofol. A duração da anestesia, medida pelo tempo a dormir, foi superior com o Composto 1 do que com o propofol em todas as doses. As classificações de sedação cumulativas demonstraram profundidade anestésica aproximadamente equipotente para o propofol e composto 1 superior a 5 mg/kg. Não houve qualquer diferença significativa entre os valores de BIS para cães administrados com Composto 1 a 10 mg/kg ou propofol a 10 mg/kg ou 15 mg/kg. O composto 1 produziu um maior efeito no BIS a doses de pelo menos 15 mg/kg mas essas doses são muito elevadas, e potencialmente não relevantes do ponto de vista clínico. A qualidade de anestesia (suavidade da indução, avaliação qualitativa de tónus muscular, presença de movimento involuntário) de Composto 1 foi semelhante ao propofol.

Neste teste, avaliou-se também o (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol e o (meso)-2,6-di-sec-butilfenol, produzidos em conformidade com o Exemplo 2. O quadro 2a mostra a duração de anestesia (tempo a dormir) relacionada com a dose para esses compostos.

Quadro 2a. Duração da anestesia (tempo a dormir) relacionada com a dose para o Composto 1 e o propofol após a administração IV de bolus a cães

Dose	(S, S)	(meso)
5 mg/kg	8 min	25 min
10 mg/kg	24 min	36 min
15 mg/kg	50 min	55 min
30 mg/kg	50 min	58 min

Os dados indicaram também que a anestesia foi induzida no espaço de 1 minuto em todas as doses de (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol e (meso)-2,6-di-sec-butilfenol. A duração da anestesia, medida pelo tempo a dormir, foi semelhante ao propofol para o (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol e maior para o (meso)-2,6-di-sec-butilfenol. A qualidade de anestesia de (S,S)-2,6-di-sec-butilfenol foi semelhante ao propofol mas inferior para o (meso)-2,6-di-sec-butilfenol.

B. Efeitos hemodinâmicos: pressão sanguínea

Registaram-se dados hemodinâmicos, tais como pressão arterial média (PAM), na linha de base, aos 1, 2, 4, 8, 15, 20 e 30 minutos. Administrou-se o Composto 1 a 5, 10, 15 e 30 mg/kg respectivamente a 3, 6, 6 e 3 cães. Administrou-se o propofol nas mesmas doses respectivamente a 3, 5, 5 e 1 cães. Apenas 1 cão recebeu 30 mg/kg de propofol porque em dois animais foi atingido o critério de DMT com 15 mg/kg. Analisaram-se os dados por ANOVA a dois factores seguido de teste t com correlação de Bonferroni para comparações múltiplas.

Uma comparação dos dados indicou que o propofol produziu um efeito significativamente maior na PAM do que o Composto 1. O Quadro 3 proporciona um exemplo no qual as variações de percentagem de pressão arterial média (%PAM) a partir da linha de base, 4 minutos após a administração IV de bolus de 10, 15 ou 30 mg/kg de Composto 1, são comparáveis a variações de %PAM produzidas pelas mesmas doses de propofol.

Quadro 3. Variações nas pressões arteriais médias relacionadas com a dose, medidas como variação de %PAM a partir da linha de

base, 4 minutos após a administração IV de bolus de Composto 1 ou de propofol a cães

Dose	Propofol	Composto 1
10 mg/kg	-22%	+11%
15 mg/kg	-32%	-25%
30 mg/kg	-66%*	-41 %
* testou-se apenas 1 cão a 30 mg/kg de propofol atendendo a que 2 cães atingiram os critérios de DMT a 15 mg/kg de propofol.		

Neste teste, avaliou-se também o (S,S)-2,6-Di-sec-butilfenol e o (meso)-2,6-di-sec-butilfenol, produzido em conformidade com o Exemplo 2. Uma comparação dos dados indicaram que o propofol produziu um efeito significativamente maior na PAM do que o (S,S)-2,6-Di-sec-butilfenol ou o (meso)-2,6-di-sec-butilfenol. O Quadro 3a proporciona um exemplo, comparando as variações de %PAM a partir da linha de base aos 4 minutos.

Quadro 3a. Variações nas pressões arteriais médias relacionadas com a dose, medidas como variação de %PAM a partir da linha de base, 4 minutos após a administração IV de bolus de (S,S)-2,6-Di-sec-butilfenol ou de (meso)-2,6-di-sec-butilfenol a cães

Dose	(S, S)	(Meso)
10 mg/kg	+7%	+5%
15 mg/kg	+5%	+15%
30 mg/kg	0%*	-16 %

Exemplo 12

Efeitos anestésicos e hemodinâmicos em cães Mongrel

Este estudo comparou o efeito de anestesia intravenosa total em cães *mongrel* cronicamente instrumentados a que foram administrados o Composto 1 ou o propofol. As avaliações incluíram parâmetros de desempenho hemodinâmico como a pressão sanguínea, frequência cardíaca, e débito cardíaco, assim como análise de parâmetros químicos clínicos e de EEG.

Comparou-se uma formulação de Composto 1 a 1%, preparada conforme foi descrito no Exemplo 5 e formulada em conformidade com o Exemplo 4, e DIPRIVAN (emulsão injectável de propofol a 1%) em cães *mongrel* adultos (pelo menos 9 meses de idade; aproximadamente 20-40 kg)

Induziu-se anestesia geral nos cães por administração IV de 7 mg/kg de DIPRIVAN, e entubaram-se traquealmente e ventilaram-se mecanicamente os cães. Manteve-se a anestesia geral usando 2,2% de sevoflurano final de expiração em oxigénio. Efectuou-se uma toracotomia no quinto espaço intercostal esquerdo, e colocaram-se cateteres cheios de heparina na aorta torácica, descendente, proximal (transdutor de pressão P50, *Gould, Oxnard, CA*), e nas aurículas direita e esquerda para proporcionar acesso IV. Colocou-se uma sonda de fluxo por tempo de trânsito ultrassónica (T108, *Transonic Systems, Ithaca, NY*) em torno da aorta torácica ascendente. Colocou-se uma sonda de fluxo *Doppler* de 20 kHz (Modelo HDP-20-3.5, *Triton Surgical Technologies, San Diego, CA*) em torno da artéria coronária descendente anterior esquerda. Implantaram-se cristais de sonomicrómetro de 6 MHz (*Hartley, Houston, TX*) no subendocárdio. Inseriu-se um micromanómetro de alta-fidelidade (P7, *Konigsberg Instruments, Pasadena, CA*) no ventrículo esquerdo. Posicionou-se um oclisor vascular hidráulico (*In Vivo Metric Systems, Healdsburg, CA*) em torno da veia cava inferior torácica. Exteriorizou-se a instrumentação, fechou-se a parede torácica em camadas, e evacuou-se o pneumotórax. Os cães recuperaram um mínimo de 7 dias antes da experimentação e aclimataram-se para permanecerem num *sling* durante o período de recuperação.

Os cães jejuaram durante a noite. Colocaram-se os cães conscientes num *sling*, e inseriram-se eléctrodos de agulha para registar os ECG de Chumbo II. Posicionaram-se eléctrodos no escalpe para registar os EEG (MP150, *Biopac Systems, Goleta, CA*) em 3 configurações de registo bipolares que constituíram uma amostragem das regiões frontal, temporal, parietal e occipital. Depois, os cães receberam um bolus IV de 500 ml de salino normal, a seguir ao qual se estabeleceu uma infusão IV de salino normal a uma taxa de 3 ml/kg/h (60-120 ml/h por cão) ao longo da duração da experiência. Deixou-se que os cães estabilizassem durante 30 minutos. Registou-se continuamente o EEG durante a experiência. As medições de gás

no sangue arterial e as medições de análise química incluíram pH, pO₂, sO₂, pCO₂, tCO₂, carbonato, potássio, sódio, e excesso de base, e efectuaram-se imediatamente a seguir à colheita de sangue, usando um analisador de gás sanguíneo e químico (ABL-505, Radiometer, Copenhaga). As medições de química clínica no sangue incluíram albumina, razão de albumina/ globulina, fosfatase alcalina, ALT (SGPT), AST (SGOT), bicarbonato, bilirrubina directa, BUN, razão de BUN/creatinina, cálcio, cloreto, colesterol, CK, creatinina, globulina, glicose, fósforo, potássio, sódio, razão de sódio/ potássio e proteína total. Após estabilização, registaram-se as medições de linha de base de EEG, hemodinâmicas, ECG, e gases sanguíneos. Retiraram-se amostras de sangue para PK (farmacocinética) e química clínica, e criaram-se ciclos de pressão - volume e registaram-se os dados.

Imediatamente a seguir às medições da linha de base, os cães receberam uma dose de bolus IV de 4 mg/kg (1 cão) ou 5 mg/kg (6 cães) de Composto 1 ou uma dose de bolus IV de 7 mg/kg de propofol (7 cães) durante 1 minuto para induzir anestesia geral. Após a indução, entubaram-se traquealmente os cães, e ventilaram-se mecanicamente usando 50% de oxigénio em azoto ao longo da subsequente infusão de droga e períodos de recuperação. Começando 4 minutos após o final da dose de bolus, administrou-se aos cães que receberam bolus de Composto 1 uma série de quatro infusões IV de 15 minutos à razão de 0,25, 0,5, 1,0 e 2,0 mg/kg/minuto de Composto 1 num modo cruzado gradual; usou-se o mesmo protocolo para os cães a receberem bolus de propofol há excepção de se efectuar a infusão do propofol nas razões e tempos indicados. Monitorizou-se continuamente a PAM, e descontinuou-se imediatamente o fornecimento da dose se a PAM diminuiu para valores inferiores a 50 mmHg a qualquer altura ou se a frequência cardíaca aumentou para valores superiores a 200 batimentos por minuto. Interrompeu-se o fornecimento de dose num cão no final do período de infusão de composto 1 a 1,0 mg/kg/min e noutros dois durante o período de infusão de Composto 1 a 2,0 mg/kg/min. No final de cada infusão de 15 minutos, registaram-se as medições de EEG, hemodinâmica, ECG, e gases sanguíneos, colheram-se amostras de sangue para farmacocinética, e criaram-se ciclos de pressão - volume e registaram-se os dados. Após o fornecimento das doses, deixou-se os cães recuperarem. Descontinuou-se a ventilação, e

retirou-se a entubação da traqueia, quando a interpretação subjectiva de observações clínicas indicaram recuperação suficiente da anestesia geral. Anotou-se o tempo da retirada da entubação da traqueia. Trinta minutos após o final da última infusão, registaram-se as medições de EEG, hemodinâmica, ECG, e gases sanguíneos, colheram-se amostras de sangue para farmacocinética, e criaram-se ciclos de pressão - volume e registaram-se os dados. Determinaram-se as concentrações de Composto 1 e de propofol em plasma de cão, e estimaram-se as concentrações de 5 metabolitos (1 oxidativo, 3 conjugados de glucuronido, e 1 conjugado de sulfato), usando cromatografia líquida (LC) e espectrometria de massa associada (MS/MS) (realizada numa *Alturas Analytics*).

Os resultados indicaram que os dados de gás sanguíneo arterial e de química clínica estavam estáveis. A análise por EEG mostrou um efeito sedativo - hipnótico relacionado com a dose e nenhuma evidência de convulsões ou actividade pré-convulsiva. Todos os cães recuperaram da anestesia geral a uma razão semelhante, independentemente de lhes ter ou não sido administrados Composto 1 ou propofol. Detectaram-se os metabolitos de glucuronido e Composto 1 na posição 1 e na posição 4, no plasma. As concentrações plasmáticas foram consistentes com o regime de administração

Neste modelo, nas doses terapeuticamente relevantes, os resultados de EEG mostraram um maior efeito de potência anestésica para o Composto 1 em comparação com o propofol. Não existiram quaisquer diferenças estatisticamente significativas entre os resultados de PAM e frequência cardíaca para o Composto 1 e o propofol. O débito cardíaco em cães tratados com propofol foi significativamente reduzido a partir da linha de base; em contraste, os cães tratados com Composto 1 não exibiram qualquer redução estatisticamente significativa em débito cardíaco.

Exemplo 13

Efeitos anestésicos e hemodinâmicos em porcos

Compararam-se efeitos anestésicos e hemodinâmicos de Composto 1 e de propofol em porcos ventilados anestesiados que receberam infusão IV com formulação de Composto 1 a 1%, preparada conforme foi descrito no Exemplo 5 e formulada em

conformidade com o Exemplo 4, ou DIPRIVAN (emulsão injectável de propofol a 1%). As avaliações incluíram medições de EEG e profundidade de anestesia usando BIS, farmacocinética, pressão sanguínea, ECG, frequência cardíaca, débito cardíaco, temperatura do corpo, e saturação de oxigénio. Realizaram-se as experiências em suínos comerciais, criados em quintas, de ambos os sexos (peso médio 33,6 kg). Induziu-se a anestesia com isoflurano. Obteve-se acesso intravascular a partir de uma veia na orelha. Entubou-se cada um dos porcos e ventilou-se mecanicamente. Monitorizou-se a oxigenação dos tecidos usando oximetria de pulso contínuo colocada na língua. Monitorizou-se a ventilação usando um analisador de gás inspirado/ expirado que mediu as concentrações de oxigénio, dióxido de carbono, e agente de inalação potente. Regularam-se as configurações do ventilador conforme a necessidade para manter estado estacionário.

Atingiu-se um nível contínuo de anestesia com isoflurano e uma infusão de pancurónio (10 mg/h). Monitorizou-se o ECG ao longo do estudo. Monitorizou-se a pressão sanguínea arterial através da artéria femoral esquerda canularizada. De 5 em 5 segundos, recolhiam-se a PAM, as pressões arteriais sistólica e diastólica e frequência cardíaca. Colocaram-se cânulas numa veia jugular interna com um cateter da artéria pulmonar, para estimativas de termodiluição do débito cardíaco e da temperatura do sangue. Manteve-se a temperatura do corpo a 37°C. Realizou-se a instrumentação para a monitorização de EEG usando um conjunto de eléctrodos adesivos sobre as regiões fronto-occipitais (*Aspect Medical, Norwood. MA, EUA*).

A configuração experimental incluiu um período de estabilização de 30 minutos, seguido de infusão IV de Composto 1 ($0,384 \text{ mg/kg/min} \times 20 \text{ min}$) ou de propofol ($0,750 \text{ mg/kg/min} \times 10 \text{ min}$). À respectiva infusão seguiu-se um período de lavagem de 180 minutos. Efectuaram-se medições hemodinâmicas e tiraram-se amostras de sangue para análise farmacocinética na pré-infusão, de 2 em 2 minutos durante a infusão de Composto 1 ou de propofol e em intervalos frequentes durante o período de lavagem. Determinaram-se previamente os tempos e velocidades de infusão para o Composto 1 e para o propofol para produzir uma redução máxima de BIS (<10) durante o período de infusão. Mediram-se amostras de sangue arterial para determinar o pH, a pO_2 , a pCO_2 , glicose,

potássio, e lactato na linha de base antes da infusão de Composto 1 ou de propofol, durante a infusão, e hora a hora após a infusão.

Compararam-se os parâmetros metabólicos e hemodinâmicos para cada grupo em múltiplos instantes usando um teste de *t* Student bicaudal desemparelhado. Para contabilizar comparações múltiplas e manter a probabilidade de um erro de tipo I ser inferior a 0,05, consideraram-se significativos valores de *P* inferiores a 0,025.

A. Efeitos anestésicos

O Composto 1 e o propofol produziram supressão máxima de BIS (<10) com infusões IV de $14,7 \pm 3,8$ minutos de 384 µg de Composto 1 por kg por minuto e $9,4 \pm 1,9$ minutos de 750 µg de propofol por kg por minuto, respectivamente. O efeito no EEG foi reversível e regressou à linha de base em 60 minutos. A área sob a curva (UAC) de Composto I necessário para atingir o efeito farmacodinâmico máximo (*E*_{max}) foi significativamente menor do que a do propofol ($51,5 \pm 15,5$ contra $108,7 \pm 24,3$ µg-min/ml, respectivamente). Em conclusão, os dados indicaram que o Composto 1 foi mais potente do que o propofol.

B. Efeitos hemodinâmicos

Mediu-se a pressão arterial média e a frequência cardíaca em intervalos ao longo da infusão IV e da lavagem com Composto 1 (0,384 mg/kg/min, 5 porcos) e com propofol (0,750 mg/kg/min, 6 porcos). Apresentam-se os resultados respectivamente nas Figuras 1 e 2. A Figura 3 compara o débito cardíaco produzido pelo Composto 1 em comparação com o propofol. Tiraram-se amostras de gás de sangue arterial dos porcos que receberam infusão com Composto 1 e analisaram-se quanto ao gás no sangue e valores químicos do soro; os valores médios encontram-se no Quadro 4.

Quadro 4. Valores médios de gás no sangue arterial e da análise química do soro

Min	pH	pCO ₂	pO ₂	ABEc	Potássio	Glicose	Lactato
0	7,4861	38,8	390	5,6	3,80	99,6	1,43
4	7,5027	37,2	410	5,8	3,71	102,9	1,24
20	7,5066	36,8	419	5,7	3,84	102,0	1,20
80	7,4943	37,5	402	5,4	4,00	99,7	1,01
140	7,4803	37,2	399	4,1	4,10	100,7	0,95
200	7,4641	37,6	356	3,2	4,06	102,4	0,96
ABEc refere-se a excesso de ácido - base, corrigido							

Os valores de PAM e de HR da linha de base não foram diferentes entre o Composto 1 e o propofol. Os dois compostos reduziram a PAM, mas o propofol produziu uma redução significativamente maior no PAM (66 ± 4) do que o Composto 1 (106 ± 3) ($p < 0,001$). O menor HR medido para o propofol (88 ± 6 bpm) foi significativamente inferior ao menor HR medido para o Composto 1 (129 ± 6 bpm) ($p < 0,5$). Tanto a PAM como o HR voltaram à linha de base após a descontinuação de infusões de Composto 1 ou de propofol. Não houve qualquer diferença significativa na redução de débito cardíaco produzido pelo Composto 1 quando comparado ao propofol.

O Quadro 4 indica que todos os valores de gás no sangue arterial e da análise química do soro estavam dentro dos limites normais: o Composto 1 não produziu quaisquer alterações metabólicas significativas como acidose metabólica ou aumento de lactato.

Exemplo 14

Actividade antiemética

Testou-se o Composto 1 quanto ao seu potencial antiemético em furões e comparou-se ao do propofol.

Alojaram-se furões, sem glândulas odoríferas, machos, pesando 1,0-1,5 kg com porta de acesso vascular na veia jugular, num ciclo de luz/escuridão de 12/12 horas em temperatura controlada, com alimento e água *ad libitum*. Em cada dia de estudo, apresentou-se comida aos furões uma hora

antes da dosagem. Imediatamente antes da dosagem, retirou-se-lhes a comida e a água. Administrou-se, por infusão IV, aos furões, uma formulação de Composto 1 a 1%, preparado conforme foi descrito no Exemplo 5 e formulada em conformidade com o Exemplo 4, ou de DIPRIVAN; ver Wynn RL et al, 1993, *Eur J Pharmacol* 241, 42 re administração de DIPRIVAN em furões. Após a administração de Composto 1 ou de DIPRIVAN, colocaram-se os animais em caixas transparentes, limpas, (com tampas) e deixaram-se à vontade durante um período de observação de 45 minutos por um observador ignorante do tratamento específico administrado.

A emese em furões caracteriza-se por contracções abdominais rítmicas que estão associadas à expulsão oral de material sólido ou líquido proveniente do trato gastrointestinal (*i.e.*, vômitos) ou a movimentos que não incluem passagem de material (*i.e.*, náuseas). Consideraram-se os episódios de náuseas e/ou vômitos episódios separados quando o intervalo entre náuseas e/ou vômitos excedeu 5 segundos.

Estudou-se a actividade pro-emética de Composto 1 ou de propofol em 6 furões por droga, do seguinte modo: anestesiaram-se furões por inalação de isoflurano. Administrou-se o Composto 1 ou o propofol por uma infusão IV durante 15 minutos a 1 mg/kg/min. Após o término da infusão, observaram-se continuamente os furões durante 45 minutos, e contou-se o número de vômitos e de náuseas.

Estudou-se a actividade antiemética de Composto 1 ou de propofol em 6 furões por droga, do seguinte modo: anestesiaram-se furões com isoflurano, administrou-se o Composto 1 ou o propofol por uma infusão IV durante 15 minutos a 1 mg/kg/min. Após o término da infusão, administrou-se subcutaneamente 0,5 mg/kg de sulfato de morfina e monitorizaram-se os furões durante 45 minutos, conforme foi descrito acima. Administrou-se subcutaneamente a mais seis furões 0,5 mg/kg de sulfato de morfina sozinho.

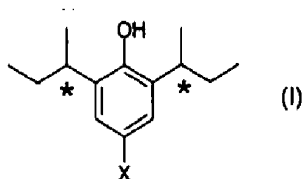
Sozinho, o sulfato de morfina (0,5 mg/kg) foi pro-emético em furões, produzindo 15 episódios de vômito e 157 de náuseas. O Composto 1 não produziu quaisquer episódios de vômito ou náuseas, quando administrado sozinho ou na presença de morfina. Os furões que receberam propofol e sulfato de morfina

exibiram 3 vômitos e 47 náuseas. Deste modo, o Composto 1 e o propofol reduziram a incidência de vômitos e náuseas na presença de morfina.

Lisboa, 2011-02-08

REIVINDICAÇÕES

1. Estereoisómero (-) de formula (I):



onde X é H ou F; ou um seu sal.

2. Composto de acordo com a reivindicação 1, que é um estereoisómero (-) de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

3. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou 2, onde X é H.

4. Composição farmacêutica compreendendo um composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3, e um transportador farmaceuticamente aceitável.

5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, que é formulada para administração intravenosa.

6. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, que é formulada na forma de uma emulsão lipídica.

7. Composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3 para utilizar em terapia médica.

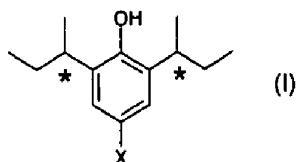
8. Composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3 para utilizar num método de indução ou manutenção de anestesia geral num animal.

9. Composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3 para utilizar num método para promover sedação num animal.

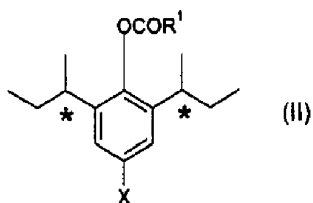
10. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3 na preparação de um medicamento para induzir ou manter anestesia geral num animal.

11. Utilização de um composto de acordo com a reivindicação 2 ou 3 na preparação de um medicamento para promover sedação num animal.

12. Processo para preparar um estereoisómero (-) de fórmula (I):

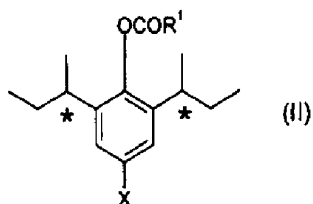


onde X é H ou F; ou um seu sal, que compreende efectuar a hidrólise de um diastereoisómero éster de (-)-2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido carbâmico de fórmula (II)



na qual R¹ representa um grupo amina quirál, seguido, se necessário, pela formação de fenol livre ou de um seu sal.

13. Diastereoisómero do éster de (-)-2,6-di-sec-butilfenilo e de ácido carbâmico de fórmula (II):



na qual R¹ representa um grupo amina quirál.

14. Diastereoisómero de acordo com a reivindicação 13, na qual R¹ representa um grupo (R)-1-ariletilamina.

Figura 1

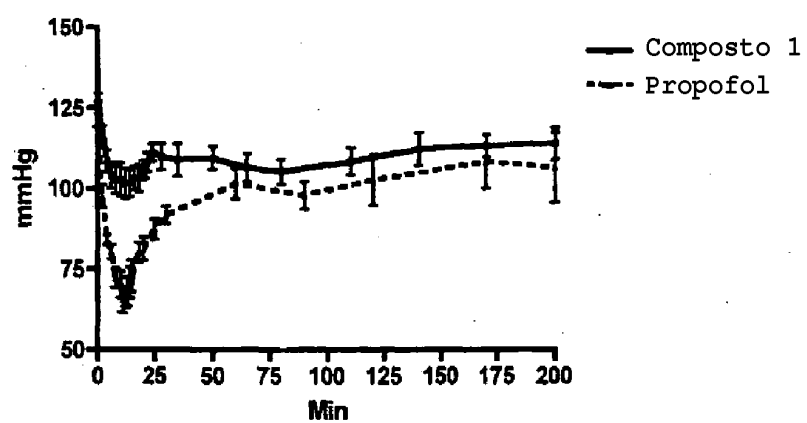


Figura 2

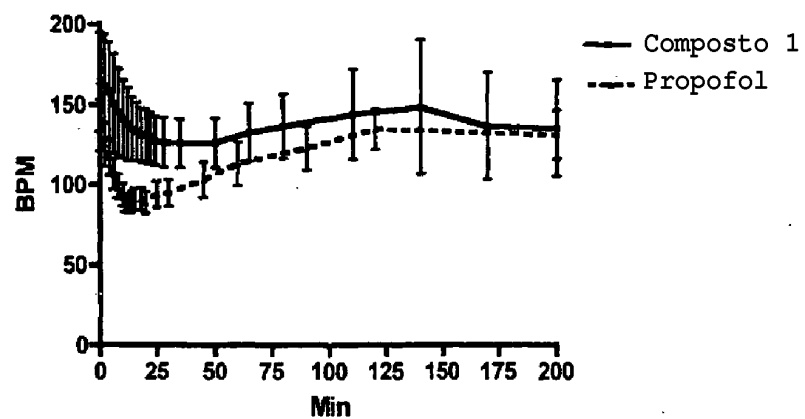


Figura 3

